

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CAMPUS DE ARARAQUARA

ONTOGÊNESE DA SENSIBILIZAÇÃO CRUZADA ENTRE TESTOSTERONA E
FEMPROPOREX

CLEIDIANE QUITÉRIA DA CONCEIÇÃO

ARARAQUARA – SP

2013

CLEIDIANE QUITÉRIA DA CONCEIÇÃO

**ONTOGÊNESE DA SENSIBILIZAÇÃO CRUZADA ENTRE TESTOSTERONA E
FEMPROPOREX**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de
Graduação em Farmácia-
Bioquímica da Faculdade de
Ciências Farmacêuticas de
Araraquara, da Universidade
Estadual Paulista para obtenção do
grau de Farmacêutica-Bioquímica.**

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cleópatra da Silva Planeta

Co-orientadora: Msc Sheila Antonagi Engi

ARARAQUARA

2013

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.”

Fernando Teixeira de Andrade

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, a Deus, ao Mestre Jesus, Nossa Senhora Aparecida e ao meu Espírito de Luz Guardião, que sempre estiveram ao meu lado me guiando e me abençoando durante toda esta trajetória.

À minha mãe, Zezé, meu pai, Gersão, e meu irmão, William, por todo carinho, apoio financeiro e emocional durante esses anos de faculdade à distância. Amo vocês!

À minha orientadora Cléo, mulher incrível, guerreira, determinada e exemplo de sucesso. Nem mesmo o céu é o limite para ela e para os alunos que possuíram o privilégio de serem por ela orientados!

À minha querida co-orientadora Sheila, pela paciência, dedicação, confiança, compreensão, e, acima de tudo, pela amizade.

A todos os amigos do laboratório de Neuropsicofarmacologia, que sempre ajudaram a construir um ambiente muito divertido de se trabalhar!

Aos professores do departamento, Ricardo, Francisco e Carlos, que sempre estiveram dispostos a ajudar no que fosse necessário.

Um agradecimento mais que especial à Elisabete, à Rosana e à Tirene, pois sem o suporte delas todo esse trabalho seria impossível.

Finalmente, gostaria de agradecer a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
1.1. Femproporex e Estimulantes Anfetamínicos	7
1.2. Esteroides Androgênicos Anabólicos	9
1.3. Dependência	14
2. JUSTIFICATIVA	20
3. OBJETIVOS	20
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
1.4. Parecer ético	21
1.5. Animais	21
1.6. Fármacos	21
4.4. Avaliação da atividade locomotora	22
5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	22
5.1 Locomoção induzida pela administração aguda de femproporex em ratos adolescentes e adultos pré-tratados repetidamente com testosterona	22
6. ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
7. RESULTADOS	24
7.1. Ratos adolescentes	24
7.2. Ratos adultos	25
8. DISCUSSÃO	27
9. CONCLUSÃO	31
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
11. DADOS FINAIS	47

1. INTRODUÇÃO

1.1. Femproporex e Estimulantes Anfetamínicos

O abuso de substâncias psicoativas é considerado um problema de saúde pública mundial. A United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) relata que em 2011, entre 167 e 315 milhões de pessoas com idade entre 15 e 64 anos (de 3,6% a 6,9% da população mundial) usaram algum tipo de substância ilícita pelo menos uma vez no ano anterior ao levantamento (UNODC, 2013).

Os estimulantes do tipo anfetamínicos (ETA) correspondem a um conjunto de moléculas psicoestimulantes, dentre as quais algumas são utilizadas na terapêutica para o tratamento de déficit de atenção, narcolepsia e obesidade (CHASIN e SILVA, 2003). Já como droga de abuso, os ETA estão em segundo lugar no ranking mundial de drogas ilícitas mais utilizadas, com cerca de 33,8 milhões de usuários (UNODC, 2013). No Brasil, a maior parte do consumo ilícito dos ETA está relacionada a estimulantes prescritos que são repassados para outras pessoas. (UNODC, 2013). Um estudo realizado nas 27 capitais brasileiras mostrou que a prevalência de universitários que realizam uso de risco de anfetaminas é de 3,7%, sendo que na faixa etária de 25 a 34 anos a prevalência chega a 5,5%. Já entre os alunos do ensino fundamental e médio de escolas públicas e privadas das 27 capitais brasileiras, 3,7% já fizeram uso de ETA ao menos uma vez na vida. (ANDRADE, DUARTE e OLIVEIRA, 2010).

Uma série de inquéritos de consumo de drogas indica que a má prescrição de estimulantes é bastante frequente nas Américas, sobretudo no Brasil, onde o consumo nos anos de 2007 a 2009 mostrou-se bem acima da média global. No

período de 2006 a 2009, Bélgica e Brasil foram os dois principais países fabricantes de femproporex, ao redor de 99% da fabricação mundial da substância. Em 2009, o Brasil foi também o principal importador deste anorexígeno. Em 2010 só se fabricou femproporex no Brasil (INCB, 2012).

Apesar da Atualização das Diretrizes para o Tratamento Farmacológico do Sobrepeso e da Obesidade (ABESO, 2010) ainda recomendar o uso de medicamentos como o femproporex, a anfepramona e o mazindol para o tratamento da obesidade, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) proibiu, em 2011, o uso de tais substâncias em todo o território brasileiro (BRASIL, 2011). Apesar disso, a venda ilegal desse tipo de medicamento, torna difícil o controle do uso desse e dos outros emagrecedores proscritos (FAGUNDES *et al.*, 2012).

Quimicamente, os ETA são derivados das feniletilaminas, que por sua vez são estruturalmente similares à adrenalina. Os fármacos derivados β -feniletilamínicos, como a anfepramona e o femproporex, aumentam a neurotransmissão noradrenérgica e dopaminérgica no sistema nervoso central e periférico. Assim, os efeitos psicoestimulantes dos ETA resultam do aumento extracelular das concentrações de dopamina em regiões límbicas do sistema nervoso central. (KOOB e BLOOM, 1988; KOOB, SANNA e BLOOM, 1998; WISE, 1998). Alguns psicoestimulantes, tais como a cocaína, aumentam a dopamina na fenda sináptica através da inibição de sua recaptação, que é realizada pelo transportador de dopamina da membrana plasmática do terminal pré-sináptico (HEIKKILA, ORLANSKY e COHEN, 1975; HORN, 1990; AMARA e KUHAR, 1993; GIROS e CARON, 1993). A anfetamina possui ações mais complexas, porém, seu

efeito mais significativo é a indução do transporte reverso de dopamina por meio da ligação com as proteínas transportadoras de membrana. (SULZER *et al.*, 1995; JONES *et al.*, 1998). Embora estas monoaminas possam contribuir para as propriedades reforçadoras destas substâncias, o aumento de dopamina na fenda sináptica é o ponto crucial para o desenvolvimento das neuroadaptações responsáveis pelo desenvolvimento da dependência. (HYMAN, 1996)

1.2. Esteroides Androgênicos Anabólicos

Os esteroides androgênicos anabólicos (EAAs) são uma família de hormônios que incluem o hormônio natural testosterona, juntamente com outros análogos sintéticos da testosterona (KANAYAMA *et al.*, 2009a). Os EAAs sintéticos foram originalmente desenvolvidos na década de 1930 para tratar o hipogonadismo em homens e outros distúrbios endócrinos (BASARIA e DOBS, 2001; BASARIA, WAHLSTROM e DOBS, 2001; SHAHIDI, 2001).

Os EAAs possuem um núcleo básico derivado da estrutura química do colesterol, o que lhes confere natureza lipídica (COERT *et al.*, 1975; HOBBELEN *et al.*, 1975). São hormônios sexuais masculinos e representam uma das classes de hormônios esteroides que são produzidos, principalmente, pelos testículos e, em menores proporções, pelas adrenais. (BIANCO e RABELO, 1999).

Na maioria das células-alvo a testosterona atua através de seu metabólito ativo, a diidrotestosterona, produzida pela enzima 5-alfa-redutase. Tanto a testosterona quanto a diidrotestosterona modificam a transcrição de genes através de sua interação com receptores de membrana e intracelulares, e desta forma modulam vários sistemas fisiológicos, incluindo o sistema reprodutor, o sistema

nervoso central, a glândula pituitária anterior, o rim, o fígado, os músculos e o coração, entre outros (SHAHIDI, 2001, RANG *et al.*, 2012).

Apesar do grande número de moléculas sintetizadas, todos os EAAs apresentam propriedades androgênicas e anabólicas (KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2010). Os efeitos androgênicos são responsáveis pelo crescimento do trato reprodutor masculino e desenvolvimento das características sexuais secundárias, enquanto que os efeitos anabólicos estimulam a fixação do nitrogênio e aumentam a síntese proteica (SHAHIDI, 2001). A atividade anabólica da testosterona e de seus derivados é manifestada primariamente em sua ação miotrófica, que resulta em aumento da massa muscular por aumentar a síntese proteica no músculo e por controlar os níveis de gordura corporal (KAM e YARROW, 2005).

Os usos não-terapêuticos dos EAAs foram rapidamente disseminados. Nas últimas décadas, o uso ilícito dos EAAs tem ocorrido predominante em indivíduos de ambos os sexos, que administram tais substâncias para melhorar o desempenho atlético ou a imagem corporal (KOCHAKIAN e YESALIS, 2000; TRENTON e CURRIER, 2005; LLEWELLYN, 2007; KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2008). Dessa maneira, há relatos de homens adultos que autoadministram EAAs em concentrações de 10 a 100 vezes maiores que as recomendadas para uso terapêutico (WU, 1997; DALY *et al.*, 2001; PERRY *et al.*, 2003; MATSUMOTO e BREMNER, 2004; TRENTON e CURRIER, 2005; LLEWELLYN, 2007; KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2008).

Ao longo dos últimos 30 anos, o uso ilícito de esteroides androgênicos se tornou um problema generalizado nos Estados Unidos e em vários países do mundo, incluindo o Brasil (BUCKLEY *et al.*, 1988; YESALIS *et al.*, 1993;

NILSSON, 1995; MELIA, PIPE e GREENBERG, 1996; HANDELSMAN e GUPTA, 1997; GALDURÓZ *et al.*, 2005A; O'MALLEY *et al.*, 2006; PALLESEN *et al.*, 2006; RACHOŃ, POKRYWKA e SUCHECKA-RACHOŃ, 2006; MCCABE *et al.*, 2007; WANJEK *et al.*, 2007). A maioria dos usuários é composta por homens jovens (BAHRKE *et al.*, 2000; YESALIS e BAHRKE, 2000).

Em estudos com adolescentes e universitários dos Estados Unidos, a prevalência de uso de EAAs oscilou entre 1% e 11,1% (CASTILLO e COMSTOCK, 2007), mas é geralmente mais elevada entre os envolvidos em esportes de potência ou levantamento de peso - variando de 20% a mais de 50% nesses indivíduos (BEEL, MAYCOCK e MCLEAN, 1998; KANAYAMA *et al.*, 2009a). Outro trabalho feito entre universitários de várias faculdades americanas mostrou que o uso de tabaco, maconha, cocaína, anfetaminas, sedativos, alucinógenos, opiáceos, inalantes e drogas sintéticas é maior entre os usuários de EAAs (MEILMAN *et al.*, 1995).

No Brasil, não se tem estimativa desse uso ilícito, mas sabe-se que o consumidor preferencial está entre 18 e 34 anos de idade e, em geral, é do sexo masculino (IRIART e ANDRADE, 2002; SILVA, 2002; SANTOS, 2006). No comércio brasileiro, os principais medicamentos à base dessas drogas utilizados com fins ilícitos são a testosterona nas formas de isocaproato de testosterona e ciprionato de testosterona, e a nandrolona nas formas de decanoato de nandrolona e fempropionato de nandrolona (IRIART e ANDRADE, 2002; SILVA, 2002; SANTOS, 2006). Apesar da crescente utilização abusiva com sérias consequências, ainda são poucos os estudos epidemiológicos que comprovem a incidência e prevalência do uso de EAAs no Brasil (IRIART e ANDRADE, 2002).

Estudos demonstram que os EAAs estão associados a diversos efeitos neuropsiquiátricos (UZYCH, 1992; KANAYAMA, POPE, *et al.*, 2003; KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2008). Estudos mais recentes demonstram que os EAAs podem causar síndrome de dependência e abstinência com vários aspectos comuns a outras substâncias psicoativas, tais como a cocaína e a anfetamina. (KANAYAMA *et al.*, 2010; POPE *et al.*, 2010). Relatos individuais de dependência aos EAAs começaram a aparecer no final da década de 1980, onde foram descritos casos de indivíduos que realizavam uso crônico e abusivo dessas substâncias, a despeito de seus efeitos adversos (TENNANT, BLACK e VOY, 1988; BROWER, BLOW, BERESFORD, *et al.*, 1989; BROWER, BLOW, ELIOPULOS, *et al.*, 1989; BROWER *et al.*, 1990). A literatura mostra que os EAAs possuem semelhanças e diferenças em relação às drogas de abuso clássicas, tais como a cocaína e a anfetamina. Assim, como semelhanças, podemos citar a presença de síndrome de abstinência com a descontinuidade do uso, o reforço positivo em modelos animais de autoadministração, o uso continuado apesar dos efeitos adversos, padrões de comportamento desajustados e abuso concomitante com outras substâncias. (DURANT *et al.*, 1993; MIDDLEMAN *et al.*, 1995; KANAYAMA, COHANE *et al.*, 2003; KANAYAMA, POPE *et al.*, 2003; O'MALLEY *et al.*, 2006; KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2008; KANAYAMA *et al.*, 2009b)

Quanto às diferenças em relação às drogas de abuso clássicas, alguns mecanismos foram propostos para tentar explicar a dependência aos EAAs. Uma das hipóteses propostas é que a dependência aos EAA está relacionada aos seus efeitos genômicos ao ligarem-se ao receptor androgênico de membrana e/ou intracelular. Dessa maneira, atuariam como fatores de transcrição que aumentam

a produção de RNA mensageiro, que por sua vez codifica uma variedade de proteínas estruturais e enzimáticas (LI e AL-AZZAWI, 2009). Essas proteínas possuem ações anabólicas (construção muscular) e androgênicas (masculinização). Uma vez que o uso é iniciado, alguns usuários com distúrbios patológicos em relação à aparência física, como, por exemplo, a vigorexia, podem continuar a usar os EAAs em doses crescentes e por períodos longos, contribuindo assim para a dependência (CAMARGO *et al.*, 2008; KANAYAMA *et al.*, 2010; KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2010).

Outro mecanismo conhecido é de que os efeitos androgênicos dos EAAs podem causar, a longo prazo, a supressão do eixo hipotalâmico-pituitário-gonadal, o que pode resultar em hipogonadismo, que persiste por longos períodos mesmo após a retirada da droga. O hipogonadismo, combinado a outros fatores neuroendócrinos, pode levar a síndrome de abstinência, que pode ser mediada por uma série de sistemas neurotransmissores (KASHKIN e KLEBER, 1989; HOCHBERG, PACAK e CHROUSOS, 2003; WOOD, 2008). A fim de minimizar tais efeitos adversos, o usuário crônico de EAA pode retomar o uso dessas substâncias após sua retirada, embora isso ainda seja pouco documentado (KANAYAMA *et al.*, 2009a; SCALLY e TAN, 2009; TAN E SCALLY, 2009).

Finalmente, os EAAs podem também ter efeitos diretos no sistema de recompensa (FRYE, 2007). Estudos em animais sugerem que esse mecanismo é biologicamente similar aos mecanismos de dependência de drogas clássicas, embora isso ocorra de forma mais lenta e gradual (WOOD, 2008).

Durante os últimos anos, ocorreu um aumento relevante do interesse na compreensão da relação entre o uso de EAAs e outras substâncias psicoativas.

Alguns estudos relataram que o uso de EAAs está positivamente associado à utilização de tabaco, álcool e drogas ilícitas (DURANT *et al.*, 1993; DURANT, ESCOBEDO e HEATH, 1995; KINDLUNDH *et al.*, 1999). Também como resultado da preocupação com a imagem corporal, os usuários de EAAs abusam de uma série de substâncias adicionais para ganhar massa muscular, perder gordura, ou modificar a aparência do corpo, o que inclui o uso de estimulantes e anorexígenos, tais como anfetamínicos, efedrina e pseudoefedrina. (KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2008).

1.3. Dependência

Atualmente, a dependência a substâncias psicoativas é caracterizada como um fenômeno comportamental complexo com causas e consequências decorrentes de vários fatores que incluem desde mecanismos moleculares até aspectos sociais. A décima edição da classificação internacional de doenças (ICD10) define síndrome de dependência como um conjunto de fenômenos fisiológicos, comportamentais e cognitivos no qual o uso de uma substância adquire prioridade na vida do indivíduo. Além disso, define-se como característica central da dependência o desejo forte e/ou irresistível de consumir a substância psicoativa (WHO, 2011).

Nos primeiros estudos sistemáticos com o objetivo de compreender a farmacodependência, predominaram as investigações das consequências aversivas decorrentes da interrupção do uso das drogas, quadro denominado de síndrome de abstinência (SHARPE, WEINHOLD e JAFFE, 1989). A síndrome de abstinência é um conjunto de sinais e sintomas, geralmente opostos aos efeitos

agudos das drogas, que promovem desconforto intenso ao indivíduo. Assim, foi proposto que esses indivíduos manteriam o uso da droga para evitar o desconforto da retirada. Dessa forma, a substância atuaria como um reforçador negativo (DACKIS e O'BRIEN, 2001). Porém, a teoria do reforço negativo apresenta algumas limitações: o tratamento da síndrome de abstinência é pouco eficaz para tratar dependência; muitos fármacos utilizados na terapêutica (antidepressivos e antipsicóticos, por exemplo) produzem síndrome de abstinência, porém não induzem o uso compulsivo. Além disso, o início do uso das drogas de abuso acontece na ausência de síndrome de abstinência (WISE e BOZARTH, 1987; SHARPE, WEINHOLD e JAFFE, 1989; DACKIS e O'BRIEN, 2001).

Outro ponto importante é o fato de que todas as substâncias psicoativas que induzem dependência são reforçadores positivos e promovem sensibilização comportamental (WISE e BOZARTH, 1987; ROBINSON e BERRIDGE, 1993; WISE, 1998). Wise e Bozarth (1987) sugerem que o efeito reforçador positivo das drogas é decorrente da ativação de um substrato neurobiológico comum - o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Os principais componentes do circuito do reforço são a área tegmental ventral (VTA) e suas projeções para regiões do sistema límbico (WISE e BOZARTH, 1987; KOOB e LE MOAL, 2001). Os estados afetivos de prazer proporcionados pelas substâncias psicoativas podem explicar a experimentação e o uso ocasional. Entretanto, não explicam a principal característica que define a farmacodependência, ou seja, a perda do controle do uso da droga e seu uso a despeito das consequências adversas (DACKIS e O'BRIEN, 2001; WHO, 2004).

Robinson e Berridge (1993) propuseram que o uso compulsivo das substâncias psicoativas de abuso resultaria de processos neuroadaptativos no sistema mesocorticolímbico promovidos pelo uso repetido das mesmas. Essas alterações expressam-se como tolerância ou sensibilização comportamental (ROBINSON e BERRIDGE, 1993).

A tolerância resulta de adaptações de vias neurais que medeiam efeitos específicos da droga e dão origem à síndrome de abstinência na sua retirada. (DACKIS e O'BRIEN, 2001). Entretanto, a tolerância e a síndrome de abstinência são específicas para cada classe de droga e, como relatado acima, elas não subsidiam as características que definem a dependência, ou seja, a perda do controle e o uso compulsivo.

Segundo a teoria da sensibilização, ao invés de mediar apenas a sensação subjetiva de prazer, o sistema dopaminérgico mesolímbico regularia o impulso motivacional e a atenção a estímulos salientes. Dessa maneira, com o uso repetido, a droga e os estímulos associados a ela tornam-se progressivamente mais atrativos desenvolvendo dessa forma um desejo obsessivo ('fissura') pela droga que é capaz de controlar o comportamento. O desenvolvimento do desejo obsessivo pela droga resulta da sensibilização de vias dopaminérgicas mesolímbicas envolvidas com o incentivo motivacional e recompensa (ROBINSON e BERRIDGE, 1993).

Devido à dificuldade metodológica e aspectos éticos a maioria dos estudos sobre os aspectos comportamentais e neuroadaptativos relacionados à dependência advêm de observações em modelos animais. Em modelos animais a sensibilização comportamental caracteriza-se pelo aumento gradual e progressivo

da atividade locomotora após a administração repetida da substância psicoativa de abuso (ROBINSON e BECKER, 1986). O aumento da atividade locomotora observado na sensibilização comportamental decorre de adaptações neuroquímicas e moleculares do sistema dopaminérgico mesolímbico homólogas àquelas responsáveis pela transição do uso controlado para o uso compulsivo das substâncias psicoativas (COVINGTON e MICZEK, 2001; NESTLER, 2001; ROBINSON e BERRIDGE, 2001).

A sensibilização comportamental foi descrita para a cocaína, anfetamina, etanol, morfina, nicotina, delta-9-THC e heroína (ROBINSON e BECKER, 1986; KALIVAS e DUFFY, 1987; MISERENDINO e NESTLER, 1995; CADONI, SOLINAS e DI CHIARA, 2000; MARIN e PLANETA, 2004; CRUZ, DELUCIA e PLANETA, 2005; LENOIR *et al.*, 2007).

Muitos fatores podem aumentar a vulnerabilidade do desenvolvimento da dependência aos psicoestimulantes, como por exemplo, o estágio de desenvolvimento. Ontogênese (também chamada ontogenia ou morfogênese) é o estudo da origem e do desenvolvimento de um organismo a partir do óvulo fecundado até chegar à forma madura. Em determinado período de tempo, pode cobrir o estudo da vida de um organismo (WAKE, 1978).

Pesquisas recentes têm enfatizado que há um risco maior de desenvolvimento de dependência associado ao período de adolescência (ANTHONY e PETRONIS, 1995; BRESLAU e PETERSON, 1996). Uma das justificativas é que a adolescência é um período ontogênico único, que apresenta processos contínuos de plasticidade neural, que ocorrem por meio de processos

anatômicos, neuroquímicos e fisiológicos (TEICHER, ANDERSEN e GLOD, 1997). No entanto, muito pouco é conhecido a respeito dos efeitos e consequências que a exposição a agentes psicoativos podem ter durante esse estágio de desenvolvimento (LAVIOLA *et al.*, 1999; SPEAR, 2000).

Além disso, foi demonstrado que o uso prévio ou concomitante de outras substâncias pode aumentar a vulnerabilidade ao abuso e dependência de drogas (AKIMOTO *et al.*, 1990; CUNNINGHAM e KELLEY, 1992; DAFNY e YANG, 2006). Estudos indicam que o pré-tratamento de ratos com cocaína resulta em sensibilização cruzada à anfetamina, provocando aumento na locomoção e efeitos reforçadores na autoadministração (PIERCE e KALIVAS, 1995; BONATE, SWANN e SILVERMAN, 1996; PIERCE e KALIVAS, 1997A; B; LIU, MORGAN e ROBERTS, 2007) Da mesma maneira, Yang *et al* (2003) observaram que ratos Sprague-Dawley adolescentes e adultos pré-tratados cronicamente com metilfenidato, um psicoestimulante usado no tratamento do déficit de atenção, apresentaram sensibilização cruzada à anfetamina (YANG, SWANN e DAFNY, 2003). Em camundongos fêmeas, o pré-tratamento com anfetamina ou cafeína resultou em sensibilização cruzada à nicotina (CELIK, UZBAY e KARAKAS, 2006).

Estudos pré-clínicos demonstram a interação entre psicoestimulantes e testosterona. Por exemplo, Minerly *et al.* (2010) mostraram que ratos adolescentes (dia pós-natal 30) que receberam uma injeção de testosterona (5 ou 10 mg/kg) e após 45 minutos receberam injeção aguda de cocaína (20 mg/kg) apresentaram aumento na resposta locomotora induzida pela cocaína quando comparados aos animais que não foram pré-tratados com este hormônio (MINERLY *et al.*, 2010). Em outro trabalho, realizaram-se dois experimentos com ratos machos Long-

Evans com 90 dias de idade, para investigar os efeitos dos EAAs nos circuitos de recompensa do sistema nervoso central, utilizando eletrodos implantados na lateral do hipotálamo desses animais. No primeiro, observou-se que o tratamento repetido por duas semanas com metandrostenolona (1mg/kg, subcutânea) não resultou em mudanças significativas nas taxas de recompensa cerebral durante a autoestimulação. No segundo experimento, o tratamento repetido por 15 dias com um coquetel de EAA contendo sais de testosterona (2 mg/kg), nandrolona (2 mg/kg) e boldenona (1 mg/kg) tampouco alterou a taxa de recompensa cerebral, mas produziu uma pequena, porém significativa mudança no número de pressionamentos da barra. Além do tratamento com o coquetel de EAA, nesse segundo experimento, os ratos receberam uma injeção de anfetamina antes e depois do tratamento de 15 dias com o coquetel de EAA. O número de respostas nos animais que receberam o pré-tratamento com o coquetel foi significativamente maior. Embora pareça não alterar as propriedades de recompensa durante a estimulação cerebral com eletrodos, os EAAs podem influenciar a sensibilidade dos sistemas de recompensa cerebral, tornando-os mais suscetíveis à ação da anfetamina (CLARK, LINDENFELD e GIBBONS, 1996).

A despeito da importância do uso combinado de EAAs e ETAs, há poucos trabalhos que descrevem o efeito da administração crônica de testosterona sobre as respostas comportamentais aos ETAs em ratos adultos e adolescentes. Desta forma, uma questão que deve ser analisada é se o uso crônico de testosterona poderia promover sensibilização cruzada com derivados anfetamínicos em modelos animais de adolescência, tornando os animais mais susceptíveis ao desenvolvimento da dependência a esse tipo de psicoestimulante. De fato,

resultados anteriores do nosso laboratório demonstram que o pré-tratamento de animais adultos (DPN 60) e adolescentes (DPN 28) com testosterona (10 mg/kg) aumenta o efeito estimulante da cocaína (10 mg/kg) sobre a atividade locomotora, além de causar sensibilização cruzada em ratos adolescentes, sugerindo que possa haver sensibilização relacionada também com outras drogas estimulantes (ENGI, 2012)

2. JUSTIFICATIVA

O abuso de drogas tem alcançado grandes proporções nos últimos anos, e atualmente é considerado um problema de saúde pública mundial. O uso de estimulantes anfetamínicos e dos EAAs tem aumentado no Brasil, sendo comum observar entre adultos e adolescentes o uso concomitante dessas substâncias. Estudos com modelos animais de autoadministração já demonstraram o efeito reforçador positivo dos EAAs com outras drogas de abuso. Sendo assim, é importante avaliar se o uso prévio crônico de testosterona e derivados anfetamínicos, tal como o femproporex, poderia promover sensibilização comportamental a esse ETA em animais adultos e adolescentes.

3. OBJETIVOS

Investigar a sensibilização cruzada entre exposição repetida à testosterona e exposição aguda ao estimulante anfetamínico femproporex, em ratos adolescentes e adultos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Parecer ético

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética para Uso de Animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP (CEUA-15/2010) e os experimentos foram conduzidos seguindo os princípios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – (COBEA).

4.2. Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos adolescentes (DPN 28), provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual Paulista – UNESP de Botucatu. Os animais foram transferidos para o biotério do laboratório de Farmacologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia do Campus de Araraquara - UNESP sete dias antes do início dos experimentos e foram mantidos em condições controladas de temperatura ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e luz (ciclo 12/12 horas, luzes apagadas às 19 h), com livre acesso a alimento e água.

Em ratos, a adolescência é definida como o período ao redor da maturação sexual, ocorrendo aproximadamente entre os dias pós-natal (DPN) 28 e 42 (SPEAR e BRAKE, 1983).

4.3. Fármacos

- Testosterona (Pharma Nostra [®]) - dissolvida em óleo de amêndoas.
- Femproporex (Merck[®]), dissolvida em solução salina 0,9%.

4.4. Avaliação da atividade locomotora

Foi utilizada a caixa de medida automática da atividade locomotora (Opto – Varimex, Columbus Instruments),, com medidas de 45,1 x 8 x 44,1 cm (largura x altura x comprimento). Esta caixa possui 10 emissores de luz infravermelha, distantes 2,5 cm entre si e a 3,0 cm do piso da caixa. Cada unidade de locomoção corresponde à interrupção de um feixe de luz (Figura 1).

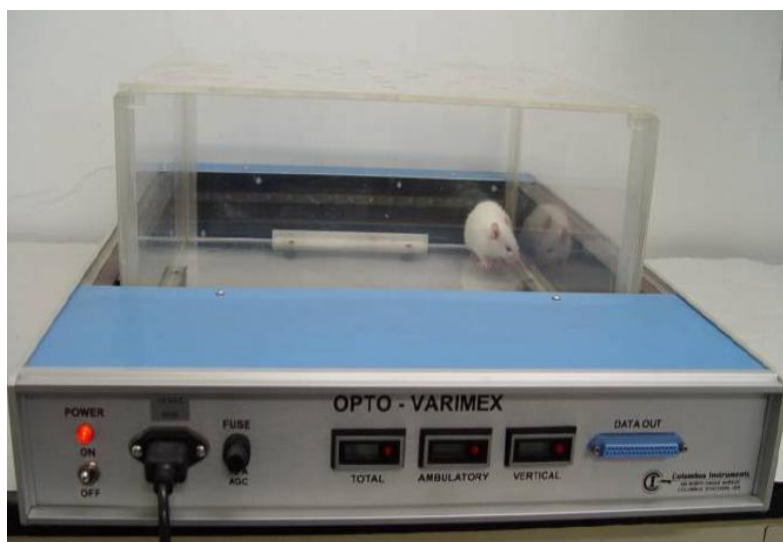


Figura 1 – Caixa de registro automático da atividade locomotora.

5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

5.1. Locomoção induzida pela administração aguda de femproporex em ratos adolescentes e adultos pré-tratados repetidamente com testosterona

Os ratos foram divididos em quatro grupos:

- Veículo – Salina (VEIC-SAL): pré-tratamento com óleo de amêndoas (0,1 mL/kg); tratamento com salina 0,9% (0,1 mL/kg); n= 8

- Veículo – Femproporex (VEIC-FEM): pré-tratamento com óleo de amêndoas (0,1 mL/kg); tratamento com femproporex (3 mg/kg); n= 10
- Testosterona – Salina (TEST-SAL): pré-tratamento com testosterona (10 mg/kg); tratamento com salina 0,9% (0,1 mL/kg); n=10
- Testosterona – Femproporex (TEST-FEM): pré-tratamento com testosterona (10 mg/kg); tratamento com femproporex (3 mg/kg). n=

9

Cada grupo foi submetido à administração repetida de uma injeção diária de testosterona (10 mg/kg; s.c.) ou veículo (óleo de amêndoas, s.c.) durante 10 dias consecutivos. No 13º dia, os animais adolescentes (DPN 41) foram inicialmente colocados por 20 minutos na caixa de atividade locomotora para habituação. Em seguida, receberam uma injeção de femproporex (3 mg/kg, i.p.) ou solução salina (0,9 %), e sua atividade locomotora foi avaliada na caixa de medida automática durante 40 minutos, sendo que as unidades de locomoção foram verificadas e anotadas a cada 5 minutos.

Decorridos 30 dias da última administração de testosterona, os mesmos ratos, já adultos (DPN 68), receberam novamente o tratamento repetido com testosterona ou veículo nas doses anteriormente descritas. No 13º dia (DPN 81) foram novamente submetidos a uma injeção de femproporex ou salina nas mesmas doses anteriores, e tiveram sua atividade locomotora mais uma vez avaliada, como descrito acima.

6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados comportamentais foram analisados por ANOVA bifatorial, considerando-se os fatores pré-tratamento (veículo x testosterona) e tratamento (salina X femproporex). Nos casos em que ANOVA mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$) os resultados foram analisados pelo teste post-hoc Newman-Keuls.

7. RESULTADOS

7.1. Ratos adolescentes

Os resultados da atividade locomotora induzida por femproporex (3 mg/kg) em ratos adolescentes (DPN 41) pré-tratados durante 10 dias com veículo (óleo de amêndoas) ou testosterona (10 mg/kg) estão apresentados na Figura 2.

ANOVA revelou diferenças significativas na atividade locomotora considerando o fator pré-tratamento [$F_{(3,33)} = 17,76$; $p < 0,05$] e fator tratamento [$F_{(3,33)} = 278,18$; $p < 0,05$]. Foi observada também interação significativa entre os dois fatores [$F_{(3,33)} = 8,73$; $p < 0,05$].

O teste de Newman-Keuls revelou que o tratamento com femproporex aumentou a atividade locomotora em ambos os grupos veículo e testosterona, revelando o efeito estimulante dessa substância. Newman-Keuls revelou também que a atividade locomotora induzida pelo femproporex no grupo tratado com testosterona e femproporex foi maior que o tratado com veículo e femproporex, revelando a sensibilização cruzada entre testosterona e femproporex.

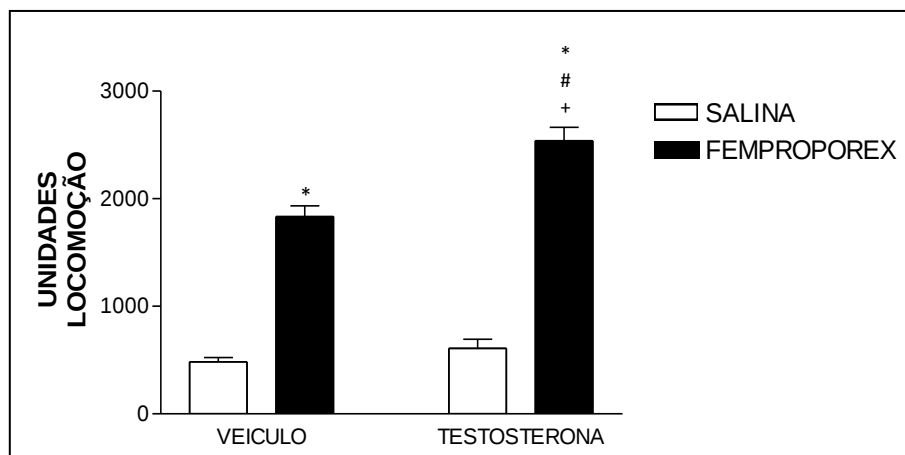


Figura 2. Atividade locomotora de ratos adolescentes (DPN 41) após injeção intraperitoneal de femproporex (3 mg/kg, i.p.) ou salina (0,1 mL/kg) 3 dias após o término do tratamento repetido com testosterona (10 mg/kg, s.c.) ou veículo (óleo de amêndoas, 0,1mL/kg) durante 10 dias. Os dados representam a média $\pm$ EPM de 8 -10 animais por grupo. * $p < 0,05$: comparados aos respectivos controles. # $p < 0,05$: comparado ao grupo TEST-SAL + $p < 0,05$: comparado ao grupo VEIC-FEM.

7.2. Ratos adultos

Os resultados da atividade locomotora induzida por femproporex (3 mg/kg) em ratos adultos (DPN 81) pré-tratados durante 10 dias com veículo (óleo de amêndoas) ou testosterona (10 mg/kg) estão apresentados na Figura 3.

ANOVA não demonstrou diferenças significativas na atividade locomotora considerando o fator pré-tratamento [$F_{(3,33)} = 2,75$; $p > 0,05$]. Contudo, ANOVA revelou diferenças significativas para o fator tratamento [$F_{(3,33)} = 42,37$; $p < 0,05$]. Nenhuma interação foi observada entre os fatores pré-tratamento e tratamento [$F_{(3,33)} = 1,95$; $p > 0,05$].

A comparação múltipla das médias por Newman-Keuls, considerando o fator tratamento, mostrou que a injeção aguda de femproporex (3mg/kg) aumentou a atividade locomotora independentemente do pré-tratamento com testosterona.

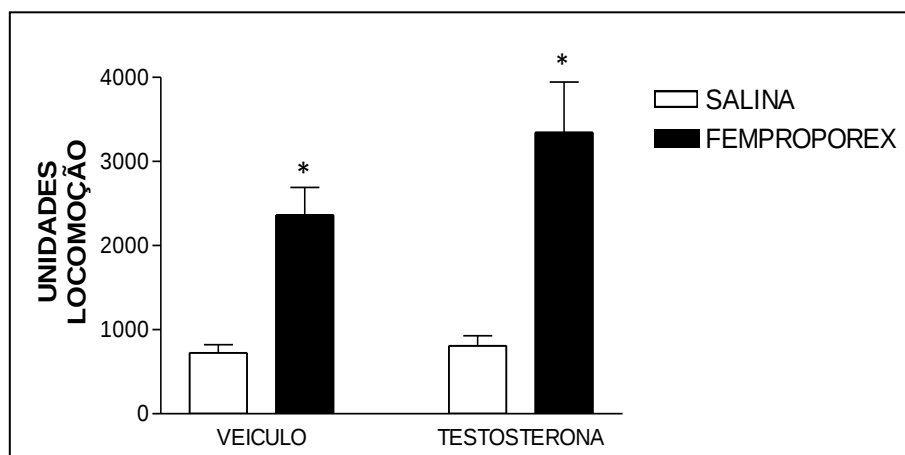


Figura 3. Atividade locomotora de ratos adultos (DPN 81) após injeção intraperitoneal de femproporex (3 mg/kg, i.p.) ou salina (0,1 mL/kg) 3 dias após o término do tratamento repetido com testosterona (10 mg/kg, s.c.) ou veículo (óleo de amêndoas, 0,1mL/kg) durante 10 dias. Os dados representam a média $\pm$ EPM de 8-10 animais por grupo.* $p < 0,05$: comparados aos respectivos controles.

8. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, tem havido um aumento do uso concomitante de ETAs e EAAs no Brasil e no mundo, tanto entre adultos quanto entre adolescentes (CHASIN e SILVA, 2003; GALDURÓZ *et al.*, 2005b; KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2010)

É sabido que o desenvolvimento da dependência à anfetamina está relacionado com sua atuação no sistema dopaminérgico (WISE, R. A. e BOZARTH, M. A., 1987; CAMÍ e FARRÉ, 2003). O femproporex, assim como a anfetamina, atua nas mesmas vias dopaminérgicas. (PLANETA, ALCANTARA e DELUCIA, 2002). Semelhantemente, vários autores descrevem a possível participação dos EAAs na modulação da transmissão dopaminérgica- (POWER *et al.*, 1991; LE GREVÈS *et al.*, 1997; JOHANSSON *et al.*, 2000; KINDLUNDH *et al.*, 2001; KANAYAMA *et al.*, 2009a). Modelos animais de autoadministração já demonstraram o efeito reforçador positivo dos EAAs. (WOOD, 2004).

Baseado nos relatos da literatura, em nosso trabalho, investigamos o possível desenvolvimento de sensibilização comportamental cruzada entre testosterona e femproporex, em ratos adolescentes e adultos.

Nossos resultados demonstram que a administração repetida de testosterona (10 mg/kg) resultou em sensibilização cruzada ao femproporex (3 mg/kg) em ratos adolescentes (DPN 41), mas não em ratos adultos (DPN 71). O fenômeno da sensibilização comportamental é uma característica comum para todas as substâncias psicoativas de abuso, e está relacionada ao desenvolvimento da dependência, principalmente aos psicoestimulantes. (ROBINSON e BERRIDGE,

1993; 2001; HYMAN, MALENKA e NESTLER, 2006; ROBINSON e BERRIDGE, 2008)

O pré-tratamento com uma determinada substância pode aumentar a resposta comportamental à administração subsequente da mesma substância, caracterizando assim a sensibilização comportamental. Tal fenômeno já foi descrito para a cocaína, anfetamina, etanol, morfina, nicotina, Δ -9-THC e heroína (ROBINSON e BECKER, 1986; KALIVAS e DUFFY, 1987; MISERENDINO e NESTLER, 1995; CADONI *et al.*, 2001; MARIN e PLANETA, 2004; CRUZ, DELUCIA e PLANETA, 2005; LENOIR *et al.*, 2007). Dessa forma, foi sugerido que todas as substâncias psicoativas que induzem dependência atuam como reforçadores positivos e promovem sensibilização comportamental (WISE, R. A. e BOZARTH, M. A., 1987; ROBINSON e BERRIDGE, 2008)

A sensibilização cruzada indica que a exposição a uma substância psicoativa pode aumentar a vulnerabilidade ao abuso de outra substância, (ITZHAK e MARTIN, 1999), e já foi demonstrada entre nicotina e cocaína (COLLINS e IZENWASSER, 2004) entre anfetamina e nicotina (SANTOS *et al.*, 2009) e entre testosterona e cocaína.(ENGI, 2012). De acordo com a teoria de sensibilização do incentivo, esses resultados sugerem que a exposição prévia a uma substância pode aumentar a vulnerabilidade à dependência de outra.

Avaliando a hipótese de que a sensibilização está relacionada à dependência, podemos sugerir que, em ratos adolescentes, a exposição repetida à testosterona aumenta a vulnerabilidade aos efeitos de estimulantes do tipo anfetamínico, tais como o femproporex. A sensibilização cruzada entre testosterona e femproporex observada no presente estudo, sugere que esse EAA

pode induzir neuroplasticidades nos circuitos neurais relacionados à ativação psicomotora induzida pelo femproporex. Assim, o uso de testosterona poderia influenciar a vulnerabilidade ao abuso e dependência de derivados anfetamínicos

A sensibilização comportamental reflete neuroadaptações no sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, que estão envolvidas no desenvolvimento da dependência às substâncias psicoativas. (WISE e BOZARTH, 1987; NESTLER, 2001). Os principais componentes desse sistema são a área tegmental ventral e suas projeções para o sistema límbico, que inclui o núcleo accumbens, amígdala e córtex pré-frontal (WISE, ROY A. e BOZARTH, MICHAEL A., 1987; KOOB e LE MOAL, 2001). A administração repetida de drogas de abuso, especialmente psicoestimulantes, causam alterações moleculares similares nesse sistema de recompensa.

De acordo com a literatura recente, os EAA podem causar síndrome da dependência e esta divide muitas características com a dependência de outras substâncias psicoativas, como a cocaína e a anfetamina (KANAYAMA *et al.*, 2009b). Por exemplo, os esteroides atuam como reforçadores positivos em modelos animais de autoadministração, e também podem produzir síndrome de abstinência característica (KANAYAMA, HUDSON e POPE, 2009).

Neuroadaptações no sistema dopaminérgico foram observadas após administrações de testosterona. Nesse sentido, BIRGNER *et al.* (2008) demonstraram que a administração de nandrolona (3 ou 15 mg/kg) durante 14 dias, em ratos adultos causou aumento do RNAm do receptor dopaminérgico do subtipo D4 no núcleo acúmbens, diminuição do RNAm do subreceptor tipo D1 no hipocampo e aumento do RNAm do receptor D1 na amígdala, evidenciando

neuroplasticidades nos sistemas relacionados ao desenvolvimento e manutenção da dependência.

Além disso, outros autores demonstraram que a testosterona parece ter uma ação no sistema opioide. Dessa maneira, Johansson *et al.*, (1997) demonstraram que ratos que receberam nandrolona (5 ou 15 mg/kg) por 14 dias apresentaram aumento de β -endorfina na VTA. Em um estudo posterior semelhante, Johansson *et al.* (2000) demonstraram aumento de dinorfina e encefalina no hipocampo e estriado, relatando um 'desbalanço' desses dois peptídeos opiáceos nessas regiões. Dessa maneira, os efeitos da administração repetida de testosterona na atividade locomotora induzida pelo femporex em ratos adolescentes poderiam estar relacionados com neuroplasticidades nos sistemas dopaminérgicos e com participação de outros sistemas, tal como o sistema opioide. Para tanto, novos estudos são necessários para confirmar tal suposição.

A administração repetida de testosterona causou sensibilização comportamental ao femporex em ratos adolescentes. Dessa maneira, nossos resultados sugerem que a administração repetida de EAs poderia aumentar a vulnerabilidade ao desenvolvimento da dependência aos ETAs. Contudo, novos estudos em modelos animais são necessários para confirmar o mecanismo molecular da interação entre EAs e ETAs no desenvolvimento da dependência aos esteroides e aos derivados anfetamínicos.

9. CONCLUSÃO

Nossos resultados demonstram que o tratamento repetido por 10 dias com testosterona (10 mg/kg) causou sensibilização cruzada induzida pelo femproporex (3 mg/kg) em ratos adolescentes, mas esse mesmo fenômeno não foi observado em ratos adultos. Esses resultados sugerem uma provável interação entre essas duas substâncias no SNC, em regiões relacionadas ao desenvolvimento da dependência.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESO. **Atualização das Diretrizes para o Tratamento Farmacológico da Obesidade e do Sobrepeso.** p. 4-18, 2010.

AIZENSTEIN, M. L.; SEGAL, D. S.; KUCZENSKI, R. Repeated amphetamine and fencamfamine: sensitization and reciprocal cross-sensitization. **Neuropsychopharmacology**, v. 3, n. 4, p. 283-90, 1990.

AKIMOTO, K, HAMAMURA, T.; KAZAHAYA, Y.; AKIYAMA, K.; OTSUKI, S.. Enhanced extracellular dopamine level may be the fundamental neuropharmacological basis of cross-behavioral sensitization between methamphetamine and cocaine--an in vivo dialysis study in freely moving rats. **Brain Res**, v. 507, n. 2, p. 344-6, 1990.

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

ANDRADE, A. G.; DUARTE, P. C. A. V.; OLIVEIRA, L. G. **I levantamento nacional sobre o uso de álcool, tabaco e outras drogas entre universitários das 27 capitais brasileiras.** Brasília: **Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas**, 2010.

ANTHONY, J. C.; PETRONIS, K. R. Early-onset drug use and risk of later drug problems. **Drug Alcohol Depend**, v. 40, n. 1, p. 9-15, 1995.

BAHRKE, M. S.; YESALIS, C. E.; KOPSTEIN, A. N.; STEPHENS, J. A. Risk factors associated with anabolic-androgenic steroid use among adolescents. **Sports Med**, v. 29, n. 6, p. 397-405, 2000.

BASARIA, S.; DOBS, A. S. Hypogonadism and androgen replacement therapy in elderly men. **Am J Med**, v. 110, n. 7, p. 563-72, 2001.

BASARIA, S.; WAHLSTROM, J. T.; DOBS, A. S. Clinical review 138: Anabolic-androgenic steroid therapy in the treatment of chronic diseases. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 11, p. 5108-17, 2001. I

BEEL, A.; MAYCOCK, B.; MCLEAN, N. Current perspectives on anabolic steroids. **Drug Alcohol Rev**, v. 17, n. 1, p. 87-103, 1998.

BIANCO, A. C.; RABELO, R. Introdução à fisiologia endócrina. . In: AIRES, M. M. (Ed.). **Fisiologia**. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 65, p.741-765, 1999.

BIRGNER, C.; KINDLUNDH-HÖGBERG, A. M. S.; ALSIÖ, J.; LINDBLOM, J.; SCHIÖTH, H.B.; BERGSTRÖM, L. The anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate affects mRNA expression of dopaminergic but not serotonergic receptors. **Brain Research**, v. 1240, n. 0, p. 221-228, 2008.

BONATE, P. L.; SWANN, A.; SILVERMAN, P. B. Preliminary physiologically based pharmacokinetic model for cocaine in the rat: model development and scale-up to humans. **J Pharm Sci**, v. 85, n. 8, p. 878-83, 1996.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 52, DE 6 DE OUTUBRO DE 2011**. Dispõe sobre a proibição do uso das substâncias anfepramona, femproporex e mazindol, seus sais e isômeros, bem como intermediários e medidas de controle da prescrição e dispensação de medicamentos que contenham a substância sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários e dá outras providências. **Diário Oficial da União** - Ministério da Saúde, Brasília, DF, 10 de outubro de 2011.

BRESLAU, N.; PETERSON, E. L. Smoking cessation in young adults: age at initiation of cigarette smoking and other suspected influences. **Am J Public Health**, v. 86, n. 2, p. 214-20, 1996.

BROWER, K. J.; BLOW, F. C.; ELIOPULOS, G. A.; BERESFORD, T. P. Anabolic-androgenic steroid dependence. **J Clin Psychiatry**, v. 50, n. 1, p. 31-3, 1989.

BROWER, K. J.; BLOW, F. C.; ELIOPULOS, G. A.; BERESFORD, T. P. Anabolic androgenic steroids and suicide. **Am J Psychiatry**, v. 146, n. 8, p. 1075, 1989..

BROWER, K. J.; BLOW, F. C.; ELIOPULOS, G. A.; BERESFORD, T. P. Evidence for physical and psychological dependence on anabolic androgenic steroids in eight weight lifters. **Am J Psychiatry**, v. 147, n. 4, p. 510-2, 1990.

BUCKLEY, W. E.; YESALIS, C.E.; FRIEDL, K.E.; ANDERSON, W.A.; STREIT, A. L.; WRIGHT, J.E. Estimated prevalence of anabolic steroid use among male high school seniors. **JAMA**, v. 260, n. 23, p. 3441-5, 1988.

CADONI, C.; PISANU, A.; SOLINAS, M.; ACQUAS, E; CHIARA, G. Behavioural sensitization after repeated exposure to Δ^9 -tetrahydrocannabinol and cross-sensitization with morphine. **Psychopharmacology**, v. 158, n. 3, p. 259-266, 2001.

CADONI, C.; SOLINAS, M.; DI CHIARA, G. Psychostimulant sensitization: differential changes in accumbal shell and core dopamine. **Eur J Pharmacol**, v. 388, n. 1, p. 69-76, 2000.

CAMARGO, T. P. P. COSTA, S.P.V; UZUNIAN, L.G.; VIEBIG, R.F. **Bigorexia: review of the current aspects of this body image disorder**. Rev Bras Psicol Esporte. São Paulo. 2: p. 01-15, 2008.

CAMÍ, J.; FARRÉ, M. Drug Addiction. **New England Journal of Medicine**, v. 349, n. 10, p. 975-986, 2003.

CASTILLO, E. M.; COMSTOCK, R. D. Prevalence of use of performance-enhancing substances among United States adolescents. **Pediatr Clin North Am**, v. 54, n. 4, p. 663-75, ix-x, 2007.

CELIK, E.; UZBAY, I. T.; KARAKAS, S. Caffeine and amphetamine produce cross-sensitization to nicotine-induced locomotor activity in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 30, n. 1, p. 50-5, 2006.

CHASIN, A. A. M.; SILVA, E. S. Estimulantes do sistema nervoso central. In: (Ed.). **Fundamentos de toxicologia**. 2. São Paulo: Atheneu Editora, p.239-257, 2003.

CLARK, A. S.; LINDENFELD, R. C.; GIBBONS, C. H. Anabolic-androgenic steroids and brain reward. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 53, n. 3, p. 741-5, 1996.

COERT, A. et al. The pharmacology and metabolism of testosterone undecanoate (TU), a new orally active androgen. **Acta Endocrinol (Copenh)**, v. 79, n. 4, p. 789-800, 1975.

COLLINS, S. L.; IZENWASSER, S. Chronic nicotine differentially alters cocaine-induced locomotor activity in adolescent vs. adult male and female rats. **Neuropharmacology**, v. 46, n. 3, p. 349-362, 2004.

COVINGTON, H. E.; MICZEK, K. A. Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. Effects on behavioral sensitization and intravenous cocaine self-administration "binges". **Psychopharmacology (Berl)**, v. 158, n. 4, p. 388-98, 2001.

CRUZ, F. C.; DELUCIA, R.; PLANETA, C. S. Differential behavioral and neuroendocrine effects of repeated nicotine in adolescent and adult rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 80, n. 3, p. 411-7, 2005.

CUNNINGHAM, S. T.; KELLEY, A. E. Evidence for opiate-dopamine cross-sensitization in nucleus accumbens: studies of conditioned reward. **Brain Res Bull**, v. 29, n. 5, p. 675-80, 1992.

DACKIS, C. A.; O'BRIEN, C. P. Cocaine dependence: a disease of the brain's reward centers. **J Subst Abuse Treat**, v. 21, n. 3, p. 111-7, 2001.

DAFNY, N.; YANG, P. B. The role of age, genotype, sex, and route of acute and chronic administration of methylphenidate: a review of its locomotor effects. **Brain Res Bull**, v. 68, n. 6, p. 393-405, 2006.

DALY, R. C. et al. Cerebrospinal fluid and behavioral changes after methyltestosterone administration: preliminary findings. **Arch Gen Psychiatry**, v. 58, n. 2, p. 172-7, 2001.

DEROCHE, V. et al. Repeated corticosterone administration sensitizes the locomotor response to amphetamine. **Brain Res**, v. 584, n. 1-2, p. 309-13, 1992.

DURANT, R. H.; ESCOBEDO, L. G.; HEATH, G. W. Anabolic-steroid use, strength training, and multiple drug use among adolescents in the United States. **Pediatrics**, v. 96, n. 1 Pt 1, p. 23-8, 1995.

DURANT, R. H. et al. Use of multiple drugs among adolescents who use anabolic steroids. **N Engl J Med**, v. 328, n. 13, p. 922-6, 1993.

ENGI, S. A. **Efeitos periféricos e centrais decorrentes da exposição à cocaína e testosterona em ratos adolescentes e adultos**. Universidade Federal de São Carlos - UFSCar., Araraquara, SP, 11 de setembro de 2012.

FAGUNDES, L. L. et al. **Comércio Ilegal de Medicamentos pela Internet: Um Estudo de Caso. THE SEVENTH INTERNATIONAL CONFERENCE ON FORENSIC COMPUTER SCIENCE.** Brasília, Brasil: ICoFCS 2012.

FRYE, C. A. Some rewarding effects of androgens may be mediated by actions of its 5alpha-reduced metabolite 3alpha-androstanediol. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 86, n. 2, p. 354-67, 2007.

GALDURÓZ, J. C.; NOTO, A. R.; NAPPO, S. A.; CARLINI, E. A. Household survey on drug abuse in Brazil: study involving the 107 major cities of the country--2001. **Addict Behav**, v. 30, n. 3, p. 545-56, 2005a.

GALDURÓZ, J. C.; NOTO, A. R.; NAPPO, S. A.; CARLINI, E. A. Use of psychotropic drugs in Brazil: household survey in the 107 biggest Brazilian cities--2001. **Rev Lat Am Enfermagem**, v. 13 Spec No, p. 888-95, 2005 .

GASIOR, M.; CARTER, R. B.; WITKIN, J. M. Neuroactive steroids: potential therapeutic use in neurological and psychiatric disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 20, n. 3, p. 107-112, 3/1/ 1999.

GIROS, B.; CARON, M. G. Molecular characterization of the dopamine transporter. **Trends Pharmacol Sci**, v. 14, n. 2, p. 43-9, 1993.

HANDELSMAN, D. J.; GUPTA, L. Prevalence and risk factors for anabolic-androgenic steroid abuse in Australian high school students. **Int J Androl**, v. 20, n. 3, p. 159-64, 1997.

HEIKKILA, R. E.; ORLANSKY, H.; COHEN, G. Studies on the distinction between uptake inhibition and release of (3H)dopamine in rat brain tissue slices. **Biochem Pharmacol**, v. 24, n. 8, p. 847-52, 1975.

HOBBELEN, P. M. et al. Interactions of steroids with serum lipoproteins. **Biochem Pharmacol**, v. 24, n. 2, p. 165-72, 1975.

HOCHBERG, Z.; PACAK, K.; CHROUSOS, G. P. Endocrine withdrawal syndromes. **Endocr Rev**, v. 24, n. 4, p. 523-38, 2003.

HORN, A. S. Dopamine uptake: a review of progress in the last decade. **Prog Neurobiol**, v. 34, n. 5, p. 387-400, 1990.

HYMAN, S. E. Addiction to cocaine and amphetamine. **Neuron**, v. 16, n. 5, p. 901-4, 1996.

HYMAN, S. E.; MALENKA, R. C.; NESTLER, E. J. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. **Annual review of neuroscience**, v. 29, p. 565-598, 2006.

INCB. UNITED NATIONS. **Report of the International Narcotics Control Board for 2011**. New York:, 2012.

IRIART, J. A.; ANDRADE, T. M. [Body-building, steroid use, and risk perception among young body-builders from a low-income neighborhood in the city of Salvador, Bahia State, Brazil]. **Cad Saude Publica**, v. 18, n. 5, p. 1379-87, 2002.

ITZHAK, Y.; MARTIN, J. L. Effects of cocaine, nicotine, dizocipiline and alcohol on mice locomotor activity: cocaine–alcohol cross-sensitization involves upregulation of striatal dopamine transporter binding sites. **Brain Research**, v. 818, n. 2, p. 204-211, 1999.

JOHANSSON, P.; JOHANSSON, P ; LINDQVIST, A.S.; NYBERG, F. ; FAHLKE, C. Anabolic androgenic steroids affects alcohol intake, defensive behaviors and brain opioid peptides in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 67, n. 2, p. 271-279, 2000.

JOHANSSON, P.; JOHANSSON, P ; LINDQVIST, A.S.; NYBERG, F. ; FAHLKE, C.. Anabolic androgenic steroids increase β -endorphin levels in the ventral tegmental area in the male rat brain. **Neuroscience Research**, v. 27, n. 2, p. 185-189, 1997.

JONES, S. R.; GAINETDINOV, R. R. ; WIGHTMAN, R. M.; CARON, M. G. Mechanisms of amphetamine action revealed in mice lacking the dopamine transporter. **J Neurosci**, v. 18, n. 6, p. 1979-86, 1998.

KALIVAS, P. W.; DUFFY, P. Sensitization to repeated morphine injection in the rat: possible involvement of A10 dopamine neurons. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 241, n. 1, p. 204-12, 1987.

KAM, P. C.; YARROW, M. Anabolic steroid abuse: physiological and anaesthetic considerations. **Anaesthesia**, v. 60, n. 7, p. 685-92, 2005.

KANAYAMA, G. ; BROWER, K. J. ; WOOD, R. I. ; HUDSON, J. I. ; POPE, H. G. Anabolic-androgenic steroid dependence: an emerging disorder. **Addiction**, v. 104, n. 12, p. 1966-78, 2009a.

KANAYAMA, G. ; BROWER, K. J. ; WOOD, R. I. ; HUDSON, J. I. ; POPE, H. G. . Issues for DSM-V: clarifying the diagnostic criteria for anabolic-androgenic steroid dependence. **Am J Psychiatry**, v. 166, n. 6, p. 642-5, 2009b.

KANAYAMA, G. ; BROWER, K. J. ; WOOD, R. I. ; HUDSON, J. I. ; POPE, H. G. Treatment of anabolic-androgenic steroid dependence: Emerging evidence and its implications. **Drug Alcohol Depend**, v. 109, n. 1-3, p. 6-13, 2010.

KANAYAMA, G. ; BROWER, K. J. ; WOOD, R. I. ; HUDSON, J. I. ; POPE, H. G. . Past anabolic-androgenic steroid use among men admitted for substance abuse treatment: an underrecognized problem? **J Clin Psychiatry**, v. 64, n. 2, p. 156-60, 2003.I

KANAYAMA, G.; HUDSON, J. I.; POPE, H. G. Long-term psychiatric and medical consequences of anabolic-androgenic steroid abuse: a looming public health concern? **Drug Alcohol Depend**, v. 98, n. 1-2, p. 1-12, 2008.

KANAYAMA, G.; HUDSON, J. I.; POPE, H. G.. Features of men with anabolic-androgenic steroid dependence: A comparison with nondependent AAS users and with AAS nonusers. **Drug Alcohol Depend**, v. 102, n. 1-3, p. 130-7, 2009.

KANAYAMA, G.; HUDSON, J. I.; POPE, H. G.. Illicit anabolic-androgenic steroid use. **Horm Behav**, v. 58, n. 1, p. 111-21, 2010.

KANAYAMA, G. ; POPE, H. G. ;COHANE, G. ;HUDSON, J. I. Risk factors for anabolic-androgenic steroid use among weightlifters: a case-control study. **Drug Alcohol Depend**, v. 71, n. 1, p. 77-86, 2003.

KASHKIN, K. B.; KLEBER, H. D. Hooked on hormones? An anabolic steroid addiction hypothesis. **JAMA**, v. 262, n. 22, p. 3166-70, 1989.

KINDLUNDH, A. M.; ISACSON, D. G. ; BERGLUND, L. ; NYBERG, F. Factors associated with adolescent use of doping agents: anabolic-androgenic steroids. **Addiction**, v. 94, n. 4, p. 543-53, 1999.

KINDLUNDH, A. M. S. ; LINDBLOM, J. ; BERGSTRÖM, L. ; WIKBERG, J. E. S. ; NYBERG, F. The anabolic-androgenic steroid nandrolone decanoate affects the density of dopamine receptors in the male rat brain. **European Journal of Neuroscience**, v. 13, n. 2, p. 291–296, 2001.

KOCHAKIAN, C. D.; YESALIS, C. E. **Anabolic-androgenic steroids: a historical perspective and definition.** : **Anabolic steroids in sport and exercise.** 2: 17-50 p. 2000.

KOOB, G. F.; BLOOM, F. E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. **Science**, v. 242, n. 4879, p. 715-23, 1988.

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. **Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 2, p. 97-129, 2001.

KOOB, G. F.; SANNA, P. P.; BLOOM, F. E. Neuroscience of addiction. **Neuron**, v. 21, n. 3, p. 467-76, 1998.

LAVIOLA, G.; ADRIANI, W. ; TERRANOVA, M. L. ; GERRA, G. Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 23, n. 7, p. 993-1010, 1999.

LE GREVÈS, P.; HUANG, W.; JOHANSSON, P.; THÖRNWALL, M.; ZHOU, Q.; NYBERG, F. Effects of an anabolic-androgenic steroid on the regulation of the NMDA receptor NR1, NR2A and NR2B subunit mRNAs in brain regions of the male rat. **Neuroscience Letters**, v. 226, n. 1, p. 61-64, 1997.

LENOIR, M.; SERRE, F. ; CANTIN, L. ; AHMED, S. H. Intense sweetness surpasses cocaine reward. **PLoS One**, v. 2, n. 8, p. e698, 2007..

LI, J.; AL-AZZAWI, F. Mechanism of androgen receptor action. **Maturitas**, v. 63, n. 2, p. 142-8, 2009.

LIU, Y.; MORGAN, D.; ROBERTS, D. C. Cross-sensitization of the reinforcing effects of cocaine and amphetamine in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 195, n. 3, p. 369-75, 2007.

LLEWELLYN, W. **Anabolic Steroids Reference Manual. Molecular Nutrition**. 6. Florida: Molecular Nutrition, 2007.

MARIN, M. T.; PLANETA, C. S. Maternal separation affects cocaine-induced locomotion and response to novelty in adolescent, but not in adult rats. **Brain Res**, v. 1013, n. 1, p. 83-90, 2004.

MATSUMOTO, A. M.; BREMNER, W. J. Serum testosterone assays--accuracy matters. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 2, p. 520-4, 2004.

MCCABE, S. E. ; BROWER, K. J. ; WEST, B. T. ; NELSON, T. F. ; WECHSLER, H. Trends in non-medical use of anabolic steroids by U.S. college students: results from four national surveys. **Drug Alcohol Depend**, v. 90, n. 2-3, p. 243-51, 2007.

MEILMAN, P. W. ; CRACE, R. K. ; PRESLEY, C. A. ; LYERLA, R. Beyond performance enhancement: polypharmacy among collegiate users of steroids. **J Am Coll Health**, v. 44, n. 3, p. 98-104, 1995.

MELIA, P.; PIPE, A.; GREENBERG, L. The use of anabolic-androgenic steroids by Canadian students. **Clin J Sport Med**, v. 6, n. 1, p. 9-14, 1996.

MIDDLEMAN, A. B.; FAULKNER, A. H.; WOODS, E. R.; EMANS, S. J.; DURANT, R. H. . High-risk behaviors among high school students in Massachusetts who use anabolic steroids. **Pediatrics**, v. 96, n. 2 Pt 1, p. 268-72, 1995.

MINERLY, A. E.; WU, H. B. ; WEIERSTALL, K. M. ; NIYOMCHAI, T. ; KEMEN, L. ; JENAB, S. ; QUINONES-JENAB, V. Testosterone differentially alters cocaine-induced ambulatory and rearing behavioral responses in adult and adolescent rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 94, n. 3, p. 404-9, 2010.

MISERENDINO, M. J.; NESTLER, E. J. Behavioral sensitization to cocaine: modulation by the cyclic AMP system in the nucleus accumbens. **Brain Res**, v. 674, n. 2, p. 299-306, 1995.

NESTLER, E. J. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. **Nat Rev Neurosci**, v. 2, n. 2, p. 119-28, 2001.

NILSSON, S. Androgenic anabolic steroid use among male adolescents in Falkenberg. **Eur J Clin Pharmacol**, v. 48, n. 1, p. 9-11, 1995.

O'MALLEY, P. M. ; JOHNSTON, L. D. ; BACHMAN, J. G. ; SCHULENBERG, J. E. ; KUMAR, R. How substance use differs among American secondary schools. **Prev Sci**, v. 7, n. 4, p. 409-20, 2006.

PALLESEN, S.; JØSENDAL, O. ; JOHNSEN, B. H. ; LARSEN, S. ; MOLDE, H. Anabolic steroid use in high school students. **Subst Use Misuse**, v. 41, n. 13, p. 1705-17, 2006.

PERRY, P. J.; KUTSCHER, E. C. ; LUND, B. C. ; YATES, W. R. ; HOLMAN, T. L. ; DEMERS, L. Measures of aggression and mood changes in male weightlifters with and without androgenic anabolic steroid use. **J Forensic Sci**, v. 48, n. 3, p. 646-51, 2003.

PIERCE, R. C.; KALIVAS, P. W. Amphetamine produces sensitized increases in locomotion and extracellular dopamine preferentially in the nucleus accumbens shell of rats administered repeated cocaine. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 275, n. 2, p. 1019-29, 1995.

PIERCE, R. C.; KALIVAS, P. W.. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 25, n. 2, p. 192-216, 1997a.

PIERCE, R. C.; KALIVAS, P. W.. Repeated cocaine modifies the mechanism by which amphetamine releases dopamine. **J Neurosci**, v. 17, n. 9, p. 3254-61, 1997b.

PLANETA, C. S.; ALCANTARA, L. M. A.; DELUCIA, R. Envolvimento do sistema dopaminérgico na sensibilização comportamental ao femproporex. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 23, n. 1, p. 59-70, 2002.

POPE, H. G.; KEAN, J. ; NASH, A. ; KANAYAMA, G. ; SAMUEL, D. B. ; BICKEL, W. K. ; HUDSON, J. I. A diagnostic interview module for anabolic-androgenic steroid dependence: preliminary evidence of reliability and validity. **Exp Clin Psychopharmacol**, v. 18, n. 3, p. 203-13, 2010.

POWER, R. F.; MANI, S. K. ; CODINA, J. ; CONNEELY, O. M.; O'MALLEY, B. W. ; Dopaminergic and ligand-independent activation of steroid hormone receptors. **Science**, v. 254, n. 5038, p. 1636-1639, 1991.

RACHOŃ, D.; POKRYWKA, L.; SUCHECKA-RACHOŃ, K. Prevalence and risk factors of anabolic-androgenic steroids (AAS) abuse among adolescents and young adults in Poland. **Soz Präventivmed**, v. 51, n. 6, p. 392-8, 2006.

RANG, H. P.; DALE, M.M. ; RITTER, J.M. ; FLOWER, R.J. ; HENDERSON, G. Lifestyle Drugs and Drugs in Sport In: (Ed.). **Rang and Dale's Pharmacology**. 7. Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone, cap. 54, p.765–769, 2012.

ROBINSON, T. E.; BECKER, J. B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res**, v. 396, n. 2, p. 157-98, 1986.

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 18, n. 3, p. 247-91, 1993.

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. Incentive-sensitization and addiction. **Addiction**, v. 96, n. 1, p. 103-14, 2001.

ROBINSON, T. E.; BERRIDGE, K. C. **The incentive sensitization theory of addiction: some current issues**. **Phil Trans R Soc**, v. 363, n. 1507, p. 3137-3146, 2008.

SANTOS, A. F. **Anabolizantes: conceitos segundo praticantes de musculação em Aracaju (SE)**. v.11, p.371-380, 2006.

SANTOS, G. C. MARIN, M.T.; CRUZ, F.C.; DELUCIA, R.; PLANETA, C.S. PRECLINICAL STUDY: Amphetamine- and nicotine-induced cross-sensitization in adolescent rats persists until adulthood. **Addiction Biology**, v. 14, n. 3, p. 270-275, 2009.

SCALLY, M. C.; TAN, R. S. Complexities in clarifying the diagnostic criteria for anabolic-androgenic steroid dependence. **Am J Psychiatry**, v. 166, n. 10, p. 1187; author reply 1188, 2009.

SHAHIDI, N. T. A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. **Clin Ther**, v. 23, n. 9, p. 1355-90, 2001.

SHARPE, L. G.; WEINHOLD, L. L.; JAFFE, J. H. The effects of capsaicin treatment on self-administration of amphetamine vapor in rats. **NIDA Res Monogr**, v. 95, p. 539, 1989.

SILVA, P. R. P.; DANIELSKI, R. CZEPIELEWSKI, M. A. **Esteróides anabolizantes no esporte**. Niterói, Brasil: **Rev Bras Med Esporte** 8: 235-243 p. 2002.

SPEAR, L. P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 24, n. 4, p. 417-63, 2000.

SPEAR, L. P.; BRAKE, S. C. Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats. **Dev Psychobiol**, v. 16, n. 2, p. 83-109, 1983.

STEENSLAND, P.; HALLBERG, M. ; KINDLUNDH, A. ; FAHLKE, C. ; NYBERG, F. Amphetamine-induced aggression is enhanced in rats pre-treated with the anabolic androgenic steroid nandrolone decanoate. **Steroids**, v. 70, n. 3, p. 199-204, 2005.

SULZER, D.; CHEN, T. K. ; LAU, Y. Y. ; KRISTENSEN, H. ; RAYPORT, S. ; EWING, A. Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. **J Neurosci**, v. 15, n. 5 Pt 2, p. 4102-8, 1995.

TAN, R. S.; SCALLY, M. C. Anabolic steroid-induced hypogonadism--towards a unified hypothesis of anabolic steroid action. **Med Hypotheses**, v. 72, n. 6, p. 723-8, 2009.

TEICHER, M. H.; ANDERSEN, S. L.; GLOD, C. A. **Neuropsychiatric disorders of childhood and adolescence**. In: YUDOFKY, S. C. e HALES, R. E. (Ed.). **Textbook of neuropsychiatry** 3. Washington, DC American Psychiatric Press, p. 903-941, 1997.

TENNANT, F.; BLACK, D. L.; VOY, R. O. Anabolic steroid dependence with opioid-type features. **N Engl J Med**, v. 319, n. 9, p. 578, 1988.

TRENTON, A. J.; CURRIER, G. W. Behavioural manifestations of anabolic steroid use. **CNS Drugs**, v. 19, n. 7, p. 571-95, 2005.

UNODC. **World Drug Report 2013: United Nations**, 2013.

UZYCH, L. Anabolic-androgenic steroids and psychiatric-related effects: a review. **Can J Psychiatry**, v. 37, n. 1, p. 23-8, 1992.

WANJEK, B.; ROSENDAHL, J. ; STRAUSS, B. ; GABRIEL, H. H. Doping, drugs and drug abuse among adolescents in the State of Thuringia (Germany): prevalence, knowledge and attitudes. **Int J Sports Med**, v. 28, n. 4, p. 346-53, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Neuroscience of psychoactive substance use and dependence** Geneva: **World Health Organization**, 2004. ISBN 92 4 156235 8.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.. **The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders - Clinical descriptions and diagnostic guidelines** Geneva: World Health Organization, 2011.

WISE, R. A. Drug-activation of brain reward pathways. **Drug Alcohol Depend**, v. 51, n. 1-2, p. 13-22, 1998.

WISE, R. A.; BOZARTH, M. A. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychol Rev**, v. 94, n. 4, p. 469-92, 1987.

WISE, R. A.; BOZARTH, M. A.. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychological Review**, US, v. 94, n. 4, p. 469-492, 1987.

WOOD, R. I. Reinforcing aspects of androgens. **Physiology & Behavior**, v. 83, n. 2, p. 279-289, 2004.

WOOD, R. I.. Anabolic-androgenic steroid dependence? Insights from animals and humans. **Front Neuroendocrinol**, v. 29, n. 4, p. 490-506, 2008.

WU, F. C. W. **Endocrine aspects of anabolic steroids.:** **Clinical Chemistry**. v.43, p.1289-1292 1997.

YANG, P. B.; SWANN, A. C.; DAFNY, N. Chronic pretreatment with methylphenidate induces cross-sensitization with amphetamine. **Life Sci**, v. 73, n. 22, p. 2899-911, 2003.

YESALIS, C. E.; BAHRKE, M. S. Doping among adolescent athletes. **Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab**, v. 14, n. 1, p. 25-35, 2000.

YESALIS, C. E.; KENNEDY, N. J. ; KOPSTEIN, A. N. ; BAHRKE, M. S.; Anabolic-androgenic steroid use in the United States. **JAMA**, v. 270, n. 10, p. 1217-21, 1993.

11. DADOS FINAIS

Araraquara, 12 de janeiro de 2014.

De acordo,

Profª Drª Cleópatra da Silva Planeta

Cleidiane Quitéria da Conceição