

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA INTERAÇÃO ENTRE O
ESTRESSE DE PRIVAÇÃO SOCIAL E COCAÍNA EM RATOS**

JULIANA MALAGUTTI DARINI

Araraquara

2012

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DA INTERAÇÃO ENTRE O ESTRESSE DE PRIVAÇÃO SOCIAL E COCAÍNA EM RATOS

JULIANA MALAGUTTI DARINI

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à coordenação do 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: Professora Doutora Cleopatra da Silva Planeta

Co-orientador: Mestre Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira

Araraquara

2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família: base da minha dignidade, do meu caráter, do meu respeito, da minha educação, da minha sabedoria e de todas minhas qualidades, que me fazem ser o que sou hoje. E quanto aos defeitos, também agradeço, porque é minha família que consegue apontá-los quando eu não os enxergo, ajudando a construir, em conjunto, com a mais sábia e delicada sinceridade, a solução para tudo!

Obrigada, mãe, pelas broncas bem dadas, pelas verdades doídas, pelos choros, pelos risos, e enfim, pelo colo insubstituível! Obrigada por inserir em mim o lado emocional que todo ser deve ter, mas nem todos conseguem.

Obrigada, pai, pelas dicas, pelos papos bastante desenvolvidos, pela visão de futuro, pela busca por uma independência (em todos os sentidos), enfim, por me fazer aceitar o que julgava inaceitável, mudar o que julgava imutável e buscar o que julgava impossível! Obrigada por inserir em mim o lado racional que todo ser deve ter, mas nem todos conseguem.

Obrigada, irmão, por me fazer colocar em prática toda teoria que nossos pais nos ensinaram. Você foi o meu treino, em casa, para uma vida que eu teria fora do nosso lar. Ensinou-me a falar; calar; questionar; criticar; ensinar; mas, principalmente, ensinou-me a aprender. Obrigada por existir e por me dar a certeza que, longe ou perto de você, eu nunca estarei sozinha e sempre terei alguém me amando e alguém para amar. E este sentimento, sim, é algo que todo ser deve ter, mas nem todos conseguem.

Agradeço por me indicarem o caminho mais longe de casa, deixando a sensação de que ainda moramos juntos! Obrigada por me darem a vida e preenchê-la com o que todo ser deve ter, mas nem todos conseguem ou podem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me dar a oportunidade de crer, ter fé e buscar, unindo, sempre, Seu poder e minha responsabilidade. “Concedei-me, Senhor, a serenidade necessária para aceitar as coisas que não posso modificar, coragem para modificar aquelas que posso e sabedoria para distinguir umas das outras”.

Agradeço à minha orientadora Cleopatra da Silva Planeta pela oportunidade de estágio, que se amplia em: busca pelo conhecimento, humildade para procurar ajuda, responsabilidade para executar compromissos, força de vontade para atingir metas, paciência para superar desafios, e, acima de tudo, gratidão e respeito pelos companheiros de trabalho.

Agradeço ao meu co-orientador Paulão, grande homem, de caráter e responsabilidade/competência exemplares. Esteve ao meu lado do começo ao fim do estágio, ensinando muito, dando poucas broncas, muitas risadas, dicas, e, principalmente, sendo paciente e preocupado em momentos de grande necessidade.

Agradeço às farmacêuticas e técnicas do laboratório do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia, onde estagiei. Rô, obrigada por ensinar os primeiros passos, pela paciência, por ser meiga e delicada! Beth, obrigada também pelos ensinamentos, pelas conversas dentro e fora da faculdade e pela atenção despendida. Agradeço às duas por me ajudarem a manipular quando eu não conseguia, por cuidarem dos meus animais quando eu não pude e por me fazerem presenciar e sentir o respeito enorme que

vocês tem pelo trabalho, pelas pessoas e pelos animais. Agradeço a todas as pessoas de todos os laboratórios do Departamento.

Agradeço aos docentes do curso de Farmácia-Bioquímica, por serem o canal para aprimorar meu conhecimento e ampliar minha visão. Em especial, agradeço à Márcia da Silva, por ir além de disciplinas e provar que docentes podem ser amigos confiáveis. Também agradeço ao João Aristeu da Rosa, que, com a distância física de meu pai, representou um grande homem, de excelente maturidade e simplicidade, sempre crente da capacidade dos alunos, tutor, confiável, honesto, digno, justo e, acima de tudo, companheiro. Obrigada, Professor, por ter entrado em minha vida dessa maneira meiga e tão intensa.

Agradeço à Turma 79 de Farmácia-Bioquímica da UNESP/Araraquara por todos os momentos vivenciados durante estes cinco anos e por todo o crescimento pessoal proporcionado pelo convívio diário.

Agradeço às três entidades das quais participei durante a graduação. Obrigada, AFEP (Atenção Farmacêutica Estudantil Permanente) por permitir que eu pudesse presenciar, por um ano (em meio a tanta discussão científica de uma Instituição), um trabalho tão lindo, solidário, respeitoso e honesto que é feito com e para as pessoas. Obrigada, PAFE (Projeto de Assistência Farmacêutica Estudantil), por exigir tanto esforço no decorrer de um ano, e que é compensado com trabalho junto à população em apenas uma semana – são seis dias que me possibilitaram ser mais humilde, mostrando que, mais importante que ensinar à comunidade, é aprender com ela. E por fim, obrigada PET (Programa de Educação Tutorial), por me apresentar a todos

que conheci e suas idéias; por me fazer degustar a particularidade do heterogêneo; por aprimorar as lições básicas da vida; e por me fazer evoluir como pessoa. Obrigada aos petianos por representarem minha família dentro da faculdade (todos, sem exceção!). Finalizo e provo minha gratidão constatando que “uma vez petiano, sempre petiano!”.

Agradeço às pessoas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu, e da Farmácia Bandeirantes de Araraquara, que estiveram ao meu lado, direta ou indiretamente, sempre contribuindo para meu aprendizado durante os estágios. Pude aprender primeiro para meu crescimento pessoal, e em segundo plano, ter na prática o que o curso geralmente ensinava apenas em teoria. Vocês foram essenciais para eu me profissionalizar!

Agradeço aos meus grandes amigos que surgiram com a graduação e permanecerão muito além do que se possa imaginar. Mayara (Ser), obrigada por fazer por mim o que uma mãe faz para seu filho; minha maior gratidão é sua amizade. Thales (Nales), obrigada por ser minha razão quando eu não a tinha; rir, chorar e desabafar com você sempre foi muito essencial. Bárbara (Bá), obrigada por provar que uma amizade verdadeira resiste a qualquer obstáculo. Camila (Piru), obrigada por ter viajado e me fazer ter certeza o que antes eu apenas achava: você faz falta; e eu sinto saudades mesmo estando perto. Camila (Cami), obrigada pelas discussões; nossas falhas nos uniram absurda e verdadeiramente! Com vocês, aprendi que não necessariamente uma amizade é aquela que é boa desde o início. A boa, a real, é aquela amizade que começa meio estranha, fortalece, bambeia, mas que quando volta, volta para valer. Para sempre!

Agradeço aos meus amigos Rejane (Rezinha), Meire, Naiara e Miguel, que por aparecerem em minha vida em fase de desenvolvimento, pude crescer em meio às idéias deles. Por consequência, parte do que sou hoje, devo, também, aos quatro.

Agradecimento, em especial, à minha amiga Cassiana (Birí), que por ser tanto na minha vida, me deixa tão pouco para escrever. E eu resumo minha gratidão por esta amizade da seguinte maneira: meus pais não me deram uma irmã, mas me deram a vida. E a vida me deu uma irmã!. Essa pessoa, de absurdamente importante que é, não se deixou aparecer sozinha: trouxe consigo sua família para ser a minha segunda. Olair e Cida, obrigada pelo lar, pelas festas e comidas; Tassiana, obrigada pelos conselhos, pelos incentivos e por apostar sempre em minha capacidade; e Graciana, obrigada por mostrar que é possível ser adulta e meiga. Enfim, vocês são meu refúgio.

Agradeço ao Leandro: amigo, paixão e amor. Obrigada por ser quem é e por me fazer ser quem sou.

SUMÁRIO

RESUMO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Dependência	13
1.2. Cocaína.....	16
1.3. Adolescentes.....	21
1.4. Estresse	22
2. JUSTIFICATIVA.....	24
3. OBJETIVOS.....	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1. Parecer ético	25
4.2. Animais	25
4.3. Fármaco	26
4.4. Estresse	26
4.5. Avaliação da atividade locomotora.....	26
4.6. Análise Estatística	27
5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	27
6. RESULTADOS	29

7. DISCUSSÃO.....	30
8. CONCLUSÃO	34
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

RESUMO

No mundo, é alto e crescente o número de pessoas que fazem uso de substâncias psicoativas de abuso. Estudos clínicos demonstram que a exposição ao estresse pode aumentar o risco ao abuso de drogas, a vulnerabilidade para o desenvolvimento de dependência e a probabilidade de recaídas. O uso repetido de substâncias de abuso pode promover sensibilização comportamental. A sensibilização comportamental reflete em neuroadaptações que estão envolvidas no desenvolvimento da farmacodependência. Logo, tanto a administração repetida da substância de abuso quanto a exposição repetida a situações de estresse podem promover sensibilização comportamental, culminando em administração subsequente de substâncias de abuso. Esse fenômeno é chamado de sensibilização cruzada entre estresse e drogas. Em modelos animais, a sensibilização comportamental pode ser demonstrada pelo aumento progressivo da resposta locomotora a uma dose fixa da substância psicoativa após a exposição repetida a drogas ou ao estresse. Altos índices de uso de substância psicoativa de abuso tem sido observados entre adolescentes, no Brasil e no mundo. Adultos e adolescentes apresentam diferenças em relação à resposta às drogas e ao estresse. Embora seja de grande relevância, poucos são os estudos realizados para avaliar o efeito do estresse em modelos animais de adolescência. Desta forma, o objetivo desse projeto foi estudar se a exposição ao estresse crônico de isolamento social durante a adolescência promove sensibilização comportamental cruzada com a cocaína em ratos adultos e adolescentes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Caixa de determinação da atividade locomotora.

Figura 2: As barras representam as médias das atividades locomotoras $\pm$ EPM dos animais adolescentes induzidas pela administração de cocaína ou salina após exposição ao estresse crônico de isolamento social durante a adolescência. # $p < 0,05$ quando comparados com os respectivos grupos salina.

Figura 3: As barras representam as médias das atividades locomotoras $\pm$ EPM dos animais adultos induzidas pela administração de cocaína ou salina após exposição ao estresse crônico de isolamento social durante a adolescência. * $p < 0,05$ comparado com os grupos CON-SAL, EST-SAL e CON-COC.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Dependência

Publicado pela Associação Psiquiátrica Americana (American Psychiatric Association), o Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais (DSM-IV, 1994), define dependência como um conjunto de sinais e sintomas cognitivos, comportamentais e fisiológicos que indicam que o indivíduo continua fazendo uso da substância apesar da presença de efeitos adversos. Existe um padrão de auto-administração repetida, que geralmente resulta em tolerância, abstinência e comportamento compulsivo de consumo da droga. A tolerância é caracterizada pela diminuição do efeito que a substância psicoativa causa no organismo, a cada mesma dose utilizada. Assim para obter o mesmo efeito do início do consumo, o indivíduo teria de aumentar a dose consumida.

Inicialmente, as teorias limitavam-se a explicar a dependência unicamente pela presença da síndrome de abstinência. A síndrome de abstinência caracteriza-se por um intenso desconforto após a interrupção do uso, quando aparecem sinais e sintomas normalmente opostos ao que a substância psicoativa utilizada promove (ROBINSON & BERRIDGE, 1993). Dessa maneira, foi proposto que indivíduos desenvolveriam a dependência ao manter o uso da substância para cessar os efeitos causados pela retirada (O'BRIEN, 2005).

No entanto, essas teorias não explicavam o início do uso das substâncias de abuso. Por esse questionamento, e pelo fato dos sinais e sintomas causados pela síndrome de abstinência serem específicos para

cada substância, as pesquisas começaram a investigar os efeitos comuns entre as substâncias (ROBINSON; BERRIDGE, 1993). Nesse sentido, pesquisadores observaram que todas as substâncias que causam dependência promovem efeitos euforizantes e prazerosos (WISE; BOZARTH, 1987).

Segundo Wise; Bozarth (1987), a sensação de prazer induzida pelo uso de drogas seria consequência da ativação de um sistema neurobiológico chamado de sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Acerca dessa hipótese, pesquisadores direcionaram seus experimentos e demonstraram que a administração de nicotina (IMPERATO; MULAS; DI CHIARA, 1986; SCHILSTROM et al., 1998; CADONI; DI CHIARA, 2000), cocaína, anfetamina, morfina (DI CHIARA; IMPERATO, 1988; PONTIERI et al., 1996), etanol (KILIANMAA et al., 1995) e Δ^9 -THC (TANDA; PONTIERI; DI CHIARA, 1997) ativam esse substrato promovendo a liberação de dopamina no núcleo acumbens.

O sistema dopaminérgico mesocorticolímbico é constituído por uma região denominada área tegmental ventral (ATV), na qual localizam-se os corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos, e projeções axonais para o núcleo acumbens (NAc) e córtex pré-frontal (CPF). Nesse sentido, o bem-estar gerado pelo uso das substâncias psicoativas ocorreria em decorrência da ativação desse circuito (KOOB, 1992; KOOB; LE MOAL, 2001).

Os pesquisadores, então, conseguiram entender que o prazer é responsável pelo início do uso de substâncias, visto que o indivíduo busca a

sensação euforizante. No entanto, a teoria não responde a questão que envolve a perda de controle da utilização da substância.

Baseados em dados da literatura Robinson; Berridge (1993) propuseram que o uso descontrolado dessas substâncias ocorreria devido a neuroadaptações no sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Estudos demonstravam que além de causar prazer, as drogas, quando administradas repetidamente, promoviam o aumento progressivo da atividade locomotora. Esse comportamento foi chamado de sensibilização locomotora e reflete as neuroadaptações que ocorrem no sistema mesocorticolímbico (POST; CONTEL, 1983; ROBINSON; BECKER, 1986; NESTLER, 2001). A sensibilização locomotora foi descrita para a cocaína (MISERENDINO; NESTLER, 1995; PLANETA; MARIN, 2002), fencanfamina (PLANETA; DELUCIA; AIZENSTEIN, 1995), anfetamina (ROBINSON; BECKER, 1986; AIZENSTEIN; SEGAL; KUCZENSKY, 1990; VEZINA; QUEEN, 2000), morfina (KALIVAS; DUFFY, 1987; POWEL; HOLTZMAN, 2001), etanol (PHILLIPS; ROBERBS; LESSOV, 1997), nicotina (DOMINO, 2001; SHIM et al., 2001; CRUZ; DELUCIA; PLANETA; 2005) e Δ^9 -THC (CADONI et al., 2001).

Segundo Robinson; Berridge (1993) a sensibilização não resultaria no aumento do efeito reforçador das substâncias, mas sim da relevância motivacional do estímulo. Desse modo, ao invés de mediar apenas a sensação de prazer, a dopamina regularia o impulso motivacional e a atenção a estímulos salientes relacionados ao uso da substância (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

Sendo assim, o uso ocasional de uma substância psicoativa de abuso inicia-se pelo prazer gerado por esse comportamento (“gostar”). Contudo, o uso prolongado promove alterações no sistema dopaminérgico mesocorticolímbico nas quais o indivíduo passa ter um desejo compulsivo de utilizar a droga (“querer”) (BERRIDGE; ROBINSON, 1998, 2003; BERRIDGE; ROBINSON; ALDRIDGE, 2009).

1.2. Cocaína

Encontrada em elevadas concentrações nas folhas do arbusto *Erythroxylon coca* (presente na América do Sul), a cocaína (benzoilmetilecgonina ou éster do ácido benzóico) é um alcalóide cujo histórico apresenta uma variável quanto à época, local, finalidade e método de uso.

A utilização mais antiga da qual se tem conhecimento data de há 4500 anos e tinha função religiosa, como demonstram achados arqueológicos de civilizações andinas. Também, múmias peruanas passaram por análise e foram detectados resquícios de cocaína no aparelho bucal. Até hoje povos da região dos Andes permanecem com o hábito de mascar as folhas (FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009). O terreno local, por ser relevo montanhoso, é uma explicação para essa utilização, visto que o efeito auxilia no combate à fome, sede e fadiga que a população acaba por sentir durante as caminhadas. Este hábito, segundo relatos escritos, já existia em 1507, quando o navegador italiano Américo Vespúcio, naturalizado espanhol, publicou as primeiras descrições sobre essa forma de uso da droga: mascar as folhas com cinzas. A explicação desse

método baseia-se no fato de que a folha alcaliniza a mucosa bucal que passa a absorver a substância mais facilmente, o que culmina no aumento do efeito da cocaína (FERREIRA; MARTINI, 2001).

Por volta de 1551, o consumo da coca foi proibido por membros da Igreja Católica enviados para a América do Sul. O argumento de que a planta estaria dificultando a catequização dos nativos foi desmistificada, já que na verdade os efeitos agudos melhoravam o rendimento dos índios na exploração de minérios (FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009).

Em 1859 a cocaína foi isolada pelo químico alemão Albert Niemann; em 1898 sua fórmula pôde ser descrita; e o prêmio Nobel, em 1902, foi dado a Willstatt, pela síntese do cloridrato de cocaína (FERREIRA; MARTINI, 2001).

No século XIX, a cocaína teve uma aplicação que gerou um produto de grande repercussão: o Vin Mariani. O composto criado pelo químico Angelo Mariani surgiu da mistura da coca com vinho, gerando uma bebida que, bastante apreciada por personalidades, fez com que Mariani recebesse uma medalha de ouro do Vaticano, doada pelo Papa Leão XIII. Essa mistura (de etanol com cocaína) forma um composto mais potente que a cocaína isoladamente e é denominado cocaetileno (KARCH, 1999; FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009).

Outra bebida, também à base de coca, foi desenvolvida em 1886, por John Styth Pemperton. Porém a mistura, ao invés de álcool, utilizava noz de cola. Surgia, então, a Coca-Cola®. No entanto, em 1906, a cocaína teve de

ser substituída por cafeína (FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009).

No período de transição do século XIX para o século XX a cocaína era considerada uma droga milagrosa, sendo indicada para o tratamento das mais diversas enfermidades. O médico austríaco Sigmund Freud, que foi um dos disseminadores dessa terapêutica, publicou, em 1884, o livro *Über Coca* (“sobre a cocaína”), indicando o uso da substância como “estimulante, afrodisíaco, anestésico local, bem como para o tratamento da asma, doenças consuptivas, desordens digestivas, exaustão nervosa, histeria, sífilis e mal-estar relacionado a altitudes”. O paciente de Freud, Karl Koller, que também era médico, descreveu os primeiros estudos do uso da substância como anestésico local. Pesquisas de ambos os médicos chamaram atenção de indústrias farmacêuticas, a citar, Merck e Parke-Davis, que, por não terem o arbusto em seus países, buscavam as folhas na América do Sul. No entanto, esse transporte acarretava em perda considerável da concentração da coca, e, por conseqüência, o custo da produção aumentava. Para tentar minimizar o problema, a Parke-Davis, em 1885, desenvolveu um método e passou a produzir cocaína semi-refinada nos países de origem. A técnica auxiliou no fato de que os preços caíram e o comércio de cocaína cresceu substancialmente (KARCH, 1999; FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009); de modo a se tornar descontrolado. Foram enumeradas aproximadamente 15 formas de administração da substância, e a conseqüência bastante problemática passou a envolver toxicidade, tolerância, e dependência. Por tal motivo, Freud, em 1892, analisou novamente os conceitos do primeiro livro e publicou uma continuação de sua

literatura, mas desmistificando os “poderes” da cocaína (FERREIRA; MARTINI, 2001).

A viabilização de leis restritivas, como o *The Harrison Narcotics Tax Act* (dos Estados Unidos) de 1914 e o Decreto-lei Federal nº 4.292 (do Brasil) de 1921, juntamente com o surgimento de psicoestimulantes sintéticos, proibiu o comércio de cocaína (FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009).

Após cinquenta anos de ostracismo, o abuso de cocaína voltou a ser problema de saúde pública. O crack surge em meados da década de 80, e, desde então, tanto o consumo quanto o tráfico mundial vem aumentando consideravelmente. Como prova, na América do Sul, os cartéis tornaram-se altamente organizados, o que intensificou a produção e a distribuição da droga pelo mundo.

A cocaína normalmente é utilizada nas formas de pó (cloridrato de cocaína), administrado pela via nasal; solúvel, pela via endovenosa ou crack (cocaína na forma de base livre), pela via pulmonar (GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009; NATIONAL INSTITUTE OF DRUG ABUSE, 2012). Em estudo realizado em 2009 e publicado pela Organização Mundial da Saúde revela que 0,5% da população mundial (aproximadamente 21 milhões de pessoas), entre 15 e 64 anos, usaram cocaína no ano de 2007. O maior consumo é da América do Norte; seguida de países do leste europeu, Europa Central e América do Sul (UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME, 2009). Nota-se, segundo essa sequência, a descentralização do

consumo, comparativamente ao início da história do uso (que se restringia aos países da América do Sul).

Observando dados brasileiros, uma pesquisa realizada em 2005, com pessoas de 108 cidades com mais de 200 mil habitantes, constatou-se que 3,6% dos entrevistados já usaram cocaína ou crack pelo menos uma vez na vida (CARLINI et al, 2006). Em relação aos estudantes do ensino fundamental e médio (faixa etária entre 10 e 18 anos), a porcentagem desse mesmo uso é de 2,7% (GALDURÓZ et al, 2004). Em 1999, nos Estados Unidos, de todas as ocorrências com intoxicação por drogas, 30% eram devido ao uso dessa substância. Os agravos relatados mostram casos de infartos do miocárdio, disritmias, trombozes, endocardites e infartos renais causados pela administração de cocaína (LANGE; HILLIS, 2001; BEMANIAN; MOTALLEBI; NOSRATI, 2005).

Além de ser um problema de saúde pública o abuso de cocaína desencadeia problemas de âmbito social. O comércio, por ser ilegal, aumenta o número de crimes relacionados tanto com a produção quanto com a distribuição dessa droga. Estima-se que o mercado mundial de cocaína movimente aproximadamente U\$ 50 bilhões anualmente e empregue milhares de pessoas, inclusive crianças e adolescentes. No Brasil, acredita-se que cerca de 20 mil jovens (na faixa etária entre 10 e 16 anos) trabalhem no tráfico de drogas (UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME, 2005, 2009).

O mecanismo de ação da cocaína consiste em: o neurônio pré sináptico apresenta vesículas com moléculas de dopamina que se

exteriorizam até a liberação dessas moléculas na fenda sináptica, onde, para que não permaneçam nem em alta concentração, nem por muito tempo, são degradadas por enzimas, e são recaptadas pelos transportadores dopaminérgicos (esse representa o principal mecanismo de retirada das moléculas de dopamina). O indivíduo que consumiu a cocaína, tem a molécula no organismo, e essa age bloqueando os transportadores dopaminérgicos. Essa ação impede a recaptção da dopamina, permitindo que ela esteja agindo na fenda (e causando efeitos) em maiores concentrações e por mais tempo.

1.3. Adolescência

A adolescência é um período crítico da ontogenia (estudo da origem e do desenvolvimento de um organismo, desde o ovo fertilizado até sua forma adulta). Comportamentos como, busca por novidades, avaliação de risco e interação com pares, são comuns em adolescentes de várias espécies. Esses comportamentos são importantes para preparar os indivíduos para sobreviver sem o cuidado parental (SPEAR, 2000). Entretanto, o comportamento de risco pode facilitar a busca de drogas e por consequência o desenvolvimento da dependência na adolescência ou em estágios mais tardios da vida (CHEN; KANDEL, 1995; SPEAR, 2000). Vários trabalhos mostraram uma alta correlação entre o início precoce do uso de álcool e a ocorrência de problemas ligados ao consumo abusivo de etanol e dependência (GRANT; STINSON; HARFORD, 2001; GUTTMANNOVA et al, 2011; 2012; HINGSON; HEEREN; WINTER, 2006). Segundo levantamento do Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), realizado nas 27 capitais brasileiras, com uma amostra de 48.155 estudantes do ensino fundamental e

médio (entre 10 e 18 anos), foi confirmado o uso de psicostimulantes (como cocaína, crack e anfetamina) por 6,4 % dos entrevistados. Dentre esses, 12,5 % relataram que faziam uso frequente dessas substâncias (GALDURÓZ et al, 2004).

Em animais, assim como nos humanos, o período que compreende a infância e adolescência mostra-se essencial para a formação do que será o sistema nervoso central do adulto (SPEAR, 2000). Em ratos, o período da adolescência ocorre entre os dias pós-natal (DPN) 28 e 42. Durante essa fase o sistema nervoso central sofre uma série de alterações tidas como críticas para o seu desenvolvimento, pois serão importantes nas respostas comportamentais dos animais adultos (SPEAR, 2000). Os efeitos psicoestimulantes promovidos pela cocaína ocorrem devido a sua ação indireta sobre a neurotransmissão dopaminérgica: a cocaína inibe os transportadores de dopamina, aumentando o tempo de permanência desse neurotransmissor na fenda sináptica. Sua ação no NAc é a principal responsável pelas sensações de prazer e euforia (NESTLER, 2005). Sendo assim, podemos supor que o contato precoce com substâncias psicoativas poderia promover neuroadaptações no sistema dopaminérgico mesocorticolímbico que facilitariam a dependência na vida adulta.

1.4. Estresse

Além da ontogenia, fatores ambientais também podem aumentar o risco de dependência. Nesse sentido, muitos trabalhos demonstraram os efeitos do estresse no desenvolvimento do abuso de drogas (KOOB; KREEK; 2007; SINHA, 2001; 2008). Estudos epidemiológicos mostraram a relação

entre a exposição a estresse em fases precoces da vida e futuros problemas com álcool. Esses trabalhos reportaram que eventos estressantes durante a infância e adolescência como, por exemplo, abuso sexual, violência, baixa renda, criminalidade e perda ou ausência dos pais, estão associados com o início precoce do consumo e desenvolvimento do abuso de substâncias psicoativas de abuso (BROOK et al, 2011; ENOCH; 2011; ISOHANNI et al, 1994; KALICHMAN et al, 2006; KEYES; HATZENBUEHLER; HASIN, 2011; WALSH et al, 2012; ZAHRADNIK et al, 2011). É importante salientar que os adolescentes são mais vulneráveis aos efeitos negativos do estresse. Nesse sentido, foi demonstrado que roedores adolescentes são mais sensíveis à perda de peso, redução do consumo de comida e a comportamentos relacionados à ansiedade induzidos pelo estresse (DOREMUS-FITZWATER; VARLINSKAYA; SPEAR, 2009; STONE; QUARTERMAIN, 1997).

Diferentes tipos de estresse são capazes de ativar o HPA. A ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) resulta em aumento da síntese do fator liberador de corticotrofina (CRF) no núcleo paraventricular do hipotálamo. O CRF é então liberado na eminência média e liga-se aos seus receptores nos corticotrofos da pituitária anterior. Como resultado, ocorre aumento na liberação do hormônio adrenocorticotrofina (ACTH). O ACTH liberado atua sobre seus receptores no córtex da glândula adrenal, resultando na síntese e secreção de glicorticóides, corticosterona em roedores e cortisol em primatas e no homem (AKIL; MORANO, 1995, LEVINE, 2005).

Mudanças nas respostas fisiológicas e comportamentais causadas pela exposição a estresse crônico estão relacionadas com as adaptações do eixo HPA. Respostas mal adaptadas ao estresse têm sido associadas ao

desenvolvimento de doenças psiquiátricas e dependência de substância psicoativas de abuso (PIAZZA; LE MOAL, 1998; SINHA, 2001; 2008).

Estudos pré-clínicos corroboram essas evidências demonstrando que o estresse durante a adolescência aumenta alguns efeitos comportamentais das substâncias de abuso. O estresse repetido também pode induzir sensibilização cruzada com substâncias psicoativas de abuso. Nosso laboratório vem estudando os efeitos do estresse crônico sobre respostas comportamentais há muitos anos. Os resultados obtidos durante esse tempo mostram que a exposição repetida ao estresse aumenta a atividade locomotora induzida por cocaína (ARAÚJO et al., 2003; LEPSCH et al., 2005; MARIN; PLANETA, 2004; PLANETA; MARIN, 2002), anfetamina (CRUZ et al, 2012) e nicotina (CRUZ; DELUCIA; PLANETA, 2007; LEÃO et al., 2012) .

2. JUSTIFICATIVA

De acordo com estudos realizados em humanos e animais o consumo precoce de substâncias psicoativas de abuso pode facilitar o desenvolvimento da dependência dessa substância em períodos posteriores da vida. Acerca disso, se por si só a fase da adolescência já é crítica no que diz respeito ao desenvolvimento da dependência, o fator estresse atua aumentando o risco. Embora vários modelos animais de estudo da dependência tenham proposto que o estresse modifica os efeitos da drogas nenhum deles avaliou o efeito da privação social sobre a atividade locomotora induzida por cocaína e se esse efeito dura até a vida adulta.

3. OBJETIVOS

Investigar se a exposição ao estresse crônico de isolamento social durante a adolescência promove sensibilização comportamental cruzada com a cocaína em ratos adolescentes e se esse efeito é duradouro.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Parecer ético

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética para uso de animais Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP (CEUA-18/2011) e os experimentos foram conduzidos seguindo os princípios do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – (COBEA).

4.2. Animais

Foram utilizados ratos machos Wistar adolescentes provenientes do biotério central da Universidade Estadual Paulista/UNESP, do campus localizado em Botucatu. Os animais foram transferidos para o biotério do laboratório de Farmacologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ UNESP, do campus de Araraquara, no mínimo sete dias antes dos experimentos. O período da adolescência foi definido entre os dias pós-natal DPN 28 e DPN 42. Os animais foram considerados adultos após DPN 60, como previamente descrito por Spear (2000). Eles foram mantidos em condições controladas de temperatura ($23 \pm 1^\circ\text{C}$) com auxílio de ar condicionado; luz (ciclo 12/12 horas, luz acesa às 07:00h); umidade em $55 \pm 5\%$ e em momento algum foram

privados de alimentação e água. Os experimentos foram realizados na fase clara do ciclo de luz. A amostra foi de 36 animais.

4.3. Fármaco

Cloridrato de cocaína (Merck®)

4.4. Estresse

O tipo de estresse utilizado no experimento foi o isolamento social. O procedimento envolve privar os animais de qualquer contato social durante a adolescência. Os animais do grupo estresse foram alojados individualmente nas gaiolas-moradia por 15 dias consecutivos. Os animais-controle permaneceram em grupo durante todo esse período. A limpeza das gaiolas-moradia foi feita duas vezes por semana para evitar efeito da manipulação dos animais.

4.5. Avaliação da atividade locomotora

Foi utilizada a caixa Columbus Instruments-CA (EUA), construída em acrílico transparente e medindo 51,1 x 9,5 x 69,2cm (largura x altura x comprimento). Nas paredes dessa caixa existem fotocélulas que emitem luz infravermelha, estão distantes 2,5cm entre si e a 3,0cm do assoalho da caixa, e são responsáveis pelo registro automático da locomoção. Cada unidade de locomoção correspondeu à interrupção de dois feixes de luz.



Figura 1: Caixa de determinação da atividade locomotora.

4.6. Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando ANOVA bifatorial (estresse x droga). Nos casos nos quais ANOVA mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$) a comparação foi seguida pelo teste de Newman-Keuls.

5. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos iniciaram no DPN 28. Os animais de grupo controle (amostra de 18 animais) permaneceram de três em três em gaiolas de dimensões maiores. Os outros 18 animais foram submetidos ao protocolo de estresse de privação social por 15 dias (DPN 28 ao DPN 42), sendo que cada animal manteve-se, isoladamente em uma gaiola de menores dimensões. No DPN 43, os animais do grupo estresse (que passaram pelo isolamento social), foram unidos em uma gaiola; e o grupo controle permaneceu em grupo, como

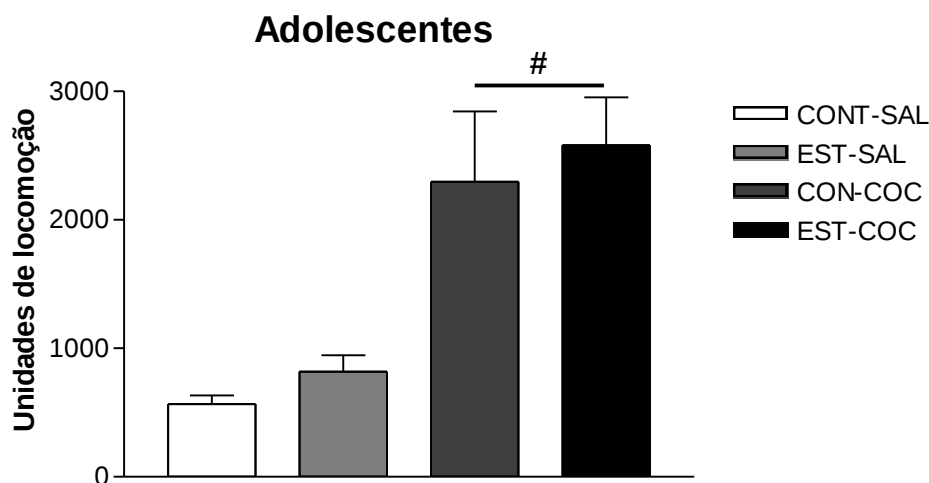
nas condições anteriores. Três dias após o fim do estresse crônico (DPN 46) os animais foram colocados individualmente na caixa de atividade para habituação por 20 minutos. Esse tempo de reconhecimento é importante para que o animal se acomode e os valores pretendidos não sejam confundidos com os valores altos resultantes desse instinto de exploração inicial. Os valores da atividade locomotora eram anotados a cada cinco minutos. Imediatamente após o término da habituação, os animais receberam injeção intraperitoneal de salina (0,9%) ou cloridrato de cocaína (10mg/Kg de peso do animal), e a atividade locomotora foi registrada por 30 minutos, também tendo anotados os valores a cada cinco minutos. Após esse experimento no DPN 46, os animais voltaram para a gaiola. Como o protocolo avalia o estresse apenas no período da adolescência, essa próxima etapa (do DPN 47 a DPN 73) determina que tanto o grupo controle quanto o grupo estresse tenham seus animais, de três em três, alojados em gaiolas maiores.

A avaliação da atividade locomotora em animais adultos foi feita 30 dias após o estresse de privação social (DPN 73). O procedimento de avaliação locomotora foi idêntico ao descrito para os animais adolescentes. Os mesmos animais utilizados na adolescência foram usados na vida adulta. Dessa forma, tivemos quatro grupos de animais adolescentes e quatro grupos de animais adultos, cada um com nove animais: controle-salina (CON-SAL), controle-cocaína (CON-COC), estresse-salina (EST-SAL) e estresse-cocaína (EST-COC).

6. RESULTADOS

A figura 2 mostra as médias EPM da atividade locomotora induzida por cocaína de ratos adolescentes submetidos à privação social crônica durante a adolescência. A análise estatística dos dados obtidos no experimento indicou que o estresse não alterou a atividade locomotora dos animais adolescentes [$F(1,32)=0,63$; $p=0,44$]. Por outro lado, a administração de cocaína induziu aumento da locomoção [$F(1,32)=26,60$; $p<0,05$], mas não foi detectada interação entre os fatores estresse e droga [$F(1,32)=0,002$; $p=0,96$].

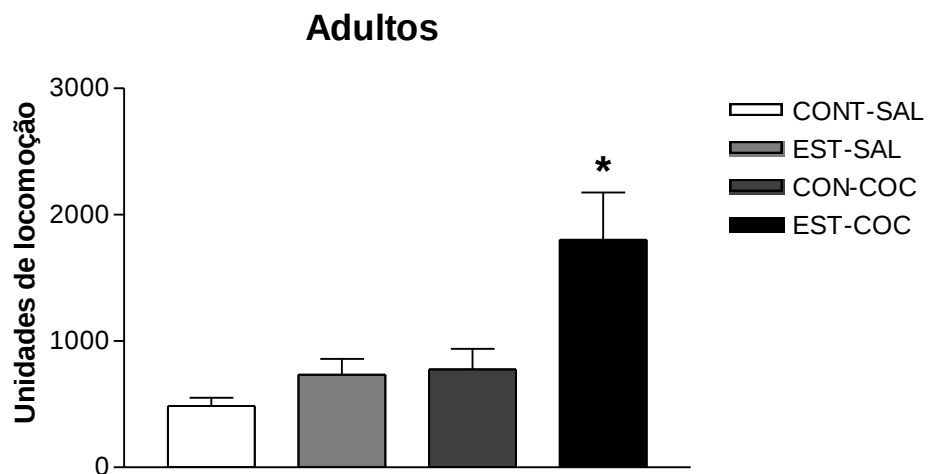
Figura 2: Atividade locomotora dos animais adolescentes induzidas pela administração de cocaína ou salina após exposição ao estresse crônico de isolamento social durante a adolescência; determinada em um período de 30 minutos. As barras representam as médias das atividades locomotoras $\pm$ EPM. # $p<0,05$ comparado aos respectivos grupos salina.



Nos animais adultos, a análise estatística de comparações múltiplas mostrou efeito significativo do estresse [$F(1,32)=8,66$; $p<0,05$] e da droga [$F(1,32)=9,82$; $p<0,05$] sobre a locomoção dos animais. Entretanto, a ANOVA revelou que não há interação entre os fatores estresse e droga [$F(1,32)=3,22$; $p=0,08$]. O teste de Newman-Keuls indicou que os animais do grupo EST-

COC apresentaram aumento significativo da atividade locomotora quando comparado com todos os outros grupos (Figura 3).

Figura 3: Atividade locomotora dos animais adultos induzidas pela administração de cocaína ou salina após exposição ao estresse crônico de isolamento social durante a adolescência; determinada em um período de 30 minutos. As barras representam as médias $\pm$ EPM. * $p < 0,05$ comparado com os grupos CON-SAL, EST-SAL, CON-COC.



7. DISCUSSÃO

O presente trabalho investigou se a exposição crônica ao estresse de privação social durante a adolescência modifica os efeitos agudos da cocaína sobre a atividade locomotora de animais adolescentes e adultos.

Os resultados mostraram que o estresse crônico não foi capaz de alterar os efeitos locomotores dos animais adolescentes após a administração aguda de cocaína. Nossos resultados corroboram os dados encontrados por Weiss e colaboradores (2001), que não observaram influência na atividade locomotora, induzida pela administração de anfetamina, em animais submetidos à privação social crônica, quando comparados com os animais do grupo controle. Por outro lado, Smith; Neill; Costall (1997) demonstraram que animais privados de contato social tiveram aumento da atividade locomotora induzida por cocaína quando comparados aos animais criados em grupo. Entretanto, é importante notar que esse estudo possui algumas diferenças metodológicas importantes. Nosso estudo utilizou ratos Wistar machos, enquanto eles utilizaram ratos fêmeas da linhagem Hooded Lister. Alguns trabalhos comparando a resposta de ratos adolescentes machos e fêmeas submetidos à instabilidade social observaram que apenas as fêmeas têm aumento da locomoção após a administração de nicotina e anfetamina (McCormick et al., 2004; 2005). Foram demonstradas também diferenças na atividade do eixo HPA comparando animais machos e fêmeas. McCormick e colaboradores (2002a) mostraram que fêmeas tem maiores níveis basais de corticosterona circulante. Outros trabalhos mostraram que a secreção de corticosterona em resposta ao estresse é maior em fêmeas (McCormick et al., 2001; 2002b).

Podemos destacar ainda que a diferença do período de privação foi bastante notória, visto que os animais da linhagem Hooded Lister sofreram o estresse da privação social por 90 dias, enquanto no nosso protocolo os animais ficaram isolados por apenas 15 dias. No experimento de Smith; Neill;

Costall (1997), o teste de locomoção induzido por cocaína foi realizado na fase adulta dos animais, enquanto que nossa avaliação comportamental foi realizada tanto na adolescência quanto na fase adulta.

Outra diferença importante é que no trabalho de Smith; Neill; Costall (1997), os ratos do grupo controle foram criados em ambiente enriquecido com objetos e brinquedos. Esses pesquisadores também mostraram maior locomoção dos animais privados durante o período de habituação ao campo aberto. Desse modo, não podemos ter certeza se o aumento da atividade locomotora ocorreu devido à sensibilização cruzada com a cocaína ou se foi um efeito apenas do estresse.

Revisando a literatura, vemos que as pesquisas que avaliaram a influência do estresse durante a adolescência sobre os efeitos locomotores das substâncias de abuso ainda é contraditória. Lepsch e colaboradores (2005), por exemplo, observaram que estresse imprevisível aumenta o efeito locomotor da cocaína, já Kabbaj e colaboradores (2002) não demonstraram esse aumento após a administração de anfetamina. Cruz e colaboradores (2012) mostraram que o estresse de contenção é capaz de aumentar a atividade locomotora de animais induzida por anfetamina, mas esse efeito não foi observado para a nicotina (CRUZ; DELUCIA; PLANETA, 2007). Além disso, encontramos um mesmo grupo de pesquisadores publicando resultados conflitantes utilizando o modelo de instabilidade social. Mathews; Mills; McCormick (2008) observaram que ratos submetidos ao estresse crônico tiveram aumento da locomoção após a administração de anfetamina. Em outra situação eles demonstraram que não houve influência da

instabilidade social sobre os efeitos locomotores da nicotina (MCCORMICK et al., 2004) e até mesmo da própria anfetamina (MCCORMICK et al., 2005).

Essas evidências indicam que a interação entre o estresse crônico e os efeitos promovidos pela administração de substâncias de abuso dependem de fatores como idade dos animais, tipo e duração do estresse, gênero, droga utilizada, linhagem dos animais e tempo de latência entre o último dia de exposição ao estresse e o dia do teste.

Após a privação social crônica e a avaliação da atividade locomotora durante a adolescência, os mesmos animais foram submetidos ao teste de locomoção na fase adulta (DPN 72). Nossos resultados mostraram que apenas os animais privados de contato social tiveram aumento da atividade locomotora induzido pela administração de cocaína. Apesar dos dados corroborarem achados que observaram influência duradoura do estresse durante a adolescência sobre os efeitos locomotores das substâncias de abuso (KABBAJ et al., 2002; MATHEWS; MILLS; MCCORMICK, 2008; MCCORMICK et al., 2004, 2005), não podemos afirmar que houve sensibilização locomotora cruzada entre o estresse e a cocaína. Isso porque, ao contrário do esperado, a cocaína não produziu aumento da locomoção por si só. Por ser uma substância estimulante, a cocaína deveria aumentar a distância percorrida pelos animais no modelo de campo aberto, independente da exposição prévia ao estresse. Quando observamos a figura 3 não há indício de aumento da atividade locomotora no grupo CON-COC. Dessa maneira, podemos deduzir que houve algum tipo de problema no decorrer do experimento que impediu a observação correta do comportamento dos animais desse grupo.

8. CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados no presente trabalho, podemos concluir que ratos adolescentes submetidos à privação social por 15 dias não foi capaz de alterar os efeitos locomotores induzidos pela administração aguda de cocaína. Apesar da avaliação do comportamento locomotor em adultos ter indicado sensibilização cruzada entre estresse e cocaína, preferimos não atestar que de fato houve interação entre esses fatores.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIZENSTEIN, M.L.; SEGAL, D.S.; KUCZENSKY, R. Repeated amphetamine and fencamfamine: sensitization and reciprocal cross-sensitization. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v.7, p.187-194, 1990.

AKIL, H.A.; MORANO, M.I. Stress. In: BLOOM, F.E.; KUPFER, D.J. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press, 1995, p. 773-785.

ARAÚJO et al. Repeated predictable or unpredictable stress: effects on cocaine-induced locomotion and cyclic AMP-dependent protein kinase activity. *Behav Brain Res*, v.139, p.75-81, 2003.

BEMANIAN, S.; MOTALLEBI, M.; NOSRATI, S.M. Cocaine-induced renal infarction: report of a case and review of the literature. *BMC Nephrology*, 2005.

BERRIDGE, K.C.; ROBINSON, T.E. What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Rev*, v.28, p.309-369, 1998.

BERRIDGE, K.C; ROBINSON, T.E.; ALDRIDGE, J.W. Dissecting Components of reward: 'liking', 'waiting', and learning. *Curr Opin Pharmacol*, v.9, p.65-73, 2009.

BROOK, D.M. et al. Environmental stressors, low well-being, smoking, and alcohol use among South African adolescents. *Soc Sci Med* v.72, p.1447-1453, 2011.

CADONI, C.; DI CHIARA, G. Differential changes in accumbens Shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *Eur J Pharmacol*, v.387, p.23-25, 2000.

CADONI et al. Behavioral sensitization after repeated exposure to delta-9-tetrahydrocannabinol and cross-sensitization with morphine. *Psychopharmacology (Berl)*, v.158, p.259-266, 2001.

CARLINI, E. A. Epidemiology of Alcohol Use in Brazil. *Arq Méd ABC.*, v.2, p.4-7. 2006.

CHEN, K.; KANDEL, D.B. The natural history of drug use from adolescence to the mid-thirties in a general population sample. *Am J Public Health*, v.85, p.41-47, 1995.

CRUZ, F.C.; DELUCIA, R.; PLANETA, C.S. Effects of chronic stress on nicotine-induced locomotor activity and corticosterone release in adult and adolescent rats. *Addict Biol*, v.13, p.63-69, 2007.

CRUZ et al. Maternal separation stress in male mice: long-term increases in alcohol intake. *Psychopharmacology (Berl)*, v.201, p.459-468, 2008.

CRUZ et al. Stress-induced cross-sensitization to amphetamine is related to changes in the dopaminergic system. *J Neural Transm*, v.119, p. 415-424, 2012.

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, p.411-417, 2005.

DI CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad U S A*, v.85, p.5274-5278, 1988.

DOMINO, E.F. Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, v.25, p.59-71, 2001.

DOREMUS-FITZWATER, T.L.; VARLINSKAYA, E.I.; SPEAR, L.P. Social and non-social anxiety in adolescent and adult rats after repeated restraint. *Physiol Behav*, v.97, p.484-494, 2009.

ENOCH, M.A. The role of early life stress as a predictor for alcohol and drug dependence. *Psychopharmacology (Berl)*, v.214, p.17-31, 2011.

FERREIRA, P.E.M.; MARTINI, K.M. Cocaína: lendas, história e abuso. *Ver Bras Psiquiatr*, v.23, p.96-99, 2001.

GALDURÓZ, J.E. et al. V Levantamento domiciliar sobre consume de drogas psicotrópicas entre estudantes do ensino médio da rede pública de ensino nas 27 capitais brasileiras. São Paulo: Cromosste, 2004, 389p.

GOLDSTEIN, R.A.; DESLAURIERS, C.; BURDA, A.M. Cocaine: history, social implications and toxicity – a review. *Dis Mon*, v.55, p.6-38, 2009.

GRANT, B.F.; STINSON, F.S.; HARFORD, T.C. Age at onset of alcohol use and DSM-IV alcohol abuse and dependence: a 12-years follow-up. *J Subst Abuse*, v.13, p.493-504, 2001.

GUTTMANNOVA, K. et al. Sensitive periods for adolescent alcohol use initiation: predicting the lifetime occurrence and chronicity of alcohol problems in adulthood. *J Stud Alcohol Drugs*, v.72, p.221-231, 2011.

GUTTMANNOVA, K. et al. Examining explanatory mechanisms of the effects of early alcohol use on young adult alcohol dependence. *J Stud Alcohol Drugs*, v.73, p.379-390, 2012.

HINGSON, R.W.; HEEREN, T.; WINTER, M.R. Age at drinking onset and alcohol dependence: age at onset, duration, and severity. *Arch Pediatr Adolesc Med*, v.160, p.739-746, 2006.

IMPERATO, A.; MULAS, A.; DI CHIARA, G. Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats. *Eur J Pharmacol*, v.132, p.337-338, 1986.

ISOHANNI, M. et al. Teenage alcohol drinking and non-standard family background. *Soc Sci Med*, v.38, p.1565-1574, 1994.

KABBAAJ et al. Stress during adolescence alters behavioral sensitization to amphetamine. *Neuroscience*, v.113, p.395-400, 2002.

KALICHMAN, S.C. et al. Associations of poverty, substance use, and HIV transmission risk behaviors in three South African communities. *Soc Sci Med*, v.62, p.1641-1649, 2006.

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, p.204-212, 1987.

KARCH, S.B. Cocaine: history, use, abuse. *J R Soc Med*, v.92, p.393-397, 1999.

KEYES, K.M.; HATZENBUEHLER, M.L.; HASIN, D.S. Stressful life experiences, alcohol consumption, and alcohol use disorders: the epidemiologic evidence for four main types of stressors. *Psychopharmacology (Berl)*, v.218, p.1-17, 2011.

KLIANMAA, K. et al. Effect of ethanol on extracellular dopamine in the nucleus accumbens of alcohol-prefering AA and alcohol-avoiding ANA rats. *Pharmacol Biochem Behav*, v.52, p.29-34, 1995.

KOOB, G.F. Neural mechanisms of drugs reinforcement. *Ann N Y Acad Sci*, v.654, p.171-191, 1992.

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

KOOB, G.; KREEK, M.J. Stress, dysregulation of drug reward pathways, and the transition to drug dependence. *Am J Psychiatry*, v.164, p.1149-1159, 2007.

LANGE, R.A.; HILLIS, L.D. Cardiovascular complications of cocaine use. *N Engl J Med*.V.345, p.351-358, 2001.

LEÃO et al. Stress induces behavioral sensitization, increases nicotine-seeking behavior and leads to a decrease of CREB in the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav*, v.101, p.434-442, 2012.

LEPSCH et al. Exposure to chronic stress increases the locomotor response to cocaine and the basal levels of corticosterone in adolescent rats. *Addict Biol*, v.10, p. 251-256, 2005.

LEVINE, S. Developmental determinants of sensitivity and resistance to stress. *Psychoneuroendocrinology*, v.30, p.939-946, 2005.

MATHEWS, I. Z.; MILLS, R. G.; MCCORMICK, C. M. Chronic social stress in adolescence influenced both amphetamine conditioned place preference and locomotor sensitization. *Wiley Periodicals, Inc. DevPsychobiol* v.50, p.451–459, 2008.

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, p.83-90, 2004.

MCCORMICK, C.M. et al. Neonatal isolation alters the effects of restraint stress on stress hormone and mesolimbic dopamine release in juvenile rats. *Pharmacol Biochem Behav*, v.73, p.75– 77, 2002a.

MCCORMICK C.M. et al. Effects of neonatal corticosterone treatment on maze performance and HPA axis in juvenile rats. *Physiol. Behav.*, v.74, p.371-379, 2001.

MCCORMICK C.M. et al. Peripheral and central sex steroids have differential effects on the HPA axis of male and female rats. *Stress*, v.5, p.235–247, 2002b.

MCCORMICK C.M. et al Stress during adolescence enhances locomotor sensitization to nicotine in adulthood in female, but not male, rats. *Horm Behav*, v.46, p.458-466, 2004.

MCCORMICK, C.M. Long-lasting, sex- and age-specific effects of social stressors on corticosterone responses to restraint and on locomotor responses to psychostimulants in rats. *Horm Behav*, v.48, p.64-74, 2005.

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

NATIONAL INSTITUTE OF DRUG ABUSE. *Research Reports: Cocaine: Abuse and Addiction*. Disponível em: <<http://www.drugabuse.gov/publications/research-reports/cocaine-abuse-addiction>>. Acesso em: 16 de agosto de 2012.

NESTLER, E.J. Molecular neurobiology of addiction. *Am J Addict*, v.10, p.201-217, 2001.

NESTLER, E.J Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat Neurosci*, v.11, p.1445-1449, 2005.

O'BRIEN, C.P. Dependência e uso abusivo de drogas. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. GOODMAN & GILMAN: *as bases farmacológicas da terapêutica*. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005, p.465-481.

PHILLIPS, T.J.; ROBERTS, A.J.; LESSOV, C.N. Behavioral sensitization to ethanol: genetics and the effects of stress. *Pharmacol Biochem Behav*, v.57, p.487-493, 1997.

PIIAZZA, P.V.; LEMOAL, M. The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacol Sci*, v.19, p.67-74, 1998.

PLANETA, C.S.; DELUCIA, R.; AIZENSTEIN, M.L. The behavioral sensitization induced by fencamfamine is not related to plasma drug levels. *Braz J Med Biol Res*, v.28, p.667-670, 1995.

PLANETA, C.S.; MARIN, M.T. Effects of cocaine on preadolescent rats with or without early maternal separation. *Braz J Med Biol Res*, v.35, p.1367-1371, 2002.

PONTIERI, F.E. et al. Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature*, v.382, p.255-257, 1996.

POST, R.M.; CONTEL, N.R. Human and animal studies of cocaine: implications of development of behavioral pathology. In: CREESE, I. *Stimulants: neurochemical, behavioral and clinical perspectives*. New York: Raven, 1983, p.169-203.

POWELL, K.R.; HOLTZMAN, S.G. Parametric evaluation of the development of sensitization to the effects of morphine on locomotor activity. *Drug Alcohol Depend*, v.62, p.83-90, 2001.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev*, v.18, p.247-291, 1993.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction*, v.95, p.91-117, 2000.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. Incentive-sensitization and addiction. *Addiction*, v.96, p.103-114, 2001.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. Addiction. *Annu Rev Psychol*, v.54, p.25-53, 2003.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev*, v.18, p.247-291, 1993.

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 Rev*, v.396, p.157-198, 1986.

SCHILSTROM, B. et al. Nicotine and food induced dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: putative role of alpha7 nicotinic receptors in the ventral tegmental area. *Neuroscience*, v.85, p.1005-1009, 1998.

SHIM, I. et al. Nicotine-induced behavioral sensitization is associated with extracellular dopamine release and expression of c-Fos in striatum and nucleus accumbens of the rat. *Behav Brain Res*, v.121, p.137-147, 2001.

SINHA, R. How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacology (Berl)*, v.158, p.343-359, 2001.

SINHA, R. Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Ann N Y Acad Sci*, v.1141, p.105-130, 2008.

SMITH, J.K.; NEILL, J.C.; CONSTALL, B. Post-weaning housing conditions influence the behavioural effects of cocaine and d-amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)*, v.131, p.23-33, 1997.

SPEAR, L.P. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev*, v.24, p.417-463, 2000.

STONE, E.A.; QUARTERMAIN, D. Greater behavioral effects of stress in immature as compared to mature male mice. *Physiol Behav*, v.63, p.143-145, 1997.

TANDA, G.; PONTIERI, F.E.; DI CHIARA, G. Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common mu1 opioid mechanism. *Science*, v.276, p.2048-2050, 1997.

VEZINA, P.; QUEEN, A.L. Induction of locomotor sensitization by amphetamine requires the activation of NMDA receptors in the rat ventral tegmental area. *Psychopharmacology (Berl)*, v.151, p.184-191, 2000.

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

WALSH, K. et al. Longitudinal trajectories of posttraumatic stress disorder symptoms and binge drinking among adolescent girls: the role of sexual victimization. *J Adolesc Health*, v.50, p.54-59, 2012.

WEISS et al. Early social isolation, but not maternal separation, affects behavioral sensitization to amphetamine in male and female adult rats. *Pharmacol Biochem Behav*, v.70, p.397–409, 2001.

ZAHRADNIK, M. et al. Posttraumatic stress hyperarousal symptoms mediate the relationship between childhood exposure to violence and subsequent alcohol misuse in Mi'kmaq youth. *J Trauma Stress*, v.24, p.566-574, 2011.