

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA  
NÍVEL MESTRADO**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS  
PROVOCADAS POR DIFERENTES PERÍODOS DE RETIRADA APÓS  
TRATAMENTO SUBCRÔNICO COM COCAÍNA EM RATOS: ENVOLVIMENTO DOS  
SISTEMAS DOPAMINÉRGICO, SEROTONÉRGICO E NORADRENÉRGICO.**

**MARIA DO CARMO DE OLIVEIRA CITÓ**

**FORTALEZA-CE  
2009**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**MARIA DO CARMO DE OLIVEIRA CITÓ**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS  
PROVOCADAS POR DIFERENTES PERÍODOS DE RETIRADA APÓS  
TRATAMENTO SUBCRÔNICO COM COCAÍNA EM RATOS: ENVOLVIMENTO DOS  
SISTEMAS DOPAMINÉRGICO, SEROTONÉRGICO E NORADRENÉRGICO.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção título de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Orientador: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.

**FORTALEZA  
2009**

**MARIA DO CARMO DE OLIVEIRA CITÓ**

**ESTUDO DAS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS  
PROVOCADAS POR DIFERENTES PERÍODOS DE RETIRADA APÓS  
TRATAMENTO SUBCRÔNICO COM COCAÍNA EM RATOS: ENVOLVIMENTO DOS  
SISTEMAS DOPAMINÉRGICO, SEROTONÉRGICO E NORADRENÉRGICO.**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia pela Universidade Federal do Ceará.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Profa. Dra. Danielle Silveira Macêdo  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Otoni Cardoso do Vale  
Universidade Federal do Ceará-UFC

## DEDICATÓRIA

*À Deus, Nosso Senhor, que me deu saúde e força para chegar a mais uma conquista importante da minha vida.*

*Aos meus pais, pelo carinho, amor e paciência e por sempre estarem ao meu lado me apoiando.*

*“(...) Imagine um piano e um pianista; a certa altura tocando, o piano fica desafinado : uma tecla não bate mais e cordas quebram. O pianista obrigatoriamente , apesar de ótimo, tocará mal. O cérebro seria o piano e o pianista a alma, não é? É uma velha comparação...se o cérebro se deteriora, a alma, obrigatoriamente mostra-se atoleimada.”*

*Luigi Pirandello, em “O finado Mattia Pascal”*

## AGRADECIMENTOS

À minha amiga e orientadora **Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa**, pelos conhecimentos passados com dedicação e paciência, pela disponibilidade em me ajudar sempre que necessário. Por acreditar e confiar em mim, pela realização profissional e pessoal. Sendo exemplo de garra, determinação e competência.

Aos professores **Dra Danielle Silveira Macedo** e **Dr. Otoni Cardoso do Vale** pela gentileza de ler este trabalho, proporcionando sugestões e discussões que servirão para crescimento, aprendizado e incentivo à pesquisa.

À ANVISA e ao Departamento de Polícia Federal do Estado do Ceará por terem liberado a cocaína para realização deste estudo a ao Prof. Andrade por ter feito a análise cromatográfica da droga.

Às minhas amigas de pós-graduação **Charliane Carlos** e **Izabel Gomes** pelo estímulo, competência, ensinamentos com o intuito de chegar à excelência.

Aos meus amigos e bolsistas Brinell Arcanjo e **Rufino de Aquino Neto** que estiveram ao meu lado realizando os experimentos e me acompanharam durante todo o trabalho.

Aos professores do curso de pós-graduação em Farmacologia da UFC, em especial **Dra. Glauce Barroso**, **Dra Marta Maria Fonteles**, **Dra. Silvânia Maria Mendes de Vasconcelos**, **Dra. Helena Serra Azul**, **Dr. Carlos Maurício**, **Dra. Nylane Alencar**, pelos conhecimentos transmitidos e apoio fornecido aos alunos da pós graduação.

Aos meus amigos de pós graduação **Thiciane**, **Edith**, **Nayrton**, **Emiliano**, **Helvira**, **Fernando**, **Patrícia Freire** e **Giuliana**, que estiveram presentes em vários momentos, pela dedicação e amizade e por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos bolsistas do laboratório de Neurofarmacologia, **Aline Mara**, **Mariana** e **Isabel**, que estão sempre dispostas a ajudar.

À técnica do laboratório **Vilani**, pela companhia constante.

Ao funcionário do laboratório **Arnaldo**, que é responsável pelo HPLC, por ter passado minhas amostras.

Aos funcionários do Biotério que forneceram os animais para o estudo.

A todos os funcionários do Departamento de Farmacologia da UFC, em especial **Aura**.

Ao meu namorado **Naldo Gomes**, sempre presente e compreensível com relação à minha ausência.

Às minhas amigas **Débora Moreira** e **Luciana Ximenes**, pelo apoio e por me incentivarem à pesquisa.

*Enfim agradeço a todos aqueles que dispuseram  
um pouco do bem mais precioso: o tempo*



<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>Xi</b>
<b>LISTA DE QUADROS</b>	<b>Xv</b>
<b>LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS</b>	<b>Xvi</b>
<b>RESUMO</b>	<b>Xviii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>Xix</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
1.1. Histórico	20
1.2. Uso abusivo	26
1.3. Cocaína e seu mecanismo de ação no cérebro: Envolvimento dos sistemas monoaminérgicos	28
1.4. Ansiedade e depressão na abstinência de cocaína	33
1.5. Estresse oxidativo e cocaína	36
	35
<b>2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA</b>	<b>38</b>
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>40</b>
3.1. Objetivo Geral	41
3.2. Objetivos Específicos	41
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>42</b>
4.1. Drogas e Reagentes	43
4.2. Equipamentos	44
4.3. Animais	45
4.4. Preparo das drogas	45
4.5. Tratamento dos animais e Procedimento experimental	45
4.6. Protocolo dos experimentos comportamentais	46
4.6.1. Avaliação da Atividade Ansiolítica	

4.6.1.1. Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	46
4.6.1.2. Teste do Campo Aberto	48
4.6.2. Avaliação da Atividade Antidepressiva	49
4.6.2.1. Teste do Nado Forçado	49
4.7. Protocolo dos Experimentos Neuroquímicos	51
4.7.1. Dissecção da área cerebral (corpo estriado)	51
4.8. Determinação da concentração de monoaminas e seus metabólitos com HPLC	52
Método	52
Procedimento experimental	53
Soluções reagentes	53
Padrões	54
4.9. Determinação da densidade dos receptores dopaminérgicos	54
Receptores D <sub>1</sub> -símile	54
Receptores D <sub>2</sub> -símile	54
Método	54
Procedimento experimental	55
Soluções reagentes	55
4.10. Determinação da densidade dos receptores serotoninérgicos 5HT <sub>2</sub>	57
Método	57
Procedimento experimental	58
Soluções reagentes	59
4.11. Determinação da enzima catalase	60
Método	60
Procedimento experimental	60
Soluções reagentes	60
4.12. Análise Estatística	61
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>62</b>
5.1. Avaliação da Atividade Ansiolítica	63
5.1.1. Teste do Labirinto em Cruz Elevado	63

5.1.2. Teste do Campo Aberto	71
5.2. Avaliação da Atividade Antidepressiva	73
5.2.1. Teste do Nado Forçado	73
5.3. Avaliação da concentração de monoaminas em corpo estriado de ratos após 24h, 7d e 21d de retirada de cocaína	75
5.4. Determinação da densidade de receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos em corpo estriado de ratos após 24h, 7d e 21d de retirada de cocaína	81
5.6. Atividade da catalase na abstinência de 24h, 7d e 21 de cocaína	84
<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>85</b>
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>114</b>
<b>8. CONCLUSÃO</b>	<b>116</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>118</b>
<b>10. ANEXO</b>	<b>139</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.1.</b>	Folha cocaína ( <i>Erythroxylon Coca</i> ).	<b>25</b>
<b>FIGURA 1.2.</b>	Representação do cloridrato de cocaína.	<b>25</b>
<b>FIGURA 1.3.</b>	Principais vias do metabolismo da dopamina no cérebro.	<b>29</b>
<b>FIGURA 1.4.</b>	Mecanismo de ação da cocaína.	<b>30</b>
<b>FIGURA 4.1.</b>	Representação anatômica da região anatômica referente ao corpo estriado.	<b>52</b>
<b>FIGURA 5.</b>	Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre o número de entradas no braço aberto (NEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>63</b>
<b>FIGURA 6.</b>	Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>64</b>
<b>FIGURA 7.</b>	Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>65</b>
<b>FIGURA 8.</b>	Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre a percentagem de tempo nos braços abertos (PTBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>66</b>
<b>FIGURA 9.</b>	Efeito do propranolol, ondansetrom e buspirona após abstinência de 24h de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre o número de entradas no braço aberto (NEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>67</b>
<b>FIGURA 10.</b>	Efeito do propranolol, ondansetrom e buspirona após abstinência de 24h de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>68</b>

<b>FIGURA 11.</b>	Efeito do propranolol, ondansetrom e buspirona após abstinência de 24h de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>69</b>
<b>FIGURA 12.</b>	Efeito do propranolol, ondansetrom e buspirona após abstinência de 24h de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre a percentagem de tempo nos braços abertos (PTBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos.	<b>70</b>
<b>FIGURA 13.</b>	Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre a atividade locomotora no teste do campo aberto em ratos.	<b>71</b>
<b>FIGURA 14.</b>	Efeito do propranolol, ondansetrom e buspirona após abstinência de 24h de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína sobre a atividade locomotora no teste do campo aberto em ratos.	<b>72</b>
<b>FIGURA 15.</b>	Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína subsequente a um tratamento com cocaína sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado para ratos.	<b>73</b>
<b>FIGURA 16.</b>	Efeito da bupropiona e paroxetina na abstinência de 21d de cocaína subsequente a um tratamento com cocaína sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado para ratos.	<b>74</b>
<b>FIGURA 17.</b>	Determinação da concentração de dopamina (DA) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>75</b>
<b>FIGURA 18.</b>	Determinação da concentração de DOPAC, um metabólito da dopamina em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>76</b>
<b>FIGURA 19.</b>	Determinação da concentração de HVA, um metabólito da dopamina em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>77</b>

<b>FIGURA 20.</b>	Determinação da concentração de serotonina (5HT) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>78</b>
<b>FIGURA 21.</b>	Determinação da concentração de 5HIAA, um metabólito da serotonina em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>79</b>
<b>FIGURA 22.</b>	Determinação da concentração de noradrenalina (NE) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>80</b>
<b>FIGURA 23.</b>	Determinação da taxa de metabolização em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína, durante abstinência de 24h, 7d e 21d.	<b>81</b>
<b>FIGURA 24.</b>	Densidade de receptores de dopamina (D1) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d.	<b>82</b>
<b>FIGURA 25.</b>	Densidade de receptores de dopamina (D2) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d.	<b>83</b>
<b>FIGURA 26.</b>	Densidade de receptores de serotonina (5HT2) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d.	<b>84</b>
<b>FIGURA 27.</b>	Efeito da atividade da catalase em corpo estriado de ratos após 24h, 7d e 21d de abstinência de cocaína, subsequente a tratamento subcrônico (7d) com cocaína.	<b>85</b>

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1.</b>	Reação da catalase	<b>36</b>
<b>QUADRO 2.</b>	Esquema do Teste do Labirinto em Cruz Elevado.	<b>48</b>
<b>QUADRO 3.</b>	Esquema do Teste do Campo Aberto.	<b>49</b>
<b>QUADRO 4.</b>	Esquema do Teste do Nado Forçado.	<b>50</b>

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<b>5-HT</b>	Serotonina
<b>5HIAA</b>	Ácido 5-hidroxiindolacético
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Radical superóxido
<b>H<sub>2</sub>O<sup>•</sup></b>	Radical hidroperoxila
<b>OH<sup>•</sup></b>	Radical hidroxila
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrogênio
<b>AMPc</b>	Adenosina monofosfato cíclico
<b>ALE</b>	Atividade Locomotora Espontânea
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>BUP</b>	Bupropiona
<b>BUSP</b>	Buspirona
<b>CA</b>	Campo aberto
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Íons Cálcio
<b>CE</b>	Corpo estriado
<b>CEPA</b>	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
<b>CNS</b>	Conselho Nacional de Saúde
<b>COC</b>	Cocaína
<b>Cl<sup>-</sup></b>	Íons cloreto
<b>COMT</b>	Catecol-O-metil-transferase
<b>D</b>	Dia
<b>D<sub>1</sub></b>	Receptores dopaminérgicos do tipo 1
<b>D<sub>2</sub></b>	Receptores dopaminérgicos do tipo 2
<b>DL50</b>	Dose letal que mata 50% dos animais
<b>DOPAC</b>	Acido dihidroxifenilacético
<b>EO</b>	Estresse oxidativo
<b>EPM</b>	Erro padrão da média
<b>ERRO</b>	Espécies reativas do oxigênio
<b>EUA</b>	Estados Unidos
<b>HVA</b>	Ácido 4-hidroxi-3-metoxi-fenilacético
<b>i.p.</b>	Intraperitoneal



<b>IP<sub>3</sub></b>	Trifosfato de Inositol
<b>LCE</b>	Labirinto em Cruz Elevado
<b>L-DOPA</b>	L-3,4-dihidroxiifenilalanina
<b>MAO</b>	Monoamino oxidase
<b>Na<sup>+</sup></b>	Íon sódio
<b>NEBA</b>	Número de Entradas nos Braços Abertos
<b>NF</b>	Nado forçado
<b>NO</b>	Óxido nítrico
<b>ONDAN</b>	Ondansetrom
<b>PEBA</b>	Percentagem de Entrada nos Braços Abertos
<b>PROP</b>	Propranolol
<b>PTBA</b>	Pecentagem do Tempo de Permanência nos Braços Abertos
<b>SCH</b>	SCH23390
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>SPD</b>	Sulpirida
<b>TH</b>	Tirosina hidroxilase
<b>TPBA</b>	Tempo de Permanência nos Braços Abertos

## RESUMO

**Estudo das alterações comportamentais e neuroquímicas provocadas por diferentes períodos de retirada após tratamento subcrônico com cocaína em ratos: Envolvimento dos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico e noradrenérgico. MARIA DO CARMO DE OLIVEIRA CITÓ. Orientador (a): Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2009.**

A cocaína é largamente consumida mundialmente e considerada como um problema de saúde pública, sendo a recaída uma das principais dificuldades enfrentadas no combate ao vício da cocaína que, na maioria dos casos, está relacionada aos sintomas de abstinência da droga, como ansiedade, depressão, irritabilidade, fadiga e insônia. Para avaliar as alterações comportamentais (ansiedade e depressão) e neuroquímicas, os ratos foram submetidos às retiradas de 24 h, 7 d e 21 d após o tratamento subcrônico por 7 dias com cocaína (20mg/kg), sendo realizados os modelos experimentais de Labirinto de Cruz Elevado (LCE), Campo Aberto (CA) e Nado Forçado (NF). Além disso, na abstinência de 24h foram testados o propranolol (10mg/kg, i.p.), o ondansetrom (4mg/kg, i.p) e a bupiriona (5 mg/kg, i.p.), no LCE e CA, bem como na abstinência de 21 d foram testados a bupropiona (30mg/kg, i.p.) e paroxetina (10 mg/kg, i.p.) no NF, com o intuito de reverter tais alterações comportamentais provocadas pela retirada forçada do tratamento subcrônico com cocaína. Para o estudo neuroquímico (neuroadaptação) foi utilizado o corpo estriado (CE) de ratos, avaliando-se os seguintes parâmetros: níveis de monoaminas (NA, DA, 5-HT) e seus metabólitos (DOPAC, HVA e 5-HIAA) através do HPLC com detecção eletroquímica e a atividade da enzima catalase. Na avaliação da ansiedade, os resultados mostraram que no LCE houve uma redução do NEBA, PEBA, TPBA e PTBA na abstinência de 24h e 7 d, após 21d não houve alteração. No CA, as retiradas de 24h e 7 d promoveram um aumento da atividade locomotora do animal, no entanto na retirada de 21 d ocorreu uma diminuição da atividade locomotora. Na abstinência de 24h foram administrados propranolol, ondansetrom e bupiriona. No LCE, o propranolol aumentou o NEBA e reduziu o PTBA, enquanto que o ondansetrom aumentou o NEBA, PEBA, TPBA e o PTBA em relação ao grupo da cocaína. Já a bupiriona em relação à cocaína aumentou o PTBA, TPBA e o PEBA, porém o NEBA foi reduzido. Enquanto que no CA, o propranolol, o ondansetrom e a bupiriona reduziram a atividade locomotora em relação ao grupo da cocaína. Para avaliar a atividade antidepressiva foi realizado o teste do nado forçado, no qual as retiradas de 24h e 7 d reduziram o tempo de imobilidade, contudo na abstinência de 21 d houve um aumento do parâmetro avaliado. Na abstinência de 21 d foram administrados paroxetina e bupropiona, verificando uma redução do tempo de imobilidade em relação ao grupo da cocaína. Para a realização dos estudos neuroquímicos, os animais foram dissecados para retirada do CE. No corpo estriado observou-se um aumento de dopamina (DA) e uma redução de seus metabólitos (DOPAC e HVA) nas três retiradas. A concentração de serotonina aumentou nas três retiradas, entretanto o seu metabólito (5HIAA) aumentou somente nas retiradas de 24h e 7d. Já a noradrenalina reduziu após as três retiradas. Em relação aos receptores, no corpo estriado D2 encontrava-se elevado em 24h e 7d, já 5HT<sub>2</sub> após 7d e D1 não foi alterado. Foi também avaliado no CE a atividade da catalase, enzima antioxidante, que mostrou uma redução de sua atividade nas três retiradas. Os resultados sugerem que diferentes períodos de retirada após tratamento subcrônico com cocaína causa efeitos ansiogênicos e depressores sobre o SNC e tais efeitos foram revertidos por propranolol, ondansetrom, bupiriona, bupropiona e paroxetina. O estudo neuroquímico mostrou que a abstinência de cocaína são eventos multimediados e que CE tem uma importante participação, estando também a atividade da catalase envolvida neste processo. Estes achados são importantes para a investigação de novos tratamentos para a síndrome de abstinência de cocaína.

Palavras-chave: Cocaína; Abstinência; Ansiedade; Depressão, Monoaminas.

## ABSTRACT

**Study of behavioral and neurochemistry alterations caused by different times of withdrawal after subchronic treatment with cocaine in rats: Involvement of dopaminergic system, serotonergic and noradrenergic. MARIA DO CARMO DE OLIVEIRA CITÓ. Supervisor: Prof. Dr. Francisca Cléa Florenço de Sousa. Master Dissertation. Program of Post-graduation in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, UFC, 2009.**

Cocaine is world widely used and considered as a public health problem, being the relapse one of the hardly difficulties faced by cocaine users, that in the most cases, is related to abstinence symptoms, like anxiety, depression, irritability, fatigue and sleeplessness. To evaluate the behavioral alterations (anxiety and depression) and neurochemistry, rats were submitted to 24h, 7 d and 21 d withdrawal, after the subchronic treatment, for 7 days with cocaine (20mg/kg), being realized the experimental models of Elevated Plus Maze (EPM), Open Field (OF) and Forced Swimming (FS). Moreover, in the 24h abstinence, propranolol (10mg/kg, i.p.), ondansetrom (4mg/kg, i.p) and buspirone (5 mg/kg, i.p.) had been tested, in the EPM and OF, as wel as in the 21 d of abstinence bupropione (30mg/kg, i.p.) and paroxetine (10 mg/kg, i.p.) had been tested in the FS, aiming to revert the alterations caused by the abstinence of cocaine subchronic administration. For the neurochemistry study (neuroadaptation) was used striatum (ST) of rats, evaluating the following parameters: level of monoamines (NE, DA and 5HT) and its metabolites (DOPAC, HVA and 5HIAA), using the electrochemistry detection HPLC and the activity of the catalase enzyme. In the anxiety evaluation, results showed that in the EPM there was a reduction on NEOA, PEOA, TPOA and PTOA in the abstinence of 24h, 7 d and 21 d. In the OF, the withdrawal of 24 and 7 d promoted an increasing in the locomotor activity of animals, while the withdrawal of 21 d a decreasing in the locomotor activity was observed. In the 24h abstinence were administered propranolol, ondansetrom and buspirone. In the EPM, propranolol increased NEOA and reduced PTOA, while ondansetrom increased NEOA, PEOA, TPOA and PTOA, as compared to cocaine group. In addition buspirone as compared to cocaine group increased PTOA, TPOA, and PEOA, however NEOA was reduced. While in the OF, propranolol, ondansetron and buspirone reduced the locomotor activity as related to cocaine group. To evaluate the antidepressive effect the FS was performed, where the withdrawal of 24h and 7 d reduced the immobility time, although in the 21 d abstinence an increase of this parameter was observed. In the 21 d abstinence had been administered paroxetine and bupropione, verifying a reduction of the immobility time as related to cocaine group. To the performance of neurochemistry studies, animals were dissected to take off the ST. In the ST was observed an increasing of dopamine (DA) and a reduction of its metabolites (DOPAC and HVA) in the three withdrawals. The serotonin levels increased the three withdrawals, however its metabolite (5HIAA) increased only in the 24h and 7 d withdrawals. In addition norepinephrine reduced after the 24h, 7 d and 21 d withdrawal. In relation to the receptors, in the ST D2 24h and 7d met high in, already 5HT2 after 7d and D1 was not alteration. Were evaluated too in the ST the activity of catalase, antioxidant enzyme, that showed a reduction of your activity in the three withdrawal. Results suggests that different times of withdrawal after subchronic treatment with cocaine cause anxyogenic and depressive effects on the CNS and this effects were reverted by the administration of drugs (propranolol, ondansetrom, buspirone, bupropione and paroxetine). The neurochemistry study showed that the abstinence of cocaine were events multimediated and the brain area study ST has an important role, being the catalase activity involved in this process. These findings are important to the investigation of new treatments to the cocaine abstinence syndrome.

Key words: Cocaine; Abstinence; Anxiety; Depression, Monoamines.



# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Histórico

Estudos arqueológicos mostraram que a utilização da folha da coca é muito antiga, tendo sido encontrados vestígios do seu consumo no Equador e no Peru datados de 2500 A.C. A planta *Erythroxylon coca* tem origem na América do Sul, nas regiões altas dos Andes. Foram os índios bolivianos Aymara, conquistados pelos Incas no século X, que começaram a utilizar a palavra “coca” que significa “planta” ou “árvore”. Nos séculos XII e XIII, a coca deu origem a inúmeros confrontos, até que os Incas, em 1315, conseguiram o seu monopólio. Para este povo, a coca era uma planta medicinal e sagrada, incluída, por isso, em rituais religiosos, profecias, casamentos, funerais e nos rituais de iniciações de jovens nobres (“haruaca”) (SIEGEL, 1982). Até hoje os índios peruanos colocam as folhas de coca junto com os mortos acreditando ser um item necessário para o “além da vida” (WEISS et al., 1994). No entanto, a sua utilização não era generalizada, sendo apenas acessível à elite Inca (BAHLS & BAHLS, 2002).

No século XVI, os espanhóis, conquistadores da América, encontraram a civilização inca e admiraram-se com suas riquezas botânicas. Naquela época, a percepção de que os índios não conseguiam realizar o trabalho pesado sem o uso da coca sobrepujou a oposição da Igreja católica ao seu consumo e o rei espanhol Felipe II declarou que o ato de mascar coca era essencial à saúde do índio. Desta forma, na América Colonial o consumo de cocaína, antes privilégio da nobreza inca, se popularizou também entre os índios (BAHLS & BAHLS, 2002; FERREIRA & MARTINI, 2001). No final do século XVI, a coca foi introduzida na Espanha pelos conquistadores para fins medicinais e como suposto afrodisíaco, porém seu uso não se difundiu na Europa nessa época (FERREIRA & MARTINI, 2001; HERNÁNDEZ, 1999).

Já no século XIX, sítios arqueológicos no Peru encontraram folhas de coca junto às tumbas de sepultamento e ainda hoje os índios peruanos, bolivianos, colombianos e do equador, colocam estas folhas junto com os mortos acreditando ser um item necessário para o além da vida (WEISS et al., 1994). A palavra coca tem origem na língua aymara e quer dizer planta ou árvore,

a civilização Inca cultivou e estabeleceu o consumo da coca, conservando-se algumas lendas de sua origem: os incas acreditavam que Mango Capac, filho do sol, desceu do céu sobre as águas do lago Titicaca para ensinar aos homens as artes, a agricultura e presenteá-los com as primeiras sementes, tornando-os assim capazes de suportar a fadiga e a fome. E para os índios yunga, a cocaína possibilitou a derrota do deus maligno (FERREIRA & MARTINI, 2001; LEITE, 1999).

Em 1858, o químico alemão Albert Niemann reconhece as propriedades estimulantes da planta coca e nos meados de 1800 (1862) extrai a substância pura, cloridrato de cocaína. A droga foi inicialmente usada como medicamento para a astenia e diarreia num regimento alpino por Aschenbrant, um médico militar baviero. Foi rapidamente comercializada em grande escala, passando a ser constituinte de vários produtos como o vinho tônico de Ângelo Mariani (Vin Mariani), remédios caseiros e até mesmo a Coca-Cola (LEITE, 1999).

Durante praticamente todo o século XIX, a cocaína foi livre e entusiasticamente comercializada nos Estados Unidos (LEITE, 1999; BAHLS & BAHLS, 2002). Era vendida nas ruas na sua forma pura, ou obtida de modo industrializado pela Parke Davis Company em quinze formas diferentes, tais como cigarros, pó, preparados para injetar e pastilhas (CARLINI-COTRIM, 1995). Era indicada para dores, cansaços, como substituto alimentar, entre outras. Somente em 1898, foi descoberta a fórmula exata de sua estrutura química e, em 1902, Willstatt (prêmio Nobel) produziu cocaína sintética em laboratório. Sob a forma de cloridrato de cocaína, a cocaína formava um pó branco cristalino (FERREIRA & MARTINI, 2001).

Ainda no século XIX, Sigmund Freud dedicou-se ao estudo da cocaína. Revisou a literatura disponível sobre o assunto e realizou uma experiência pessoal de auto-administração e observação de pacientes para os quais prescreveu a cocaína. Em julho de 1884 publicou seu famoso livro *Über Coca* (Sobre a Cocaína) recomendando-a para o tratamento da depressão, do nervosismo, doenças digestivas, alcoolismo, adição à morfina e asma. Diante de seu entusiasmo pela cocaína, Freud foi acusado de irresponsabilidade pela comunidade científica da época. Em 1887, o pesquisador reformula a sua posição, começa a trabalhar o conceito de toxicomania e publica “Fissura e Medo da Cocaína”, descrevendo os sintomas paranóides, as alucinações e a

deterioração física e mental associada ao consumo repetido (BAHLS & BAHLS, 2002; WEISS et al, 1994).

A cocaína foi empregada também como anestésico, inicialmente por Karl Koller, em 1884, que acabou desenvolvendo dependência devido à auto-administração. O médico William Halsted obteve sucesso no bloqueio da dor, dando início à era das cirurgias oculares, entre outras. Halsted, no intuito de pesquisar a substância, também passou a administrar cocaína em si mesmo e, similarmente à Koller, desenvolveu dependência. Buscando tratar o problema com a cocaína, Halsted utilizou-se de morfina, se tornando, também, dependente de morfina até o final de sua vida (WEISS et al., 1994; FERREIRA & MARTINI, 2001; BAHLS & BAHLS, 2002).

À ausência de leis ou regulamentos que limitassem a sua venda ou consumo, a cocaína tornou-se presente em farmácias, mercearias e bares, de modo que, episódios de toxicidade, tolerância, dependência e, até mesmo, morte pelo uso de tais produtos passassem a ser relatados em revistas médicas no início dos anos 20 (BAILEY, 1996; FERREIRA & MARTINI, 2001). Na mesma época, surgiram comercialmente seringas hipodérmicas, que facilitavam a chegada da droga na circulação, agravando-se ainda mais os problemas conseqüentes ao uso e vício (KARCH, 1999).

De uma maneira mais acentuada nos anos 20, verificou-se nos países ocidentais um grande aumento no consumo de cocaína por aspiração nasal. Foram necessárias medidas de controle internacionais para que a magnitude desta epidemia começasse a sofrer uma redução. Até os anos 70, o consumo manteve-se bastante marginal, quando a partir daí a cocaína começou a ser associada à imagem de êxito social (nos Estados Unidos). Tal fato voltou a acentuar o consumo, que se generalizou às diferentes classes sociais e teve grande aceitação entre consumidores de outras drogas como heroína, álcool ou anfetaminas, tornando-se um grave problema de saúde pública (CREGLER & MARK, 1986).

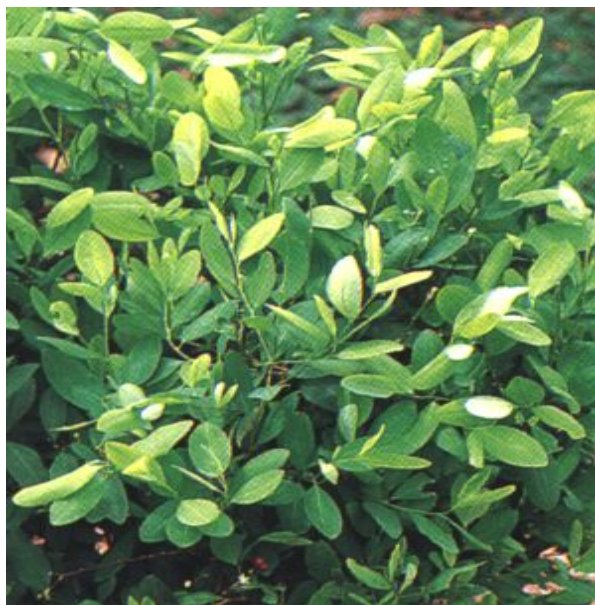
No Brasil, os anos 80 marcam o aparecimento da cocaína no mercado negro. Inicialmente, como droga utilizada pela elite, mas rapidamente sofreu banalização e generalização do seu consumo. Atualmente, enquanto o uso da cocaína parece ser menos prevalente na Europa do que

nos EUA, na América do Sul ela consiste em um problema importante e crescente, particularmente em países produtores da droga, tais como Colômbia, Peru e Bolívia (NEGRESS, 1992). O Brasil, devido à sua posição estratégica, tornou-se uma importante rota para o tráfico de cocaína e isto tem levado a uma disseminação de seu uso e ao surgimento de um importante mercado consumidor (World Drug Report, 2004). Desta forma, atualmente, o uso da cocaína é freqüentemente associado ao crime e, apesar das severas penas associadas ao porte e venda da droga, um crescente número de usuários continua a surgir a cada dia (FISCHMAN, 1987).

A cocaína é o principal alcalóide, representando cerca de 80% dos alcalóides encontrados na folha da *Erythroxylon coca* (**figura 1.1**), um arbusto encontrado ao leste dos Andes e acima da Bacia Amazônica (LEITE, 1999). Uma droga estimulante do sistema nervoso central (SNC), causando um elevado estímulo das vias de neurotransmissão, dentre elas a dopamina, serotonina e noradrenalina (PLATT, 1997). Inicialmente, esta droga provoca uma sensação de euforia, prazer, melhora das atividades motoras e intelectuais, além de perda da sensação de cansaço e fadiga, atraindo, desta forma, milhares de adeptos a cada dia no mundo inteiro (POLLOCK et al., 1991).

A cocaína pode ser comercializada na forma de um pó branco cristalino (cloridrato de cocaína), inodoro, de sabor amargo e solúvel em água, (**figura 1.2**); ou na sua forma cristalina pura (base de cocaína), mais conhecida como *base livre* ou *crack*. Dentre os seus usuários, esta droga tem recebido apelidos diversos como: “coca”, “branca”, “branquinha”, “gulosa”, “Júlia”, “neve” ou “snow” (COX et al., 1983; PLATT, 1997). Geralmente, o cloridrato de cocaína é consumido por inalação, podendo ser absorvido pelas mucosas do trato respiratório. Além disso, pode ainda ser injetado por via endovenosa puro ou misturado com outras drogas. Apenas a sua base livre ou *crack* é adequada para o fumo. Por vezes, a cocaína é adulterada com o objetivo de aumentar o seu volume ou de potenciar os seus efeitos. Nestes casos, é misturada a substâncias como: lactose, medicamentos anestésicos (procaína, lidocaína ou benzocaína), estimulantes (como anfetaminas ou cafeína) ou outras substâncias de cor branca (PLATT, 1997), o que pode provocar reações adversas indesejadas em seus usuários, muitas vezes levando-os ao óbito (SHANNON, 1988).





1.1

Fonte: <http://www.geocities.com/profberti/plantasmedicinas/erytcoc1.jpg>. Acesso 15/06/2009



1.2

Fonte: <http://br.geocities.com/drogasnm/tipos/fotos/coca.jpg>. Acesso 15/06/2005

**Figura 1- 1.1.** Planta *Erythroxylon coca* Shrub; **1.2.** Representação do Cloridrato de cocaína.  
**1.2 Uso abusivo**

O Informe Mundial sobre Drogas de 2004 (World Drug Report) afirma que a cocaína é considerada a segunda droga-problema mais comum no mundo e a principal das Américas, uma das mais perigosas, e, portanto, tem sido frequentemente o alvo de diversos estudos científicos (SOARES et al.,2003).

De acordo com o “I Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil” feito em 2001 usando uma amostragem de 107 cidades com mais de 200 mil habitantes, o que abrange 41,3 % da população total do Brasil (ou seja, 45.045.907 pessoas), foi observado que da população estudada, 2,3 %, ou seja, 1.076.000 pessoas já haviam usado cocaína durante sua vida. Na faixa etária dos 25 aos 34 anos, 7,2 % dos entrevistados do sexo masculino já haviam experimentado a cocaína. Dentre os entrevistados, tanto homens como mulheres em todas as faixas etárias estudadas, dos 12 anos até acima de 35 anos, em torno de 45 % destes relataram ser muito fácil obter cocaína, caso desejassem. Com relação ao crack esta percentagem caiu para 35 %. Deste grupo 55 % considerou como risco grave usar cocaína/crack uma ou duas vezes na vida e quando a pergunta abordou o uso diário da droga esta percentagem subiu para quase 100 %. A prevalência de maior uso de cocaína foi na Região Sul, com 3,6 %. A região Sudeste em segundo lugar, com 2,6 % e, nas regiões Nordeste e Centro-oeste, em cada uma delas a percentagem ficou em torno de 1,4 %. A menor percentagem foi de 0,8 % na Região Norte onde foi observado um maior consumo de merla. Observou-se neste estudo o predomínio de uso da cocaína entre homens (CARLINI et al., 2002).

Um dos principais problemas clínicos enfrentados no combate ao vício da cocaína é a recaída que, na maioria dos casos, está relacionada aos sintomas de abstinência da droga, como ansiedade, depressão, irritabilidade, fadiga, insônia, dentre outros (KAPLAN & SADOCK, 1998). Tais manifestações clínicas são conseqüências de alterações neuroadaptativas (transitórias ou persistentes) em determinadas áreas cerebrais, provocadas pelo uso repetido da cocaína, as quais podem predizer o comportamento de busca, “*craving*” (fissura) e recaída após períodos de abstinência relativamente longos (TANG et al., 2004). Além disso, a manifestação desses sintomas pode acarretar na interrupção precoce do tratamento de usuários de cocaína (MULVANEY et al., 1999). Assim, estudos prévios mostram uma grande associação entre os sintomas da retirada desta droga e a severidade do vício (SCHUCKIT et al., 1999).

A ingestão da cocaína provoca uma sensação de euforia e prazer e produz melhora das atividades motoras e intelectuais, perda da sensação de cansaço, anorexia e insônia (POLLOCK et al., 1991). Em dose exagerada (*overdose*) aparecem sintomas de irritabilidade, agressividade, delírios e alucinações. Pode ocorrer também aumento da temperatura e da pressão arterial, taquicardia e degeneração dos músculos esqueléticos. Este excesso pode levar a convulsões, falência cardíaca ou depressão respiratória, culminando com a morte (GAY, 1983).

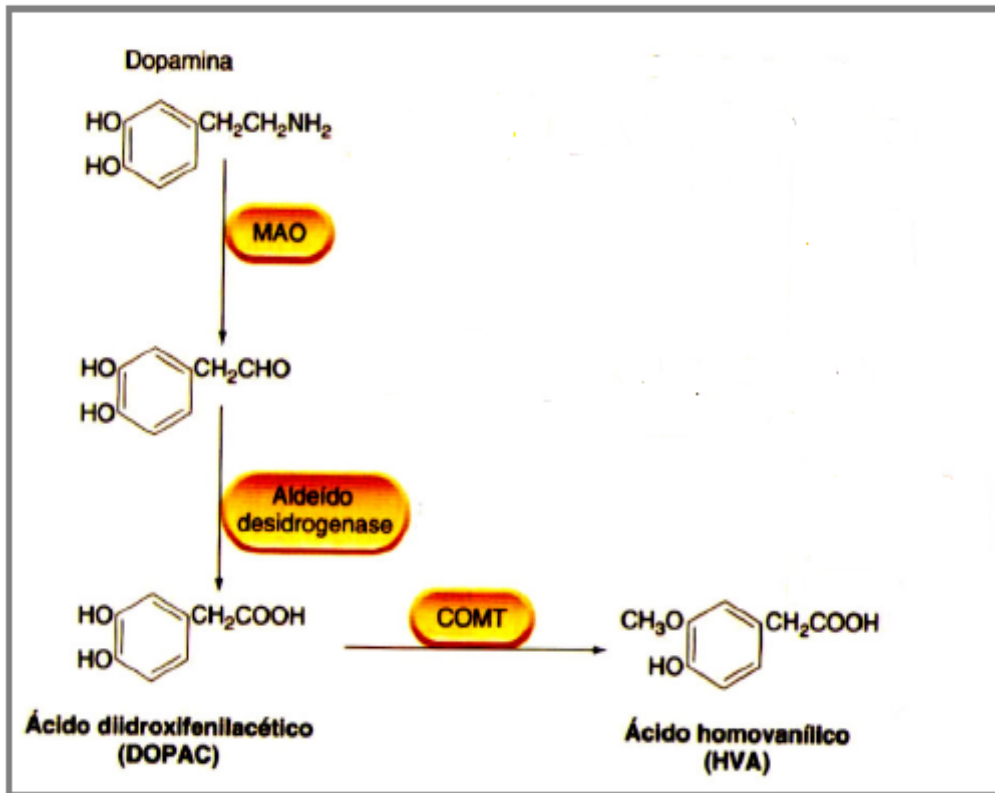
Muitas pessoas continuam a usar a droga apesar das severas penas associadas ao porte e venda da cocaína (FISCHMAN, 1987). Conseqüentemente, o uso da cocaína é freqüentemente associado ao crime. De fato, alguns estudos mostram que cerca de 70 % dos presos em cadeias estão nesta condição por episódios relacionados a drogas (STEWART, 1990), sendo a cocaína a mais utilizada entre os presos tanto do sexo masculino como feminino (FEUCHT, 1995).

Estudos envolvendo a retirada da cocaína costumavam receber atenção limitada de clínicos e pesquisadores, devido à natureza dos sintomas inespecíficos que provoca. Dados prévios demonstram que, mesmo sendo pouco específicos, tais sintomas apresentam potencial de reforço, responsável pelo intenso desejo de consumo na abstinência, que pode ser fonte de novas recaídas (FOCCHIA et al., 2001).

Desta forma, respaldados pela relevância do tema, o presente projeto objetiva avaliar as alterações comportamentais relacionadas a sinais de ansiedade e depressão em ratos submetidos a diferentes tempos de retirada da administração repetida de cocaína. Como muitos sistemas de neurotransmissão parecem estar envolvidos com tais sintomas e processo de neuroadaptação, se torna igualmente importante avaliar a participação destes sistemas, mediante o estudo neuroquímico das áreas cerebrais envolvidas. Além disso, foram testadas diferentes drogas com o intuito de investigar a possível reversão das alterações comportamentais e neuroquímicas.

### **1.3. Cocaína e seu mecanismo de ação no cérebro: Envolvimento dos sistemas monoaminérgicos e seus receptores**

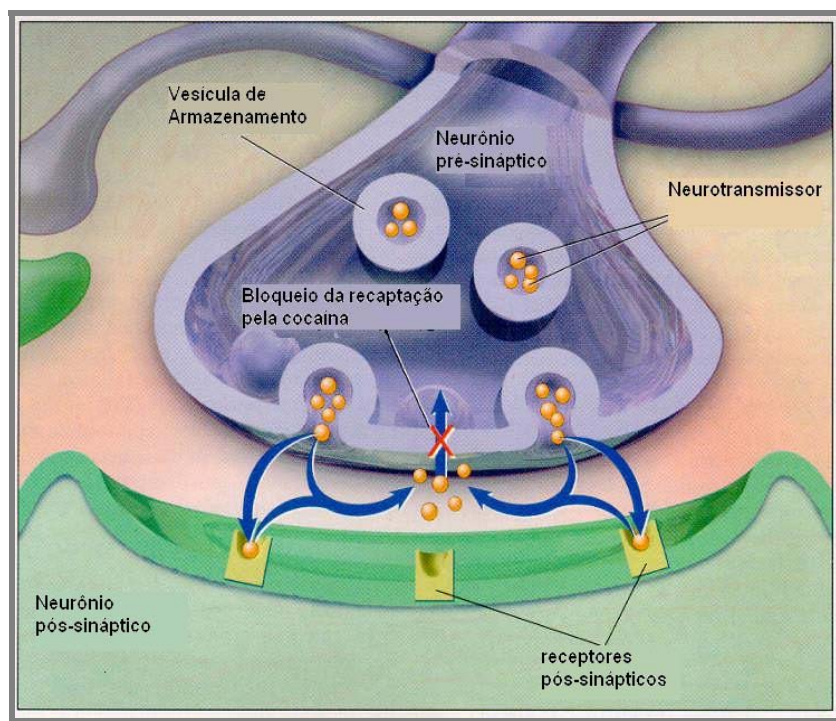
As monoaminas são compostos que possuem apenas um grupamento amina e compreendem a dopamina (DA), serotonina (5HT) e noradrenalina (NA). O processo de captação das monoaminas é de suma importância para a finalização da ação do neurotransmissor na fenda sináptica (AXELROD, 1971). Dentre as monoaminas, as catecolaminas, substâncias que possuem um núcleo catecol (anel benzeno com dois grupamentos hidroxil adjacentes) e uma cadeia lateral de etilamina ou um de seus derivados (FELDMAN et al., 1997), como noradrenalina (NA) e dopamina (DA), são sintetizadas a partir do aminoácido aromático L-tirosina. Existem duas reações que transformam a tirosina em DA: a primeira é catalisada pela enzima tirosina hidroxilase (TH) a qual converte tirosina em L-3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA). A TH é considerada uma enzima limitante nesta síntese (FELDMAN et al., 1997). A segunda etapa é a descarboxilação da DOPA, catalisada pela enzima DOPA descarboxilase, a qual produz DA que sofre ação da dopamina  $\beta$ -hidroxilase para tornar-se NA. Após serem sintetizadas as catecolaminas se difundem pela fenda sináptica e podem ser catabolizadas pelas enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecol o-metil transferase (COMT) que estão amplamente distribuídas no corpo e SNC. A MAO está localizada na parte externa da membrana mitocondrial (COSTA & SANDLER, 1972) e pela sua localização intracelular, tem um papel estratégico na inativação das catecolaminas que estão livres na fenda sináptica. A COMT age nas catecolaminas extraneuronais. Os metabólitos produzidos pela ação destas enzimas são: o ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) e ácido homovanílico (HVA), sendo este último o principal metabólito da DA (**figura 1.3**). A captação é mediada por um carreador ou transportador localizado no lado externo do neurônio catecolaminérgico. A cocaína atua bloqueando o mecanismo de captação das monoaminas (**figura 1.4**), levando a uma potencialização inicial da atividade desses neurotransmissores nos receptores pós-sinápticos (REITH et al., 1997). Desta forma, inicialmente, a cocaína provoca uma sensação de euforia e prazer e produz melhora das atividades motoras e intelectuais, além de perda da sensação de cansaço, anorexia e insônia (POLLOCK et al., 1991). Entretanto, o bloqueio prolongado da recaptção, causado pelo uso crônico, acarreta na depleção monoaminérgica de DA e 5-HT, tendo como consequência uma supersensibilização de receptores pós-sinápticos e hipofunção desses neurotransmissores, podendo levar ao “*craving*” e, portanto, à readministração da droga (FOCCHIA, 2001).



1.3

Fonte: RANG et al., 2007

Figura 1.3. Principais vias do metabolismo da dopamina no cérebro (MAO, monoamina oxidase; COMT, catecol- o-metiltransferase).



1.4

**Fonte:** [www.ac-rouen.fr/pedagogie/equipos/svt/perso/synapse-dopamine/synapse.html](http://www.ac-rouen.fr/pedagogie/equipos/svt/perso/synapse-dopamine/synapse.html). Acesso: 24/05/09

**Figura 1.4. Mecanismo de ação da cocaína.** A cocaína inibe a recaptação de neurotransmissores como a NA, DA e 5HT, aumentando seus níveis na fenda sináptica.

O processo de captação das monoaminas foi inicialmente descrito por AXELROD (1971) e é de suma importância para a finalização da ação do neurotransmissor na fenda sináptica. A captação é mediada por um carreador ou transportador localizado no lado externo do neurônio catecolaminérgico, e é saturável, obedecendo a cinética de Michaelis-Menten. Um processo de transporte seletivo para NA é encontrado apenas nos neurônios noradrenérgicos, enquanto um transportador com especificidade diferente é encontrado nos neurônios dopaminérgicos. Estes transportadores fazem parte de uma grande família de neurotransportadores (AMARA & KUHAR, 1993). O processo de captação é dependente de energia, desde que ele pode ser inibido pela incubação a baixas temperaturas ou por inibidores metabólicos. O processo depende de um gradiente de  $\text{Na}^+$  e de  $\text{Cl}^-$ . Este transporte pode ser inibido por drogas como os antidepressivos e a cocaína.

A DA constitui em média 80 % do conteúdo de catecolaminas no cérebro. As projeções originárias de áreas cerebrais que sintetizam este neurotransmissor originam quatro vias axonais,

as quais são denominadas: (1) Nigro-estriatal; (2) mesolímbica; (3) mesocortical e (4) tuberoinfundibular. A DA exerce suas ações ao se ligar a receptores de membrana específicos (GINGRICH & CARON, 1993). Estes receptores podem ser de 5 tipos e fazem parte das subfamílias D<sub>1</sub>-símile (D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub>) e D<sub>2</sub>-símile (D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub>), com base em suas propriedades bioquímicas e farmacológicas, enquanto os efeitos da NA são mediados por receptores dos tipos  $\alpha$  e  $\beta$ . Os camundongos que não apresentam estes receptores apresentam significantes déficits fisiológicos. Como, por exemplo, animais *knockout* para receptor D<sub>1</sub>, apresentam hiperlocomoção e propriedades estriatais alteradas. Os *Knockout* para receptor D<sub>2</sub> apresentam os movimentos comprometidos e para o receptor D<sub>3</sub> hiperlocomoção. No caso dos receptores  $\beta$  os animais *Knockout* para receptor  $\beta_1$  morrem prematuramente após o nascimento e os sobreviventes apresentam respostas cardiovasculares alteradas. Os receptores pós-sinápticos dos neurônios recebem informações dos transmissores liberados de um outro neurônio (pré-sináptico). Os receptores dopaminérgicos estão envolvidos em importantes ações, como comportamento estereotipado e hiperlocomoção. Também podemos citar seu envolvimento em doenças como a esquizofrenia, que é causada principalmente pela superestimulação de receptores D<sub>2</sub>. O bloqueio destes receptores pode levar à doença de Parkinson ou discinesia tardia. Os ligantes destes receptores facilmente discriminam as subfamílias D<sub>1</sub>- e D<sub>2</sub>-símile porém a maioria deles não diferencia claramente os diferentes membros de uma mesma subfamília.

Em relação aos receptores noradrenérgicos existentes no cérebro, são os receptores  $\beta_1$  e  $\beta_2$  os quais não podem ser diferenciados em termos de função fisiológica. A densidade do receptor  $\beta_1$  varia em diferentes áreas cerebrais, diferentemente do que acontece com os receptores  $\beta_2$  que estão restritos à glia e vasos sanguíneos.

A serotonina é sintetizada a partir do aminoácido L-triptofano após sua captação do sangue para o cérebro. A fonte primária do triptofano é a dieta. O triptofano é convertido a 5-hidroxitriptofano pela ação da triptofano hidroxilase, enzima sintetizada no corpo celular dos neurônios do núcleo da rafe. A enzima descarboxilase converte então o 5-hidroxitriptofano em serotonina (5-hidroxitriptamina – 5HT). A serotonina é metabolizada pela MAO dando origem ao ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA).

Este neurotransmissor após sintetizado é armazenado em vesículas e liberado por exocitose para interagir com seus receptores. A serotonina pode se ligar a 14 receptores que são agrupados em famílias (FRAZER & HENSLER, 1999):

- A família 5HT<sub>1</sub> compreende os receptores 5HT<sub>1A</sub>, 5HT<sub>1B</sub>, 5HT<sub>1D</sub>, que são acoplados à proteína G inibitória, produzindo inibição da atividade da adenililciclase e abertura dos canais de potássio, o que resulta em hiperpolarização. Os receptores 5ht<sub>1E</sub> e 5ht<sub>1F</sub> possui mecanismo efetor desconhecido.

- A família 5HT<sub>2</sub> inclui os receptores 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2B</sub> e 5HT<sub>2C</sub> (formalmente 5HT<sub>1C</sub>). Estes estimulam a fosfolipase C específica para os fosfoinositídeos.

- O receptor 5HT<sub>3</sub> pertence à superfamília dos receptores ligados a canais iônicos, causando uma rápida despolarização nos neurônios.

- As famílias 5HT<sub>4</sub>, 5ht<sub>6</sub> e 5HT<sub>7</sub> são incluídos na família acoplada positivamente à adenilciclase. Uma nova família de receptores serotoninérgicos 5ht<sub>5A</sub> e 5HT<sub>5B</sub> ainda possui o mecanismo efetor desconhecido.

Os subtipos de receptores serotoninérgicos possuem localizações diferentes no SNC; os receptores 5HT<sub>1A</sub> localizam-se principalmente no hipocampo, septo, amígdala, hipotálamo e neocórtex. Este receptor está localizado em alta densidade no corpo celular de neurônios serotoninérgicos nos núcleos da rafe dorsal e medial onde fazem a função de autoreceptores modulando a atividade de neurônios serotoninérgicos. Os subtipos 5HT<sub>1B</sub> e 5HT<sub>1D</sub> estão localizados nos núcleos da base particularmente no globo pálido e substância negra. Os receptores 5HT<sub>2A</sub> estão localizados em áreas corticais, particularmente no córtex frontal, também estão localizados no claustrum, núcleos da base e núcleo olfatório. Os receptores 5HT<sub>4</sub> estão localizados em grande concentração no corpo estriado, substância negra e tubérculo olfatório e hipocampo e indiretamente medeiam o aumento da liberação de DA estriatal. E o receptor 5HT<sub>7</sub> está localizado no córtex, septo, tálamo, hipotálamo, amígdala (FRAZER & HENSLER,1999).



A serotonina está envolvida em praticamente todo tipo de comportamento tais como, apetitivo, emocional, motor, cognitivo e autonômico. Por suas ações os neurônios serotoninérgicos e receptores são alvos para uma ampla variedade de drogas, como antidepressivos, antipsicóticos, antimigranosos e envolvidas no tratamento de náusea e vômitos entre outros.

A redução da transmissão monoaminérgica (DA e 5-HT) implica em numerosos sintomas e desordens psiquiátricas como depressão, ansiedade, insônia, impulsividade e sintomas de agressividade, que estão associados com a abstinência da droga. Estudo prévio realizado no nosso laboratório (MACÊDO et al., 2001) demonstrou que diferentes tempos de retirada da administração de cocaína causa mudanças em receptores dopaminérgicos (e muscarínicos) em córtex pré motor de ratos.

Baseado em dados da literatura, pode-se supor que as alterações provocadas pelo uso repetido de cocaína no sistema monoaminérgico justifica o emprego de agonistas e antagonistas dopaminérgicos e serotoninérgicos no tratamento da dependência de cocaína. De fato, alguns estudos em ratos submetidos a agonistas dopaminérgicos D1 mostraram redução do uso de cocaína, ao contrário de agonistas dopaminérgicos D2, o que pode ser uma esperança na pesquisa de novos tratamentos com agonistas dopaminérgicos. (FOCCHIA et al, 2001; SELF & NESTLER, 1998).

Apesar da cocaína interferir principalmente nos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico de neurotransmissão, outros sistemas como o glutamatérgico e gabaérgico parecem estar envolvidos com sintomas de abstinência e processo de neuroadaptação, que normalmente ocorrem como consequência à interrupção do uso repetido da droga.

#### **1.4. Ansiedade e depressão na abstinência de cocaína**

Os sintomas de retirada da cocaína tem recebido limitada atenção de clínicos e pesquisadores, devido a natureza não específica dos sintomas. Na retirada de cocaína surgem uma constelação de sintomas incluindo a depressão, ansiedade, fadiga, aumento do apetite, insônia, agitação ou retardo psicomotor. Estes sintomas podem ser resultado direto do uso de cocaína ou

devido a exacerbação de comorbidades psiquiátricas (SOFUOGLO et al., 2005). Dentre os efeitos causados na abstinência, investigamos os principais: a ansiedade e depressão.

A ansiedade é definida como uma manifestação comportamental normal associada ao estresse ou dificuldade psicológica associada a uma condição patológica. Quando a ansiedade é crônica e não está claramente associada a um evento bem definido ela é considerada anormal e necessita de intervenção psicológica ou psiquiátrica. Embora diversas formas de tratamento sejam aplicadas, a ansiedade é atualmente tratada com fármacos ansiolíticos (SANGER, 1991). A ansiedade, incluindo os componentes cognitivo, somático, emocional e comportamental é um dos maiores sintomas de retirada da cocaína, que pode ser relatada por um estado anedônico do sistema de recompensa ou por uma desregulação do sistema de estresse após repetidas exposições à cocaína (YANG et al., 1992).

Em termos biológicos, a ansiedade induz a um forma particular de inibição comportamental, que ocorre em resposta aos eventos ambientais novos, não recompensadores (condições em que a recompensa é esperada) ou à punição. Em animais, esta inibição comportamental pode tomar a forma de imobilidade ou de supressão de uma resposta comportamental, como pressionar uma alavanca para obter comida. Para desenvolver novos fármacos ansiolíticos faz-se necessário testar animais que forneçam um bom guia para atividades em seres humanos e empenho para desenvolver e dar validade a tais testes (RANG et al, 2007). Paine et al (2002) afirma que a administração aguda de cocaína pode levar a uma resposta ansiogênica em diferentes modelos de ansiedade em roedores. Quando utilizamos o termo “ansiedade” em roedores não queremos dizer que o animal sente ansiedade, estamos apenas nos referindo ao comportamento exibido pelo animal em testes comportamentais de ansiedade.

Um outro sintoma que pode surgir na abstinência da cocaína é a depressão, é o distúrbio afetivo mais frequente, podendo variar de uma condição muito branda, aproximando-se da normalidade a uma depressão severa (psicótica) acompanhada por alucinações e delírios. Os sintomas de depressão incluem componentes emocionais e biológicos. Dentre eles estão a apatia, o pessimismo, a baixa auto-estima, sentimentos de culpa, de inadaptação, assim como a indecisão e a perda de motivação, bem como o retardo de pensamento e de ação, a perda da libido, distúrbio do sono e perda do apetite (RANG et al.,2007). Em animais, não há condição conhecida que

corresponda a condição inata da depressão em seres humanos, mas diversos procedimentos foram descritos que produzem em animais estados comportamentais (retirada da interação social, perda de apetite, atividade motora reduzida, estresse, situações inescapáveis), típicos de depressão humana (PORSOLT et al., 1987).

As desordens psiquiátricas como a depressão, ansiedade e pânico compartilham uma série de semelhanças neurobiológicas com a retirada da droga, como diminuição de serotonina e dopamina e aumento de fator de liberação de corticotropina. Em um estudo realizado por Gawin & Kleber (1986), foi observado que o tratamento de retirada de cocaína falhava, principalmente, porque os pacientes apresentavam depressão, um dos mais frequentes sintomas da síndrome de abstinência. Além disso, outros estudos demonstram que a manifestação de sintomas de retirada pode acarretar na interrupção precoce do tratamento de usuários de cocaína (MULVANEY et al., 1999).

Assim, diversos estudos têm demonstrado que muitos sistemas de neurotransmissão estão envolvidos na neurobiologia do vício e recaída induzidos pela administração abusiva de cocaína (WOLF, 1998; VANDERSCHUREN & KALIVAS, 2000; TZSCHENTKE & SCHMIDT, 2003; HUMMEL et al., 2004). Dentre eles, destacam-se a participação do sistema dopaminérgico e serotoninérgico. Em ratos, pode-se observar que a cocaína pode induzir comportamentos de ansiedade e depressão e o estado comportamental destes animais causados pela retirada de cocaína é proporcional a quantidade de cocaína consumida (MARKOU & KOOB, 1991).

Sintomas de ansiedade e depressão consistem em frequentes manifestações iniciais da síndrome de abstinência ao uso continuado de cocaína (GAWIN, 1991; SOFUOGLO et al., 2005), tendo sido observados tanto em relatos clínicos quanto em experimentos com animais (PAINE et al., 2002). Tais manifestações clínicas são conseqüências de alterações neuroadaptativas (transitórias ou persistentes) em determinadas áreas cerebrais, incluindo mudanças nos sistemas de neurotransmissores dopamina, serotonina e noradrenalina, que são causadas pelo uso repetido da cocaína, as quais podem predizer o comportamento de busca, “craving” e recaída após períodos de abstinência relativamente longos (TANG et al., 2004).

## 1.5. Estresse Oxidativo e Cocaína

O estresse oxidativo é o resultado da excessiva produção de espécies químicas reativas, como os radicais livres. O termo radical livre faz referência a um átomo ou molécula altamente reativa, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica. É este não-emparelhamento de elétrons da última camada que confere alta reatividade a esses átomos ou moléculas. Como em sua maioria estas substâncias são derivadas do metabolismo do O<sub>2</sub>, o termo “espécies reativas do oxigênio” (EROs) torna-se mais apropriado. As EROs são encontradas em todos os sistemas biológicos. Em condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico, o O<sub>2</sub> sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de H<sub>2</sub>O. Durante esse processo são formados intermediários reativos, como os radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroperoxila (H<sub>2</sub>O<sup>\*</sup>) e hidroxila (OH<sup>\*</sup>) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Normalmente a redução completa do O<sub>2</sub> ocorre na mitocôndria, e a reatividade das EROs é neutralizada com a entrada dos quatro elétrons (HALLIWELL, 1992; HALLIWELL & GUTTERIDE, 1999). A catalase é uma hemoproteína citoplasmática que catalisa a redução do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O e O<sub>2</sub>. É encontrada no sangue, medula óssea, mucosas, rim e fígado (MAYES, 1990). Sua atividade é dependente de NADPH (SCOTT et al., 1991).

### Quadro 1– Reação da catalase



**Fonte:** MICHIELS et al., 1994

As espécies químicas reativas podem também ser produzidas como um subproduto de outras vias bioquímicas, incluindo a síntese de óxido nítrico (NO) e o metabolismo do ácido araquidônico (que estão implicados na excitotoxicidade), assim como o sistema de oxidase de função mista. Não controladas, as EROs atacam muitas moléculas importantes, incluindo enzimas, lipídios de membrana e DNA. Os mecanismos de defesa contra estas moléculas são fornecidos na forma de enzimas (superóxido dismutase (SOD), catalase, glutathiona peroxidase,

glutathione redutase) e outros antioxidantes como a albumina (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999), ácido ascórbico, glutatíon e  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), que normalmente mantêm essas espécies sob controle.

Clinicamente, o estresse oxidativo pode causar lesão tecidual relacionado com muitas desordens fisiopatológicas como a hipóxia, a inflamação e a isquemia tecidual e de reperfusão. Outras teorias afirmam que o estresse oxidativo pode estar relacionado com disfunção neurológica associada a doenças incluindo a doença de Parkinson, Alzheimer, epilepsias, dentre outras (BEYER et al., 1998).

O metabolismo da cocaína parece estar envolvido com a geração de estresse oxidativo, visto que este produz uma reação redox incomum na forma de nitroxido-hidroxilamina, dentre outras. O ciclo redox que ocorre *in vivo* com oxigênio e agentes transferidores de elétrons (TE) pode ocorrer dando origem ao EO através da geração de ERO, tais como peróxido, hidroperóxidos, alquilperóxidos, hiponitrito e diversos radicais (superóxido, hidroxil, alcoxil e alquilperoxil). Em alguns casos, a transferência de elétrons resulta em uma interferência com o transporte normal de elétrons ou efeitos elétricos, isto é, na respiração ou neuroquímica. Os TE e EO estão sendo cada vez mais relacionados com o mecanismo de ação de drogas e toxinas, tais como, agentes anti-infecciosos (KOVACIC & BECVAR, 2000) carcinógenos (KOVACIC & JACINTHO, 2001), neurotoxinas (ADAMS et al., 2001; JACINTHO & KOVACIC, 2003) e vários outros, inclusive doenças humanas (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1999).

Estudos recentes de nosso laboratório (MACÊDO et al., 2005) e de outros grupos (SHARAN et al., 2003) têm demonstrado a participação do estresse oxidativo no mecanismo de ação da cocaína, o que pode resultar em neurodegeneração. Dietrich et al. (2005) também demonstraram que a cocaína foi capaz de aumentar a produção das EROs em córtex frontal e corpo estriado de ratos tratados de forma aguda e repetida. Com base em tais considerações, neste projeto também pretende-se investigar a participação do estresse oxidativo na neuroadaptação consequente à interrupção do tratamento subcrônico com cocaína.

***RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA***

---

---

## 2. RELEVÂNCIA E JUSTIFICATIVA

Um dos maiores problemas clínicos enfrentados no combate ao vício das drogas é a recaída. Estudos mostram que usuários são suscetíveis à volta ao consumo de drogas de abuso mesmo após longos períodos de retirada ou abstinência (ARRUDA-CARVALHO, 2005).

Recentemente, dados na literatura revelam uma grande associação entre sintomas da retirada da cocaína e a severidade do vício, uma vez que usuários de cocaína que relatam tais sintomas apresentam maiores problemas relacionados com a dependência à droga, quando comparados àqueles que não relatam tais sintomas (SCHUCKIT et al., 1999). Além disso, a manifestação desses sintomas pode acarretar na interrupção precoce do tratamento de usuários de cocaína (MULVANEY et al., 1999), respaldando a importância de se avaliar alterações comportamentais subsequentes à interrupção de um tratamento subcrônico de cocaína.

Estudo clínico tem mostrado que as drogas que alteram o humor exercem seus efeitos através da neurotransmissão da serotonina e dopamina (NUTT, 2006). E os estudos pré-clínicos confirmam que estas drogas reduzem o comportamento de ansiedade e depressão relacionado com as monoaminas (HINDMARCH, 2002).

Como muitos sistemas de neurotransmissores parecem estar envolvidos com sintomas de abstinência e consequente processo de neuroadaptação, é de igual relevância a investigação de processos de neuroadaptação envolvidos nestes sistemas, mediante o estudo neuroquímico das áreas cerebrais envolvidas. Consequentemente, a investigação de drogas que possam reverter tais alterações comportamentais e neuroquímicas será de grande interesse e valia para a comunidade científica que busca incansavelmente alternativas terapêuticas que reduzam os sintomas de abstinência e, consequentemente, a “fissura” ou “*craving*” pela cocaína.

***OBJETIVOS***

---

---



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Geral**

Avaliar as alterações comportamentais de ansiedade e depressão em ratos submetidos a diferentes tempos de retirada da administração subcrônica (7 dias) de cocaína, bem como investigar as conseqüentes alterações neuroquímicas após cada período de abstinência da droga. Além disso, serão testadas diferentes drogas com o intuito de reverter tais alterações comportamentais e neuroquímicas.

#### **3.1. Objetivos específicos**

- ◆ Determinar as alterações comportamentais provocadas por diferentes tempos de retirada forçada (24h, 7 e 21 dias) após o tratamento subcrônico (7dias) com cocaína em ratos, através de modelos experimentais de ansiedade (Campo Aberto, Labirinto em Cruz Elevado) e depressão (Nado Forçado).
- ◆ Determinar as alterações neuroquímicas (neuroadaptação) provocadas pela retirada forçada do tratamento subcrônico com cocaína, em corpo estriado de ratos, avaliando-se os seguintes parâmetros:
  - Concentração de monoaminas – NA, DA, 5-HT - e seus metabólitos - DOPAC, HVA e 5-HIAA - (HPLC);
  - Número de receptores D1, D2-símile e serotoninérgicos 5HT2;
  - Atividade da catalase
- ◆ Testar diferentes fármacos com ações nos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico, e noradrenérgico com o intuito de reverter as alterações comportamentais e neuroquímicas.

***MATERIAIS E MÉTODOS***

---

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Drogas e Reagentes

Drogas/Reagentes	Origem
Água Destilada	Deionizador
Álcool etílico P.A.	Quimex, Brasil
Bupropiona	Zyban®, Glaxo-Wellcome
Buspirona	Buspar®, Bristol
Cloridrato de paroxetina	Pondera®, Eurofarma
Cloridrato de propranolol	Propranolol®, Neovita
Ondansetrom	Nauseadrom®, Teuto
SCH 23390	Sigma
Sulpirida	Equilid®, Aventis Pharma

## 4.2 Equipamentos

Equipamentos	Origem
Agitador de tubos	Modelo 251, FANEN, SP, Brasil
Balança Analítica	Modelo H5, Mettler, Suíça
Balança para animais	Filizola, Brasil
Campo Aberto	Fabricado no próprio laboratório
Centrífuga refrigerada	Modelo Marathon 26 KMR, Fisher Scientific
Cronômetro	Incoterm, Brasil
Cubetas de quartzo	Hellma
Deionizador	USF, Elga, USA
Detector eletroquímico	L-ECD-6 <sup>a</sup> , Shimadzu Corp., Japan
Equipamento de Millipore para filtração à vácuo	Millipore Apparatus, Bedford, MA, USA
Espectrofotômetro	Modelo Beckman DU 640B, Fullerton, CA, USA
Freezer a – 70 °C	Modelo ULT 2586-3D14, Revco Scientific, Inc. Asheville, N.C. ,USA
Homogeneizadores manuais	Bellico, USA
Labirinto em cruz elevado	Fabricado no departamento
Medidor de pH, modelo B374	Micronal, SP, Brasil
Pipetas Automáticas	H.E., Dinamarca
Recipiente do Nado Forçado	Fabricado no próprio laboratório
Sonicador	Modelo PT 10-35. Brinkmann Instruments Inc., USA
Vidrarias	Pirex, Brasil

### **4.3. Animais**

Foram utilizados ratos *Wistar* (150-200 g), machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará, mantidos em ciclo de iluminação ambiental (claro/escuro) de 12 horas, com temperatura em média de 25 °C, recebendo ração padrão tipo Purina e água *ad libitum*.

Os experimentos realizados estão de acordo com o guia de cuidados e usos de animais de laboratório do Departamento de saúde e serviços humanos dos Estados Unidos da América (EUA) e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas Animais da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob protocolo n:16/09 .

### **4.4. Preparo das Drogas**

Cocaína (cloridrato de cocaína, sempre do mesmo lote, foi fornecida pela Polícia Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil). A cocaína com pureza de 100 % por análise no Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará e as outras drogas utilizadas no capítulo 1 deste trabalho, foram dissolvidas em água bidestilada momentos antes da administração por via intraperitoneal em um volume final de 0,1 mL para cada 10 g de peso do animal.

Para o estudo da reversão das alterações comportamentais e neuroquímicas foram selecionados fármacos com ação nos sistemas dopaminérgico, noradrenérgico e serotoninérgico.

### **4.5. Tratamento dos Animais e Procedimento Experimental**

Os animais foram tratados com cocaína (20mg/kg) durante 07 dias consecutivos, por via intraperitoneal. As alterações comportamentais foram avaliadas vinte e quatro horas (24h), sete dias (7d) e vinte e um dias (21d) após a última administração de cocaína. Para isto, foram utilizados os testes de “labirinto em cruz elevado (Plus maze)”, “atividade locomotora espontânea

(ALE)” e “nado forçado” para a investigação de possíveis efeitos de ansiedade e depressão provocados pela retirada forçada do tratamento com a cocaína. Após os testes comportamentais, os animais foram sacrificados e a área cerebral (corpo estriado) foi retirada para os testes neuroquímicos.

Posteriormente, foi determinada a densidade dos receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>-símile, serotoninérgicos através de ensaios de *binding* em homogenatos cerebrais. Os níveis das monoaminas, NA, DA e 5-HT e seus metabólitos DOPAC, HVA e 5-HIAA, foram determinadas utilizando HPLC. Foi determinada a atividade da catalase em corpo estriado dos animais, com o intuito de se avaliar a participação do estresse oxidativo nas alterações neuroquímicas.

Os fármacos utilizados com o intuito de reverter as alterações comportamentais e neuroquímicas foram o propranolol (10mg/kg), o ondansetrom (4mg/kg) e buspirona (5mg/kg) administrados intraperitonealmente 30 minutos antes dos experimentos comportamentais.

## **4.6. Protocolo dos Experimentos Comportamentais**

### **4.6.1 Avaliação da Atividade Ansiolítica**

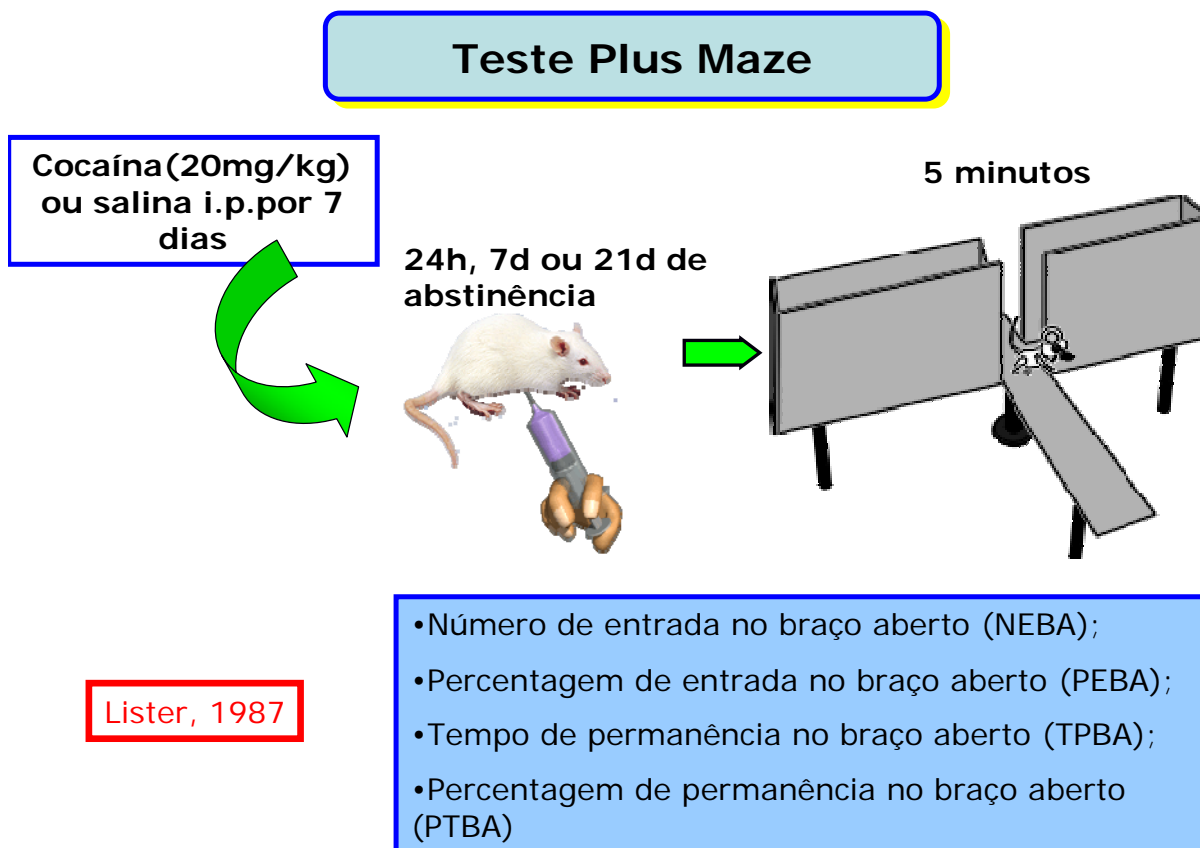
#### **4.6.1.1. Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)**

O modelo LCE (LISTER, 1987) consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm), também opostos, em forma de cruz (**Quadro 4.1**). Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm). A plataforma, as paredes laterais dos braços fechados são confeccionadas em acrílico transparente e o chão em acrílico preto. O aparelho está elevado a uma altura de 45 cm do nível do chão. Após 24 horas, 7 dias ou 21 dias após a última administração de cocaína via i.p., os animais foram colocados no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 minutos. As medidas comportamentais registradas no LCE foram: número de

entradas e o tempo despendido nos braços abertos e nos fechados. A frequência total de entradas é obtida pela soma simples das frequências de entradas nos braços abertos e nos fechados. Para análise estatística dos dados e confecção dos gráficos a percentagem de entradas nos braços abertos é calculada dividindo-se a frequência de entradas nos braços abertos pela frequência total de entradas, e esse índice multiplicado por 100. De maneira semelhante é calculada a percentagem do tempo em que os animais permanecem nos braços abertos. Dessa forma os parâmetros levados em consideração para análise estatística são: número de entradas nos braços abertos (NEBA), tempo de permanência nos braços abertos (TPBA), percentagem de entrada nos braços abertos (PEBA) e percentagem do tempo de permanência nos braços abertos (PTBA).

Posteriormente, com a finalidade de reverter a ansiedade causada no período de abstinência de 24h da cocaína foram feitos tratamento com os fármacos ondansetrom (4mg/kg), propranolol (10mg/kg) e buspirona (5mg/kg) por via intraperitoneal.

## QUADRO 2. Esquema do Teste do Plus Maze.



### 4.6.1.2. Teste do Campo Aberto

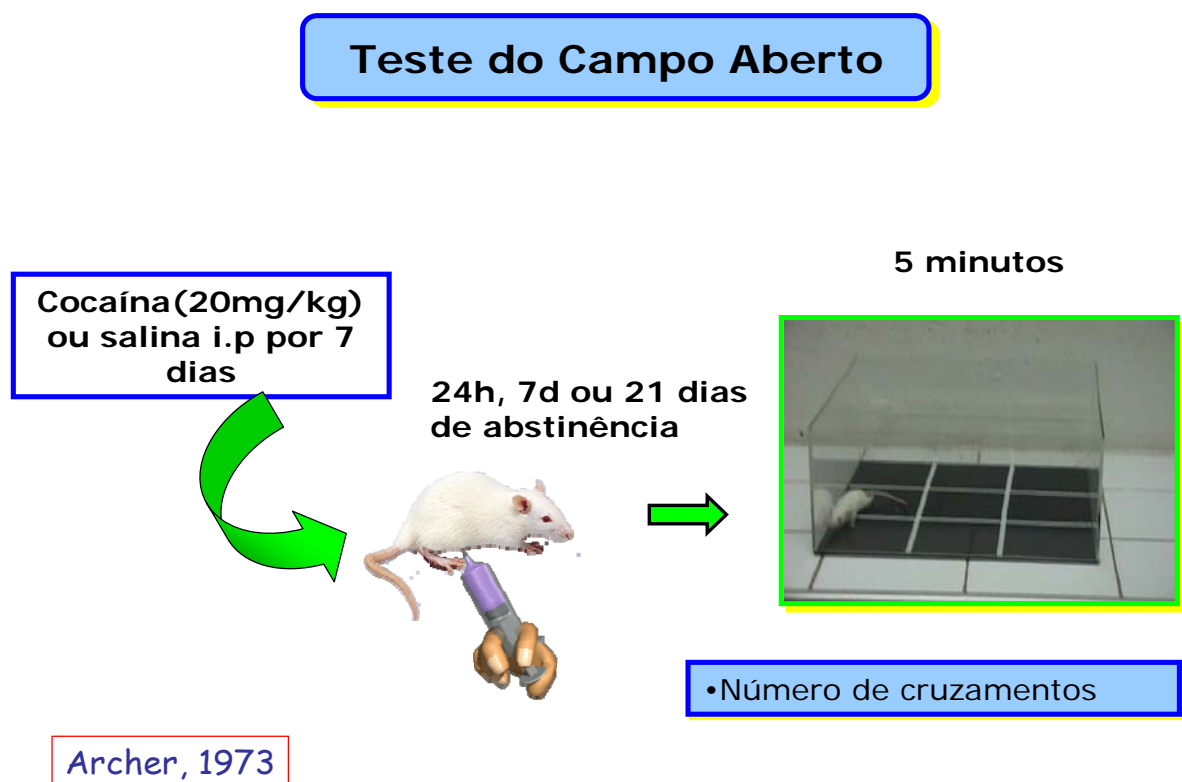
Experimento utilizado para avaliar a atividade exploratória do animal (ARCHER, 1973). Os animais foram colocados em um campo aberto, com área de 50 x 50 cm e iluminado por uma luz vermelha (**Quadro 4.2**). Previamente, foram habituados durante 1 minuto ao campo aberto e, posteriormente, submetidos ao teste durante 5 minutos. Os parâmetros para observação são: número de cruzamentos com as quatro patas (atividade locomotora espontânea) registrados durante um tempo de 5 minutos.

Este teste é considerado como um bom modelo animal de ansiedade por sua sensibilidade bidirecional a tratamentos farmacológicos, podendo avaliar o comportamento semelhante à ansiedade em várias espécies, incluindo animais transgênicos e camundongos knockout



(CAROLA et al., 2002). Além disso, o TCA pode também ser utilizado para examinar os efeitos de agentes físicos não-farmacológicos, como exposição ao predador e/ou procedimentos semelhantes, obtendo-se como resultado uma avaliação etológica detalhada (CHOLERIS et al., 2001).

### QUADRO 3. Esquema do Teste do Campo Aberto.



#### 4.6.2. Avaliação da Atividade Antidepressiva

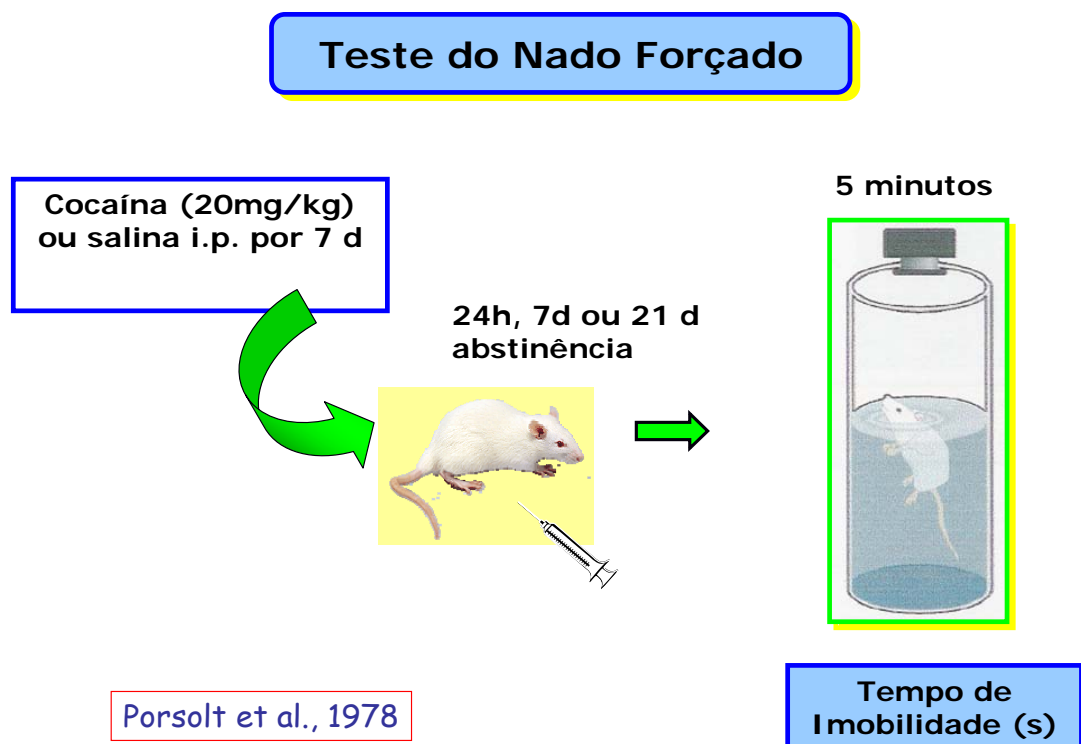
##### 4.6.2.1. Teste do Nado Forçado (Porsolt et al., 1978)

O teste de nado forçado (TNF) introduzido por Porsolt em 1978 e aplicado em roedores, se baseia na atividade motora seguida de imobilidade em uma situação onde não é possível uma fuga (**Quadro 4.3**). No teste, após um período inicial de luta, o animal adota uma postura típica

realizando apenas os movimentos necessários para manter sua cabeça fora da água. O tempo total em que o animal mostra este comportamento é então medido (HÉDOU et al., 2001).

O experimento inclui duas exposições a um tanque de água (22 cm de diâmetro e 40 cm de altura) espaçadas de 24 horas. Deve-se colocar água fresca a 25°C até a metade do tanque, cerca de 20 cm. Durante a primeira exposição, os animais, não tratados, foram colocados no tanque, um por vez, e deixados por 15 minutos. Durante a segunda exposição, os animais foram tratados e colocados no tanque onde o tempo de imobilidade foi contado durante cinco minutos.

#### QUADRO 4. Esquema do Teste do Nado Forçado.



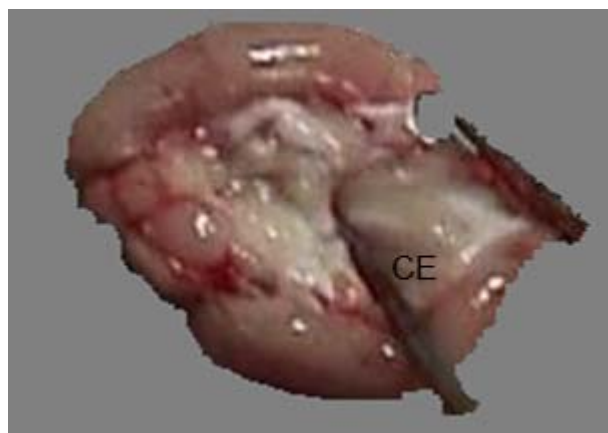
## **4.7. Protocolo dos Experimentos Neuroquímicos**

### **4.7.1. Dissecção da Área Cerebral (Corpo Estriado)**

Para a realização do estudo neuroquímico foi dissecada a área cerebral: corpo estriado. Os animais foram decapitados com uma guilhotina (Harvard, USA) e, em seguida, os encéfalos foram retirados e colocados sobre papel alumínio numa placa de petri com gelo. Acompanhando a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi liberada das leptomeninges com a ajuda de uma pinça reta de microdissecção que divulsionará o córtex delicadamente, em toda a sua extensão frontooccipital. O córtex já divulsionado foi rebatido para os lados, expondo parte do hipocampo que, divulsionado, foi deslocado e retirado (MACHADO, 2000).

O corpo estriado (caudado, putâmen e globo pálido) foi isolado das estruturas circunjacentes por divulsionamento com uma tesoura de microdissecção, sendo a sua retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex (**Figura 4.1**).

Terminada a dissecção, cada área foi colocada em papel de alumínio, sob gelo, pesada e armazenada a -10°C para uso posterior. Quando necessária a estocagem por um certo período de tempo (no máximo 2 meses) os tecidos são considerados como tendo a mesma viabilidade para experimentação que os ensaiados 24h após a dissecção (BURKE E GREENBAUN, 1987).



4.1

**Figura 4.1** Representação anatômica da região anatômica referente ao corpo estriado.

#### **4.8. Determinação da concentração de Monoaminas e seus Metabólitos com HPLC**

##### **Método**

Para a determinação dos níveis de catecolaminas foi utilizado o equipamento de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Performance). Na cromatografia líquida clássica, um adsorvente (alumina ou sílica) é empacotado em uma coluna e é eluído por um líquido ideal (fase móvel). Uma mistura para ser separada é introduzida na coluna e é carregada através da mesma por um líquido eluente (fase móvel). Se um composto da mistura (soluto) é adsorvido fracamente pela superfície da fase sólida estacionária, ele atravessará a coluna mais rapidamente que um outro soluto que seja mais fortemente adsorvido. Então, a separação dos solutos é possível se existem diferenças na adsorção pelo sólido. Os detectores eletroquímicos medem a condutância do eluente ou a corrente associada com a oxidação ou redução dos solutos. Para ser capaz de detectar no primeiro caso, os solutos devem ser iônicos e no segundo caso, os solutos devem ter a característica de serem relativamente fáceis de se oxidarem ou reduzirem.

Detectores eletroquímicos que medem corrente associada com a redução ou oxidação de solutos são chamados detectores amperométricos ou coulométricos. Neste estudo foi utilizado o tipo amperométrico que reage com uma quantidade muito menor de soluto, em torno de 1 %.

Todas as técnicas eletroquímicas envolvem a aplicação de um potencial para um eletrodo (geralmente de carbono vítreo), oxidação da substância que está sendo estudada próximo à superfície do eletrodo seguindo a amplificação e medida da corrente produzida. As catecolaminas são oxidadas nos grupos de anel hidroxil para produzir um derivado ortoquinona com a liberação de dois elétrons.

### **Procedimento Experimental**

Os animais foram decapitados 60 minutos após a abstinência de 24h, 7d e 21d, subsequente a administração de cocaína (20 mg/Kg) e salina (controle) por 7 dias, após as retiradas tiveram seus cérebros dissecados sobre gelo. O corpo estriado foi utilizado para preparar homogenatos a 10% (20mg área/100µl tampão). Os tecidos cerebrais foram homogeneizados em ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) e centrifugados por 15 minutos em centrífuga refrigerada (4°C) a 15.000 rpm. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante foi, então, injetada no equipamento de HPLC, para a análise química.

Para a análise das catecolaminas, uma coluna BDS HYPERSIL C18 com comprimento de 250 mm, calibre 4,6 mm e de partícula de 5 µm, da Thermo Scientific, foi utilizada. A fase móvel utilizada era composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico(SOS) 0,69 M, como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4 % v/v e tetrahydrofurano 1,7 % v/v. NA, DA, DOPAC, HVA, 5-HT e 5-HIAA foram eletronicamente detectados usando um detector amperométrico (Modelo L-ECD-6A da Shimadzu, Japão) pela oxidação em um eletrodo de carbono vítreo fixado em 0,85V relativo a um eletrodo de referência de Ag-AgCl. (HALLMAN, JOSSON, 1984)

### **Soluções Reagentes**

#### **Fase Móvel**

Para preparar um volume de 500 mL de fase móvel foram pesados 15,75 g de ácido cítrico (Grupo Química, RJ., Brasil) e 0,292 g de Cloreto de Sódio (Grupo Química, RJ., Brasil) completado para um volume de 400 mL com água puríssima (Milli-Q). Esta solução foi ajustada

para pH 3,0 com hidróxido de sódio 12,5 M (Reagen, RJ, Brasil). A esta solução foi adicionado o SOS 75 mg (Sigma, MO, USA) e completado o volume para 470 mL com água Milli-Q. Em seguida, foi procedida a filtração e degaseificação, e posteriormente adição de 20 mL de acetonitrila (Carlo Erba Reagenti, MI, Itália) e 10 mL de tetrahidrofurano (Sigma, MO, USA) para um volume final de 500 mL.

### **Ácido Perclórico 0,1 M**

Adicionou-se 1,8 mL de ácido perclórico (Sigma, MO, USA) em um balão volumétrico e o volume ajustado para 300 mL.

### **Padrões**

Os padrões foram preparados em uma concentração final de 4 ng/20 µL de solução de NA, DA, 5-HT, DOPAC, HVA e 5-HIAA (Sigma, MO, EUA). A partir da área dos picos desses padrões, as concentrações das amostras foram calculadas utilizando o programa Microsoft Excel® e os resultados expressos em ng/g de tecido.

## **4.9. Determinação da densidade dos receptores dopaminérgicos**

A determinação dos receptores dopaminérgicos foi feita através de ensaios de *binding* executados em homogenatos cerebrais, variando os seguintes parâmetros:

### **Receptores D<sub>1</sub>-símile**

Foi utilizado o ligante específico [<sup>3</sup>H]-SCH 23390 (87,0 Ci/mmol –Amersham Biosciences), de acordo com método previamente descrito (MELTZER et al., 1989).

### **Receptores D<sub>2</sub>-símile**

Foi utilizado o ligante específico [<sup>3</sup>H]-espiroperidol (114,0 Ci/mmol – Amersham Biosciences), segundo uma adaptação do método previamente descrito por KESSLER et al. (1991) e MELTZER et al. (1989).

## **Método**

O [<sup>3</sup>H]-SCH 23390 é um antagonista dopaminérgico que possui alta afinidade pelos receptores D<sub>1</sub>-símile. O ligante [<sup>3</sup>H]-espiroperidol é um antagonista dopaminérgico que possui alta afinidade pelos receptores D<sub>2</sub>-símile, possuindo também afinidade pelos receptores serotoninérgicos do tipo 5HT<sub>2</sub> (TERAI et al., 1989; KESSLER et al., 1991). Para bloquear os receptores serotoninérgicos foi utilizado um antagonista específico, a mianserina.

A dopamina, um agonista dopaminérgico, foi adicionada, na forma não marcada, nos *brancos* dos ensaios para receptor D<sub>1</sub> para determinar a radioatividade de *background* ou ligações não-específicas, em uma concentração elevada para interagir com os mesmos sítios de ligação do receptor, impedindo assim, a ligação do [<sup>3</sup>H]-SCH23390, que fica livre. O mesmo foi feito com relação ao receptor D<sub>2</sub>, mas neste caso foi utilizado o butaclamol, um antagonista de receptores dopaminérgicos, também com o intuito de determinar as ligações não-específicas. Esses ligantes livres são retirados do filtro através de lavagens sucessivas, e a radioatividade é, então, contada por cintilação líquida.

## **Procedimento experimental**

Logo após a dissecação das áreas cerebrais em gelo, como mencionado anteriormente, foram feitos homogenatos a 10 % em tampão tris-HCl 50 mM, pH 7,4.

Os homogenatos contendo 50-100 µg de proteína foram incubados em tampão tris-HCl modificado (50 mM, pH 7,4). No caso dos receptores D<sub>1</sub>-símile o tampão continha 0,1515 a 7,58 nM de [<sup>3</sup>H]-SCH 23390 para experimentos de saturação e 7,58 nM para experimentos de ponto único. No caso dos receptores D<sub>2</sub>-símile o tampão continha 10 µM de mianserina (incubada por 30 minutos à temperatura ambiente) para bloquear os receptores serotoninérgicos e 0,2358 a 4,72 nM de [<sup>3</sup>H]-espiroperidol para experimentos de saturação e 3,77 para experimentos de ponto único. Em ambos os ensaios, os respectivos ligantes eram incubados na presença e na ausência de dopamina 100 µM (durante 10 minutos), no caso dos receptores D<sub>1</sub>, ou butaclamol 10 µM, no caso dos receptores D<sub>2</sub> sendo o volume final do ensaio de 0,2 mL.

Após incubação a 37 °C durante 60 minutos, a reação foi terminada por filtração à vácuo através de filtros Whatman GF/B. Os discos de papel de filtro foram lavados três vezes com 4 mL de solução salina 0,9 % gelada, secos a 60 °C por no mínimo 2 h e colocados em frascos de vidro (*vials*) contendo 3 mL de um coquetel de cintilação líquida contendo tolueno.

A radioatividade foi medida em um contador de cintilação líquida Beckman LS-6500 com a eficiência de 61 %. O *binding* específico foi calculado como *binding* total menos o *binding* não-específico feito na presença de dopamina 100 µM ou butaclamol 10 µM, respectivamente para os receptores D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, e os resultados foram expressos como fentomoles por miligrama de proteína. A concentração de proteína foi determinada segundo o método de LOWRY (1951), utilizando-se BSA como padrão.

### **Soluções reagentes**

⇒ [<sup>3</sup>H]-**espiroperidol** (114 Ci/mmol, Amersham Biosciences)

5 µL de [<sup>3</sup>H]-espiroperidol foram diluídos em tampão tris-HCl , pH 7,4, de forma a obter uma concentração final de 43,28 nM.

⇒ [<sup>3</sup>H]- **SCH 23390** (87 Ci/mmol, Amersham Life Science)

5 µL de [<sup>3</sup>H]-SCH 23390 foram diluídos em tampão tris HCl, pH 7,4 de forma a obter uma concentração final de 11,5 nM

⇒ **Tampão Tris-HCl**

6 g de Tris-HCl (trizma base, Sigma, Brasil) foram diluídos em 1000 mL de água bidestilada, obtendo-se uma concentração de 50 mM. O pH foi ajustado com solução HCL 0,1 N (MERCK, Rio de Janeiro, Brasil) para pH 7,4.

⇒ **Tris HCl modificado**

NaCl 120 mM; KCl 1mM; CaCl<sub>2</sub> 2 mM; MgCl<sub>2</sub> 1 mM, NaEDTA 1 mM e ascorbato sódico 1 mM foram dissolvidos em tampão tris-HCl 50 mM pH 7,4

⇒ **Mianserina**



Mianserina (Sigma, St. Louis, MO, USA) foi diluída em tampão tris-HCl obtendo-se uma concentração final de 10  $\mu$ M.

⇒ **Dopamina (cloridrato de dopamina)**

10 mg de dopamina (Sigma, St. Louis, MO, USA) foram diluídas em 2 mL de tampão tris-HCl não modificado tendo uma concentração final de 5 mg/ml. A esta solução foi acrescentado ácido ascórbico 0,1 %.

⇒ **Butaclamol (Cloridrato de butaclamol (+)- )**

Butaclamol (RBI, MA, USA) foi dissolvido em ácido ascórbico a 0,1% de forma a se obter uma concentração final de 10  $\mu$ M.

⇒ **Coquetel de cintilação**

0,5 g de p-bis-2-(5-feniloxazolil) benzeno, POPOP (Sigma, St. Louis, MO, USA) e 4,0 g de 2,5-difeniloxazol, PPO (Sigma, St. Louis, MO, USA) foram dissolvidos em 1000 mL de tolueno (Beckman, Fullerton, CA, USA).

#### **4.10. Determinação dos receptores serotoninérgicos 5HT<sub>2</sub>**

##### **Método**

O ligante [<sup>3</sup>H]-espiroperidol é um antagonista dopaminérgico que possui alta afinidade pelos receptores D<sub>2</sub>-símile, possuindo também afinidade pelos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>2</sub> (TERAI et al., 1989; KESSLER et al., 1991). Para bloquear os receptores dopaminérgicos foi utilizado um agonista, a dopamina.

A ciproheptadina, um antagonista serotoninérgico, foi adicionada na forma não marcada, nos *brancos* dos ensaios para receptor 5HT<sub>2</sub> para determinar a radioatividade de *background* ou ligações não-específicas, em uma concentração elevada para interagir com os mesmos sítios de ligação do receptor, impedindo assim, a ligação do [<sup>3</sup>H]-espiroperidol, que fica livre. Esses

ligantes livres são retirados do filtro através de lavagens sucessivas, e a radioatividade é, então, contada por cintilação líquida.

### **Procedimento experimental**

Tecidos cerebrais de 3 animais formando um *pool* foram utilizados para experimentos de ponto único e saturação (*Scatchards*). O tecido foi homogeneizado em 2 ml de tampão Tris-HCl 0,05M pH 7,4. O homogenato a 10 % foi centrifugado por 15 min a 20.000 X g a 4° C. O sobrenadante foi descartado e o decantado foi lavado 3 vezes com o mesmo volume de tampão Tris-HCl 0,05 M. O decantado final foi ressuspense em 0,3 ml do mesmo tampão para determinação subsequente da ligação do [<sup>3</sup>H]-espiroperidol. Como descrito anteriormente no método dos receptores D<sub>2</sub>-símile, o referido ligante tem afinidade por receptores D<sub>2</sub> e 5HT<sub>2</sub> e foi utilizado para determinação destes últimos de acordo com o método descrito por PEROUTKA & SNYDER (1979), com algumas modificações. No ensaio as membranas (0,3–0,5 mg de proteína) são incubadas com tampão Tris- HCl (pH 7,4) com a seguinte composição: ácido ascórbico 0,1 %, NaCl 120 mM, KCl 5 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, na presença de [<sup>3</sup>H]-espiroperidol 4,72 nM e dopamina 100 µM para bloquear receptores D<sub>2</sub>-símile. A ligação inespecífica foi definida pela adição de ciproheptadina 100 µM. O tempo de incubação foi 30 min a 37 °C, e o volume final de 0,2 ml. Para experimentos de saturação as concentrações usadas de [<sup>3</sup>H]-espiroperidol variaram de 0,5 a 5 nM.

Após incubação a reação foi terminada por filtração a vácuo através de filtros Whatman GF/B. Os filtros foram lavados três vezes com 4 ml de solução salina 0,9 % gelada, secos a 60 °C por no mínimo 2 h e colocados em frascos de vidro (*vials*) com 3 ml de um coquetel de cintilação líquida contendo tolueno.

A radioatividade foi medida em um contador de cintilação líquida Beckman LS-6500 com uma eficiência de 61 %. A ligação específica foi calculada como a ligação total menos a ligação não-específica feita na presença de ciproheptadina 100 µM. Os resultados foram expressos como femtomoles por miligrama de proteína. A concentração de proteína foi determinada segundo o método de LOWRY et al. (1951) utilizando-se BSA como padrão.

## **Soluções reagentes**

⇒ [<sup>3</sup>H]-espiroperidol (114 Ci/mmol, Amersham Biosciences)

5 µL de [<sup>3</sup>H]-espiroperidol foram diluídos em tampão tris-HCl , pH 7,4, de forma a obter uma concentração final de 43,28 nM.

⇒ **Tampão Tris-HCl**

6 g de Tris-HCl (trizma base, Sigma, Brasil) foram diluídos em 1000 mL de água bidestilada, obtendo-se uma concentração de 50 mM. O pH foi ajustado com solução HCl 0,1 N (MERCK, Rio de Janeiro, Brasil) para pH 7,4.

⇒ **Tris HCl modificado**

NaCl 120 mM; KCl 1mM; CaCl<sub>2</sub> 2 mM; MgCl<sub>2</sub> 1 mM, NaEDTA 1 mM e ascorbato sódico 1 mM foram dissolvidos em tampão tris-HCl 50 mM pH 7,4.

⇒ **Dopamina (cloridrato de dopamina)**

10 mg de dopamina (Sigma) foram diluídas em 2 mL de tampão tris-HCl não modificado tendo uma concentração final de 5 mg/mL. A esta solução foi acrescentado ácido ascórbico 0,1 %.

⇒ **Ciproheptadina**

16,2 mg de ciproheptadina forma dissolvidos em 5 mL de água destilada para obtenção de uma solução de 1 mM.

⇒ **Coquetel de cintilação**

0,5 g de p-bis-2-(5-feniloxazolil) benzeno, POPOP (Sigma, St. Louis, MO, USA) e 4,0 g de 2,5-difeniloxazol, PPO (Sigma, St. Louis, MO, USA) foram dissolvidos em 1000 mL de tolueno (Beckman, Fullerton, CA, USA).

#### **4.11. Determinação da enzima catalase**

##### **Método**

A atividade da catalase foi medida pelo método que usa o peróxido de hidrogênio para gerar  $H_2O$  e  $O_2$  (MAEHLY & CHANCE, 1954). Desta forma a atividade da catalase foi medida pelo grau desta reação de transformação.

##### **Procedimento experimental**

Imediatamente após dissecação do corpo estriado, esta área foi homogeneizada em tampão fosfato 0,05 M, pH 7,0 a 10 % (peso/volume). O primeiro passo para determinação da atividade da catalase é o preparo do meio de reação que é constituído por 9 mL de peróxido de hidrogênio diluído em água destilada (1/1000) em 0,5 mL de tampão tris-HCl 1 M EDTA 5mM, pH 8 e 0,5 mL de água destilada. A amostra (20  $\mu$ L) após centrifugada a 10.000 Xg por 5 min foi adicionada a 980  $\mu$ L do meio de reação. Após 1 min, a absorbância inicial foi registrada e a final foi lida após 6 min. O comprimento de onda utilizado foi de 230 nm. A curva padrão foi feita utilizando catalase purificada (Sigma, MO, USA) sob condições idênticas às do ensaio. As proteínas foram determinadas utilizando o método de LOWRY et al. (1951).

##### **Soluções reagentes**

###### **⇒ $H_2O_2$ diluído**

10  $\mu$ L de peridol 30 % foram diluídos em água destilada q.s.p. 10 ml.

###### **⇒ Tampão tris-HCl 1M EDTA 5mM**

Foram pesados 12,11 g de trizma base e 0,1861 g de EDTA e diluídos para 100 mL de água destilada e o pH foi ajustado para 8,0 com ácido clorídrico.

#### 4.12. Análise Estatística

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o software GraphPad Prism, versão 5.0 para Windows, GraphPad Software (San Diego, Califórnia, USA). Copyright © 1994-1999 por GraphPad Software.

Para comparações múltiplas foi utilizada Análise de variância (ANOVA) e teste de Student Newman Keuls como teste *post hoc*, os dados não paramétricos foram analisados pelo teste Student t. Em todas as análises estatísticas, os valores foram representados pela Média ± Erro Padrão da Média (EPM) com o número de animais entre parêntese e foi considerado o nível crítico para rejeição da hipótese de nulidade menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ). Os asteriscos (\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ) caracterizam o grau de significância, assim como os demais símbolos a,b,c,d,e.

***RESULTADOS***

---

---

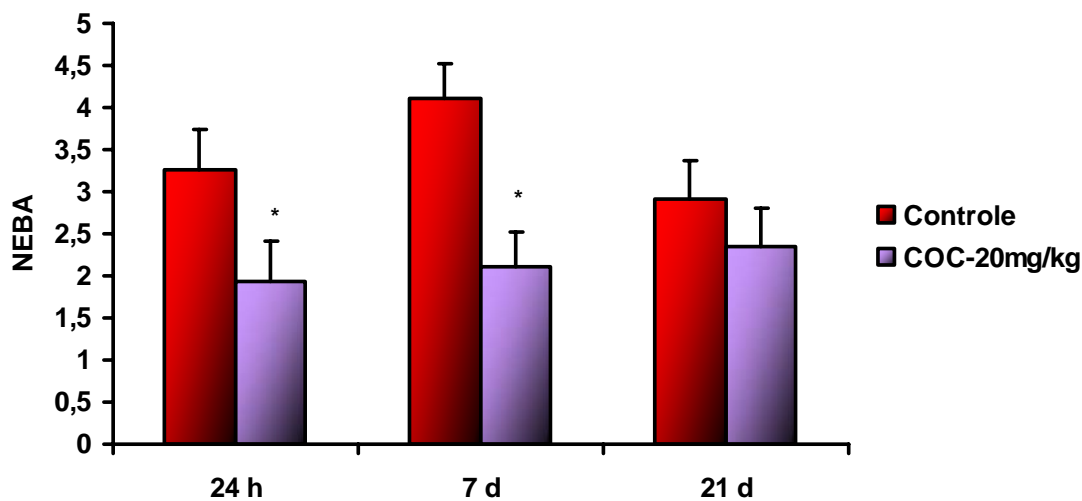
## 5.RESULTADOS

### 5.1. Avaliação da Atividade Ansiolítica

#### 5.1.1. Teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

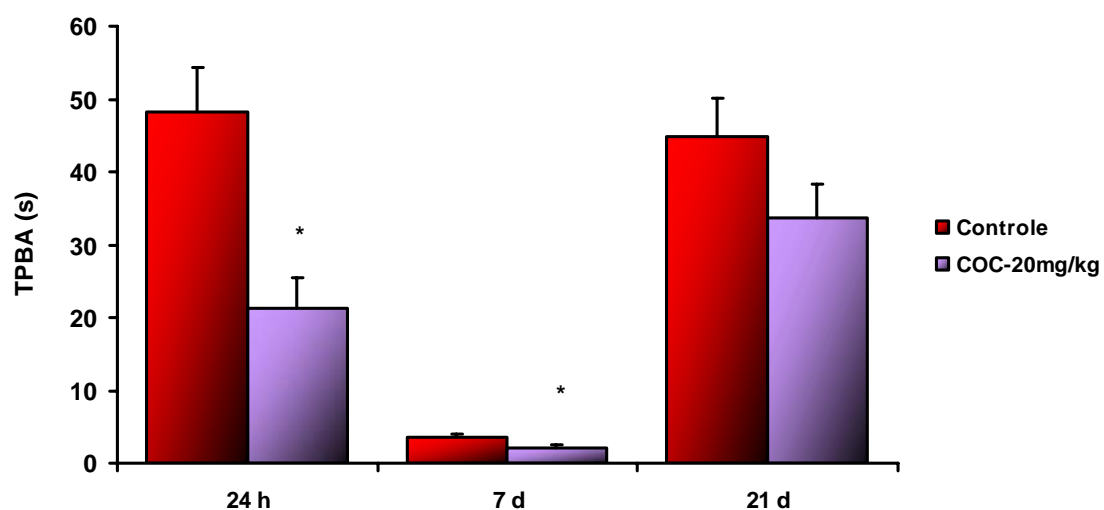
**Efeitos da cocaína no Teste do labirinto em cruz elevado (LCE) em ratos após 24 h; 7 dias e 21 dias de retirada, subsequente a um tratamento sub-crônico com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias.**

Como apresentado na **Figura 5** observa-se que houve uma redução significativa do número de entradas nos braços abertos (NEBA) após 24h de retirada da cocaína ( $1,93 \pm 0,40$ ;  $p < 0,05$ ) que persistiu durante 7 d ( $2,11 \pm 0,42$ ;  $p < 0,05$ ) quando comparado aos seus respectivos controles (24h:  $3,26 \pm 0,47$ ; 7d:  $4,11 \pm 0,46$ ). Após 21 dias de retirada (21d:  $2,35 \pm 0,37$ ) ainda foi encontrado uma redução, embora não significativa do número de entradas nos braços abertos quando comparado ao controle 21d ( $2,92 \pm 0,35$ ).



**FIGURA 5 - Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos. Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias, e após 24h, 7d e 21d foi realizado o experimento. Os resultados são expressos como média ± EPM do número de entradas nos braços abertos (NEBA). Para análise estatística foi utilizado teste Student t. Valores significativos \* $p < 0,05$ , quando comparados ao controle.**

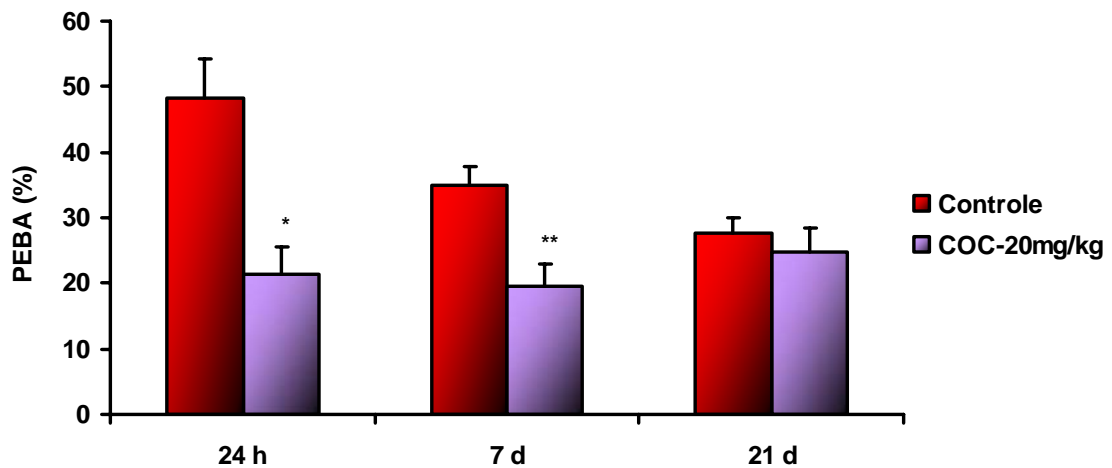
Na **Figura 6** observamos que o tempo (segundos) de permanência nos braços abertos (TPBA), de forma semelhante ao NEBA, também foi reduzido após 24h ( $21,33\pm 4,19$ ) e 7d ( $2,11\pm 0,42$ ) quando comparados aos respectivos grupos controles: 24h ( $48,23\pm 6,05$ ); 7d ( $3,50\pm 0,46$ ). Após 21 d ( $33,70\pm 4,59$ ) de retirada ainda houve uma redução embora não significativa quando comparado ao controle 21d ( $44,75\pm 5,39$ ).



**FIGURA 6** - Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos. Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias, e após 24h, 7d e 21d foi realizado o experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA). Para análise estatística foi utilizado teste Student t. Valores significativos \* $p < 0,05$ , quando comparado ao controle.

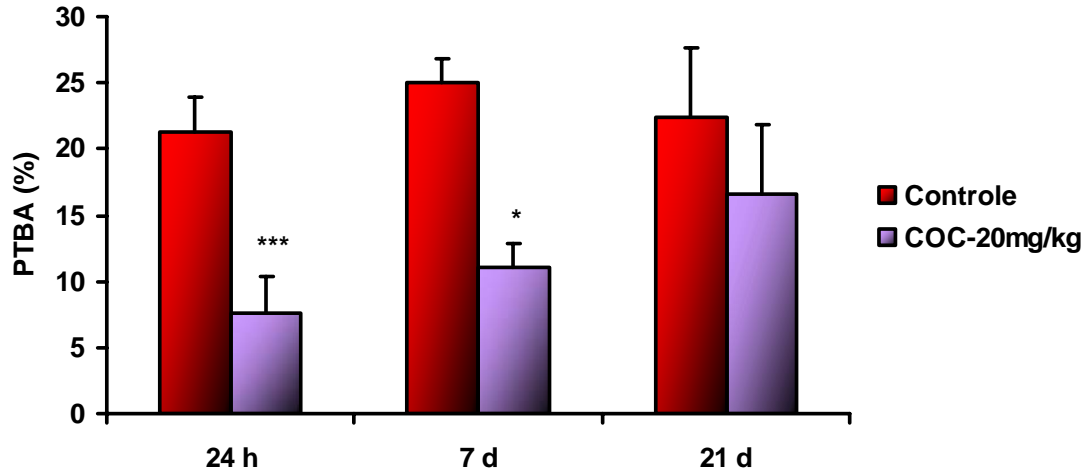
Na **Figura 7** tem-se a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) e observa-se que após 24h de retirada da cocaína ( $21,33\pm 4,19$ ) há uma redução significativa deste parâmetro quando comparados ao grupo controle 24h ( $48,23\pm 6,05$ ). Na retirada de 7d de cocaína ( $19,6\pm 3,29$ ) ainda houve uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao controle ( $34,83\pm 2,97$ ). Depois de 21 dias de retirada ( $24,79\pm 3,69$ ) ainda foi encontrado uma redução da percentagem de entradas nos braços abertos quando comparado ao controle 21d ( $27,53\pm 2,38$ ), embora não significativa.





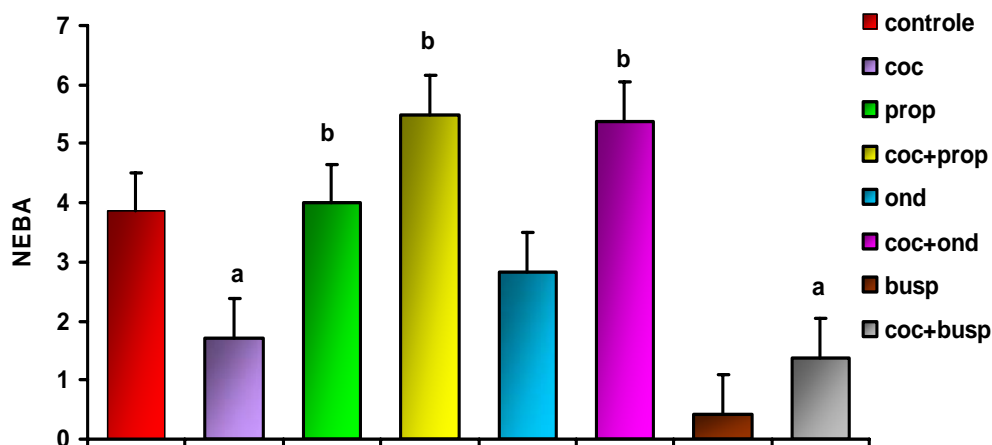
**FIGURA 7 - Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias, e após 24h, 7d e 21d foi realizado o experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de entradas nos braços abertos (PEBA). Para análise estatística foi utilizado teste Student t. Valores significativos \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao controle.

Na **Figura 8** tem-se a porcentagem de tempo nos braços abertos (PTBA). Observa-se que após 24h de retirada da cocaína ( $7,65 \pm 1,80$ ) há uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) deste parâmetro quando comparados ao grupo controle 24h ( $21,23 \pm 2,69$ ). Na retirada de 7d de cocaína ( $11,00 \pm 2,81$ ) houve uma redução significativa em relação ao controle ( $25,06 \pm 5,27$ ) que persiste, embora não significativo, na retirada de 21 d ( $16,61 \pm 2,58$ ), quando comparado ao controle 21d ( $22,38 \pm 2,64$ ).



**FIGURA 8 - Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre a percentagem do tempo nos braços abertos (PTBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias, e após 24h, 7d e 21d foi realizado o experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM da percentagem de tempo nos braços abertos (PTBA). Para análise estatística foi utilizado teste Student t. Valores significativos  $*p < 0,05$ ,  $***p < 0,001$  quando comparados ao controle.

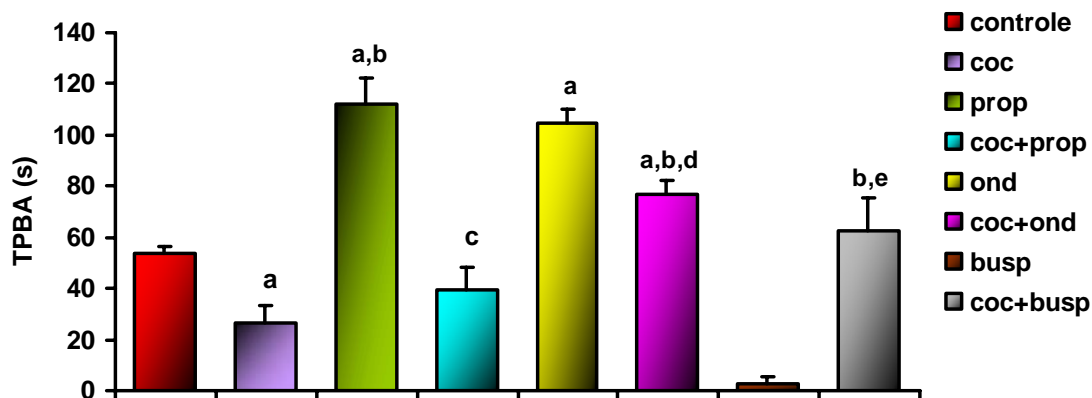
Nas **Figuras 9, 10, 11 e 12** vemos o efeito das drogas ondansetrom, propranolol e buspirona sobre os efeitos causados na abstinência de 24 horas de cocaína, após o tratamento subcrônico de 7 dias no LCE. Na **Figura 9** tem-se o número de entradas nos braços abertos, e como observado anteriormente a cocaína causou uma redução deste parâmetro ( $1,71 \pm 0,42$ ) quando comparado ao controle ( $3,85 \pm 0,40$ ). Nos animais tratados com propranolol não houve nenhuma alteração significativa ( $4,0 \pm 0,51$ ) em relação ao controle. Quando os animais foram tratados com cocaína e durante a abstinência foram tratados com propranolol, houve um aumento do NEBA ( $5,50 \pm 0,67$ ) em relação à cocaína sozinha e nenhum efeito significativo em relação ao propranolol sozinho ou controle. Já os animais do grupo tratado com ondansetrom ( $2,83 \pm 0,30$ ) não alterou o NEBA quando comparado com o controle. Entretanto a associação de ondansetrom + cocaína aumentou significativamente o NEBA ( $5,37 \pm 0,53$ ) quando comparado à cocaína sozinha, bem como comparado ao ondansetrom ( $2,83 \pm 0,30$ ). A buspirona causou alteração significativa em relação ao controle e quando associada com a cocaína reduziu significativamente o NEBA ( $1,37 \pm 0,37$ ) em relação ao controle, mas não causou nenhuma alteração significativa em relação à cocaína ou buspirona sozinha.



**FIGURA 9 - Efeito do propranolol, ondansetrom e bupiriona após abstinência de 24h de cocaína, subseqüente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre o número de entradas nos braços abertos (NEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias, e após 24h foi administrado propranolol (10mg/kg), ondansetrom (4mg/kg) ou bupiriona (5mg/kg) via i.p. 30 min antes do experimento. Os resultados são expressos como média ± EPM do número de entradas nos braços abertos (NEBA). Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos a =  $p < 0,05$  versus controle, b =  $p < 0,05$  versus cocaína, d =  $p < 0,01$  versus ondansetrom.

Na **Figura 10** observou-se que o tempo (segundos) de permanência nos braços abertos do grupo tratado com cocaína (26,29±7,32) foi reduzido em relação ao controle (53,75±2,85), diferentemente do grupo tratado com propranolol (112,0±9,95) no qual houve um aumento significativo do PTBA em relação ao controle e a cocaína. O propranolol administrado na abstinência de 24h (39,67±8,28) não teve nenhum efeito quando comparado à cocaína sozinha ou ao controle, entretanto em relação ao propranolol teve uma diminuição significativa. O grupo tratado com ondansetrom (105,0±5,29) aumentou significativamente o NEBA em relação ao controle. Este aumento permaneceu quando ondansetrom foi administrado na abstinência de cocaína (76,50±5,39) quando comparado ao controle e a cocaína sozinha. Entretanto esta

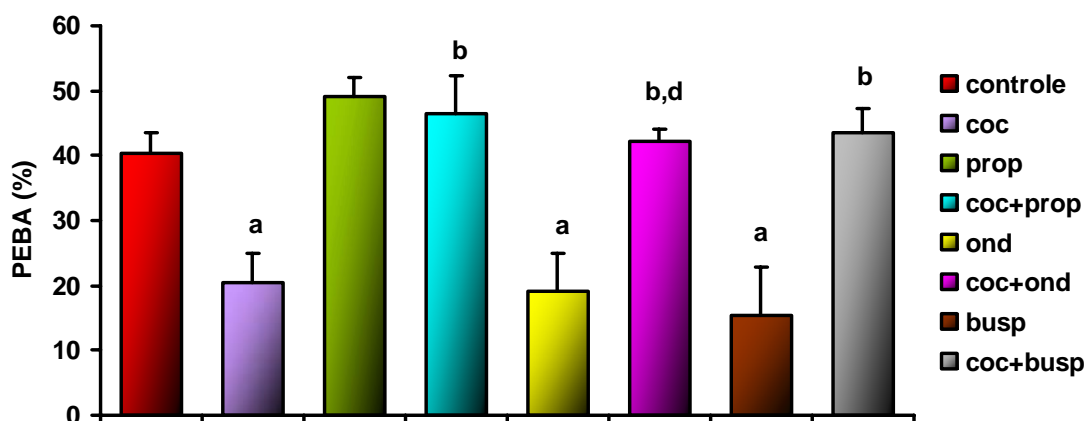
associação causou uma redução do TPBA quando comparado ao ondansetron sozinho. Já o grupo tratado com bupiriona ( $0,00 \pm 0,00$ ) reduziu o tempo de permanência nos braços abertos quando comparado ao controle e observou-se que no tratamento com bupiriona na abstinência de 24h ( $62,67 \pm 12,88$ ) houve um aumento do TPBA em relação a bupiriona ou cocaína sozinhas.



**FIGURA 10 - Efeito do propranolol, ondansetrom e bupiriona após abstinência de 24h, de cocaína, subseqüente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre o tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias e após 24h foi administrado propranolol (10mg/kg), ondansetrom (4mg/kg) ou bupiriona (5mg/kg) via i.p. 30 min antes do experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA). Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos a=  $p < 0,05$  versus controle, b=  $p < 0,05$  versus cocaína, c=  $p < 0,05$  versus propranolol, d=  $p < 0,05$  versus ondansetrom, e=  $p < 0,05$  versus bupiriona.

Na **Figura 11** verificou-se que a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) do grupo cocaína ( $20,44 \pm 4,47$ ), apresentou uma redução em relação ao controle ( $40,40 \pm 3,18$ ). O grupo tratado com propranolol ( $49,00 \pm 2,41$ ) aumentou esta percentagem em relação ao controle, o propranolol administrado na abstinência de 24h ( $46,57 \pm 5,72$ ) aumentou significativamente o PEBA em relação ao grupo cocaína. No grupo tratado com ondansetrom ( $19,00 \pm 5,82$ ) ocorreu uma redução em relação ao controle, mas quando o ondansetrom foi administrado após 24 h de retirada de cocaína ( $42,25 \pm 1,85$ ) houve um aumento significativo no PEBA em relação à cocaína

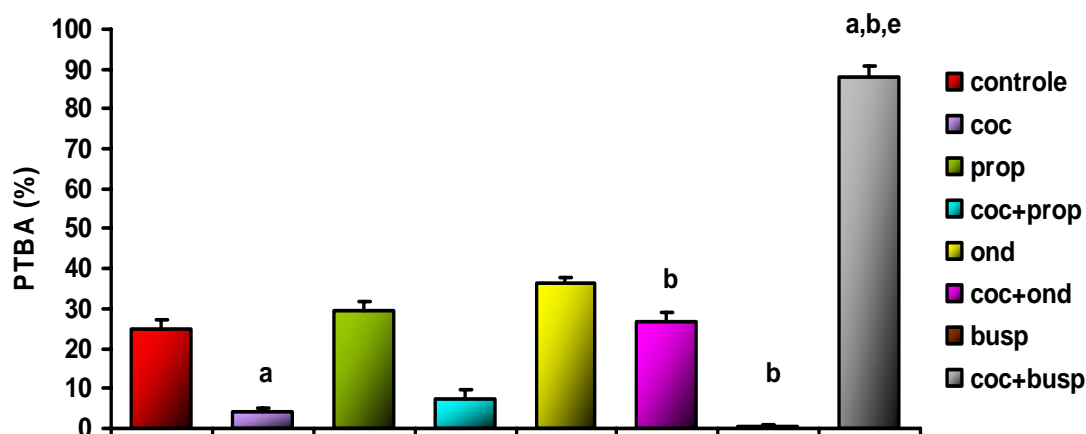
e ao ondansetrom sozinho. Já o grupo buspirona ( $15,43 \pm 7,36$ ) reduziu significativamente quando comparado ao controle e a buspirona na abstinência ( $43,43 \pm 3,84$ ) aumentou a percentagem de entradas nos braços abertos quando comparado ao grupo da cocaína.



**Figura 11 - Efeito do propranolol, ondansetrom e buspirona após abstinência de 24h, de cocaína, subseqüente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre a percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias e após 24h foi administrado propranolol (10mg/kg), ondansetrom (4mg/kg) ou buspirona (5mg/kg) via i.p. 30 min antes do experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM da percentagem de entradas nos braços abertos (PEBA). Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos a=  $p < 0,05$  versus controle, b=  $p < 0,05$  versus cocaína, d=  $p < 0,05$  versus ondansetrom.

Na **Figura 12** é demonstrado a percentagem de tempo nos braços abertos (PTBA). Os resultados mostraram que o grupo tratado com cocaína ( $4,33 \pm 0,76$ ) teve uma redução da percentagem de tempo nos braços abertos em relação ao grupo controle ( $24,78 \pm 2,30$ ), enquanto o grupo tratado com propranolol ( $29,57 \pm 2,26$ ) não alterou significativamente este parâmetro. Entretanto o propranolol administrado na abstinência de 24h ( $7,25 \pm 2,41$ ) não foi diferente do grupo da cocaína ( $4,33 \pm 0,76$ ). O grupo tratado com ondansetrom ( $36,38 \pm 1,41$ ) aumentou a percentagem de tempo nos braços abertos em relação ao controle e quando associado a cocaína

após 24h de retirada ( $26,78 \pm 2,22$ ) houve um aumento significativo da porcentagem de tempo nos braços abertos quando comparado à cocaína. Já o grupo tratado com bupiriona ( $0,42 \pm 0,29$ ) reduziu significativamente esta porcentagem em relação ao controle e a bupiriona na abstinência de 24h ( $1,37 \pm 0,37$ ) causou um aumento quando comparado ao controle ( $24,78 \pm 2,30$ ) a cocaína ( $4,33 \pm 0,76$ ) ou bupiriona sozinhas.

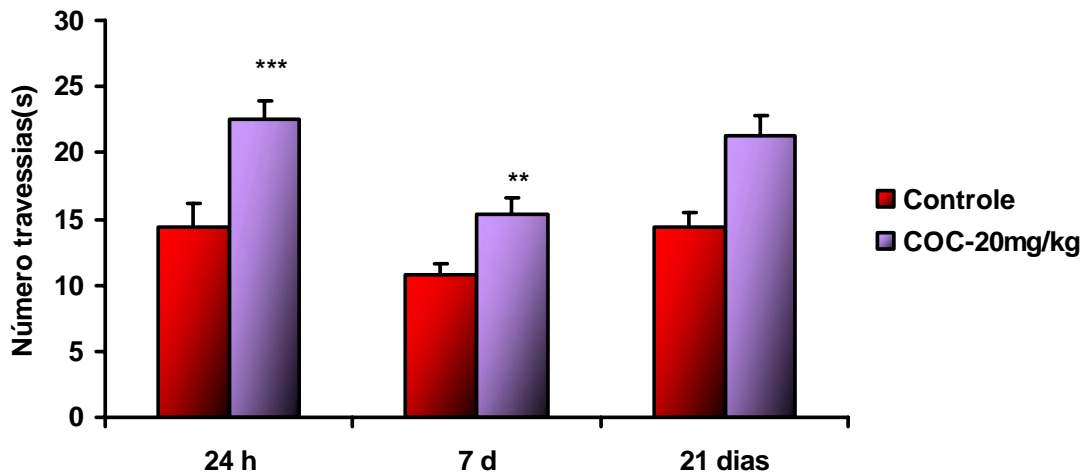


**FIGURA 12 - Efeito do propranolol, ondansetrom e bupiriona após abstinência de 24h, de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre a porcentagem de tempo nos braços abertos (PTBA) no teste do labirinto em cruz elevado (LCE) para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias e após 24h foi administrado propranolol (10mg/kg), ondansetrom (4mg/kg) ou bupiriona (5mg/kg) via i.p. 30 min antes do experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo nos braços abertos (PTBA). Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos a= $p < 0,05$  versus controle, b= $p < 0,05$  versus cocaína, e= $p < 0,05$  versus bupiriona.

### 5.1.2. Teste do Campo aberto

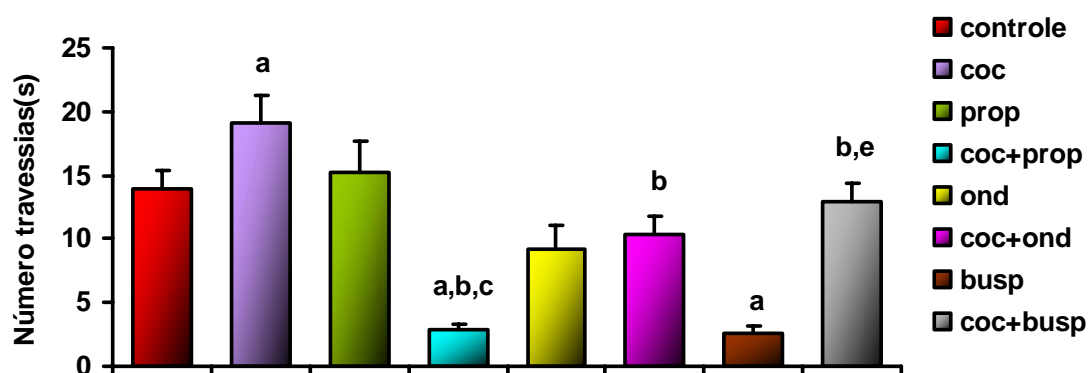
**Efeitos da cocaína no Teste do Campo Aberto (CA) em ratos após 24 h; 7 dias e 21 dias de retirada, subsequente a um tratamento sub-crônico com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias.**

A **Figura 13** mostra a atividade locomotora do animal (segundos) no teste do campo aberto. O grupo da retirada de cocaína de 24h ( $22,47 \pm 1,42$ ) apresentou um aumento significativo da locomoção, em relação ao grupo controle ( $14,38 \pm 1,76$ ). Na abstinência de 7 dias de cocaína ( $15,40 \pm 1,23$ ) ainda verificou-se um aumento desta atividade quando comparado ao controle ( $10,78 \pm 0,89$ ). Entretanto, na retirada de 21 dias ( $21,31 \pm 1,52$ ) não ocorreu alteração significativa em relação ao controle ( $23,92 \pm 1,15$ ).



**FIGURA 13 - Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre a atividade locomotora (ALE) no teste do campo aberto para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias, e após 24h, 7d e 21d foi realizado o experimento. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM do número de travessias/s. O grupo controle de 24h ( $14,38 \pm 1,76$ ), cocaína 24h ( $22,47 \pm 1,42$ ), controle de 7 d ( $10,78 \pm 0,89$ ), cocaína 7d ( $15,40 \pm 1,23$ ), controle 21d ( $23,92 \pm 1,15$ ) e cocaína 21d ( $21,31 \pm 1,52$ ). Para análise estatística foi utilizado teste *t* Student. Valores significativos \*\* $p < 0,01$  \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

A **Figura 14** mostra a atividade locomotora do animal (segundos) no teste do campo aberto após os tratamentos com ondansetron, propranolol e bupiriona ou com salina. O grupo cocaína ( $19,17 \pm 2,05$ ) apresentou um aumento da locomoção que foi significativo, enquanto o grupo tratado com propranolol ( $15,25 \pm 2,39$ ) não teve diferença em relação ao controle ( $14,00 \pm 1,43$ ). O propranolol administrado na abstinência de 24h reduziu significativamente ( $2,91 \pm 0,35$ ) os movimentos do animal em relação aos grupos controle, cocaína e propranolol. O grupo ondansetrom ( $9,20 \pm 1,90$ ) não alterou a atividade locomotora, mas na retirada de 24h ( $10,33 \pm 1,49$ ) reduziu a ALE em relação à cocaína. A bupiriona ( $2,57 \pm 0,57$ ) reduziu a ALE em relação ao controle, e quando associada à cocaína, durante a abstinência, reduziu a ALE em relação à cocaína ( $13,00 \pm 1,41$ ), mas esta associação causou um aumento em relação à bupiriona.



**FIGURA 14 - Efeito do propranolol, ondansetrom e bupiriona após abstinência de 24h de cocaína, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre a atividade locomotora do animal no teste do campo aberto para ratos.** Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias e após 24h foi administrado propranolol (10mg/kg), ondansetrom (4mg/kg) ou bupiriona (5mg/kg) via i.p. 30 min antes do experimento. Os resultados são expressos como média ± EPM do número de travessias/5 minutos. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos a=  $p < 0,05$  versus controle, b=  $p < 0,05$  versus cocaína, c=  $p < 0,05$  versus propranolol, e=  $p < 0,05$  versus bupiriona.

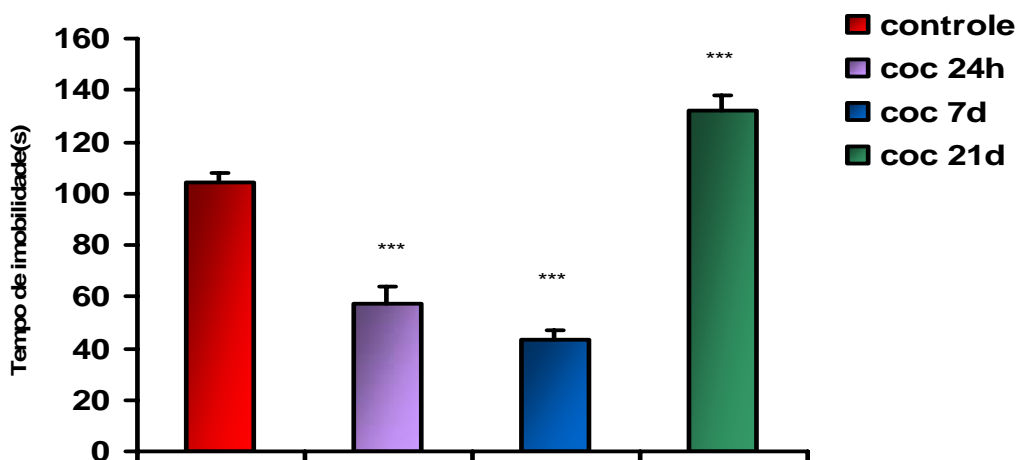


## 5.2. Avaliação da Atividade Antidepressiva

### 5.2.1. Teste do Nado forçado

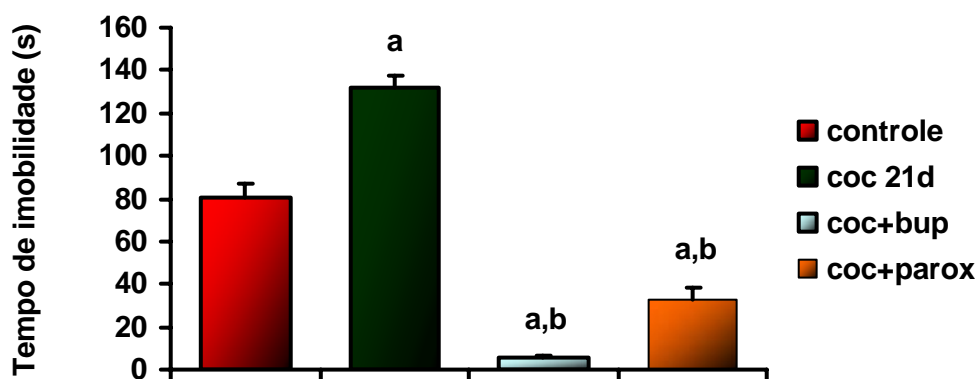
Efeitos da cocaína no Teste do Nado forçado (TNF) em ratos após 24 h; 7 dias e 21 dias de retirada, subsequente a um tratamento sub-crônico com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias.

A **Figura 15** mostra o tempo de imobilidade (segundos) no teste do nado forçado. Na retirada de cocaína de 24h ( $57,14 \pm 6,51$ ), bem como na de 7 d ( $43,25 \pm 3,91$ ) houve uma redução do tempo de imobilidade, quando comparado ao controle ( $104,5 \pm 3,72$ ), entretanto na retirada de 21d ( $132,0 \pm 5,92$ ) o tempo de imobilidade foi maior que no controle ( $p < 0,001$ ).



**FIGURA 15** - Efeito da abstinência de 24h, 7d e 21d de cocaína subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias sobre o tempo de imobilidade no teste do nado forçado para ratos. Controle (veículo), imipramina (10mg/kg), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias e após 24h, 7d e 21d foi realizado o teste. Os resultados são expressos como média ± EPM do tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

A **Figura 16** mostra o tempo de imobilidade (segundos) no teste do nado forçado. Na retirada de cocaína de 21d ( $132,0 \pm 5,92$ ) houve um aumento do tempo de imobilidade quando comparado ao controle ( $80,83 \pm 5,78$ ). Neste período de abstinência de 21 dias, administração de bupropiona ( $5,37 \pm 0,80$ ), ou paroxetina ( $32,83 \pm 5,99$ ) reduziu o tempo de imobilidade, o que foi estatisticamente significativo ( $p < 0,001$ ) quando comparado aos grupos controle e cocaína.

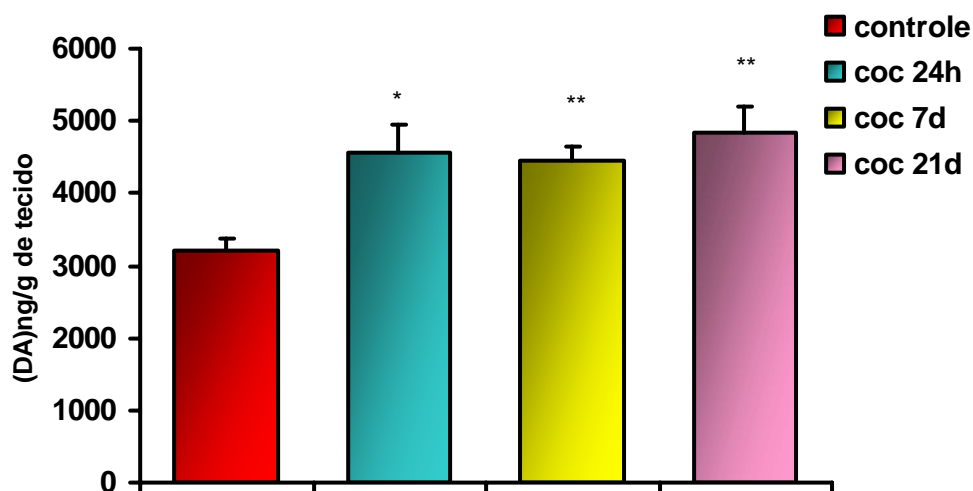


**FIGURA 16** - Efeito da bupropiona e paroxetina na abstinência de 21d de cocaína subsequente a um tratamento com cocaína via i.p por 7 dias sobre o tempo de imobilidade do animal no teste do nado forçado em ratos. Controle (veículo), cocaína (20 mg/kg) foram administrados intraperitonealmente por 7 dias e após 21 dias foi administrado bupropiona (30mg/kg) e paroxetina (10mg/kg). Os resultados são expressos como média ± EPM do tempo de imobilidade no teste do nado forçado. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos a= $p < 0,001$  versus controle, b= $p < 0,001$  versus cocaína.

### 5.3. Avaliação da concentração de monoaminas em corpo estriado de ratos

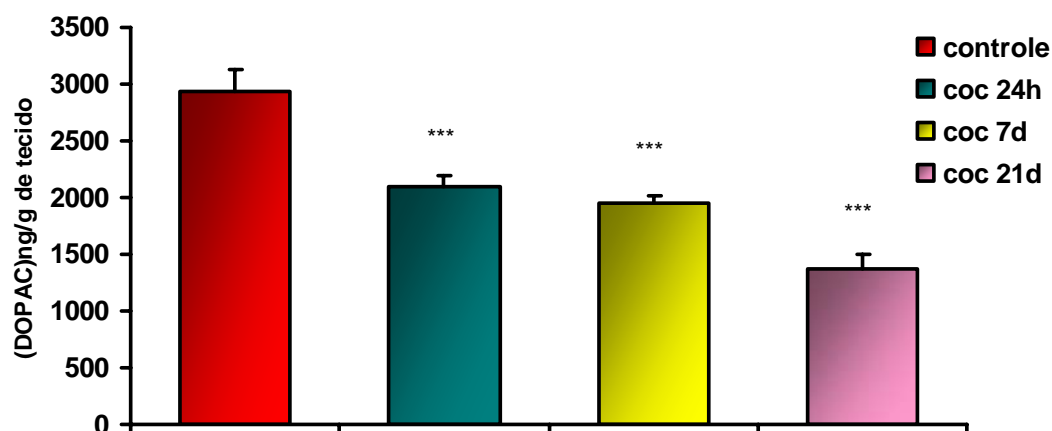
Efeitos da cocaína na concentração de monoaminas em corpo estriado de ratos após 24 h; 7 dias e 21 dias de retirada, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias.

A **Figura 17** mostra a concentração de dopamina (DA) em corpo estriado de ratos durante as retiradas de 24 h (4574±383), 7 d (4457±189) e 21 d (4852±341) da cocaína, através do HPLC. Observa-se que ocorreu um aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ ) em relação ao controle (3205± 176), nos três períodos de abstinência da cocaína.



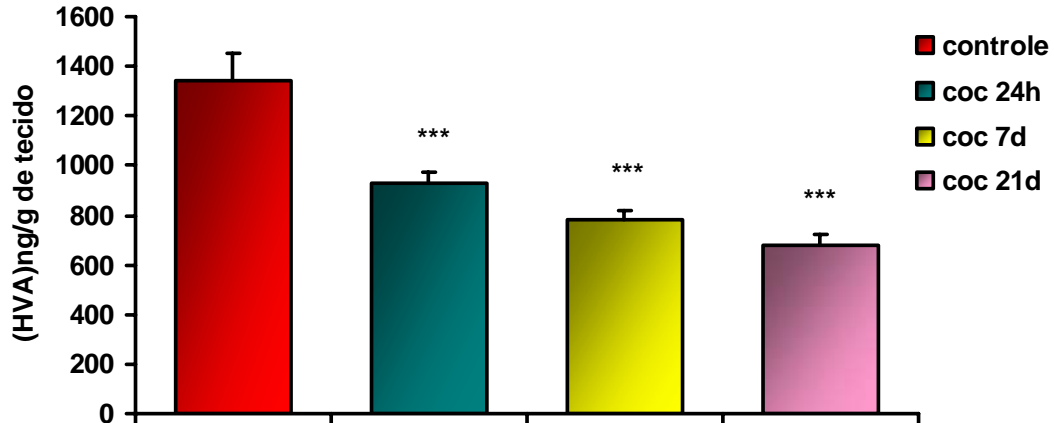
**FIGURA 17 - Determinação da concentração de dopamina (DA) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média ± EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*  $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$ , quando comparados ao controle.

A **Figura 18** mostra a concentração de ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), um metabólito da dopamina, em corpo estriado de ratos durante as retiradas de 24 h (2091±106), 7 d (1950±72) e 21 d (1376±118) da cocaína, através do HPLC. Nota-se uma alteração estatisticamente significativa ( $p < 0.001$ ) em relação ao controle (2939±182), nas três retiradas da cocaína.



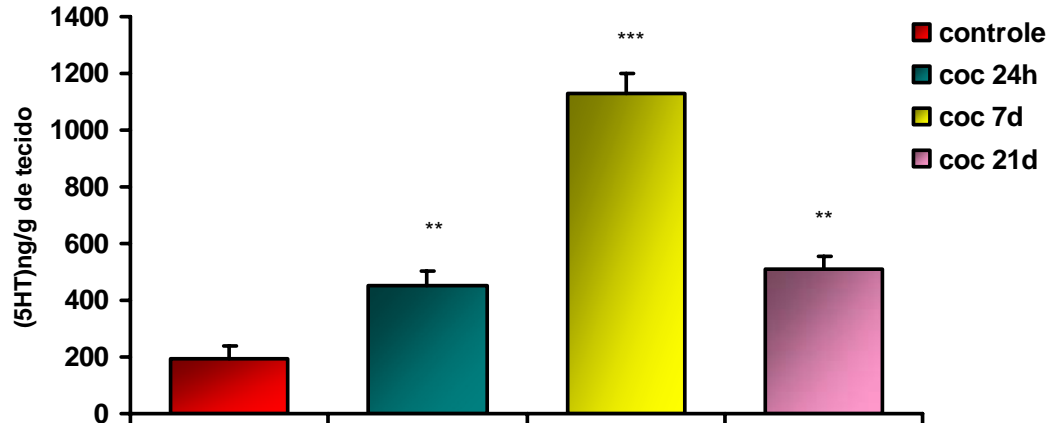
**FIGURA 18 - Determinação da concentração do ácido dihidroxifenilacético (DOPAC), um metabólito da dopamina, em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média ± EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

A **figura 19** mostra a concentração de ácido 4-hidroxi-3-metoxi-fenilacético (HVA), um metabólito da dopamina, em corpo estriado de ratos durante as retiradas de 24 h (926±45), 7 d (778±37) e 21 d (675±50), da cocaína, através do HPLC. Houve uma redução do metabólito nos três períodos de abstinência, em relação ao controle (1339±113), que foi estatisticamente significante  $p < 0,001$ .



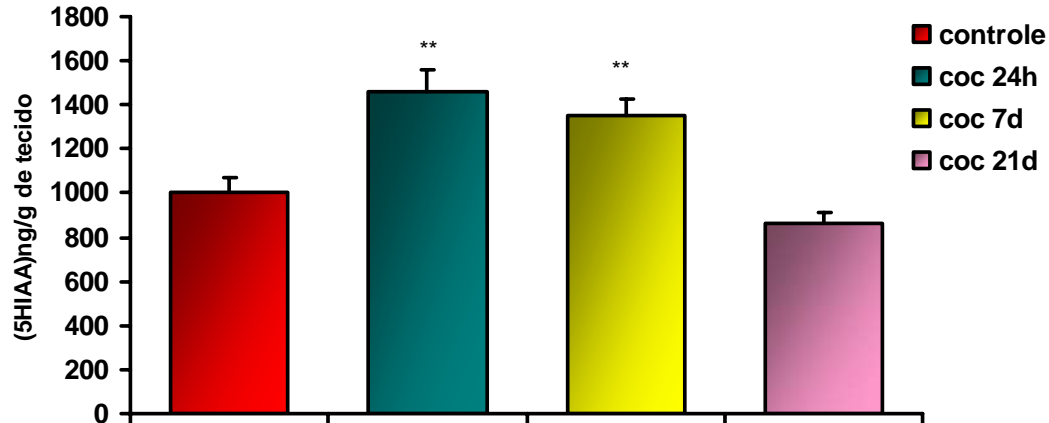
**FIGURA 19** - Determinação da concentração de ácido 4-hidroxi-3-metoxi-fenilacético (HVA), um metabólito da dopamina, em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada. Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

A **Figura 20** mostra a concentração de serotonina (5HT) em corpo estriado de ratos durante as retiradas de 24 h ( $450 \pm 54,69$ ), 7d ( $1132 \pm 67,94$ ) e 21 d ( $508,8 \pm 42,96$ ) da cocaína, através do HPLC. Observa-se que ocorreu um aumento gradativo nas retiradas, no entanto houve significância com 7 dias e 21 dias quando comparado ao controle ( $193,8 \pm 43,03$ ), ( $p < 0,01$  e  $p < 0,001$  respectivamente).



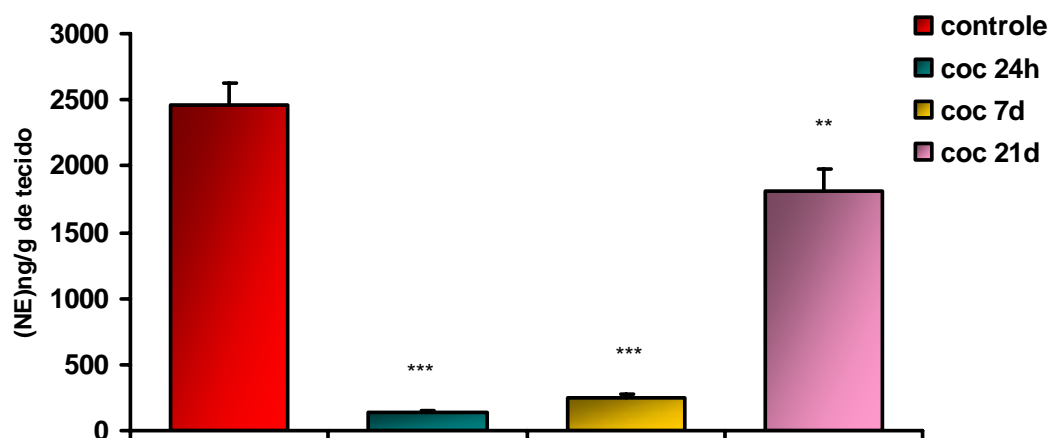
**FIGURA 20 - Determinação da concentração de serotonina (5HT) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

A **Figura 21** mostra a concentração de ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA), um metabólito da serotonina, em corpo estriado de ratos durante as retiradas de 24 h ( $1456 \pm 100$ ), 7 d ( $1348 \pm 75$ ) e 21 d ( $862 \pm 52$ ) da cocaína, através do HPLC. Durante as retiradas de 24 h e 7 d ocorreu um aumento em relação ao controle ( $1000 \pm 66$ ), que foi estatisticamente significativo (\*\* $p < 0,01$ ), e na de 21 d não foi diferente em relação ao controle.



**FIGURA 21 - Determinação da concentração de ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA), um metabólito da serotonina, em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos  $**p < 0,01$ , quando comparados ao controle.

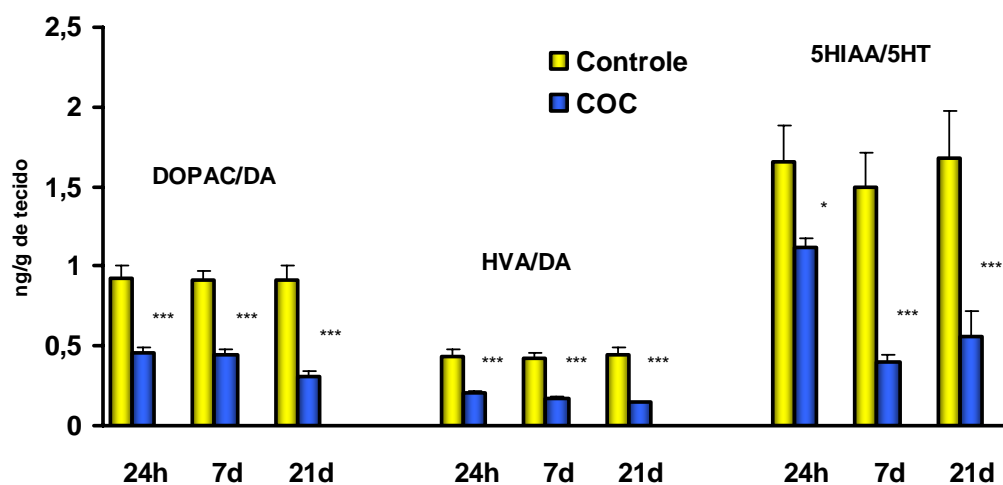
A **figura 22** mostra a concentração de noradrenalina (NE) durante as retiradas de 24 h (144 $\pm$ 9), 7 d (250 $\pm$ 27) e 21 d (1810 $\pm$ 160,6) da cocaína, através do HPLC. Nas retiradas de 24 horas, 7 dias e 21 dias houve diferença estatisticamente significativa ( $**p < 0,01$  e  $***p < 0,001$ ) em relação ao controle (2454 $\pm$ 176).



**FIGURA 22 - Determinação da concentração de noradrenalina (NE) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

A **figura 23** mostra a concentração da taxa de metabolização durante as retiradas de 24 h (DOPAC/DA:  $0,45 \pm 0,03$ ; HVA/DA:  $0,20 \pm 0,03$ ; 5HIAA/5HT:  $1,11 \pm 0,04$ ), 7 d (DOPAC/DA:  $0,44 \pm 0,01$ ; HVA/DA:  $0,17 \pm 0,01$ ; 5HIAA/5HT:  $0,40 \pm 0,007$ ) e 21 d (DOPAC/DA:  $0,30 \pm 0,06$ ; HVA/DA:  $0,14 \pm 0,03$ ; 5HIAA/5HT:  $0,55 \pm 0,16$ ) da cocaína, através do HPLC. Houve redução estatisticamente significativa de todas as taxas de metabolização em relação aos seus respectivos controle (24h-DOPAC/DA:  $0,92 \pm 0,04$ ; HVA/DA:  $0,42 \pm 0,03$ ; 5HIAA/5HT:  $0,55 \pm 0,09$ ; 7d-DOPAC/DA:  $0,91 \pm 0,03$ ; HVA/DA:  $1,65 \pm 0,09$ ; 5HIAA/5HT:  $1,49 \pm 0,04$ ; 21d- DOPAC/DA:  $0,91 \pm 0,22$ ; HVA/DA:  $0,44 \pm 0,21$ ; 5HIAA/5HT:  $1,68 \pm 0,29$ ).



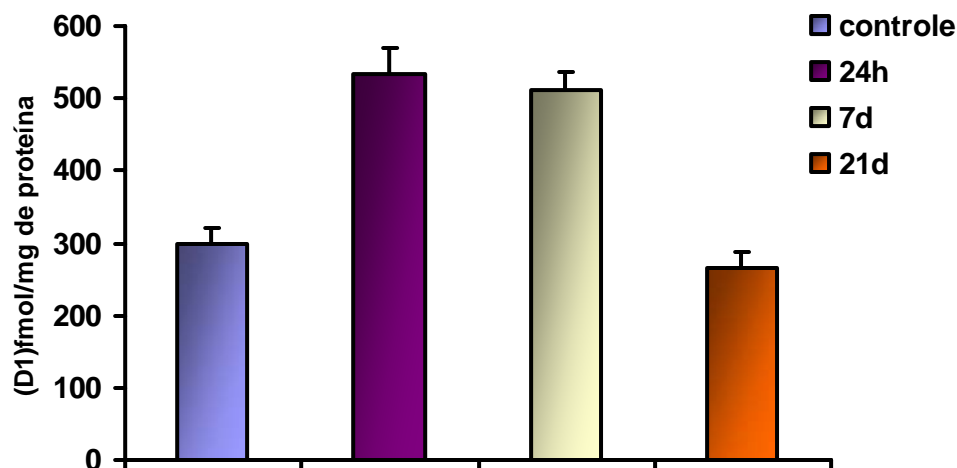


**FIGURA 23 - Determinação da taxa de metabolização em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação das monoaminas foi feita pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica. Os resultados (ng/g de tecido) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado teste Student t. Valores significativos \* $p < 0,05$  e \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

#### 5.4.Determinação da densidade de receptores em corpo estriado de ratos

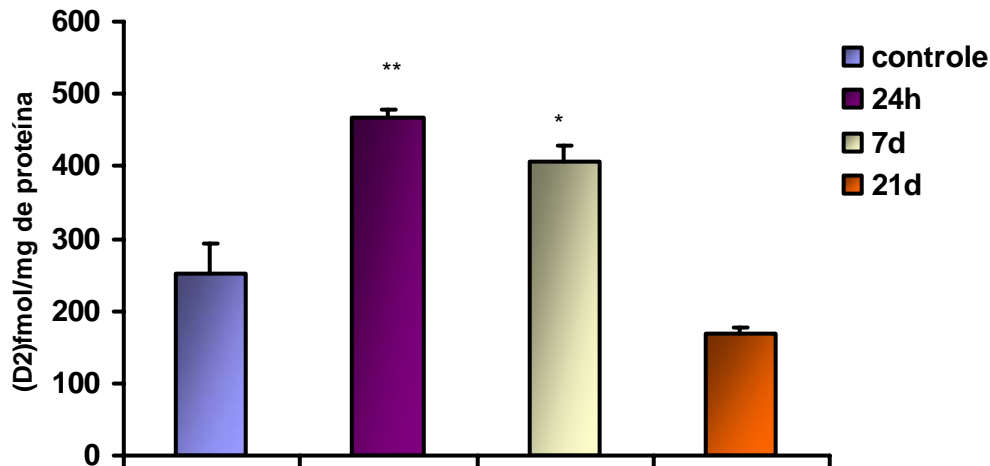
**Efeitos da cocaína na densidade de receptores dopaminérgicos em corpo estriado (CE) de ratos após 24 h; 7 dias e 21 dias de retirada, subsequente a um tratamento subcrônico com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias.**

A **Figura 24** mostra a densidade de receptores de dopamina ( $D_1$ ) em corpo estriado de ratos, durante as retiradas de 24 h ( $533,7 \pm 35,9$ ), 7 d ( $511,4 \pm 26,2$ ) e 21 d ( $266,8 \pm 20,9$ ) da cocaína, através do binding. Nas retiradas não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ( $299,2 \pm 21,7$ ).



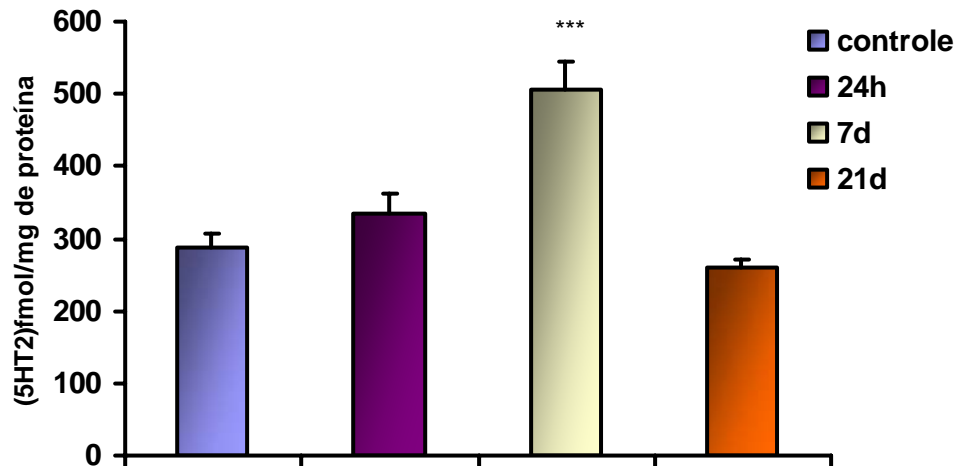
**FIGURA 24 - Densidade de receptores de dopamina(D1) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação dos receptores foi feita pela técnica de *binding*. Os resultados (fmol/mg de proteína) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*.

A **Figura 25** mostra a densidade de receptores de dopamina (D<sub>2</sub>) em corpo estriado de ratos, durante as retiradas de 24 h (467,9 $\pm$ 10,3), 7 d (405,6 $\pm$ 24,1) e 21 d (168,1 $\pm$ 7,7) da cocaína, através do binding. Na retirada de 24 horas e 7 dias houve diferença estatisticamente significante em relação ao controle (251,7 $\pm$ 40,2) (\*p<0,05).



**FIGURA 25 - Densidade de receptores de dopamina(D2) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação dos receptores foi feita pela técnica de *binding*. Os resultados (fmol/mg de proteína) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$ , quando comparados ao controle.

A **Figura 26** mostra a densidade de receptores de serotonina (5HT2) em corpo estriado de ratos, durante as retiradas de 24 h ( $335,2 \pm 26,8$ ), 7 d ( $505,7 \pm 37,9$ ) e 21 d ( $261,1 \pm 8,7$ ) da cocaína, através do *binding*. Na retirada de 7 dias houve diferença estatisticamente significativa em relação ao controle ( $286,6 \pm 20,0$ ) (\*\* $p < 0,001$ ).

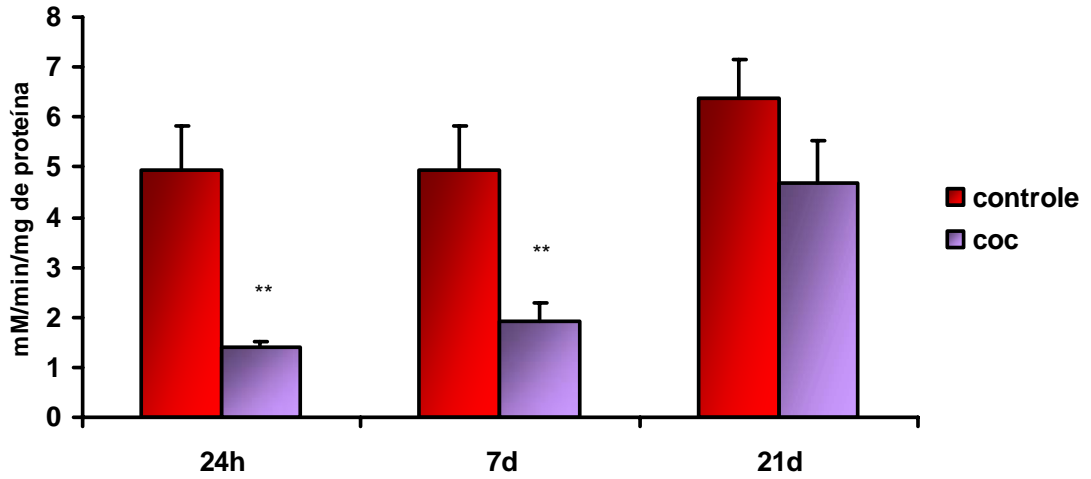


**FIGURA 26 - Densidade de receptores de serotonina(5HT2) em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg) via i.p. durante as retiradas de 24 h, 7 d e 21 d de retirada.** Após a realização dos testes os animais foram sacrificados e dissecados para a retirada do corpo estriado. A determinação dos receptores foi feita pela técnica de *binding*. Os resultados (fmol/mg de proteína) são expressos como média  $\pm$  EPM. Para análise estatística foi utilizado ANOVA e teste Student Newman's Keul *post hoc*. Valores significativos \*\*\* $p < 0,001$ , quando comparados ao controle.

### 5.5. Atividade da catalase na abstinência de 24h, 7d e 21 de cocaína

**Efeitos da cocaína na atividade da catalase em ratos após 24 h; 7 dias e 21 dias de retirada, subsequente a um tratamento com cocaína (20mg/kg) via i.p por 7 dias.**

A **figura 27** mostra que houve uma redução da atividade da catalase em corpo estriado de ratos, nas retiradas de cocaína de 24h ( $1,41 \pm 0,11$ ), 7d ( $1,92 \pm 0,37$ ) quando comparado ao controle ( $4,95 \pm 0,86$ ) e foi estatisticamente significativa ( $p < 0,01$ ). E na retirada de 21 d ( $4,67 \pm 0,87$ ) continuou havendo uma redução em relação ao controle ( $6,38 \pm 0,78$ ), no entanto não foi significativa.



**FIGURA 27 - Atividade da catalase em corpo estriado de ratos após 24h, 7d e 21d de abstinência de cocaína, subsequente a tratamento subcrônico (7d) com cocaína.** Os resultados (mM/min/mg de proteína) são expressos como média  $\pm$  EPM. Uma hora após o pré-tratamento os animais tiveram o corpo estriado dissecados para determinação da atividade da catalase. A atividade da catalase foi determinada por espectrofotometria. Para análise estatística foi utilizado teste Student t. Valores significativos  $**p < 0,01$ , quando comparados ao controle.

## ***DISCUSSÃO***

---

---

## 6. DISCUSSÃO

A ansiedade pode ser caracterizada como a antecipação emocional de uma situação aversiva, de difícil controle e de provável ocorrência. Medo, no entanto, pode ser definido como uma reação a uma situação perigosa real e bem definida e é visto por vários autores como uma entidade independente da ansiedade. Ainda assim, por vezes pode ser difícil uma separação entre as duas. Alguns modelos animais de ansiedade evocam, pela simples exposição do animal a um novo ambiente ou estímulo, comportamentos de medo ou defensivos, análogos a manifestações ansiosas em indivíduos com transtornos de ansiedade. Por exemplo, animais expostos ao labirinto em cruz elevado apresentam um comportamento denominado de avaliação de risco (*risk assessment*), o que pode ser relacionado à hipervigilância, apresentada por indivíduos ansiosos. A avaliação de risco representa uma antecipação de um perigo potencial, sendo um comportamento defensivo de grande valor adaptativo; ainda assim, indivíduos ansiosos parecem mais frequentemente tentar antecipar tal ameaça no intuito de lidar melhor com isto, o que acaba por trazer prejuízos para os mesmos (RAMOS et al., 1997; BLANCHARD & BLANCHARD, 1999).

Vários testes foram desenvolvidos para avaliar parâmetros comportamentais que indicassem ansiedade em roedores. A avaliação do comportamento relacionado à ansiedade em modelos animais tem por base a hipótese desta ansiedade ser comparável àquela em humanos. É incontestável que diferentes modelos comportamentais em roedores indicam ansiedade, isto é, mudanças comportamentais e periféricas que, presumivelmente podem estar relacionadas com uma alta atividade do sistema nervoso simpático. Portanto, uma analogia, senão uma homologia, pode ser assumida entre a ansiedade em humanos e roedores (OHL, 2003).

O labirinto em cruz elevado (LCE) é o modelo mais utilizado e aceito pela comunidade científica como um procedimento rápido e simples para detectar ambos efeitos ansiolítico e ansiogênico de drogas em ratos e camundongos (TREIT, 1985). Desta forma, no presente estudo foi utilizado o LCE, teste para avaliar se a abstinência de cocaína após 24 horas, 7 e 21 dias seria capaz de induzir comportamento de ansiedade nos animais. Os resultados deste estudo demonstraram que a abstinência da cocaína nas retiradas de 24h e 7d foi capaz de causar ansiedade nos animais, como observado pela redução de todos os parâmetros avaliados neste

modelo do LCE (NEBA, PEBA, TPBA, PTBA). Já na retirada de 21 dias não foi observado nenhuma alteração dos parâmetros. Esta redução de todos os parâmetros, interpretada como ansiedade, é confirmada pela literatura que relata exhaustivamente que no teste do LCE, compostos ansiolíticos aumentam seletivamente o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, enquanto compostos ansiogênicos reduzem seletivamente estes parâmetros (ANDREATINI & BACELLAR, 1999).

A ansiedade observada no presente trabalho durante a abstinência de cocaína é também apoiada por outros trabalhos que sugerem que este é um dos sintomas mais característicos da retirada da cocaína. De fato, tem sido comprovado que a ansiedade pode surgir nos primeiros dias do período da retirada e pode vir acompanhada de intensa fissura (GAWIN, 1991; WEISS et al., 2001; PERRINE et al., 2008). Entretanto, os estudos ainda não são claros, sendo bastante controversos não somente com relação a ocorrência de efeitos ansiogênicos ou até ansiolíticos, assim como há várias questões sobre a partir de quantos dias de retirada começam a aparecer estes sintomas e até quanto tempo eles permanecem. Estes estudos controversos nos induziram a estudar os efeitos da cocaína em diferentes tempos de retirada.

Nossos resultados são corroborados por YANG et al., 1992 que demonstraram que a administração aguda de cocaína causou um efeito ansiogênico, interpretado pela redução observada do NEBA e TPBA no teste do LCE. De acordo com os resultados do presente trabalho, a retirada de cocaína após uso sub-crônico de 7 dias tem uma ação também ansiogênica no LCE, observado não somente no NEBA e TPBA, mas também nos parâmetros do PEBA e PTBA nos períodos de retirada (24h e 7d). Na abstinência de 21 dias não houve diferença em relação ao controle. Os resultados observados na retirada de 21 dias estão de acordo com estudos prévios, os quais demonstram que a ansiedade é, normalmente, observada nas primeiras 48 horas de retirada (SARNYAI et al., 1995), mas não após longos períodos de abstinência. No entanto, no presente estudo, foi observado um comportamento ansioso na retirada de até 7 dias. SANTUCI et al. (2005) também demonstraram um potente efeito ansiogênico após 10 dias de abstinência de cocaína.



Outros trabalhos mostram que o tratamento crônico com cocaína (14 dias), após 30 minutos da última dose não foi encontrado nenhuma alteração em relação ao grupo controle no plus maze, porém quando os testes foram realizados 48 horas após a última administração observou-se que a percentagem de tempo, bem como do número de entradas foi significativamente menor em relação a salina, ou seja a retirada de cocaína causou um comportamento de ansiedade (SARNIAY et al., 1995). Um estudo revelou que animais submetidos ao teste do plus maze após 10 min de administração aguda de cocaína, 15mg/kg (considerada como fase ativa) tiveram um aumento no número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos, ou seja, os animais encontravam-se sob o efeito da droga. Quando o tempo para realização dos testes foi prolongado (após 30 min de administração da droga – fase de descanso) os animais permaneceram mais tempo e entraram mais nos braços abertos quando comparado ao primeiro grupo, indicando que após 30 minutos de administração da cocaína o animal pode ter comportamento variado (MULLER et al, 2008). Entretanto no estudo de Erb et al (2006) observou-se que na retirada de 10 dias, após o uso de cocaína por 7 dias, período de tratamento semelhante ao nosso, ocorreu um aumento da ansiedade no teste do plus maze quando os animais foram expostos a um ambiente diferente, ou seja um local desconhecido, sugerindo que a ansiedade pode estar relacionada com o fator ambiental.

Entretanto, como referido anteriormente há ainda controvérsias com relação a ocorrência de efeitos ansiogênicos na retirada de cocaína. Neste sentido, diferente dos nossos resultados, ERHARDT et al, 2006, relatou que o uso agudo de cocaína nas doses de 5,10 e 20 mg/kg causou uma redução do número de entradas como no tempo de permanência nos braços fechados e um aumento no tempo de permanência nos braços abertos, sugestivo de efeito ansiolítico. Baseados nestas informações podemos concluir que a cocaína pode causar efeitos diferentes dependendo da dose administrada, duração do tratamento e período de retirada.

Em estudo de auto-administração de cocaína por 5 dias, os autores classificaram os animais que exploraram mais o braço aberto, como menos ansiosos e aqueles que exploraram menos os braços abertos como mais ansiosos e observou-se que os animais após exposição à cocaína apresentaram um comportamento ansiogênico (BUSH & VACCARINO, 2007).

Um outro parâmetro que pode influenciar na atividade ansiolítica ou ansiogência no LCE é a interação social. Em um estudo de tratamento de cocaína por 9 dias, observou-se que os animais que viviam em grupo de 4 por gaiola entraram mais vezes e permaneceram mais tempo no braço aberto do que aqueles que estavam isolados nas gaiolas (ESTELLES et al., 2007).

Alguns trabalhos sugerem que os efeitos ansiogênicos podem ser devido à ação da cocaína no sistema serotoninérgico (MULLER et al, 2007). De fato, a literatura mostra que a serotonina está envolvida na neurobiologia da ansiedade e as drogas que agem estimulando a neurotransmissão serotoninérgica produzem efeitos ansiogênicos, enquanto as drogas que reduzem esta neurotransmissão tendem a ser naturalmente ansiolíticas (ABRAMS et al., 2005). Neste sentido, DAVIDSON et al, 2004, demonstraram que o uso repetido de cocaína (14 horas/dia por 3 semanas) alterou a capacidade funcional dos receptores 5HT<sub>3</sub> e que a co-administração de ondansetrom durante o uso subcrônico da cocaína foi capaz de reduzir a ingestão da droga.

Com base nestas considerações, e aliado ao fato de que nossos resultados também mostraram como será discutido mais tarde, um aumento da concentração de serotonina em corpo estriado nas retiradas de 24 horas e 7 dias, resolvemos no presente trabalho investigar o envolvimento serotoninérgico na ansiedade induzida por cocaína no LCE. Para isto o ondansetrom, um reconhecido antagonista 5HT<sub>3</sub>, foi administrado após 24h de retirada da cocaína, período no qual foram observados os melhores resultados referentes ao comportamento de ansiedade. Os resultados mostraram que esta droga foi capaz de reverter a ansiedade induzida pela abstinência de 24 horas visto que o animal apresentou um aumento do TPBA, NEBA e PEBA, no teste do plus maze. Desta forma, pode-se sugerir que os efeitos ansiogênicos na abstinência de cocaína podem estar relacionados com o sistema serotoninérgico, visto que o ondansetrom conseguiu alterar a resposta do animal, revertendo a redução dos parâmetros observadas na abstinência de cocaína. Vale enfatizar que trabalhos mostram que os vários receptores serotoninérgicos constituem uma área muito ativa para o desenvolvimento de novas drogas ansiolíticas sendo que o antagonismo do receptor 5HT<sub>3</sub> mostra-se um importante alvo (KUNOVAC & ESTAHL, 1995).

Com o fim de continuar a investigação de drogas que pudessem reverter a ansiedade causada pela abstinência de cocaína resolvemos verificar a ação da buspirona. Esta droga tem

sido estudada por sua ação ansiolítica em animais e humanos apresentando ação serotoninérgica por atuar como agonista parcial do receptor 5-HT 1A (receptor pré-sináptico da serotonina). Trabalhos mostram que a bupirona também tem ação na neurotransmissão dopaminérgica (SUBHAN et al, 2001; LIMA et al., 2002; ETTENBERG & BERNARDI, 2007).

Ainda com relação à ação da bupirona no LCE, alguns trabalhos mostram que este teste é insensível a drogas ansiolíticas que interferem com o receptor 5HT1A como é o caso da bupirona (MOSER, 1989). Já outros modelos como no teste experimental claro-escuro, também utilizado para investigar ansiedade e drogas ansiolíticas, animais que receberam bupirona moveram-se mais para área iluminada, diferentemente dos controles que mostraram uma preferência maior pela área escura, indicando que neste protocolo a bupirona demonstrou um efeito ansiolítico no animal (CARLI et al, 1989).

No presente trabalho foi observado que a bupirona sozinha causou uma diminuição nos parâmetros avaliados, confirmando dados da literatura que ele sozinha não apresenta per si uma ação ansiolítica no LCE. Entretanto, quando administrada na abstinência de cocaína causou um aumento do TPBA em relação à bupirona ou cocaína sozinhas, aumentou a percentagem de entradas nos braços abertos quando comparado ao grupo da cocaína assim como também causou um aumento do PTBA quando comparado ao controle, cocaína ou bupirona sozinhas. O aumento de todos estes parâmetros na abstinência de cocaína sugere que a bupirona reverte os efeitos ansiolíticos induzidos pela abstinência e confirmam o envolvimento do sistema serotoninérgico na ansiedade causada pela abstinência de cocaína. Os efeitos da bupirona a nível de envolvimento dopaminérgico, entretanto, não podem ser descartados, considerando também a ação desta droga neste sistema.

Para avaliação do papel do sistema noradrenérgico na ansiedade induzida pela abstinência de cocaína, foi utilizado o propranolol, um reconhecido antagonista noradrenérgico não seletivo e com uso clínico em um tipo de ansiedade, conhecida como ansiedade de palco. O propranolol atua diretamente reduzindo a resposta dos neurônios noradrenérgicos, bloqueando os receptores  $\beta$ -adrenérgicos centrais e periféricos, o que pode reduzir a ansiedade associada a abstinência de cocaína (HARRIS & ASTON-JONES, 1993; HOFFMAN & LEFKOWITZ, 1996). Neste

sentido estudos duplo-cego, placebo-controlado revelaram que o propranolol reduziu os sintomas de retirada da cocaína e melhorou o tratamento dos indivíduos com os sintomas de retirada mais severos no início do tratamento, sugerindo que este fármaco pode ser eficaz na síndrome de abstinência. Além disso, os indivíduos tratados com propranolol ingeriram menos cocaína, o que foi constatado através do exame de toxicidade na urina, o qual utiliza o benzoil pela técnica de polarização por fluorescência (KAMPMAN et al, 2001 e 2006). De acordo com KAMPMAN et al (2001), o principal efeito terapêutico do propranolol parece ser mediado pela redução dos sintomas de abstinência da cocaína, principalmente nos indivíduos com sintomas de retirada mais severos, os quais são mais difíceis de tratar.

O nosso estudo mostrou que a administração do propranolol no período de retirada da cocaína de 24 horas causou um aumento do número de entradas como também do tempo de permanência nos braços abertos, no teste do *plus maze*, ou seja, reduziu a ansiedade causada pela cocaína neste período nos animais, corroborando os dados de KAMPMAN et al, 2001 e 2006, obtidos em humanos. Entretanto, os níveis de noradrenalina foram diminuídos nesta retirada, como será discutido mais tarde, portanto o papel da serotonina neste ansiedade seria mais evidente.

Um outro teste utilizado por nós para complementar os resultados de ansiedade foi o campo aberto. Este teste é utilizado para avaliar a atividade exploratória dos animais, como medida de emocionalidade em roedores (BROADHURST, 1978; ALBONETTI & FARABOLLINI, 1994). De fat, trabalhos mostram que o campo aberto também pode ser utilizado para estudar os efeitos de ansiolíticos e outras classes de drogas sobre o comportamento em um novo ambiente. Sabe-se que a tendência natural do animal em um ambiente novo é a de explorá-lo, apesar do estresse e do conflito provocado por este ambiente (MONTGOMERY, 1958). Desta forma, a locomoção observada no campo aberto, é um dos parâmetros comportamentais mais usados para descrever influências dos eventos da vida ou da administração de drogas (MONTGOMERY, 1958; ARAKAWA & IKEDA, 1991; REX et al., 1996).

Em nosso estudo a abstinência de 24 h após o tratamento subcrônico com a cocaína induziu aumento na atividade locomotora do animal. Observou-se ainda na retirada de 7 d um

aumento desta atividade, com resultados significantes, porém constatou-se que este aumento foi menor do que na abstinência de 24 h. O efeito da cocaína pode ser explicado por sua ação em diversos receptores, pois ela bloqueia a recaptação de monoaminas nos terminais pré-sinápticos de nervos simpáticos, causando acúmulo destas na fenda sináptica e aumentando a estimulação de células receptoras.

Alguns trabalhos mostram que o aumento da ALE pode ser interpretado como conseqüência do efeito psicoestimulante da cocaína, o qual pode ser explicado pelo aumento nos níveis extracelulares de dopamina, serotonina e noradrenalina (BLOOMSTONE, 2002). De fato, nossos resultados confirmam estes relatos pois mostram que mostram que ainda ocorre um aumento dos níveis de dopamina e serotonina nestes períodos de retirada em que aumentou a atividade locomotora. Entretanto, na retirada de 21 dias não foi observado nenhuma alteração da atividade locomotora quando comparado ao controle. Nota-se então que a retirada de cocaína na fase aguda causa um aumento da atividade locomotora no campo aberto, sugerindo que nestes períodos curtos de retirada ainda ocorre comportamento estimulante (MULLER et al, 2008), mas que este efeito não permanece na retirada de 21 dias.

Também é sugerido que a hiperlocomoção induzida por drogas é mediada pelo sistema dopaminérgico, principalmente pelos receptores D2-símile (NAKAMURA et al., 2000). No presente trabalho também foi observado um aumento no número de receptores D2 –símile em corpo estriado nas retiradas de 24 h e 7 d o que pode justificar a presença de hiperatividade locomotora nas retiradas de 24 h e 7d e a ausência deste efeito após retirada de 21 d. Os receptores 5HT2 apresentaram aumento apenas após a retirada de 7 d. Alguns trabalhos mostram que estes receptores também estão envolvidos na hiperlocomoção associada ao uso da cocaína, visto que drogas antipsicóticas que bloqueiam este receptor, como a risperidona quando associada à cocaína foi capaz de causar redução na atividade locomotora e nos níveis de dopamina e serotonina que apresentaram-se aumentados após a administração aguda de cocaína (BRODERICK et al., 2003).

Entretanto efeitos motores induzidos pela cocaína são controversos e necessitam de melhor esclarecimento, considerando que são dependentes da dose e da duração do tratamento

utilizados. Trabalhos mostram que quando a cocaína foi utilizada, em baixa dose, apenas 1 vez, não houve alteração da atividade locomotora, enquanto na administração intermitente de cocaína por 5 dias, foi visto um aumento na atividade locomotora, bem como na distância percorrida pelos animais em 48h. No entanto, o aumento da atividade locomotora na abstinência foi inibida após administração de uma dose de cocaína. A retirada da administração intermitente de cocaína resultou em aumento gradual da atividade locomotora (LÓPEZ-PATTIÑO et al, 2008).

Outros dados já mostram que após 14 dias de retirada de auto-administração de cocaína (1h/ dia por 8 dias) observou-se um aumento da atividade locomotora, que foi maior do que na auto-administração por 6h/dia. Isto mostra que um pequeno acesso diário à cocaína pode sensibilizar uma resposta neural à droga, enquanto um maior tempo de acesso à droga produz uma redução compensatória na sensibilidade que pode ser refletida no processo aditivo (BEN-SHAHAR et al., 2004, 2005).

Em trabalho recente, MULLER et al, (2008), revelaram que animais submetidos ao teste do campo aberto após 10 min de administração aguda de cocaína 15mg/kg (fase ativa) tiveram um aumento na atividade locomotora. Quando o tempo para realização dos testes foi prolongado (após 30 min – fase de descanso) os animais apresentaram um aumento da locomoção bem maior quando comparado ao primeiro grupo. Os nossos dados revelam que na abstinência de 24 h e 7 dias de cocaína foi possível observar um aumento da atividade locomotora do animal. Entretanto diferentemente dos nossos resultados, outro estudo usando cocaína em baixas doses por 7 dias mostrou uma redução na atividade locomotora do animal (SANTUCCI et al., 2008).

O uso repetido de psicoestimulantes em humanos tem sido associado com o aumento progressivo de ansiedade, ataques de pânico e eventualmente psicose paranóide. O aparecimento destes comportamentos chama-se sensibilização comportamental, o qual faz parte dos mecanismos patológicos básicos envolvidos no abuso de drogas. A sensibilização comportamental ocorre pela administração repetida da droga, levando a um aumento no efeito estimulante motor (ALMODOVAR et al., 2002).

Como citado anteriormente a cocaína é um psicoestimulante e sua administração repetida ativa o sistema neuronal, podendo aumentar o efeito estimulante na atividade locomotora, um fenômeno conhecido como sensibilização comportamental. Este modelo comportamental é utilizado para analisar a modificação neural associada com exposição repetida a psicoestimulantes e abstinência. Os sistemas neurais mais envolvidos neste processo parece ser dopamina e serotonina. Em relação a dopamina, o sistema dopamina mesocorticolímbico tem um papel crucial. Na adição, a expressão da sensibilização locomotora induzida por psicoestimulantes pode ser dissociada pela expressão de sensibilização da resposta dopaminérgica no núcleo *accumbens*, estriado e córtex pré-frontal. Estes psicoestimulantes não apenas interagem com o sítio de recaptação da DA, assim como o sítio de recaptação de serotonina, por aumentar os níveis extracelulares de 5HT que pode estar junto à dopamina agindo nesta sensibilização (WHITE & KALIVAS, 1998; BARNES & SHARP, 1999; NESTLER, 2001).

Estas áreas inibem o comportamento inapropriado, mas ficam alteradas após o uso de drogas de abuso tornando-se incapaz de reduzir a compulsão à droga, ou seja, a atividade cerebral no centro de recompensa é dessensibilizada como um resultado do uso crônico de cocaína (KOOB & LE MOAL, 2001). Estudo indica que lesões no córtex pré-frontal previne neuroadaptações na área tegumentar ventral e núcleo *accumbens*, duas importantes regiões cerebrais associada com a sensibilização comportamental induzida por psicoestimulantes (LI et al.,1999). Ben-Shahar et al.(2004) observaram que após 3d de retirada do uso de cocaína por 8d não foi suficiente para o desenvolvimento de sensibilização, já na retirada de 14d ocorreu sensibilização comportamental. Evidências sugerem que o desenvolvimento de sensibilização é mais freqüente da administração intermitente de baixa a moderada dose.

Considerando que os resultados do LCE mostraram um envolvimento do sistema serotoninérgico na ansiedade induzida por cocaína, resolvemos avaliar o papel deste sistema no aumento da atividade locomotora induzida pela abstinência de cocaína. Os resultados mostraram que no presente trabalho, o ondansetrom, que é um antagonista 5HT<sub>3</sub>, administrado 24h após a última administração subcrônica de cocaína com o objetivo de reverter o efeito da cocaína no teste do campo aberto causou uma redução na atividade locomotora do animal, sugerindo que a

ansiedade causada pela cocaína indicada pelo aumento da atividade locomotora, pode envolver o sistema serotoninérgico.

Outros estudos corroboram os nossos resultados, pois mostraram que o uso agudo de cocaína (15mg/kg, i.p.) promoveu um aumento na atividade locomotora do animal e que após a administração de antagonista serotoninérgico ( $5HT_{1B}$ ) houve uma reversão deste efeito da cocaína (HOPLIGHT et al., 2005). Vários estudos mostram que o sistema serotoninérgico está envolvido no processo de sensibilização da cocaína, bem como no aumento da atividade locomotora e, portanto os antagonistas dos receptores  $5HT_3$  podem ser utilizados, pois reduzem os efeitos de hiperatividade da cocaína e o desenvolvimento da sensibilização comportamental após exposições repetidas à cocaína (CUNNINGHAM et al., 1992; KING et al., 1997, 1998). Estes dados corroboram com a pesquisa de King et al (1997), na qual o ondansetrom, administrado durante o uso crônico da cocaína, bloqueou o desenvolvimento de sensibilização, produzindo uma resposta comportamental semelhante a resposta exibida pelo grupo controle.

Estudos comportamentais envolvendo antagonistas de receptor  $5HT_3$  indicam que estes compostos não afetam o comportamento locomotor quando administrado isoladamente (COSTALL et al., 1990). Entretanto, estes receptores podem modular comportamento, induzido por drogas, que tenham atividade dopaminérgica, ou seja, podem modular níveis sinápticos de dopamina produzidos pela administração de drogas (HAGAN et al., 1990). Um estudo experimental de uso agudo da cocaína, com retirada no fim de semana, utilizou o ondansetrom após 3,5 h de administração da cocaína e verificou-se que o antagonista  $5HT_3$  reduziu a ingestão de cocaína do terceiro ao quinto dia de uso do ondansetrom. Após este período não teve alteração na ingestão de cocaína (DAVIDSON et al, 2004). Os resultados obtidos no campo aberto, mostrando que o ondansetrom foi capaz de reduzir a atividade locomotora do animal, na retirada aguda de cocaína, associados aos resultados obtidos no LCE confirmam envolvimento do sistema serotoninérgico na ansiedade induzida pela abstinência de cocaína.

Achados anteriores mostram um envolvimento do sistema 5HT e receptores  $5HT_3$  na mediação das propriedades de reforço da cocaína. Pesquisas mostram que a cocaína atua no receptor  $5HT_3$  (BREITINGER et al., 2001) e a administração crônica de cocaína foi associada a



uma *down-regulation* funcional do receptor 5HT<sub>3</sub> (KING et al., 1995, 2002; MATELL & KING, 1997). Além disso, os camundongos que super-expressam o receptor 5HT<sub>3</sub> são mais sensíveis aos efeitos da ativação locomotora, mas menos sensíveis às propriedades de reforço da cocaína no teste de preferência condicionada por lugar (ALLAN et al., 2001). A administração sistemática do antagonista 5HT<sub>3</sub> reduz a liberação de DA induzida por cocaína no núcleo accumbens, reduzindo a atividade locomotora e preferência condicionada por lugar (KANKAANPAA et al., 2002).

Ainda com relação ao sistema serotoninérgico, alguns autores afirmam que a ativação do receptor 5HT<sub>1A</sub> pode produzir uma inibição da atividade locomotora espontânea e que este subtipo de receptor tem um importante papel na modulação da resposta locomotora estimulante produzida pela cocaína (MULLER et al., 2004; CAREY et al., 2005a; 2005b). Neste sentido, em um estudo anterior (ETTENBERG & BERNARDI, 2007), administrou-se a cocaína por 8 dias na dose de 1mg/kg via intravenosa e logo após foi administrado buspirona na dose de 2,5 mg/kg e verificou-se que a buspirona não teve nenhum efeito nas propriedades de recompensa imediata da cocaína, entretanto reverteu a ansiedade causada por esta droga. Em nossa pesquisa a buspirona causou uma alteração na atividade locomotora, reduzindo esta atividade e quando associada a retirada de cocaína reduziu o aumento da atividade locomotora observada com a cocaína sozinha. Outros estudos mostraram que em relação à atividade locomotora no animal, a buspirona promoveu um aumento, no entanto, quando foi administrada buspirona juntamente com o propranolol houve um efeito aditivo desta atividade (CARLI et al, 1989).

Em relação ao sistema noradrenérgico, em nosso estudo, o propranolol foi utilizado na dose de 10mg/kg, após 24 horas de retirada da cocaína e verificou-se que esta droga reverteu o efeito da retirada cocaína, ou seja, o animal reduziu a atividade locomotora. Trabalho recente mostrou que o propranolol na mesma dose utilizada por nós, na retirada de cocaína aguda modulou a atividade locomotora e reduziu a auto-administração de cocaína (FREEMAN et al., 2008). Outro trabalho prévio já demonstrara que a administração do propranolol no período de retirada resultou na completa eliminação das propriedades de reforço da cocaína (ROBBINS & EVERITT, 2002). Podemos concluir que o sistema noradrenérgico tem um importante papel na modulação comportamental induzida pela cocaína e estas informações são corroboradas por

nosso trabalho que mostrou que o propranolol, uma antagonista noradrenérgico não seletivo causou uma redução significativa na atividade locomotora do animal, sugerindo assim que foi capaz de reduzir a ansiedade causada pela cocaína, no período de retirada.

Além da ansiedade, já discutida anteriormente, um outro sintoma que pode ocorrer na abstinência de cocaína é a depressão. Sabe-se que a depressão é uma condição psiquiátrica extremamente comum, para a qual existem uma gama de teorias neuroquímicas e uma variedade correspondente de diferentes tipos de fármacos usada no tratamento. É um campo no qual o empirismo terapêutico ocorreu antes, com o entendimento do mecanismo, tendendo a ficar para trás, sendo que parte das dificuldades é dos modelos animais, os quais não se aplicam à mudança de humor que define a condição humana (RANG et al., 2007). Muitos compostos antidepressivos estão agora disponíveis e presume-se que agem através de diferentes mecanismos, incluindo os sistemas noradrenérgico, serotoninérgico e/ou dopaminérgico (NEUMEISTER, 2003; TAYLOR, et al., 2005). Em vista disto, tornam-se necessárias novas estratégias para o tratamento da depressão.

Os modelos animais utilizados para a avaliação de drogas antidepressivas são baseados na associação clínica de episódios de depressão e de eventos como o estresse. Assim, o estresse é tipicamente implicado na etiologia das desordens depressivas ou como uma consequência delas (ANISMAN & ZACHARKO, 1982; SHERRILL et al., 1997; TURNER & LLOYD, 1999). Os dois modelos animais mais amplamente utilizados para *screening* de novas drogas antidepressivas são os testes do nado forçado e da suspensão da cauda. Esses testes são bastante sensíveis e relativamente específicos para a maioria das classes de drogas antidepressivas, incluindo, os antidepressivos tricíclicos, os inibidores seletivos da recaptção de serotonina, os inibidores da MAO (monoamina oxidase) e os atípicos (PORSOLT et al., 1977; STERU et al., 1985; DETKE et al., 1995).

O teste do nado forçado é um teste comportamental que nos dá uma indicação da eficácia clínica de vários tipos de drogas antidepressivas. Além das drogas agirem por exemplo, inibindo a recaptção de monoaminas como a noradrenalina e serotonina, algumas drogas antidepressivas

são conhecidas por agirem através de vários diferentes mecanismos a nível de receptor, provavelmente estimulando caminhos em nível sub-celular (YILDIZ et al., 2002). Este teste do nado forçado então, também pode ser utilizado para investigar os efeitos de novas drogas com potencial atividade antidepressiva, caracterizando os efeitos não somente comportamentais, mas também, neuroquímicos das drogas e desta forma contribuir na descoberta de novas estratégias terapêuticas no tratamento da depressão em humanos (CONNOR et al., 2000).

O fenômeno comportamental observado no teste do nado forçado parece ser resultado da exposição a uma situação inescapável, na qual o animal divide seu comportamento em períodos de atividade vigorosa (comportamento de procura) e de imobilidade (comportamento de espera) (STERU et al., 1985). Embora a relação entre imobilidade (uma postura mantida que reflete um estado de “desespero comportamental” no qual o animal é rendido pelo desejo de escapar) e depressão, sejam controversas (GARDIER et al., 2001), é bem demonstrado que drogas com atividade antidepressiva antagonizam, ou seja, diminuem o tempo de imobilidade do animal (PORSOLT et al., 1977; FERNANDEZ-TERUEL et al., 1990).

É relatado que drogas psicoestimulantes podem reduzir o tempo de imobilidade no animal e deste modo a cocaína considerada como um psicoestimulante diminuiria a imobilidade dos animais no nado forçado. Contrariamente, a retirada da cocaína tem sido relacionada a sintomas de depressão, que equivaleria a uma diminuição do tempo de imobilidade no nado forçado. De fato, estudo prévio tem demonstrado que a retirada de cocaína pode induzir a um comportamento depressivo, o qual é mais pronunciado em usuários crônicos quando o uso é interrompido (GAWIN, 1991; SOFUOGLU et al., 2001;).

LOEBENS & BARROS (2003), mostraram que na retirada de cocaína de 5 dias após uso da droga por 15 dias houve uma redução do tempo de imobilidade, ou seja, o animal teve um comportamento ansioso, e a partir do 5º dia a imobilidade tendeu a aumentar, reduzindo assim esta ansiedade. Outro estudo utilizando cocaína na dose 10mg/kg, com este mesmo período de administração e uma abstinência de 5 dias, verificou um aumento no tempo de imobilidade quando comparado ao controle (FILIP et al., 2006). Outros pesquisadores

observaram que após o uso crônico da cocaína, e a retirada de 48h ocorreu uma redução do tempo de imobilidade no nado forçado, mostrando que neste período de retirada a cocaína tem uma ação estimulante (ALVES et al., 2008). Estes resultados mostrando redução da imobilidade no nado forçado, poderiam ser sugestivos de efeito antidepressivo. Contudo, apesar da cocaína ter promovido uma redução do tempo de imobilidade no teste do nado forçado não podemos considerá-la como uma droga antidepressiva e sim como uma droga psicoestimulante. Em virtude disso, drogas estimulantes podem dá resultados positivos (redução da imobilidade) no teste do nado forçado conforme evidenciado por STERU et al., 1987.

Entretanto, os estudos com relação aos efeitos comportamentais no nado forçado após abstinência de cocaína são controversos. Neste sentido, alguns estudos como os HÉDOU et al., 2001, afirmam que o comportamento causado na abstinência de cocaína pode ser alterado, visto que em seu trabalho na abstinência de 48 horas de cocaína, após tratamento de 5 dias, o tempo de imobilidade não foi alterado, nem a distância percorrida pelo animal. Contrariamente, um outro estudo utilizando cocaína 15mg/kg por 14 d, e retirada de 24 horas mostrou ocorrer um aumento do tempo de imobilidade do animal, ou seja, a retirada da cocaína após o uso crônico causou um comportamento depressivo (PERRINE et al, 2008). Outros estudos também afirmam que a cocaína quando utilizada em dose elevada (convulsiva) tem um efeito depressor, visto que aumenta o tempo de imobilidade no teste do nado forçado (HAYASE et al, 2002).

Assim, de acordo com HÉDOU et al., 2001, os tratamentos utilizando altas doses de cocaína podem induzir a várias adaptações não somente comportamentais, mas também neuroquímicas e anatômicas que levam a vários sintomas na síndrome de retirada, entre eles um comportamento depressivo. De fato, Conner et al (2008) fez um estudo bibliográfico e observou que há uma associação entre o uso de cocaína e sintomas de depressão em humanos. No entanto a depressão não é um prognóstico significativo no uso de substâncias e em usuários de cocaína.

No presente trabalho, nossos resultados mostraram que no nado forçado a abstinência de 24 horas e 7 dias de cocaína após um tratamento de 7 dias consecutivos com esta droga reduziu significativamente o tempo de imobilidade do animal. Entretanto, na retirada de 21 dias a

imobilidade foi bem maior quando comparado ao controle. Deste modo, podemos concluir que após um tratamento sub-crônico (7 dias) de cocaína, em menores tempos de retirada, como as de 24h e 7d, ainda se observa uma redução de imobilidade, portanto efeitos estimulantes da cocaína. Entretanto, após um período mais longo de abstinência (21 dias) o animal já passa a apresentar sinais de depressão visto pelo aumento da imobilidade. Baseado nestas considerações, podemos especular que não somente em doses altas e após tratamento crônico, mas em doses menores, com um uso sub-subcrônico, já podem ocorrer alterações que levam à depressão na abstinência, porém, tais alterações só foram observadas após um período maior de abstinência. A depressão dos animais foi observada mesmo com o aumento de dopamina e serotonina ocorrido nesta retirada, uma possível explicação para este fato pode residir na redução do receptores dopaminérgico D2 após 21 dias de retirada. A administração de fármacos que antagonizam este receptor causam um aumento do tempo de imobilidade (DHIR et al., 2008). A depressão também pode está relacionada com a diminuição dos níveis de noradrenalina observado neste período de retirada.

No intuito de reverter este efeito depressivo da cocaína após abstinência de 21 dias, resolvemos utilizar a bupropiona, um inibidor de recaptção de dopamina e a paroxetina, um inibidor seletivo de recaptção de serotonina. A bupropiona, bem como a paroxetina foram administradas após 21d de retirada da cocaína e observou-se uma redução no tempo de imobilidade do animal, sugerindo que a depressão causada pela abstinência de cocaína a qual foi indicada pelo aumento do tempo de imobilidade, pode envolver o sistema serotoninérgico, dopaminérgico e noradrenérgico, pois estes fármacos reverteram a depressão.

Como citado anteriormente, o uso de cocaína causa um bloqueio de recaptção de monoaminas, aumentando dentre eles os níveis de dopamina, logo o uso crônico desta droga promove uma *down-regulation* no sistema dopaminérgico, levando a uma depressão (BERTON & NESTLER, 2006). E esta redução da resposta dopaminérgica pode estar associada com a depressão na abstinência de cocaína. Diversos antidepressivos, bem como aqueles que aumentam os níveis de dopamina, tem sido utilizados para o tratamento da sintomatologia na abstinência de cocaína (KOSTEN, 1992).

A bupropiona é bastante utilizada na clínica para o tratamento da depressão associada à abstinência de nicotina no tabagismo. Esta droga atua bloqueando o transportador de dopamina e noradrenalina, sendo um inibidor seletivo de recaptação de dopamina. Seu efeito terapêutico é consequência do aumento dos níveis de dopamina, principalmente no núcleo *accumbens* e estriado, porém o seu mecanismo de ação ainda não está bem definido (MEYER et al., 2002). De acordo com Shoptaw et al. (2008) a bupropiona pode ser efetiva no tratamento de uso crônico da cocaína. Na revisão de Torrens et al.(2005) observou-se que a bupropiona reduz o uso e *craving* da cocaína, mas quando utilizada na dependência da cocaína em associação com o álcool não mostrou eficácia no tratamento da depressão. Vale salientar, que até onde se saiba, estudos com uso de bupropiona e cocaína são escassos na literatura. Portanto, nossos dados são relevantes pois mostraram de forma inédita que a bupropiona foi capaz de reverter a depressão causada na abstinência de cocaína.

O outro fármaco utilizado por nós pra ver se revertia a depressão causada na abstinência de cocaína foi a paroxetina. Este fármaco age inibindo a recaptação de serotonina e assim como outros fármacos que agem de forma semelhante, são efetivos no tratamento de uma variedade de desordens do humor como a depressão e desordem do pânico (HYTTEL, 1994). Alguns trabalhos relatam que a eficácia clínica destes fármacos está relacionada não somente por produzir um aumento gradual na neurotransmissão de serotonina, mas também por causarem mudanças neuroadaptativas nos receptores pós sinápticos, que pode ocorrer devido o aumento deste neurotransmissor (RAAP et al., 1999). Trabalho recente mostra que a paroxetina (2,5 e 5 mg/kg) reduziu o tempo de imobilidade em animais no teste do nado forçado (GUZZETTI et al., 2008) e nossos dados avançam neste sentido mostrando que esta droga também reverte a depressão causada pela cocaína.

Partindo do pressuposto que a abstinência de cocaína por 24 h, 7 e 21 dias levou a alterações comportamentais no LCE, campo aberto e teste do nado forçado e que estas alterações foram moduladas por drogas que atuam nos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico e noradrenérgico, resolvemos investigar através de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) os níveis das monoaminas noradrenalina, dopamina, serotonina e seus metabólitos após abstinência de cocaína.

Existe uma vasta literatura sobre a importância que as monoaminas apresentam no funcionamento normal do cérebro e como estão envolvidas em diversas doenças neuropsiquiátricas nas quais a regulação destes neurotransmissores é criticamente importante. A dopamina, por exemplo, está envolvida em diversos processos fisiológicos dentre eles, aqueles relacionados ao movimento, a cognição, a memória e a recompensa. A ação da dopamina na sinapse é terminada via recaptação por neurônios pré-sinápticos que ocorre pelo transportador de dopamina, o qual é expresso em todos os neurônios dopaminérgicos. A serotonina, por sua vez, está envolvida no humor, sono, apetite, ansiedade, recompensa e agressão, enquanto a norepinefrina atua na atenção, memória, humor e despertar (LIN & MADRAS, 2006).

Em relação à dopamina (DA), no nosso estudo houve um aumento dos seus níveis, no corpo estriado, após 24h, 7d e 21d de retirada da cocaína e uma redução dos níveis de seu metabólito, o ácido 3,4-hidroxifenilacético (DOPAC) e o HVA. Os níveis aumentados de dopamina e redução do DOPAC e HVA nesta área cerebral podem ser indicativos de que nesta região houve pouca degradação da dopamina. Vale salientar que o metabólito DOPAC está mais presente no cérebro dos seres humanos, enquanto o ácido 4-hidroxi-3-metoxi-fenilacético (HVA) o outro metabólito da dopamina, está mais presente nos animais. Um outro estudo feito com o uso crônico de cocaína mostrou que também houve aumento dos níveis de dopamina, corroborando os nossos dados. No entanto, neste trabalho os metabólitos da dopamina não foram diferentes do grupo controle (DESLANDES et al., 2002).

A heterogeneidade das desordens do humor sugere que diversas regiões cerebrais e neurotransmissores estão envolvidos nestas patologias. Sabe-se que a base neurológica da regulação da emoção é limitada a regiões cerebrais como córtex pré-frontal, hipocampo, estriado, amígdala e hipotálamo, que são áreas cerebrais conhecidas serem afetadas nas desordens tais como ansiedade e depressão (BERTON & NESTLER, 2006). Em estudo recente, ALVES et al.(2008) mostrou que as alterações que a cocaína causa depende da área cerebral estudada e do sexo do animal. Neste sentido ele demonstrou, por exemplo, que a cocaína na amígdala causou uma redução da taxa DA/DOPAC nos ratos machos, porém nas fêmeas não houve alteração e nas áreas do hipocampo, hipotálamo e córtex pré-frontal não ocorreu nenhuma mudança.

Vale salientar que o transporte das monoaminas é um interessante campo para estudo da adição de droga, pois os efeitos comportamentais e celulares das drogas psicoestimulantes, como a cocaína, por exemplo, são devido ao aumento extraneuronal dos níveis de monoaminas no sistema nervoso central. Este aumento de dopamina ocorre devido a um bloqueio de recaptação de dopamina no sistema nervoso central pelos transportadores de dopamina (DAT) e é o mecanismo primário dos efeitos relatados pelo abuso de cocaína. (BRODERICK et al., 2003). Não somente a cocaína, mas também outros psicoestimulantes como anfetamina e fármacos usados para o ADHD, como o metilfenidato, também exercem suas ações via transportador de dopamina (SORA et al, 1998).

Assim, trabalhos mostram que os níveis extracelulares de dopamina e seus metabólitos podem estar aumentados em algumas regiões cerebrais após administração de drogas de abuso como a cocaína, pois esta droga atua indiretamente como agonista do receptor dopaminérgico, potencializando a liberação sináptica deste neurotransmissor e impedindo sua recaptação (REITH et al.,1997). Autores revelam que a recaptação de DA no estriado aumentou para 121% após 15 minutos de administração da cocaína, enquanto no núcleo accumbens houve uma diminuição (WANG et al., 2007). Ainda outro estudo fazendo uso crônico (1 mês) de cocaína relata que a droga pode causar alterações estruturais no núcleo *accumbens* que podem ser notadas com até 30 dias de retirada (ROBINSON et al., 2001).

Um estudo realizado por Deslandes et al (2002) utilizou a cocaína de forma aguda e observou um aumento dos níveis de dopamina no corpo estriado, já os seus metabólitos (DOPAC e HVA) não houve alteração quando comparados ao controle. Este aumento corresponde ao desenvolvimento agudo de euforia após administração de cocaína. No núcleo *accumbens* não ocorreu nenhuma alteração nos níveis de dopamina e seus metabólitos. A cocaína bloqueia a recaptação de dopamina da área tegumentar ventral ao núcleo *accumbens* e córtex e esta ação tem um papel central nas propriedades de recompensa (ROBERTS & ANDREWS, 1997). Há relatos na literatura que a cocaína inibe o transportador de dopamina de forma mais intensa que o transportador de norepinefrina e serotonina (RITZ et al., 1987). Estudo mostra que a liberação de dopamina ocorre após a retirada do uso crônico de cocaína e que esta liberação pode estar



aumentada em até 4 dias de abstinência da droga (IMPERATO et al., 1992). Todavia, o aumento da liberação de dopamina pode ocorrer com até 7 dias de abstinência após tratamento de cocaína de 14 dias (KING et al, 2003) e em nossos resultados foi encontrado um aumento deste neurotransmissor com 21 dias de retirada.

Como dito anteriormente, o outro neurotransmissor estudado por nós foi a serotonina. Nosso estudo mostrou que houve um aumento de serotonina nos três períodos de abstinência de cocaína e este aumento foi dependente do tempo. Com relação ao metabólito da serotonina, o ácido 5-hidroxiindolacético (5HIAA), ocorreu um aumento deste metabólito na abstinência de 24 horas e 7 dias de cocaína, enquanto na retirada de 21 dias ocorreu o oposto, uma redução. Assim, com base nos resultados observados nas diferentes retiradas, podemos especular que após 21 dias de retirada há uma redução do metabolismo da serotonina, o que portanto, ainda nos permite ver uma aumento da serotonina com 21 dias de retirada.

O estudo de ALVES et al.(2008) mostrou que a cocaína causou um aumento dos níveis de serotonina na amígdala corroborando nossos dados utilizando outra área cerebral, visto que houve uma diminuição na formação do metabólito. Em trabalho anterior, MULLER et al., 2002, mostraram também que a cocaína aumentou as concentrações extracelulares desta monoamina no hipocampo e núcleo *accumbens*. No estudo de Teneud et al. (1993) a administração de cocaína aumentou a concentração de serotonina e dopamina e causou redução de 5HIAA.

Entretanto a literatura mostra que os efeitos da retirada de cocaína no sistema serotoninérgico são influenciados também pela dose, duração de exposição da droga e período de retirada. TAYLOR & HO (1979), relataram que a administração de cocaína (10mg/kg dia por 5 dias) promoveu uma redução na quantidade de serotonina, na abstinência de 24 horas. No entanto, quando usada numa dose maior (40mg/kg dia) nenhuma alteração da serotonina foi percebida. Em outro estudo usando um protocolo de tratamento com cocaína por 14 dias (20mg/kg duas vezes dia) houve um aumento dos níveis de serotonina no hipocampo após 12 horas de retirada (JOHNSON et al., 1993). Já estudos com o uso agudo de cocaína mostram um

aumento da liberação de dopamina e serotonina no núcleo accumbens, assim como um aumento do comportamento locomotor do animal.

Em relação à noradrenalina, nossos dados mostram que houve uma redução dos níveis nas três retiradas, entretanto na retirada de 21d os níveis apresentam uma tendência à normalidade. Como discutido anteriormente, a abstinência de cocaína pode levar à ansiedade e estudo indica que esta ansiedade induz a uma desregulação no sistema noradrenérgico (HARRIS & ASTON-JONES, 1993). O mecanismo preciso pelo qual a cocaína induz esta desregulação no sistema noradrenérgico ainda não está claro, representa uma resposta compensatória dos neurônios noradrenérgicos pré-sinápticos devido a uma deficiência aguda de norepinefrina (McDOUGLE et al., 1994). Sabe-se que existe uma interação entre noradrenalina e dopamina e as drogas psicoestimulantes alteram a transmissão noradrenérgica em áreas cerebrais envolvidas com a adição como córtex pré-frontal e núcleo *accumbens* (DELFS et al., 200; WANG et al., 2001).

Estudos mostram que o uso crônico de cocaína promove um aumento dos transportadores de noradrenalina, este aumento reflete as mudanças que ocorrem na liberação deste neurotransmissor (BEVERIDGE et al., 2004; KITAYAMA et al., 2006). Nossos dados mostram que houve uma redução de noradrenalina em todas as retiradas. Os autores Dumont & Williams (2006) afirmam que a transmissão noradrenérgica na amígdala tem um importante papel no uso crônico de cocaína, pois a noradrenalina pode causar uma disforia levando uma redução da projeção excitatória na amígdala e área tegumentar ventral e este efeito pode ser devido a ação da noradrenalina em aumentar GABA e reduzir glutamato na área tegumentar ventral. Um estudo com altas doses de cocaína mostrou que após convulsão, a concentração de NE, 5HT e DA estavam elevadas no corpo estriado, enquanto os animais que morreram apresentaram uma redução de DA e NE (MACEDO et al., 2004).

Após a determinação da concentração das monoaminas, foi quantificada a taxa de metabolização e verificou-se que houve redução da metabolização de dopamina, bem como de serotonina em relação aos seus metabólitos nos três períodos de retirada. Como houve redução da taxa de metabolização das monoaminas, pode-se explicar o aumento dos níveis de monoaminas encontradas no presente estudo. Sabe-se que o uso da cocaína bloqueia a recaptação de

monoaminas, aumentando os níveis extracelulares destes neurotransmissores (JAYANTHI & RAMAMOORTHY, 2005). No entanto, o bloqueio prolongado pode causar depleção de monoaminas (ALBURGUES et al., 1996). Para enfatizar estes resultados, a redução na degradação das monoaminas pode ter ocorrido no período de abstinência, como um mecanismo compensatório do bloqueio de recaptção dos neurotransmissores causada pela administração repetida de cocaína. De acordo com o exposto acima percebe-se que o mecanismo de ação da cocaína está bem esclarecido, no entanto as alterações neurobiológicas na abstinência de cocaína ainda não estão claras.

O sistema dopaminérgico é um importante sítio de ação de psicoestimulantes e estudos pré-clínicos têm indicado que este sistema pode modular os efeitos comportamentais da cocaína. Trabalho mostra que a administração crônica de cocaína pode aumentar, reduzir ou não causar nenhum efeito na densidade dos receptores dopaminérgicos D1 e D2, alterar a sinalização do AMPc, bem como interromper a interação entre os receptores D1 e D2 dopamina (ANDERSON & PIERSON, 2005).

Com base nestas considerações, no presente trabalho também se investigou os efeitos da abstinência de cocaína na densidade de receptores dopaminérgicos D1 e D2-símile, e receptores serotoninérgicos. O presente estudo mostrou que no corpo estriado dos animais foi encontrado que não houve alteração na densidade dos receptores dopaminérgicos D1 quando comparados ao controle. Nos receptores D2 durante as retiradas de 24 horas e 7 dias houve um aumento na densidade dos receptores D2 e na retirada de 21 dias não houve nenhuma alteração. Com relação aos receptores serotoninérgicos (5HT) o aumento só foi observado na retirada de 7 dias.

É bastante documentado na literatura científica que a DA exerce um papel importante na motivação e reforço da droga (ROBBINS et al., 1989; ROBBINS & EVERITT, 1999; Di CHIARA, 1995). Os neurônios dopaminérgicos são ativados por estímulos que encorajam a pessoa ou o animal a interpretar ou repetir um determinado comportamento (estímulo motivacional). Tal estímulo converge dos grupos celulares dopaminérgicos A8, A9 e A10, de onde a informação é passada a diversas áreas cerebrais onde estão localizadas as terminações dos neurônios dopaminérgicos. Conseqüentemente, através da ativação destes neurônios, o estímulo

motivacional pode influenciar a atividade de várias áreas cerebrais, o que pode determinar diferentes funções comportamentais.

Alguns autores afirmam que os receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> interagem na locomoção e na estereotipia. A locomoção depende da ativação dos receptores D<sub>1</sub> (STARR et al., 1989), enquanto o comportamento estereotipado depende do receptor D<sub>2</sub> (USHIJIMA et al., 1995). Além disso, tem sido relatado que a redução da atividade locomotora é causada pela diminuição da dopamina, de forma que a locomoção depende do aumento ou redução desta monoamina (HSIEH et al., 1994).

Estudo com auto-administração de cocaína por 2 horas em roedores mostrou que ocorreu um aumento dramático em número e potência destes neurônios no núcleo *accumbens*. Também observou-se que a ativação dos neurônios do núcleo *accumbens* é mantida após um prolongado período de abstinência de auto-administração de cocaína e que as diversas populações destes neurônios que estão ligados ao comportamento causado pela cocaína são mais ativos na fase de abstinência da droga. Este aumento do número de neurônios pode estar relacionado a uma variedade de neuroadaptações moleculares, como resultado de prolongado período de abstinência da cocaína (HOLLANDER & CARELLI, 2005). Outros autores de fato, confirmam que os neurônios dopaminérgicos do núcleo *accumbens* podem estar envolvidos no uso de cocaína (KOOB et al., 1998) e que o aumento na incidência desta fase ativa dos neurônios nesta região pode ser uma consequência da variedade de neuroadaptações moleculares como resultado da prolongada abstinência de cocaína (KALIVAS et al., 2003).

Diversos fatores como a duração de exposição à cocaína, a taxa de administração da droga e o período de retirada parecem influenciar as consequências neuroquímicas da retirada de cocaína (DWORKING et al., 1995). Alguns trabalhos mostram, por exemplo, que a densidade dos receptores D<sub>1</sub> no córtex frontal de animais aumentou após 20 minutos de administração de cocaína na dose de 10mg/kg ou 20mg/kg, e no período de 2 semanas de abstinência nenhuma redução foi notada, ou seja os níveis deste receptor ainda estavam elevados. Nas regiões do corpo estriado e núcleo *accumbens* houve uma redução deste receptor. Em relação ao receptor D<sub>2</sub>

houve aumento do receptor no núcleo accumbens, bem como na retirada de 2 semanas e uma redução no estriado e córtex frontal (GOEDERS & KUHAR, 1987).

Como referido anteriormente, a cocaína aumenta os níveis de DA no meio extracelular, por bloquear sua proteína transportadora e, conseqüentemente, impedir sua recaptação para o neurônio pré-sináptico (REITH et al., 1997). Estudos demonstram que o aumento deste neurotransmissor em determinadas áreas cerebrais, como por exemplo, no núcleo *accumbens*, é responsável pelos efeitos de reforço da cocaína. A ativação do sistema nervoso simpático também ocorre, explicando os efeitos ativadores da droga, os quais incluem a taquicardia, aumento da pressão sanguínea sistólica, midríase e outros efeitos simpáticos (RITCHIE & GREENE, 1990).

Mais especificamente, os receptores D1, D2 e D3 podem estar envolvidos no efeito de reforço no sistema mesolímbico dopaminérgico. A atividade do receptor D1 foi demonstrada ocorrer predominantemente no *shell* do núcleo *accumbens*, o qual está relacionado com aspectos motivacionais do vício por cocaína (KOOB & BLOMM, 1998). Leshner (1996) também sugeriu que os receptores D1 podem estar envolvidos na saciedade pela cocaína, visto que agonistas D1 suprimem a auto-administração em ratos. Respalhando os resultados obtidos por Leshner (1996), Caine e colaboradores, em estudo recente (2007), demonstraram que camundongos *knock-out* para receptores D1 não exibiram comportamento de auto-administração da cocaína. Tais estudos podem justificar o uso de antagonistas dopaminérgicos D1 no tratamento da dependência de cocaína, sobretudo, auxiliando na redução do comportamento de busca pela droga.

Os receptores D2 também possuem importância nos efeitos de reforço da cocaína. Tais receptores apresentam um possível papel nos comportamentos motores envolvidos no vício pela cocaína, considerando que agonistas D2 induzem uma procura pela droga (LESHNER, 1996). No entanto, os dados da literatura a respeito da participação deste receptor na neurobiologia da cocaína são controversos. Alguns estudos sugerem que o comportamento de busca pela droga se deve a um aumento na quantidade de receptores D2 no corpo estriado, o qual está envolvido nos comportamentos motores (KOOB & NESTLER, 1997). Por outro lado, outros investigadores reportam uma predisposição à auto-administração de cocaína relacionada à redução da densidade desses receptores no corpo estriado de primatas (NADER et al., 2006), mesmo após períodos

relativamente longos de retirada. No entanto, um recente trabalho realizado por Briand et al. (2008), indica uma possível resolução para a contradição entre tais estudos. Os autores esclarecem que os receptores D2 existem em dois estados de afinidade, sendo um alto (*high-affinity state*) e um baixo (*low-affinity state*). O estudo demonstrou que a experiência de auto-administração de cocaína produz um aumento (aproximadamente de 150%) na proporção dos receptores no estado elevado no estriado dos animais (mesmo após 30 dias da retirada da droga) sem, portanto, modificar a densidade desses receptores. Os autores sugerem ainda que esse aumento dos receptores D2 no estado alto resulta na supersensibilidade dopaminérgica e que isto pode explicar porque estímulos neste sistema de neurotransmissão são tão efetivos em produzir recaída em indivíduos com história de exposição à cocaína.

Pesquisa recente indica que uso crônico de cocaína pode aumentar os transportadores de dopamina (DAWS et al., 2002). Estudos de transportadores de dopamina (TDA) e transportadores de serotonina (TSER) ambos de ratos nocaute mostraram o envolvimento do sistema serotoninérgico na resposta de recompensa e sugere que a interação da cocaína com TSER pode ser necessária para iniciar e manter a recompensa em ratos TDA nocaute (SORA et al, 2001). Na retirada de 14 dias de cocaína o nível de transportadores de dopamina ainda encontrava-se elevado (BEN-SHAHAR et al, 2006). Um estudo de microdiálise com ratos que receberam uma dose de cocaína via ip, 10, 20 ou 30 mg/kg mostrou que houve um aumento extracelular da serotonina no núcleo accumbens em proporção com as doses. Já em relação ao 5HIAA, que é o metabólito da serotonina, houve uma redução nas doses de 20 e 30mg/kg. Quando a cocaína foi administrada localmente ocorreu aumento de 5HT, mas não existiu diferença significativa no 5HIAA, indicando assim que as ações centrais da cocaína são medidas em parte pela serotonina (TENENUD et al, 1996).

Diferentemente dos nossos resultados, alguns estudos de *binding* têm demonstrado mudanças nos receptores dopaminérgicos D1 e D2 após administração crônica de estimulantes, havendo uma redução da densidade destes receptores no estriado (ZEIGLER et al, 1991). Macedo (2005) verificou que o receptor D1 foi reduzido em corpo estriado e córtex pré-frontal após convulsão induzida por cocaína. Em relação ao receptor D2 este foi aumentado nas duas áreas estudadas.

Como referido anteriormente, o bloqueio prolongado da recaptação das monoaminas, causado pelo uso crônico da cocaína, pode levar também a redução da transmissão serotoninérgica (além da dopaminérgica), o que pode contribuir diretamente com muitos aspectos da síndrome de abstinência, sobretudo, com os sintomas de desordens psiquiátricas (FOCCHI, 2001). Enquanto em humanos tais sintomas correspondem apenas a evidências indiretas do déficit de 5-HT, em animais, estudos utilizando técnicas de microdiálise têm, de fato, demonstrado ocorrer a diminuição dos níveis dessa monoamina no núcleo *accumbens* durante a retirada da auto-administração de cocaína (PARSONS et al., 1996; FILIP et al., 2005). Entretanto Macedo (2005) observou em seu estudo que após convulsão induzida por cocaína a concentração receptores 5HT estava elevada no corpo estriado e córtex pré-frontal.

Além da supressão de 5-HT, observada durante a abstinência subsequente a um longo período de consumo da cocaína, um crescente número de evidências indicam que os receptores 5-HT1B desempenham um importante papel na modulação das alterações comportamentais, neuroquímicas e celulares induzidas pela cocaína (PARSONS et al., 1998, 1999; CASTANON et al., 2000). Durante a fase de retirada inicial da cocaína, observa-se uma subsensibilidade desses receptores, a qual foi atribuída a uma *downregulation* adaptativa dos mesmos, que se desenvolve durante a auto-administração prolongada da cocaína para compensar o aumento nos níveis sinápticos de 5-HT induzido pela droga. Por outro lado, a supersensibilidade subsequente é presumível resultar de uma deficiência extracelular de 5-HT durante a retirada da droga. Estes achados indicam a participação dos receptores 5-HT1B na síndrome de abstinência e sensibilização produzida pela administração repetida de cocaína (KING et al, 2002).

De fato, os estudos iniciais realizados por Parsons e colaboradores (1998), evidenciaram que a ativação de receptores 5-HT1B utilizando substâncias agonistas (RU 24969, CP 94,253 e CP 93,129) potencializaram as propriedades de reforço da cocaína, sugerindo a participação desses receptores no desenvolvimento da dependência à cocaína. No entanto, apenas em um estudo, O'Dell e Parsons (2004) demonstraram que a ativação desses receptores na Área Tegmentar Ventral (VTA) potencializou o aumento dos níveis de DA no núcleo *accumbens* por aumentar a habilidade da cocaína de diminuir o efluxo do GABA nesta área cerebral.

No entanto, diversos outros estudos pré-clínicos utilizando microdiálise, têm demonstrado que o aumento da liberação de DA no núcleo *accumbens* pode ser obtido não só mediante a administração de agonistas 5-HT1B, mas também através do uso de agonistas dos receptores 5-HT2A e 5-HT3 ou de antagonistas dos receptores 5-HT2A (DI MATTEO et al., 1999; DE DEURWAERDERE & SPAMPINATO, 1999; BOWERS et al., 2000). Desta forma, devido à importância do aumento nos níveis de DA no núcleo *accumbens* para a modulação dos efeitos de reforço da cocaína, juntos, os achados dos estudos acima citados sugerem benefícios através da terapia com agonistas serotoninérgicos, particularmente os seletivos para os receptores 5-HT1B, os quais são desprovidos de seus próprios efeitos de recompensa (PARSONS et al., 1998). Tais substâncias podem reverter o déficit da neurotransmissão serotoninérgica, levando à supressão dos sintomas de depressão, insônia, agressividade e ansiedade e ainda aumentar os níveis sinápticos de DA, restabelecendo, assim, a habilidade de sentir prazer, bem como equilibrando também o sistema de recompensa (FILIP et al., 2005).

O estresse oxidativo tem sido implicado em numerosas doenças neurodegenerativas, alterando uma variedade de funções fisiológicas como doenças inflamatórias, câncer e doenças neurológicas, incluindo a epilepsia (PATEL, 2004). Espécies reativas do oxigênio são normalmente produzidas no cérebro como o superóxido, radical hidróxi e peróxido de hidrogênio. É sabido que a cocaína aumenta o estresse oxidativo, podendo levar a neurodegeneração. Um estudo com baixas doses de cocaína mostrou a formação de espécies reativas de oxigênio como o radical hidróxi que é formado pelo metabolismo da droga (LLOYD et al., 1993).

O presente estudo mostrou que houve uma redução na atividade da catalase em corpo estriado de ratos, após tratamento de 7 d com cocaína (20mg/kg,i.p.) na abstinência de 24 h e 7 dias, e nenhuma alteração a abstinência de 21 dias. Esta redução na atividade da catalase reflete o possível acúmulo do peróxido de hidrogênio, pois esta enzima protege do estresse oxidativo, convertendo o peróxido em água.

O estresse oxidativo geralmente descreve uma condição na qual as defesas antioxidantes da célula são inadequadas para destruir os radicais livres, causando um acúmulo destes radicais.



Uma conseqüência do estresse oxidativo é o dano às macromoléculas celulares que pode ocorrer pela adição do grupo peróxi ou hidróxi às gorduras insaturadas e seletivamente podem ser fundidos durante a reação com um elétron livre para gerar tioésteres, os quais afetam a função e estabilidade da proteína. Ambos os processos são denominados de peroxidação lipídica (HALLIWELL, 1992).

Como citado anteriormente, o mecanismo de ação da cocaína envolve a inibição da recaptação de dopamina, resultando em aumento dos níveis de dopamina. Fisiologicamente o peróxido de hidrogênio pode ser formado do metabolismo da dopamina, o qual produz os radicais hidróxi (HALLIWELL, 1992). Estudos prévios do nosso laboratório mostraram um aumento no ácido homovalínico (HVA), um metabólito da dopamina, após convulsão e morte induzida pela cocaína, bem como aumento do ácido hidróxifenilacético (DOPAC) após morte no estriado (MACEDO et al., 2004). Estes resultados sugerem um aumento no metabolismo da dopamina após administração de cocaína, o qual promove uma elevação no conteúdo do peróxido de hidrogênio o que é correlacionado com um aumento das espécies reativas de oxigênio.

Nossos resultados mostram que cocaína em baixas doses altera a atividade da catalase, causando uma redução desta atividade no corpo estriado. Esta área cerebral é importante para o mecanismo de ação das drogas psicoestimulantes. Esta interferência na atividade da catalase foi observada também com outros inibidores de recaptação de dopamina, visto que outro estudo de nosso laboratório (MACEDO et al., 2005) mostrou também redução na atividade desta enzima após convulsão induzida por bupropiona, indicando a relação entre presença de dopamina e inibição da atividade da catalase.

Trabalho recente (KODYDKOVÁ et al., 2009), mostra uma alteração da atividade da catalase em mulheres deprimidas e infere que as desordens depressivas ocorrem por disfunção da neurotransmissão serotoninérgica, noradrenérgica e dopaminérgica (HINDMARCH, 2002; MALHI et al., 2005), regulação anormal do eixo hipotalâmico-hipofisário- adrenal (BROWN et al., 2004), distúrbio da plasticidade celular com reduzida neurogênese (KEMPERNANN & KRONENBERG, 2003), ou inflamação crônica conectada com um aumento do estresse oxidativo (SMITH, 1991). Estes autores (KODYDKOVÁ et al., 2009) observaram em mulheres

depressivas um aumento na atividade da catalase, enquanto neste trabalho a cocaína nas retiradas de 24 h e 7 d causou redução da atividade desta enzima e redução de imobilidade no nado forçado, sugestivo de efeito antidepressivo. De forma interessante, em nosso trabalho, a depressão avaliada no teste do nado forçado só se manifestou após 21 dias de abstinência, quando não se observou nenhuma alteração significativa na atividade da catalase. Nossos resultados confirmam a importância da determinação da atividade da catalase em eventos depressivos ou antidepressivos e que alterações na atividade desta enzima podem realmente ocorrer por disfunção da neurotransmissão serotoninérgica, noradrenérgica e dopaminérgica.

***CONSIDERAÇÕES FINAIS***

---

---

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observando-se conjuntamente todos os resultados alcançados neste estudo, foi possível notar que:

No teste do labirinto em cruz elevado, a abstinência de cocaína de 24h e 7d causou um efeito ansiogênico, pois reduziu todos os parâmetros nos braços abertos;

O efeito ansiogênico foi confirmado no teste do campo aberto, pois houve um aumento da atividade locomotora após 24h e 7d de retirada;

A ansiedade causada pela abstinência de cocaína está envolvida com o sistema noradrenérgico e serotoninérgico, pois os fármacos utilizados reverteram o comportamento de ansiedade durante a retirada de cocaína, no teste do labirinto em cruz elevado bem como no campo aberto;

No teste do nado forçado houve aumento do tempo de imobilidade após 21 dias de retirada de cocaína indicando a ocorrência de depressão, que foi revertida por bupropiona e paroxetina indicando a influência dos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico neste efeito.

Durante a abstinência de cocaína, nos três tempos estudados ocorreu um aumento de dopamina e os seus metabólitos DOPAC e HVA foram reduzidos. Houve um aumento da serotonina e do seu metabólito 5HIAA, e a noradrenalina foi reduzida nas três retiradas. Houve uma redução na taxa de metabolização de dopamina e serotonina nas três retiradas.

Em relação aos receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos, no corpo estriado, os receptores D1 não foram alterados, houve aumento de D2 após 24h e 7d e após 7d nos receptores 5HT<sub>2</sub>.

A atividade da catalase foi reduzida nos três períodos de abstinência, mostrando que a cocaína pode causar danos cerebrais relacionados ao estresse oxidativo.

## **CONCLUSÃO**

---

---

## 8. CONCLUSÃO

Com o presente trabalho podemos concluir que a abstinência de cocaína alterou não somente o comportamento do animal, causando ansiedade e logo depois a depressão, mas também causa importantes alterações neuroquímicas na concentração de monoaminas, densidade de receptores dopaminérgicos e serotoninérgicos além de diminuir a atividade da catalase indicando a ocorrência de possíveis danos neurais em consequência do estresse oxidativo. Apesar da existência de vários estudos sobre os efeitos causados pela abstinência de cocaína, ainda é de suma importância ampliar cada vez mais os estudos concernentes aos efeitos causados na abstinência de cocaína, visto que precisa se esclarecer quais os mecanismos envolvidos e a partir de quando e até quando vão os prejuízos causados na abstinência de cocaína, assim como estudos são importantes para a descoberta de novas estratégias terapêuticas para o tratamento adequado.

***REFERÊNCIAS***

---

---

## 9. REFERÊNCIAS

ABRAMS, J.K. et al. Serotonergic systems associated with arousal and vigilance behaviors following administration of anxiogenic drugs. **Neuroscience**, v.133, p. 983-97, 2005.

ADAMS, J.D.; JR CHANG, M.L.; KLAIDMAN, L. Parkinson's disease--redox mechanisms. **Curr Med Chem.**, v.8, n.7, p.809-14, 2001.

AGO, Y. et al. Neuropsychotoxicity of Abused Drugs: Effects of Serotonin Receptor Ligands on Methamphetamine and Cocaine-Induced Behavioral Sensitization in Mice. **J Pharmacol Sci.**, v.106, p.15-21, 2008.

ALBONETTI, M.E.; FARABOLLINI, F. Social stress by repeated defeat: effect on social behavior and emotionality. **Behavior Brain Research**, 62: 187-193; 1994.

ALBURGUES, M.E.; CROUCH, D.J.; ANDRENYAK, D.M.; WAMSLEY, J.K. Lack of long-term changes in cocaine and monoamine concentration in rat CNS following chronic administration of cocaine. **Neurochem Int.**, v. 28, p. 51-57, 1996.

ALLAN, A.M et al. Conditioned place preference for cocaine is attenuated in mice over-expressing the 5-HT(3) receptor. **Psychopharmacol.**, v. 158, p. 18-27, 2001.

ALBURGUES, et al. Lack of long-term changes in cocaine and monoamine concentration in rat CNS following chronic administration of cocaine. **Neurochem Int.**, v. 28, p.51-57, 1996.

ALVES, C. J. et al. Hormonal, neurochemical, and behavioral response to a forced swim test in adolescent rats throughout cocaine withdrawal. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.1139, p.366-73, 2008.

AMARA, S. G.; KUHAR, M. J. Neurotransmitter transporters: Recent progress. **Annu. Rev. Neurosci.**, v.16, p.73-93, 1993.

ANDERSON, S.M.; PIERCE, R.C. Cocaine-induced alterations in dopamine receptor signaling: implications for reinforcement and reinstatement. **Pharmacol Ther.**, v.106, p.389-403, 2005.



ANDREATINI, R.; BACELLAR, L.F.S. The relationship between anxiety and depression in animal models: a study using the forced swimming test and elevated plus-maze. **Braz J Med Biol Res**, v.32, p.1121-26, 1999.

ANISMAN, H.; ZACHARKO, R.M. Depression: the predisposing influence of stress. **Behav Brain Sci.**, v.5, p.89-137, 1982.

ARAKAWA, O.; IKEDA, T. Apomorphine effects on single and paired rat open-field behavior. **Physiol Behav**, v.50, p.189-94, 1991.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice. A review. **Anim. Behav.**, v.21, p. 205-35, 1973.

ARRUDA-CARVALHO, M. ERK: uma proteína responsável pelo desejo por cocaína? **Ciências & Cognição**, v.5, p.95-7, 2005.

AXELROD, J. Noradrenaline: Fate and control of its biosynthesis. **Science.**, v.173, p.598-606, 1971.

BAILEY, B.J. Looking back at a century of cocaine - use and abuse. **Laryngoscope.**, v.106, n.6, p.681-83, 1996.

BAHLS, F.C.; BAHLS, S-C. Cocaína: origens, passado e presente. **Interação Psicol.**, v.6, n.2, p.177-81, 2002.

BARNES, N.M.; SHARP, T.A. A review of central 5HT receptors and their function. **Neuropharmacol.**, v. 38, p. 1083-1152, 1999.

BEN-SAHAR, O. et al. The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss sensitization. **Brain Res.**, v.995, p.46-54, 2004.

\_\_\_\_\_. Prolonged daily exposure to IV cocaine results in tolerance to its stimulant effects. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.82, p.411-16, 2005.

BERTON, O.; NESTLER, E.J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. **Neurosci.**, v. 7, p.137-151, 2006.

BEVERIDGE, T.J. et al. Functional effects of cocaine self-administration in primate brain regions regulating cardiovascular function. **Neurosci Lett.**, v. 370, p.201–5, 2004.

BEYER, C. E.; STEKETEE, J. D.; SAPHIER, D. Antioxidant properties of melatonin – an emerging mystery. **Biochem. Pharmacol.**, v.56, p.1265-72, 1998.

BLANCHARD, D.C.; BLANCHARD, R.J. Cocaine potentiates defensive behaviors related to fear and anxiety. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v.23, p.981-91, 1999.

BLOOMSTONE, J.A. The drug-abusing parturient. **Int Anesthesiol Clin**, v.40, p.137-50, 2002.

BOWERS, B.J. et al. Serotonin 5-HT(2) receptor stimulation of dopamine release in the posterior but not anterior nucleus accumbens of the rat. **J Neurochem.**, v.75, n.4, p.1625-33, 2000.

BREITINGER, H.G.; GEETHA, N.; HESS, G.P. Inhibition of the serotonin 5-HT3 receptor by nicotine, cocaine and fluoxetine investigated by rapid chemical kinetic techniques. **Biochemistry**, v. 40, p. 8419–29, 2001.

BRODERICK, P.A.; RAHNI, D.N.; ZHOU, Y. Acute and subacute effects of risperidone and cocaine on accumbens dopamine and serotonin release using in vivo microvoltammetry on line with open-field behavior. **Prog NeuroPsychopharmacol Biol Psychiatry.**, v.27, n.6, p.1037-54, 2003.

BROADHURST, P. L.(ed) Experiments in psychogenetics. In: EYSENCK, H.J. **Experiments in personality**. London: Routledge and Kegan Paul, 1960, p.3-71.

BURKE, R. E.; GREENBAUM, D. Effect of post-mortem factors on muscarinic receptor subtypes in rat brain. **J. Neurochem.**, v.49, p.529–96, 1987.

BUSH, D.E.A.; VACCARINO, F.J. Individual differences in elevated plus-maze exploration predicted progressive-ratio cocaine self-administration break points in Wistar rats. **Psychopharmacology.**, v.194, p.211-9, 2007.

CARBONI, E. et al. Blockade of the noradrenaline carrier increases extracellular dopamine concentrations in the prefrontal cortex: evidence that dopamine is taken up in vivo by noradrenergic terminals. **J Neurochem.**, v. 55, p. 1067–70, 1990.

CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E. Acute and chronic cocaine behavioral effects in novel versus familiar environments: open-field familiarity differentiates cocaine locomotor stimulant effects from cocaine emotional behavioral effects. **Behavioural Brain Research.**, v.158, p.321-30, 2005a.

\_\_\_\_\_. Stimulus gated cocaine sensitization: interoceptive drug cue control of cocaine locomotor sensitization. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.82, n.2, p.353-60, 2005b.

CARLI, M.; PRONTERA, C.; SAMANIN, R. Effect of 5-HT1A agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. **Neuropharmacology.**, v.28, n.5, p.471-6, 1989.

CARLINI-COTRIM, B. Movimentos e discursos contra as drogas: O caso da sociedade norteamericana. **Rev Bras Psiq Associ Psiquiatri Am Latin**, v.17, n.3, p.93-101, 1995.

CARLINI, E.A. et al. I Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: Estudo envolvendo as 107 maiores cidades do País- 2001. São Paulo: CEBRID, UNIFESP, 2002.

CAROLA, V. et al. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. **Behavioural Brain Research**, v. 134, p. 49-57, 2002.

CASTANON, N. et al. Modulation of the effects of cocaine by 5-HT1B receptors: a comparison of knockouts and antagonists. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.67, p.559-66, 2000.

CHOLERIS, E. et al. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.25, p.235-260, 2001.

COCAÍNA. Disponível em: [www2.fpce.ul.pt/.../alunos/drogas/cocaina.htm](http://www2.fpce.ul.pt/.../alunos/drogas/cocaina.htm). Acesso em: 24 jun. 2009

CONNER, K.R.; PINQUART, M.; HOLBROOK, A.P. Meta-analysis of depression and substance use and impairment among cocaine users. **Drug Alcohol Depend.**, v.98, p.13-23, 2008.

CONNOR, T.J. et al. Effect subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical and endocrine changes in the forced-swim test. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.65, p.591-7, 2000.

COSTA, E.; SANDLER, M. Monoamine Oxidase: New Vistas. **Adv Biochem Psychopharmacol.**, v.5, 1972.

COSTALL, B. et al. Sites of action of ondansetron to inhibit withdrawal from drugs of abuse. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.36, p.97-104, 1990.

COX, T. et al (ed). Drugs and drug abuse: a reference text. Toronto: **Addiction Research Foundation Press**, 1983.

CREGLER, L.L.; MARK, H. Medical complications of cocaine abuse. **N Engl J Med.**, v.315, p.1495-500, 1986.

CROMWELL, H.C. et al. Action sequencing is impaired in D1A-deficient mutant mice. **Eur J Neurosci.**, v.10, p.2426-32, 1998.

CUNNINGHAM, K.A.; PARIS, J.M.; GOEDERS, N.E. Serotonin neurotransmission in cocaine sensitization. **Ann N Y Acad Sci.**, v.654, p.117-27, 1992.

DAVIDSON, C. et al. Ondansetron, given during the acute cocaine withdrawal, attenuates oral cocaine self-administration. **Eur J Pharmacol.**, v.503, p.99-102, 2004.

DAWS, L.C. et al.. Cocaine increases dopamine uptake and cell surface expression of dopamine transporters. **Biochem Biophys Res Commun.**, v.8, n.5, p.1545-50, 2002.

DELFS, J.M. et al. Noradrenaline in the ventral forebrain is critical for opiate withdrawal-induced aversion. **Nature**, v. 403, n. 6768, p.430-34, 2000.

DESLANDES, P.N. et al. Morphine, cocaine and antidepressant induced motivational activity and midbrain dopaminergic neurotransmission. **Eur J Pharmacol.**, v.453, p.223-9, 2002.

DETKE, M.J.; RICKELS, M.; LUCKI, I. Active behavior in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. **Psychopharmacology**, v.121, p.66-72, 1995.

DE DEURWAERDÈRE, P.; SPAMPINATO, U. Role of serotonin(2A) and serotonin(2B/2C) receptor subtypes in the control of accumbal and striatal dopamine release elicited in vivo by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. **J Neurochem.**, v.73, n.3, p.1033-42, 1999.

DHIR, A.; KULKAMI, S.K.; CAN, J. Antidepressant-like effect of 17beta-estradiol: involvement of dopaminergic, serotonergic, and (or) sigma-1 receptor systems. **Physiol Pharmacol.**, v.86, n.10, p.726-35, 2008.

DIETRICH, J.B. et al. Acute or repeated cocaine administration generates reactive oxygen species and induces antioxidant enzyme activity in dopaminergic rat brain structures. **Neuropharmacology**, v.48, p.965-74, 2005.

DI MATEO, V. et al. SB 242084, a selective serotonin<sub>2C</sub> receptor antagonist, increases dopaminergic transmission in the mesolimbic system. **Neuropharmacol.**, v.38, n.8, p.1195-205, 1999.

DUMONT, E.C.; WILLIAMS, J.T. Noradrenaline triggers GABA<sub>A</sub> inhibition of bed nucleus of the stria terminalis neurons projecting to the ventral tegmental area. **J Neurosci.**, v. 24, p. 8198–8204, 2004.

ERB, S.; KAYYALI, H.; ROMERO, K. A study of the lasting effects of cocaine pre-exposure on anxiety-like behaviors under baseline conditions and in response to central injections of corticotropin-releasing factor. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.85, n.1, p.206-13, 2006.

ERHARDT, E. et al. Behavioral changes induced by cocaine in mice are modified by a hyperlipidic diet or recombinant leptin. **Braz J Med Biol Res.**, v.39, p.1625-35, 2006.

ESTELLES, J. et al. Cocaine exposure during adolescence affects anxiety in adult mice. **Brain Res Bull.**, v.71, p.393-403, 2007.

ETTENBERG, A.; BERNARDI, R.E. Effects of buspirone on the immediate positive and delayed negative properties of intravenous cocaine as measured in the conditioned place preference test. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.87, p.171-78, 2007.

FANG, Y.; RONNEKLEIV, O.K. Cocaine upregulates the dopamine transporter in fetal rhesus monkey brain. **J Neurosci.**, v.19, p.8966-78, 1999.

FELDMAN, R.S.; MEYER, J.S.; QUENZER, L.F. Catecholamines. In: **Principles of Neuropsychopharmacology**. Sunderland, Mass.: Sinauer Associates, 1997. p. 277-344.

FERNÁNDEZ-TERUEL, A. et al. Imipramine and desipramine decrease the GABA-stimulated chloride uptake, and antigabaergic agents enhance their action in the forced swimming test in rats. **Neuropsychobiology**, v.23, n.3, p.147-52, 1990.

FERREIRA, P.E.M.; MARTINI, R.K. Cocaína: lendas, história e abuso. **Rev Bras Psiquiatr.**, v.23, n.2, p. 96-9, 2001.

FEUCHT, T. E. **Drug Use Forecasting Annual Report**. US Department of Justice, Washington DC, 1995.

FILIP, M. et al. Alterations in BDNF and trkB mRNAs following acute or sensitizing cocaine treatments and withdrawal. **Brain Res**, v.1071, p.218-25, 2006.

FISCHMAN, M.W. Cocaine and the amphetamines. In: MELTZER, H.Y. (ed). **Psychopharmacology: The third Generation of Progress**. New York: Raven Press, 1987, p. 1543-53.

FOCCHIA, G.R.A.; LEITE, B.M.C.L.; SCIVOLETTOC, S. Utilização do agonista dopaminérgico pergolida no tratamento da “fissura” por cocaína. **Rev Bras Psiquiatr.**, v.23, n.4, p.188-94, 2001.

FRAZER, A.; HENSLER J. G. Serotonin. In: SIEGEL G.J.; AGRANOFF, B.W.; ALBERS R.W.; FISHER S.K.; UHLER M.D. (eds.). **Basic Neurochemistry: Molecular, cellular and medical aspects**. United States American: Lippincott Williams and Wilkins, 1999, p.758.

FREEMAN, K.B.; VERENDEEV, A.; RILEY, A.L. Noradrenergic antagonism enhances the conditioned aversive effects of cocaine. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.88, n.4, p.523-32, 2008.

GAWIN, F.H. Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. **Science.**, v.251, p.1580-86, 1991.

GAWIN, F.; KLEBER, H.D. Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. **Arch Gen Psychiatry.**, v.43, p.104-13, 1986.

GAY, G.R. Clinical management of acute and chronic cocaine poisoning. **Ann Emerg Med.**, v.11, p.562-72, 1982.

GINGRICH, J.A.; CARON, M.G. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. **Annu Rev Neurosci.**, v.16, p.299-31, 1993.

GOEDERS, N.E. Stress and cocaine addiction. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.301, p.785-89, 2002.

GUZZETTI, S. Strain differences in paroxetine-induced reduction of immobility time in the forced swimming test in mice: Role of serotonin. **Eur J Pharmacol.**, v. 594, p. 117–124, 2008.

HAGAN, R.M. et al. Effect of 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonists on responses to selective activation of mesolimbic dopaminergic pathways. **Br J Pharmacol.**, v.99, p.227-32, 1990.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **J Neurochem**, v.59, p.1609-23, 1992.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free radicals in Biology and Medicine.** 3th ed. New York: Oxford University Press, 1999.

HARRIS, G.C., ASTON-JONES, G.A. Beta-adrenergic antagonists attenuate withdrawal anxiety in cocaine and morphine dependent rats. **Psychopharmacol.**, v. 113, 131–136, 1993.

HAYASE, T.; YAMAMOTO, Y.; YAMAMOTO, K. Toxic cocaine- and convulsivant- induced modification of forced swimming behaviors and their interaction with ethanol: comparison with immobilization stress. **BMC Pharmacol.**, v.2, n.19, p.1-9, 2002.

HÉDOU, G. et al. An automated analysis of rat behavior in the forced swim test. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.70, p.65-76, 2001.

HINDMARCH, I. Beyond the monoamine hypothesis: mechanisms, molecules and methods. **Eur Psychiatry**, v.17, p.294-9, 2002.

HOFFMAN, B.B., LEFKOWITZ, R.L. Catecholamines, sympathomimetic drugs, and adrenergic receptor antagonists. In: GOODMAN, E.G. et al. (eds.), Goodman and Gillman's **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. New York: McGraw Hill, 1996, p. 199–248.

HOLANDER, J.A.; CARELLI, R.M. Abstinence from cocaine self-administration heightens neural encoding of goal-directed behaviors in the Accumbens. **Neuropsychopharmacology**, v.30, p.1464-74, 2005.

HOPLIGHT, B.J.; VINCOW, E.S.; NEUMAIER, J.F. The effects of SB 224289 on anxiety and cocaine-related behaviors in a novel object task. **Physiol Behav**, v.84, p.707-14, 2005.

HSIEH, M.T.; PENG, W.H.; HSIEH, C.C. Effects of DL-tetrahydropalmatine on motor activity and the brain monoamine concentration in rats. **Chin J Physiol**, v.37, n.2, p.79-82, 1994.

HYTTEL, J. Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). **Int Clin Psychopharmacol**, v. 9, p. 19–26,1994.

HUMMEL, M. et al. Genetic and pharmacological manipulation of mu opioid receptors in mice reveals a differential effect on behavioral sensitization to cocaine. **Neuroscience**, v.125, p.211-20, 2004.

IMPERATO, A. et al. Chronic cocaine alters limbic extracellular dopamine. Neurochemical basis for addiction. **Eur J Pharmacol**, v. 212, p. 299-300, 1992.

JAYATHI, L.D.; RAMAMOORTHY, S. Regulation of monoamine transporters: Influence of psychoestimulants and therapeutic antidepressants. **AAPS J**, v.7, n.3, 2005.

JOHNSON, R.G.; FIORELLA, D.; RABIN, R.A. Effects of chronic cocaine administration in the serotonergic system in the rat brain, **Pharmacol Biochem Behav**, v.46, p.289-93, 1993.

JONES, J. D. et al. Differential involvement of the norepinephrine, serotonin and dopamine reuptake transporter proteins in cocaine-induced taste aversion. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 93, p.75-81, 2009.



KAMPMAN, K.M. et al. Effectiveness of propranolol for cocaine dependence treatment may depend on cocaine withdrawal symptom severity. **Drug Alcohol Depend.**, v.63, n.1, p.69-78, 2001.

\_\_\_\_\_. A double-blind, placebo-controlled trial of amantadine, propranolol, and their combination for treatment of cocaine dependence in patients with severe cocaine withdrawal symptoms. **Drug Alcohol Depend.**, v.85, p.129-37, 2006.

KANKAANPAA, A.; MERIRINNE, E.; SEPPALA, T. 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist MDL 72222 attenuates cocaine- and mazindol-, but not methylphenidate-induced neurochemical and behavioral effects in the rat. **Psychopharmacol.**, v. 159, p. 341–350, 2002.

KAPLAN, H.I.; SADOCK, B.J. Substance related disorders. In: KAPLAN, H.I.; SADOCK, B.J. **Synopsis of Psychiatry: Behavioral Sciences/Clinical Psychiatry**. 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1998, p. 419-26.

KARCH, S.B. The history of cocaine toxicity. **Hum Pathol.**, v.20, n.11, p.1037-39, 1989.

KITAYAMA, T. Down-regulation of norepinephrine transporter function induced by chronic administration of desipramine linking to the alteration of sensitivity of local-anesthetics-induced convulsions and the counteraction by co-administration with local anesthetics. **Brain Res.**, v. 1096, p. 97-103, 2006.

KESSLER, R. M. et al. High affinity dopamine D<sub>2</sub> receptors. **Life Sci.**, v.49, p.617-29, 1991.

KING, G.R. et al. Intermittent and continuous cocaine administration: residual behavioral states during withdrawal. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.43, p.243-48, 1992.

KING, G.R.; KUHN, C.; ELLINWOOD JR, E.H. Dopamine efflux during withdrawal from continuous or intermittent cocaine. **Psychopharmacology**, v. 111, p. 179-184, 1993.

KING, G.R. et al. 5-HT<sub>3</sub> agonist-induced dopamine overflow during withdrawal from continuous or intermittent cocaine administration. **Psychopharmacol.**, v. 117, p.458–65, 1995.

KING, G.R. et al. The effects of continuous 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist administration on the subsequent behavioral response to cocaine. **Eur J Pharmacol.**, v.449, p.253–259, 2002.

KLONGPANICHAPAK, S.S. et al. Attenuation of Cocaine and Methamphetamine Neurotoxicity by Coenzyme Q10. **Neurochem Res.**, v.31, p.303-11, 2001.

KODYDKOVÁ J. et al. Antioxidative enzymes and increased oxidative stress in depressive women. **Clin Biochem.**, v.13, 2009.

KOOB, G.F.; SANNA, P.P.; BLOOM, F.E. Neuroscience of addiction. **Neuron.**, v.21, p.467-76, 1998.

KOSTEN, T.R. Pharmacotherapies. In: KOSTEN, T.R.; KLEBER, H.D.(eds). **Clinician's Guide to Cocaine Addiction**. New York: Guilford Press, 1992, p.273-89.

KOVACIC, P.; BECVAR, L. E. Mode of action of anti-infective agents: focus on oxidative stress and electron transfer. **Curr Pharma Des.**, v. 6, p. 143-67, 2000.

KOVACIC, P.; JACINTHO, J. D. Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. **Curr Med Chem**, v. 8, p. 733-96, 2001.

KUNOVAC, J.L.; STAHL, S.M. Future directions in anxiolytic pharmacotherapy. **Psychiatr Clin North Am.**, v. 18, n. 4, p. 895-909, 1995.

LEITE, M. C. História da cocaína. In: LEITE, M.C.; ANDRADE, A.G. **Cocaína e crack: dos fundamentos ao tratamento**. Porto Alegre: Artes Médicas, 1999, p.15-23.

LESHNER, A.L. Molecular mechanisms of cocaine addiction. **N Eng J Medicine.**, v.335, n.2, p.128-29, 1996.

LI, Y. et al. Both glutamate receptor antagonists and prefrontal cortex lesions prevent induction of cocaine sensitization and associated neuroadaptations. **Synapse**, v. 34, p. 169–180, 1999.

LIMA, V.T.M. et al. Buspirona aumenta a densidade de receptores dopaminérgicos d<sub>2</sub>- símile em corpo estriado de rato. **Arq Neuro-Psiquiatr.**, v .60, n.1, 2002

LIN, Z.; MADRAS, B.K. Human genetics and pharmacology of neurotransmitter transporters. **Handb Exp Pharmacol.**, v.175, p.327-71, 2006.

LISTER, R.G. Ethologically based animal models of anxiety disorders. **Pharmacol Ther.**, v.46, p.321-40, 1990.

LOEBENS, M.; BARROS, H.M.T. Diet influences cocaine withdrawal behaviors in the forced swimming test. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.74, p.259-67, 2003.

LLOYD, R.V.; SHUSTER, L.; MASON, R.P. Reexamination of the microsomal transformation of *N*-hydroxynorcocaine to norcocaine nitroxide. **Mol. Pharmacol.**, v.43, p.645-48, 1993.

LÓPEZ-PATIÑO, M.A. et al. Anxiogenic effects of cocaine withdrawal in zebrafish. **Physiol Behav.**, v.93, p.160-71, 2008.

LOWRY, H. et al. Protein measurements with the folin phenol reagent. **J Biol Chem.**, v.193, p.265-75, 1951.

MACÊDO, D.S. et al. Different times of withdrawal from cocaine administration cause changes in muscarinic and dopaminergic receptors in rat premotor cortex. **Neurosci Lett.**, v.312, p.129-32, 2001.

\_\_\_\_\_. Alterations in monoamine levels after cocaine-induced status epilepticus and death in striatum and prefrontal cortex of mice. **Neurosci Lett.**, v.362, p.185-88, 2004.

MACÊDO, D.S. **Estudo farmacológico e de alterações neuroquímicas em córtex pré-frontal e corpo estriado de camundongos após convulsões e morte induzidas por overdose de cocaína.** Fortaleza: UFC, 2005. 294f. Tese (Doutorado em Farmacologia)- Programa de Pósgraduação em Farmacologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

MACÊDO, D.S. et al. Cocaine alters catalase activity in prefrontal cortex and striatum of mice. **Neurosci Lett.**; v.387, p. 53-6, 2005.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia funcional.** 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

MAEHLY, A. C.; CHANCE, B. The assay of catalases and peroxidases. **Methods Biochem Anal.**, v.1, p.357-424, 1954.

MALHI, G.S. et al. Treatment-resistant depression: resistant to definition? **Acta Psychiatr Scand.**, v.112, n.4, p.302-9, 2005.

MARKOU, A.; KOOB, G.F. Postcocaine anhedonia: An animal model of cocaine withdrawal. **Neuropsychopharmacology**, v.4, p.17-26, 1991.

MAYES, P. A. Biologic oxidation. In: MURRAY, R. K. et al. (eds). **Harper's biochemistry**. San Mateo: Appleton & Lange, 1990, p. 105-11.

MCDOUGLE, C.J. et al Haloperidol addition in fluvoxaminerefractory obsessive-compulsive disorder: A double-blind, placebo-controlled study in patients with and without tics. **Arch Gen Psychiatry**, v.5, p.1303-8, 1994.

MELTZER, H. Y.; MATSUBARA, S.; LEE, J. C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D<sub>1</sub>- and D<sub>2</sub>- and serotonin <sub>2</sub> pK<sub>1</sub> values. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.251, p.238-46, 1989.

MEYER, J.S.; SHEARMAN, L.P.; COLLINS, L.M. Monoamine transporters and the neurobehavioral teratology of cocaine. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.55, p.585-93, 1996.

MEYER, J.H. et al. Bupropion occupancy of the dopamine transporter is low during clinical treatment. **Psychopharmacol.**, v. 163, p. 102–105, 2002.

MICHIELS, C.; RAES, M.; TOUSSAINT, O.; REMACLE, J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. **Free Radic Biol Med**, v. 17, p. 235-48, 1994.

MIYAZAKI, I. et al.. Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity is regulated by quinone-formation-related molecules. **FASEB J.**, v.20, p.571–573, 2006.

MONTGOMERY, K.C. The relationship between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. **J Comp Physiol Psychol.**, v.48, p.254-60, 1958.

MOSER, C.P. An evaluation of the elevated of plus maze test using the novel anxiolytic buspirone. **Psychopharmacol.**, v.99, p.48-53, 1989.

MÜLLER, C.P. et al. Cocaine-induced 'active immobility' and its modulation by the serotonin1A receptor. **Behav Pharmacol.**, v.15, n.7, p.481-93, 2004.

MÜLLER, C.P. et al. Serotonin and psychostimulant addiction: focus on 5-HT1A-receptors. **Prog Neurobiol.**, v.81, n.3, p.133-78, 2007.

\_\_\_\_\_. Acute anxiolytic effects of cocaine: the role of test latency and activity phase. **Pharmacol Biochem Behav**, v.89, p.218-26, 2008.

MULVANEY, F. D. et al. Cocaine abstinence symptomatology and treatment attrition. **J Subst Abuse Treat.**, v.16, p.129-35, 1999.

NADER, M.A. et al. PET imaging of dopamine D2 receptors during chronic cocaine self-administration in monkeys. **Nature Neuroscience**, v.9, p.1050-56, 2006.

NAKAMURA, T. et al. Orexin-induced hyperlocomotion and stereotypy are mediated by the dopaminergic system. **Brain Res.**, v.873, p.181-7, 2008.

NEGRESS, J.C.L. Cocaine problems in the coca-growing countries in South America. In: \_\_\_\_\_. **Cocaine: scientific and social dimensions**. Wiley chichester-Ciba: Foundation Symposium, v.166, 1992, p.40-56.

NESTLER, E.J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Drug Alcohol Depend.**, v. 51, p. 141-53, 1998.

NUTT, D.J. The role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment. **J Clinical Psychiatry.**, v.67, p.3-8, 2006.

O'DELL, L.E.; PARSONS, L.H. Serotonin1B Receptors in the Ventral Tegmental Area Modulate Cocaine-Induced Increases in Nucleus Accumbens Dopamine Levels. **J Pharmacol Exp Ther.**, v.311, p.711-19, 2004.

OHL, F. Testing for anxiety. **Clin. Neurosci. Research**, v.3, p.233-8, 2003.

PAINE, T.A.; JACKMAN, S.I.; OLMSTEAD, M.C. Cocaine-induced anxiety: alleviation by diazepam, but not buspirone, dimenhydrinate, or diphenhydramine. **Behav Pharmacol.**, v.13, p.511-23, 2002.

PATEL, M. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: cause and consequence of epileptic seizures. **Free Radic Biol Med.**, v.37, n.12, p.1951-62, 2004.

PEROUTKA, S. J.; SNYDER, S. H. Differential binding of [3H]5-hydroxytryptamine, [3H]lysergic acid and diethylamide and [3H] spiroperidol. **Mol. Pharmacol.**, v.16, p.687-99, 1979.

PERRINE, S.A. et al. Withdrawal from chronic administration of cocaine decreases delta opioid receptor signaling and increases anxiety and depression like behaviors in the rat. **Neuropharmacology**, v.54, p.355-64, 2008.

PLATT, J.J. **Cocaine addiction: theory, research and treatment.** 1 ed. Harvard: University Press, 1997, p.269.

POLLOCK, D. A. et al. Discrepancies in the reported frequency of cocaine-related deaths. **JAMA.**, v.266, p.2233-7, 1991.

PORSOLT, R.D; BERTIN, A.; JALFRE, M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v.229, p.327-36, 1977.

PORSOLT, R.D. et al. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **Eur J Pharmacol**, v. 47, p.379-91, 1978.

RAAP, D.K. et al. Daily injections of fluoxetine induce dose-dependent desensitization of hypothalamic 5-HT<sub>1A</sub> receptors: reductions in neuroendocrine responses to 8-OHDPAT and in levels of G<sub>z</sub> and G<sub>i</sub> proteins. **J Pharmacol Exp Ther.**, v. 288, p. 98–106, 1999.

RAMOS, A. et al. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. **Behav Brain Res.**, v.85, p. 57-69, 1997.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. **Farmacologia**, 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.

REITH, M.E.; LI, M.Y.; YAN, Q.S. Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis following systemic administration of cocaine and other uptake blockers. **Psychopharmacol.**, v.134, p.309-17, 1997.

REX, A.; STEPHENS, D.N.; FINK, H. “Anxiolytic” action of diazepam and abecarnil in a modified open field test. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.53, p.1005-12, 1996.

RITZ, M.C. et al. Cocaine receptors J.on dopamine transporters are related to self-administration cocaine. **Science**, v.237, p. 1219–1223, 1987.

ROBBINS, T.W.; EVERITT, B.J. Drug addiction: bad habits add up. **Nature**, v.398, p. 567-70, 1999.

ROBBINS, T.W.; EVERITT, B.J. Limbic-striatal memory systems and drug addiction. **Neurobiol Learn Mem.**; v.3, p.625-36, 2002.

ROBERTS, D.C.; ANDREWS, M.M. Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. **Psychopharmacol.**, v.131, n.3, p.271-7, 1997.

ROBINSON, T.E. et al. Cocaine self-administration alters the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and neocortex. **Synapse.**, v.39, n.3, p.257-66, 2001.

ROTHMAN, R.B. Amphetamine type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. **Synapse**, v.39, p.32–41, 2001.

SANGER, DJ. Animal models of anxiety and the screening and development of novel anxiolytic drugs. In: BOULTON, A.; BARKER, G.; MARTIN-IVERSON, M. (eds.) **Animal models in Psychiatry II**. Humana Press, v. 19, p.147-98, 1991.

SANTUCCI, A.C.; RABIDOU, D.; ROSARIO, A. Residual learning deficit and anxiogenesis in rats treated chronically with cocaine during adolescence. **Society for Neuroscience.**, n.659, 2005.

SANTUCCI, A.C.; HERNANDEZ, L.; CABA, J. Whell-running behavioral is altered following withdrawal from repeated cocaine in adults rats. **Behav Neurosci.**, v.122, p.466-70, 2008.

SARNYAI, Z. et al. Brain corticotropin-releasing factor mediates 'anxiety-like' behavior induced by cocaine withdrawal in rats. **Brain Res**, v.675, p.89-97, 1995.

SCHUCKIT, M. A. et al. Clinical implications for four drugs of the DSM-IV distinction between substance dependence with and without a physiological component. **Am J Psychiatry**, v.156, p.41-9, 1999.

SCOTT, M. D. et al. Erythrocyte defense against hydrogen peroxide: preeminent importance of catalase. **J Lab Clin Med.**, v. 118, p. 7-16, 1991.

SELF, D.W.; NESTLER, E.J. Relapse to drug-seeking: neural and molecular mechanisms. **Drug Alcohol Depend.**, v.51, p.49-60, 1998.

SHANNON, M. Toxicology reviews: fomepizole--a new antidote. **Pediatr Emerg Care**, v. 14, n.2, p.170-2, 1998.

SHARAN, N. et al. Cocaine treatment increases expression of a 40 Kda catecholamine-regulated protein in discrete brain regions. **Synapse**, v.47, p.33-44, 2003.

SHARMA, A.B. et al. Oxidative stress reversibly inactivates myocardial enzymes during cardiac arrest. **Am J Physiol Heart Circ Physiol.**, v. 292, p.198–H206, 2007.

SHERMAN, L.P.; MEYER, J.S. Cocaine upregulates norepinephrine transporter binding in the rat placenta. **Eur J Pharmacol.**, v.386, p.1-6, 1999.

SHERRILL, J.T. et al. Is life stress more likely to provoke depressive disorders in women than in man? **Depress Anxiety**, v.6, p.395-405, 1997.

SHOPTAW, S. et al. Bupropion hydrochloride versus placebo, in combination with cognitive behavioral therapy, for the treatment of cocaine abuse/dependence. **J Addict Dis.**, v.27, n.1, p.13-23, 2008.

SIEGEL, R.K. Cocaine smoking. **J Psychoactive Drugs**, v.14, n.4, p.271-359, 1982.

SOARES, B.G. et al. Dopamine agonists for cocaine dependence. **Cochrane Database Syst Rev.**, n.2, 2003.



SORA, I. et al. Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine and in serotonin transporter knockout mice. **Proc Natl Acad Sci.**, v.95, p.7699-704, 1998.

\_\_\_\_\_. Molecular mechanisms of cocaine reward: combined dopamine and serotonin transporter knockouts eliminate cocaine place preference. **Proc Natl Acad Sci.**, v.98, p.5300-05, 2001.

STARR, M. S.; STARR, B. S. Behavioral synergism between the dopamine agonists SKF38393 and LY171555 in dopamine-depleted mice: Antagonism by sulpiride reveals only stimulant postsynaptic D2 receptors. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.33, p.41-44, 1989.

STEWART, J. K. Drugs and crime in America. In: **1988 Drug Use Forecasting Annual Report.** US Department of Justice, Washington, DC, 1990.

STERU, L. et al. Tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. **Psychopharmacology**, v.85, p.367-70, 1985.

SUBHAN, F. et al. Do antidepressants affect motivation in conditioned place preference? **Eur J Pharmacol.**, v.408, p.257-63, 2000.

TANG, W. et al. Alterations in ionotropic glutamate receptor subunits during binge cocaine self-administration and withdrawal in rats. **J Neurochem.**, v.89, p.1021-33, 2004.

TENEUD, et al. Systemic and local cocaine increased extracellular serotonin in the nucleus accumbens. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.53, p.747-52, 1993.

TERAI, M.; HIDAKA, K.; NAKAMURA, Y. Comparison of [3H]YM-009151-2 with [3H]spiperone and [3H]raclopride for dopamine d-2 receptor binding to rat striatum. **Eur J Pharmacol.**, v.173, p.177-82, 1989.

TORRENS, M. et al. Efficacy of antidepressants in substance use disorders with and without comorbid depression A systematic review and meta-analysis. **Drug and Alcohol Dependence**, v.78, p.1-22, 2005.

TREIT, D. Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. **Neurosci Biobehav Rev.**, v.9, n.2, p.203-22, 1985.

TURNER, R.J.; LLOYD, D.A. The stress process and the social distribution of depression. **J Health Soc Behav.**, v.40, p.4374-404, 1999.

TZSCHENTKE, T.M.; SCHMIDT, W.J. Glutamatergic mechanisms in addiction. **Mol Psychiatry**, v.8, p.373-82, 2003.

USHIJIMA, I.; MIZUKI, Y.; YAMADA, M.: Development of tolerance and reverse tolerance to haloperidol- and SCH23390-induced cataleptic effects during withdrawal periods after long-term treatment. **Pharmacol Biochem Behav.**, v. 50, p.259–264, 1995.

VANDERSCHUREN, L.J.; KALIVAS, P.W. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. **Psychopharmacology**, v.151, p.99-120, 2000.

WANG, G.J.; VOLKOW, N.D.; FOWLER, J.S. The role of dopamine in motivation for food in humans: implications for obesity. **Expert Opin Ther Targets**, v.6, n.5, p.601–609, 2002.

WANG, Z.; ORDWAY, G.A; WOOLVERTON, W. Effects of cocaine on monoamine uptake as measured ex vivo. **Neurosci Lett.**, v. 413, n.3, p.191-5, 2007.

WEE, S.; WOOLVERTON, W.L. Evaluation of the reinforcing effects of atomoxetine in monkeys: comparison to methylphenidate and desipramine. **Drug Alcohol Depend.**, v.75, p.271–27, 2004.

WEISS, R.D.; MIRIN, S.M.; BARTEL, R.L. Cocaine (2ed.). Washington-DC: **American Psychiatric Press**, 1994.

WHITE, F.J.; KALIVAS, P.W. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. **Nature Rev Neurosci.**, v. 2, p. 119-28, 1998.

YANG, X.M. et al. Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. **Pharmacol Biochem Behav.**, v.41, p.643-50, 1992.

YILDIZ, A.; GONUL, A. S.; TAMAM, L. Mechanism of actions of antidepressants: Beyond the receptors. **Bulletin of Clinical Psychopharmacology**. v.12, p.194–200, 2002.

ZEIGLER, S. et al. Continuous cocaine administration produces persisting changes in brain neurochemistry and behavior. **Brain Res.**, v.21, n.1, p.27-35, 1991.

***ANEXO***

---





# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)