

JONATHAN LOBO MELAMED

**PAPEL DO RECEPTOR TAQUICINÉRGICO NK₃, VIA AGONISTA
SENKTIDE, NA SENSITIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA
ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE COCAÍNA EM MICOS-ESTRELA**

Brasília
2011



**UNB – UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JONATHAN LOBO MELAMED

**PAPEL DO RECEPTOR TAQUICINÉRGICO NK₃, VIA AGONISTA
SENKTIDE, NA SENSITIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA
ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE COCAÍNA EM MICOS-ESTRELA**

Brasília
2011



**UNB – UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

JONATHAN LOBO MELAMED

**PAPEL DO RECEPTOR TAQUICINÉRGICO NK₃, VIA AGONISTA
SENKTIDE, NA SENSITIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA
ADMINISTRAÇÃO REPETIDA DE COCAÍNA EM MICOS-ESTRELA**

Dissertação apresentada à Faculdade
de Ciências da Saúde da Universidade
de Brasília como requisito obrigatório
para a obtenção do título de mestre
em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marília Barros

Brasília
2011

*Dedico esta dissertação à minha família
e meus amigos que me apoiaram
em todos os momentos.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a algumas pessoas e instituições que contribuíram, diretamente, na realização deste trabalho:

- à Prof^a. Dr^a. Marília Barros, que me aceitou em seu grupo de pesquisa e me orientou ensinando-me a fazer ciência;

- ao Grupo de Neuropsicofarmacologia da UnB, que me acolheu e me ajudou em discussões e com coisas de ordem prática;

- aos professores, que cruzaram meu caminho no percorrer dessa jornada e me ofereceram diversos ensinamentos;

- ao Dr. Marcelo Nicaretta, que me ajudou com diversas discussões relacionadas ao tema em questão;

- à minha mãe, Victoria Lobo, e ao meu pai, Ricardo Melamed, que me ajudaram com a revisão textual;

- à minha esposa, Lorena Bastos, pelo auxílio com as imagens;

- aos funcionários da Fazenda Água Limpa: Adão Pedro, Geinaldo Vieira, Leonardo Paixão e Raimundo de Oliveira, que tão bem me receberam em seu local de trabalho, dispostos a ajudar e pelo cuidado com os animais;

- ao Msc. Danilo Teixeira, que, entre outras coisas, me ajudou com as amostras de sangue;

- à CAPES pelo apoio financeiro conferido através da bolsa de mestrado;

- à FAP-DF por financiar o projeto;

- ao Centro de Primatologia, ao Laboratório de Neurociências, à Pós-Graduação em Ciências da Saúde, à Faculdade de Ciências da Saúde e à Universidade de Brasília, que possibilitaram a realização deste trabalho.

“Se a neurobiologia tem a finalidade de contribuir para o desenvolvimento de tratamentos bem sucedidos para a drogadicção, pesquisadores devem descobrir os mecanismos moleculares pelos quais comportamentos de busca pela droga são consolidados em uso compulsivo, os mecanismos por trás da longa persistência de risco de recidiva, e os mecanismos pelos quais pistas vinculadas à droga vêm a controlar o comportamento”.

(STEVEN E. HYMAN, 2005)

RESUMO

A exposição repetida ao psicoestimulante cocaína gera uma variedade de efeitos, incluindo a sensibilização comportamental. Esta é o aumento da expressão de determinados comportamentos após um regime repetido de algumas drogas de abuso. Ainda, os neuropeptídeos da família das taquicininas parecem exercer um papel modulatório sobre os sistemas neurais envolvidos na adicção. No entanto, a maioria dos estudos tem avaliado esse efeito quando da administração aguda de ligantes dos receptores taquicinérgicos NK₃ em roedores. Dessa forma, o presente estudo avaliou em uma espécie de primata não-humano (mico-estrela; *Callithrix penicillata*): 1) o desenvolvimento de uma sensibilização comportamental após a administração repetida de cocaína; 2) o efeito da ativação repetida do receptor taquicinérgico NK₃, com o agonista direto senktide, nas alterações comportamentais induzidas pela cocaína; e 3) os níveis de cortisol antes e depois da injeção repetida de cocaína e senktide. Para tanto, 15 micos foram divididos em três grupos (n=5) e submetidos a uma administração diária, durante sete dias consecutivos, com salina, cocaína (7 mg/kg) ou senktide (0,2 mg/kg). O comportamento dos animais foi observado por 20 min no campo aberto (CA) depois de cada injeção (sessões de tratamento; dias 1-7). Após sete dias sem nenhuma intervenção, todos os animais receberam uma única dose de 5 mg/kg de cocaína e foram novamente observados por 20 min no CA (sessão teste; dia 14). Uma amostra de sangue de cada mico foi obtida nos dias 0, 8, 15 e 30. Apenas nos animais tratados repetidamente com cocaína (7 mg/kg) foi observado um aumento significativo nos comportamentos de vigilância. Esse efeito foi mantido mesmo após a aplicação de uma dose menor da droga (5 mg/kg) depois de sete dias de retirada. Ainda, o tratamento prévio com senktide aumentou significativamente os níveis de *g*lance e a velocidade média de locomoção quando 5 mg/kg de cocaína foi administrado. Por outro lado, os níveis de cortisol permaneceram inalterados ao longo de todo o estudo, independente do tratamento dado. Portanto, o tratamento repetido de cocaína induziu um efeito de hipervigilância nos micos, os quais foram sensibilizados pelo presente regime de administração. Ainda, a ativação repetida do receptor NK₃ com senktide potencializou alguns dos efeitos de 5 mg/kg de cocaína. Desta forma, o mico-estrela parece ser um bom sujeito experimental, e o protocolo de doses fixas repetidas uma ferramenta ímpar, no estudo comparativo de aspectos da dependência por cocaína.

Palavras-chave: cocaína, senktide, sensibilização, mico-estrela, hipervigilância, cortisol.

ABSTRACT

Repeated exposure to the psychostimulant cocaine induces a variety of effects, including behavioral sensitization. This is the increased expression of certain behaviors after the repeated administration of some drugs of abuse. In addition, the family of tachykinin neuropeptides seems to exert a modulatory role on the neural systems involved in addiction. Most studies, however, have analyzed this effect after the acute administration of NK₃ receptor ligands in rodents. Thus, the present study evaluated in a non-human primate (black-tufted ear marmosets; *Callithrix penicillata*) the: 1) development of a behavioral sensitization effect after a repeated administration of cocaine; 2) effect of repeated activation of the NK₃ receptor, with the direct agonist senktide, on behavioral changes induced by cocaine; and 3) cortisol levels before and after repeated injections of cocaine and senktide. Accordingly, 15 marmosets were divided into three groups (n=5) and subjected, during seven consecutive days, to a daily administration with saline, cocaine (7 mg/kg) or senktide (0.2 mg/kg). After each injection, behavioral observations were made during 20 min in an open field (OF) (treatment sessions, days 1-7). After seven days without any intervention, all animals received a single 5 mg/kg dose of cocaine and were again observed in the OF for 20 min (test session, day 14). A blood sample was obtained from each marmoset on days 0, 8, 15 and 30. A significant increase in vigilance behaviors was observed only in animals repeatedly treated with cocaine (7 mg/kg). This effect was maintained even after the administration of a lower dose of the drug (5 mg/kg) held after the seven-day withdrawal. Furthermore, treatment with senktide significantly increased glance levels and average speed when 5 mg/kg of cocaine was administered. On the other hand, cortisol levels remained unaltered throughout the study, regardless of the treatment given. Therefore, repeated treatment with cocaine induced a hypervigilance effect in the marmosets, which were sensitized by the present administration regimen. Also, repeated activation of the NK₃ receptor with senktide potentiated some of the effects of 5 mg/kg of cocaine. Thus, the black-tufted ear marmoset seems to be a good experimental model, and the repeated and fixed-dose protocol a unique tool, for comparative studies related to cocaine addiction.

Key words: cocaine, senktide, sensitization, Black-tufted ear marmosets, hypervigilance, cortisol.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	9
1.1 – ASPECTOS GERAIS DA DROGADICÇÃO.....	9
1.2 – DROGADICÇÃO À COCAÍNA	13
1.3 – EFEITO DE SENSITIZAÇÃO COM O USO DE COCAÍNA.....	16
1.4 – O SISTEMA DE TAQUICININAS	18
2 – JUSTIFICATIVA/RELEVÂNCIA DO PROJETO	22
3 – OBJETIVOS	26
3.1 – OBJETIVO GERAL.....	26
3.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
4 – METODOLOGIA	27
4.1 – CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	27
4.2 – SUJEITOS.....	27
4.3 – APARATO EXPERIMENTAL	29
4.4 – DROGAS EMPREGADAS	31
4.5 – COLETA E ANÁLISE DE DADOS COMPORTAMENTAIS	31
4.6 – COLETA DE SANGUE E ANÁLISE DE CORTISOL.....	34
4.7 – ANÁLISE E ESTATÍSTICA	35
5 – RESULTADOS	38
5.1 – COMPORTAMENTOS DE VIGILÂNCIA	38
5.2 – PADRÃO DE ATIVIDADE LOCOMOTORA.....	40
5.3 – NÍVEIS SÉRICOS DE CORTISOL	42
5.3.1 – TEMPO DE COLETA DE SANGUE	42
5.3.2 – NÍVEIS SÉRICOS OBSERVADOS	43
5.3.3 – CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS E O TEMPO DE COLETA.....	43
6 – DISCUSSÃO	44
6.1 – EFEITO DE HIPERVIGILÂNCIA E HIPERLOCOMOÇÃO	44
6.2 – EFEITOS DE SENSITIZAÇÃO COMPORTALMENTAL E MEDIAÇÃO TAQUICINÉRGICA	45
6.3 – ANÁLISE DO ESTRESSE ATRAVÉS DOS PADRÕES DE CORTISOL	50
6.4 – PERSPECTIVAS FUTURAS.....	53
7 – CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXO A	81

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais da drogadicção

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a drogadicção (também conhecida como farmacodependência) se refere ao uso nocivo ou perigoso de substâncias psicoativas. Estas, quando tomadas ou administradas no organismo de um indivíduo, afetam processos mentais como, por exemplo, a cognição e/ou a percepção de estímulos. O uso de substâncias psicoativas pode levar à síndrome de adicção – um aglomerado de fenômenos comportamentais, cognitivos e fisiológicos que se desenvolvem com o uso repetido de drogas. Geralmente, inclui um forte desejo de usá-las, dificuldades em controlar o uso, persistência do mesmo apesar de conseqüências negativas, uma priorização do uso de drogas frente a outras atividades e obrigações, aumento da tolerância e, às vezes, um estado de abstinência física. É caracterizada pela busca e administração do composto em questão de forma contínua ou periódica a fim de sentir seus efeitos e de evitar o mal-estar gerado pela sua privação (OMS, 2011).

É, ainda, descrita como um distúrbio cognitivo caracterizado por um circuito de decisão mal adaptado e um circuito de motivação disfuncional (KALIVAS e VOLKOW, 2005; KOOB e LE MOAL, 2001; SCHOENBAUM e cols., 2006). Drogadictos perdem o interesse em obter recompensas naturais e escolhem buscar drogas de abuso apesar do conhecimento empírico do desfecho adverso de suas decisões. Assim, não têm a flexibilidade comportamental necessária para implementar o desejo de se absterem da busca pela droga. Ao invés disso, se envolvem na busca repetida pela mesma e apresentam alta vulnerabilidade à recaída mesmo após períodos prolongados de abstinência (KALIVAS e O'BRIEN, 2008). Acredita-se que isto seja resultado de neuroadaptações duradouras em determinados circuitos cerebrais que regulam os comportamentos motivados, causadas pela exposição repetida a drogas de abuso (GRAYBIEL, 2008; KALIVAS e VOLKOW, 2005).

A farmacodependência pode ser descrita didaticamente como um processo de cinco etapas gerais que podem se sobrepor tanto em relação aos sintomas observáveis, como aos substratos neurais que subsidiam os mecanismos subjacentes: (1) aquisição – processo no qual o indivíduo adquire o comportamento de busca e uso da droga; (2) manutenção – consolidação do uso recorrente; (3) retirada – interrupção do uso; (4) compulsão/fissura – intenso desejo de se obter e consumir a droga; (5) recaída – retomada do comportamento de busca pela droga (revisado em GRAEFF e GUIMARÃES, 1998; MARQUARDT e BARROS, 2006). No entanto, KOOB e LE MOAL (2008) caracterizaram três grandes componentes do ciclo da adicção – exagero/intoxicação, retirada/reforçadores negativos e preocupação/antecipação (fissura) – e incorporaram os construtos de impulsividade e compulsão, com contribuições variadas de reforçadores positivos e negativos.

Apesar da drogadicção ser constantemente vista como uma desordem, é importante ressaltar que diferentes drogas produzem diferentes padrões de adicção que acometem diferentes componentes do referido ciclo (KOOB e LE MOAL, 2008). A dependência por cocaína e anfetaminas, por exemplo, é caracterizada por grandes estágios de exagero/intoxicação e preocupação/antecipação, com uma fissura intensa pela droga e "binges" (uso exagerado em um certo período de tempo) que podem durar horas ou dias. Também existem diferentes tipos de usuários. Por exemplo, diferentes tipos de usuários de tabaco foram identificados, incluindo indivíduos que inicialmente limitam o uso, mas progressivamente o aumentam e desenvolvem uma alta dependência; indivíduos que fumam regularmente, mas que vão sempre limitar o uso (definidos como usuários não-dependentes); e indivíduos que limitam o uso, mas que passam por períodos de grande quantidade de uso e alta dependência (KASSEL e cols., 1994). Portanto, esses padrões distintos do uso de drogas sugerem que o processo de adicção não é unitário e que diferentes mecanismos neuropsicobiológicos que levam à busca e uso compulsivos podem estar envolvidos.

Os mecanismos pelos quais certas substâncias psicoativas levam ao desenvolvimento da farmacodependência parecem estar relacionados à ativação de áreas neurais relacionadas aos reforçadores naturais, tais como alimento, água e sexo (NESTLER e cols., 2001). Há um aumento na ativação da via mesocorticolímbica dopaminérgica – conhecida como sistema de ‘recompensa/prazer’ (Fig. 1) – que se origina na área tegmental ventral (VTA) e que se projeta para o núcleo *accumbens* (NAcc), amígdala e córtex pré-frontal (PFC) (FELDMAN e cols., 1997). O aumento na disponibilidade extracelular do neurotransmissor dopamina (DA) no NAcc está relacionado ao comportamento de auto-administração e aos processos de reforçamento positivo que, por sua vez, subsidiam a aquisição da adicção (WHITE, 1996; CANNON e BSEIKRI, 2004).

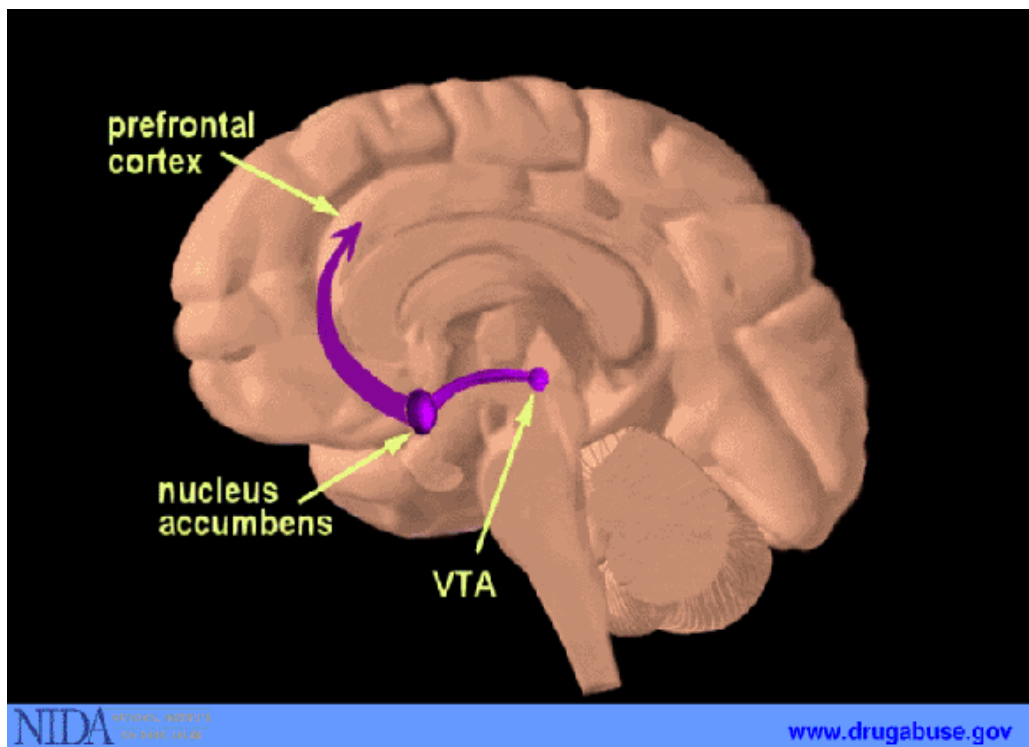


Figura 1. Sistema de recompensa mostrando as projeções dopaminérgicas da área tegmental ventral (VTA) para o núcleo *accumbens* e córtex pré-frontal.

As projeções glutamatérgicas do PFC para o NAcc também são um componente chave do circuito envolvido em iniciar e aprender comportamentos adaptativos (GRAYBIEL, 2008; HYMAN e cols., 2006). Estas projeções são, por

sua vez, reguladas por outras vias, como a mesocorticolímbica dopaminérgica da VTA, sinalizando a relevância e facilitando o aprendizado de experiências relevantes (REDGRAVE e GURNEY, 2006; SCHULTZ e DICKINSON, 2000). Acredita-se que projeções para o PFC e o NAcc vindas de outras regiões cerebrais, como do hipocampo e da amígdala basolateral, forneçam informações previamente aprendidas, contextual e emocionalmente relevantes, associadas com a experiência em questão (BAST e cols., 2001; PHELPS e LEDOUX, 2005; RUDY e MATUS-AMAT, 2005; SWANSON e PETROVICH, 1998). Da mesma forma, outras áreas como a amígdala estendida (núcleo basal da estria terminal, amígdala central e a concha do NAcc), ao enviar projeções para o PFC/NAcc, transmitem sinais sobre o estado interno do organismo, o que contribui para o processamento de informações (KELLY e STRICK, 2004; REYNOLDS e ZAHM, 2005; SWANSON e PETROVICH, 1998). Além de regular respostas comportamentais adaptativas, a via glutamatérgica PFC-NAcc está envolvida em comportamentos relacionados à adicção, sendo necessária e suficiente para o restabelecimento do comportamento de busca pela droga em alguns modelos animais de recaída (KALIVAS e VOLKOW, 2005).

A lesão ou inativação do PFC ou do NAcc previne, enquanto a estimulação de qualquer um dos dois promove a busca pela droga na ausência desta ou mesmo de uma pista (CAPRILES e cols., 2003; CORNISH e cols., 1999; CORNISH e KALIVAS, 2000; DI CIANO e EVERITT, 2001; MCFARLAND e cols., 2004; MCFARLAND e KALIVAS, 2001; MCFARLAND e cols., 2003; MCLAUGHLIN e SEE, 2003; PETERS e cols., 2008). Além disso, dados eletrofisiológicos e comportamentais indicam um aumento na taxa de disparo de neurônios do PFC (SUN e REBEC, 2006) e do NAcc (CARELLI e IJAMES, 2000), durante o restabelecimento da busca por cocaína. Estudos por imagem com humanos também identificaram correlações entre a fissura e a atividade aumentada no córtex ventral orbital, no córtex cingulado e no estriado ventral após exposição à droga ou

a uma pista (BREITER e cols., 1997; BREITER e ROSEN, 1999; KUFAHL e cols., 2005; RISINGER e cols., 2005; WILSON e cols., 2004).

1.2. Drogadicção a cocaína

Erythroxylon coca, a planta da qual a cocaína (benzoilmetilecgonina, $C_{17}H_{21}NO_4$) é extraída, é originária dos Andes e do oeste da América do Sul (KARCH, 1999). Tem sido usada por índios andinos por milhares de anos, os quais mascavam as folhas para liberar a cocaína. Esta apresenta propriedades estimulantes que aliviam os sintomas associados com a alta altitude (por exemplo, tontura e náusea). A folha boliviana contém apenas 0,5% de cocaína, e o conteúdo cai rapidamente após a colheita. Ao se mascar a folha, a quantidade que chega à corrente sanguínea diminui ainda mais, e com isso a toxicidade, mesmo após anos de uso, é rara entre os nativos andinos (HOLMSTEDT e cols., 1979).

O hidrocloreto de cocaína é produzido ao se dissolver o alcalóide em ácido hidrocloreto. O sal formado é solúvel em água e sua desidratação produz os cristais brancos ou o pó que são as apresentações mais comuns da droga. Uma cocaína mais pura pode ser extraída do hidrocloreto de cocaína por dissolução numa solução alcalina, seguida pela adição de um solvente como o éter. A mistura se separa em duas camadas, e a de cima contendo a cocaína pode ser extraída pela evaporação do solvente produzindo a base livre. Para se evitar a inflamabilidade e incêndios associados com a extração etérea, o refino da cocaína a partir do hidrocloreto utiliza comumente o método de dissolução em água alcalinizada pela adição de soda cáustica. A base de cocaína precipita e endurece após secar, produzindo uma pedra que se quebra em cristais. Quando aquecidos, os cristais fazem um som de estalo, e essa forma livre de cocaína é então chamada de *crack*, que é, atualmente, a forma mais prevalente de abuso (WARNER, 1993).

Após a administração intranasal, intravenosa, oral ou retal, a cocaína é rapidamente distribuída pelo plasma, atingindo altas concentrações em

compartimentos corporais ricamente vascularizados (por exemplo, o cérebro). A redistribuição para compartimentos menos vascularizados (por exemplo, a gordura) ocorre com o tempo. Da cocaína administrada, 5% é excretada inalterada na urina (detectável 3-6 h após o uso) e 85% é metabolizada no plasma e por esterases do fígado para produzir metil ésteres de ecgonina e benzoilecgonina [que também se forma espontaneamente (WARNER, 1993)], os quais são detectáveis na urina por até 14 dias após o consumo (FLEMING, BYCK e BARASH, 1990).

O efeito da cocaína é o aumento extracelular de catecolaminas na fenda sináptica. Para tanto, seu principal mecanismo de ação é o bloqueio da recaptação da DA liberada na fenda sináptica (Fig. 2), por se ligar às proteínas transportadoras de dopamina (DAT) presentes na membrana pré-sináptica (NESTLER e cols., 2001). Liga-se também a proteínas transportadoras de noradrenalina (NAT) e serotonina (SERT). Outro mecanismo de ação sugerido é o aumento da liberação de DA, via os transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT), responsáveis pelo armazenamento desse neurotransmissor nos neurônios pré-sinápticos (VENTON e cols., 2006).

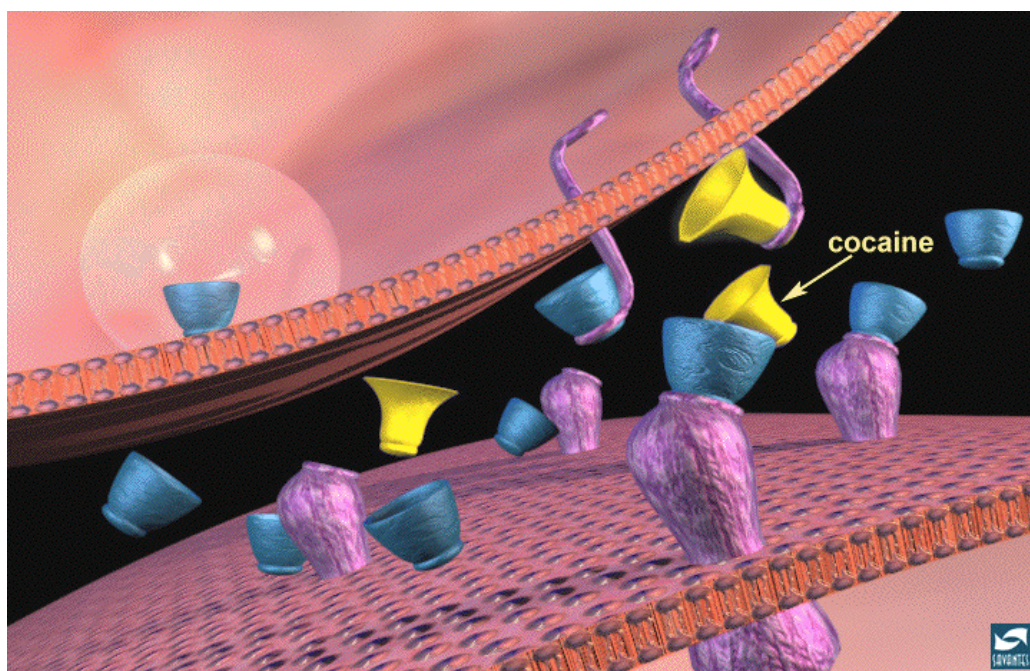


Figura 2. Mecanismo de ação da cocaína. Interferência da cocaína na recaptação de DA.

<http://www.drugabuse.gov/pubs/teaching/Teaching2/largegifs/slide27.gif>

Apesar dos efeitos agudos da cocaína serem relativamente breves, alterações persistentes na função neural que perduram muito além da presença da droga em seus sítios de ligação também são engendradas. Um amplo escopo de pesquisa se focou na questão das potenciais adaptações estruturais e funcionais que ocorrem ao longo do curso do uso e abuso desse psicoestimulante. O curso clínico do abuso foi caracterizado como um número de estágios temporais que avançam da experimentação inicial até o uso casual e, finalmente, a farmacodependência (POST e WEISS, 1988; GAWIN e KLEBER, 1986; GAWIN, 1991; GAWIN, 1993). Relatos de usuários expressam sua experiência inicial como altamente prazerosa. A cocaína induz sensações intensas de euforia e bem-estar, junto com uma intensificação das emoções e da sexualidade (GAWIN, 1991; GAWIN, 1993; JOHANSON e FISCHMAN, 1989). Naqueles indivíduos que continuam a usar a droga, os padrões de uso mudam do ocasional para o uso em altas doses, “binges” de longa duração, algumas vezes acompanhados por sensações intensas de fissura e uma sensibilidade diminuída para os efeitos negativos da droga (GAWIN, 1991; GAWIN, 1993). Com o uso de alta intensidade continuado, relatos de ataques de pânico, paranóia e ansiedade intensa são freqüentes (POST e WEISS, 1988).

A administração de cocaína provoca, além dos efeitos comportamentais e neuroquímicos, importantes modificações fisiológicas, como a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (LEVY e cols., 1994). Esta decorre de um aumento na liberação de CRF (fator de liberação de corticotropina) pelo hipotálamo, levando a um aumento significativo nos níveis circulantes de corticosterona em roedores (ex. MANTSCH e cols., 2000) e de cortisol em primatas não-humanos e no homem (BAUMANN e cols., 1995; SARNYAI e cols., 1996). Como o eixo HPA constitui o principal sistema endógeno relacionado ao estresse (MELLO e MENDELSON, 1997), sugere-se a existência de uma relação entre esse fator e os

mecanismos neurais que subsidiam a drogadicção (MELLO e MENDELSON, 1997; GOEDERS, 2002; MAJEWSKA, 2002). Sabe-se, inclusive, que os glicocorticóides atuam diretamente sobre o mecanismo reforçador da cocaína, uma vez que facilitam a neurotransmissão de DA no NAcc (MARINELLI e PIAZZA, 2002). Portanto, as alterações hormonais observadas com o uso da cocaína podem subsidiar, em parte, os mecanismos da adicção a este psicoestimulante, além de induzir uma resposta de recaída após a sua retirada.

1.3. Efeito de sensibilização com o uso de cocaína

A exposição repetida à cocaína pode ter uma variedade de conseqüências comportamentais, incluindo a sensibilização e a tolerância. A sensibilização se refere a uma resposta aumentada após um tratamento repetido, o que tem sido relatado mais freqüentemente quando a cocaína é administrada repetidamente (STEWART e BADIANI, 1993). Esse fenômeno foi sugerido como uma possível explicação da progressão do uso casual para o uso descontrolado em usuários de cocaína (ROBINSON e BERRIDGE, 1993). Em contraste, a tolerância se refere a uma menor responsividade à droga, o que ocorre como resultado de exposição freqüente à mesma (JAFFE, 1990).

Uma variedade de dados clínicos e de pré-clínicos sugere que a exposição repetida à cocaína, e a outros psicoestimulantes, pode resultar em mudanças marcantes nas respostas comportamentais à droga. Essas mudanças podem ser obtidas experimentalmente ao se gerar curvas de dose e resposta. A sensibilização ou tolerância reversa é definida como uma mudança para a esquerda no gradiente de dose-resposta, com doses menores da droga produzindo efeitos previamente observados após uma única administração aguda de altas doses da mesma (CARLTON, 1983). Por outro lado, a tolerância pode ser demonstrada por uma mudança para a direita no gradiente de dose-resposta, sugerindo que uma dose maior é necessária para restabelecer respostas agudas à droga. No entanto, essas

características aparentemente opostas podem resultar do uso em doses crônicas similares, com o efeito dependente do comportamento observado. Fatores importantes relacionados ao desenvolvimento da sensitização incluem tanto o intervalo de tempo entre administrações sucessivas, como o contexto ambiental (POST, 1980; POST e cols., 1981; POST e cols., 1987).

Em roedores, a exposição repetida à cocaína leva à sensitização locomotora, definida como o aumento progressivo na locomoção e estereotipia em resposta a uma dose de cocaína (HENRY e WHITE, 1995; VANDERSCHRUEN e KALIVAS, 2000). Essa observação sugere que esse modelo animal pode ser útil na elucidação dos mecanismos celulares e moleculares responsáveis pela plasticidade comportamental duradoura que ocorre quando da administração repetida de cocaína, que se assemelha a algumas características relacionadas à adicção em humanos (VANDERSCHUREN e KALIVAS, 2000; KALIVAS e VOLKOW, 2005; ROBINSON e BERRIDGE, 2003).

Estudos acerca das mudanças progressivas como consequência do tratamento crônico têm, geralmente, se utilizado da progressão de efeitos comportamentais associados a baixas doses para aqueles associados com doses mais altas como indicador de respostas sensitizadas (BRADBERRY, 2007). Isso porque respostas comportamentais a psicoestimulantes em macacos ingênuos de drogas não podem ser facilmente medidas instrumentalmente, mas de modo geral, podem ser sensitizadas através do tempo. A maioria dos estudos prévios examinou exposições muito altas que desencadearam comportamentos alucinatórios. O comportamento alucinatório é consistente com efeitos clínicos do abuso de altas doses de psicoestimulantes em humanos. A exposição repetida e controlada em usuários experientes não produz uma resposta comportamental sensitizada, enquanto que respostas sensitizadas foram observadas em alguns estudos com sujeitos ingênuos (BRADBERRY, 2007). A visão geral da literatura sobre roedores é que a sensitização de respostas dopaminérgicas é um fenômeno dependente de

dose (LIU e cols., 2005). Uma limitação na comparação entre os modelos é a quantidade de informação disponível sobre os efeitos em roedores. No entanto, estudos de neuroimagem com humanos corroboram as inferências feitas a partir de estudos com macacos (BRADBERRY, 2007).

Nesse sentido, supõe-se que a expressão da sensitização comportamental esteja relacionada à capacidade da cocaína em aumentar, com exposições repetidas, a concentração extracelular de DA no NAcc (ROBINSON e BERRIDGE, 2000). Esse efeito, visto *in vitro* e *in vivo*, parece aumentar progressivamente de semanas a meses após a exposição à droga (HAMAMURA e cols., 1991), e é conhecido como sensitização neuroquímica. Na aquisição da adicção, por sua vez, parece ocorrer uma hipersensibilidade de receptores D₁ nos neurônios dopaminérgicos da VTA que projetam para o NAcc (WHITE e KALIVAS, 1998), o que potencializa o sinal dopaminérgico mesolímbico.

O aumento extracelular de DA na VTA desencadeia uma cascata de eventos intracelulares que culminam na síntese de proteínas envolvidas no fortalecimento de sinapses e assim novas memórias (não-associativas) são formadas, ou seja, a sensitização. Além disso, a cascata de transdução do sinal que induz o desenvolvimento desse efeito parece ser dependente de diferentes receptores glutamatérgicos (NMDA, AMPA e metabotrópicos) (VANDERSCHREUN e KALIVAS, 2000). Outros sistemas neurotransmissores também parecem estar envolvidos na aquisição e expressão da sensitização comportamental, como a serotonina, adrenalina, opióides endógenos, acetilcolina e GABA (ROBINSON e BERRIDGE, 2000), além do sistema taquicinérgico.

1.4. O sistema de taquicininas

Os neuropeptídeos pertencentes à família das taquicininas são caracterizados por uma seqüência C-terminal comum de aminoácidos (Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂), sendo que cinco representantes dessa família já foram identificados

em mamíferos, a saber: substância P (SP), neurocinina A (NKA), neurocinina B (NKB), neuropeptídeo K (NPK) e neuropeptídeo γ (NP γ). Até o presente, apenas três receptores de taquicininas foram caracterizados e clonados, dos quais todos fazem parte da superfamília de receptores acoplados à proteína G (NK₁, NK₂, e NK₃) (revisado em DE SOUZA SILVA e cols., 2006a). Apesar das cinco taquicininas conhecidas possuírem boa afinidade por todos os receptores, a SP, a NKA e a NKB demonstram um maior coeficiente de associação aos receptores NK₁, NK₂, e NK₃, respectivamente (REGOLI e cols., 1994; HÖKFELT e cols., 2001).

A ativação do receptor NK₃ especificamente induz, num primeiro momento, a quebra do fosfoinositol 4,5 bifosfato (PIP₂) em 1,4,5 inositol trifosfato (IP₃) e diacilglicerol, via ativação da fosfolipase C (KHAWAJA e ROGERS, 1996; MAGGI, 1995), levando à mobilização de Ca²⁺ e, conseqüentemente, à indução de cascatas de sinalização intra-celulares cálcio-dependentes (NWANESHIUDUA e UNTERWALD, 2009).

O receptor NK₃ é expresso de forma diferenciada ao longo do SNC. Em roedores, altas densidades de NK₃ foram identificadas em regiões neurais relacionadas à memória, à aprendizagem e a processos de reforçamento, incluindo o PFC, o hipocampo, a amígdala, o septo medial, a substância negra e a VTA (DAM e cols., 1990; DING e cols., 1996; DUARTE e cols., 2006; SHUGHRUE e cols., 1996). De forma similar, análises imunohistoquímicas demonstraram grandes concentrações desse receptor taquicinérgico em regiões do córtex, hipocampo e hipotálamo de humanos (MILEUSNIC e cols., 1999). Sua localização em neurônios do sistema dopaminérgico mesocortical aponta para uma possível atividade regulatória das taquicininas sobre a neurotransmissão dopaminérgica, especialmente aquela que controla a locomoção (ELLIOTT e cols., 1991; OVERTON e cols., 1992). Neurônios contendo tirosina hidroxilase na substância negra e VTA também expressam receptores NK₃ (CHEN e cols., 1998). Sua ativação, não somente estimula a atividade dopaminérgica (KEEGAN e cols., 1992;

OVERTON e cols., 1992), como também aumenta a liberação e o metabolismo de DA no NAcc, PFC e estriado (BANNON e cols., 1995; HUMPEL e cols., 1991; MARCO e cols., 1998).

Nesse contexto, não é surpreendente o envolvimento das taquicininas em sistemas neurais responsáveis pela adicção, embora seu papel exato ainda não esteja bem elucidado. O receptor NK_3 e seus ligantes parecem exercer um papel modulatório sobre processos envolvidos na adicção. MASSI e cols. (2000) demonstraram que a administração de agonistas NK_3 (por exemplo: senktide, aminosenktide) inibe o comportamento de auto-administração de álcool em ratos, enquanto PLACENZA e cols. (2004) verificaram que a mesma podia ser re-estabelecida após a administração de DiMe-C₇ – um análogo da SP com preferência pelo receptor NK_3 – na VTA de ratos tratados com cocaína. De forma semelhante, o pré-tratamento com SR142801, um antagonista de receptores NK_3 , diminuiu os efeitos comportamentais da cocaína em ratos, possivelmente devido a um bloqueio do aumento de DA no NAcc, geralmente induzido por esse psicoestimulante (JOCHAM e cols., 2006). A ativação do receptor, por outro lado, potencializou a hiperlocomoção induzida pela cocaína em ratos (JOCHAM e cols., 2007) e induziu comportamentos em roedores como locomoção, cuidado parental, farejar e “*wet-dog shake*” (DESCHAMPS e COUTURE, 2005; ELLIOTT e cols., 1991; JOCHAM e cols., 2007; STOESSL e cols., 1991), os quais foram reduzidos via antagonismo do receptor dopaminérgico D1 com SCH 23390 (DESCHAMPS e COUTURE, 2005). Controversamente, comportamentos induzidos pela cocaína e mediados pelo receptor D1 foram atenuados com a administração de antagonistas de receptores NK_3 em ratos (BISHOP e WALKER, 2004; JOCHAM e cols., 2006) e em primatas não-humanos responsivos à cocaína (DE SOUZA SILVA e cols., 2006b). Apesar da não concordância dos resultados, esses estudos demonstram que o sítio de ligação em questão parece modular a função dopaminérgica e o comportamento.

No entanto, a maioria dos estudos realizados até o momento tem examinado a modulação da função dopaminérgica após a administração aguda de diferentes ligantes dos receptores NK₃. Poucos foram os trabalhos acerca de um efeito do uso repetido ou crônico. Como o bloqueio agudo de receptores NK₃ diminui funções e comportamentos mediados pela DA, especula-se que o tratamento crônico com antagonistas desses receptores possa induzir uma hipersensibilidade do receptor dopaminérgico e, assim, um aumento nos comportamentos por ele mediados (HESS e cols., 1986, 1988). De fato, NWANESHIUDUA e UNTERWALD (2009) observaram que a administração repetida do antagonista NK₃ SB222200 potencializa comportamentos mediados pela DA, concomitante a um aumento da expressão de receptores D1 no estriado de roedores. Em 2010, os mesmos autores demonstraram que o antagonismo dos receptores NK₃ bloqueia o desenvolvimento e expressão da sensitização comportamental locomotora induzida por cocaína.

Vale ressaltar ainda que a afinidade com que diferentes substâncias (exógenas) se ligam ao receptor NK₃ parece ser bem distinta entre humanos e roedores (EMONDS e cols., 1995; NGUYEN-LE e cols., 1996). As administrações de SR142801 e senktide – antagonista e agonista de receptores NK₃, respectivamente – bloqueiam o efeito de hiperlocomção induzido pela administração sistêmica de cocaína em micos-estrela responsivos (DE SOUZA SILVA e cols., 2006a, 2006b). Tal resultado sugere que esse sistema atua de forma complexa nos efeitos comportamentais agudos desse psicoestimulante em primatas não-humanos, sendo novos estudos necessários para uma melhor elucidação da modulação aguda e crônica dos receptores NK₃ na dependência por cocaína.

2. JUSTIFICATIVA/RELEVÂNCIA DO PROJETO

As estimativas recentes são de que, em 2008, 155 a 250 milhões de pessoas, ou de 3,5% a 5,7% da população mundial entre 15 e 64 anos, tenham usado substâncias psicoativas ilícitas como cannabis, anfetaminas, cocaína, opióides, entre outras ao menos uma vez no ano anterior. O uso de substâncias psicoativas causa problemas significativos de saúde e sociais para as pessoas que as utilizam, e também para outros em suas famílias e comunidades. A OMS estima que 0,7% da carga global de doenças em 2004 se devam ao consumo de cocaína e opióides, com um custo social de aproximadamente 2% do PIB de determinados países (OMS, 2011).

Diante desse quadro, fica clara a necessidade de intervenção junto à sociedade a fim de se evitar que mais indivíduos sejam acometidos pela drogadicção à cocaína. Neste intuito, contribuições significativas podem ser obtidas por estudos que empreguem modelos animais como ferramenta experimental para estabelecer a relação entre os efeitos neuroquímicos, comportamentais e endócrinos resultantes do consumo de drogas de abuso.

Embora estudos com adictos humanos possam responder algumas questões, a interpretação de estudos em humanos pode ser limitada por um grande número de fatores. Um dos mais problemáticos é o uso concomitante de múltiplas drogas, tanto legais quanto ilegais. A exposição a altos níveis de álcool, cafeína e nicotina é uma característica comum à maioria de usuários crônicos de drogas. A interação dessas e outras drogas ilegais como o ecstasy, a heroína e a maconha com a cocaína, em combinação com os efeitos estruturais e funcionais que o uso crônico dessas drogas pode produzir, torna excessivamente difícil atribuir qualquer adaptação, seja comportamental ou biológica, diretamente à cocaína (MELLO e MENDELSON, 2003).

Outra questão problemática é o histórico de experiência com drogas. Drogadictos relatam padrões consideravelmente diferentes de uso, duração de

exposição, qualidade ou pureza de cocaína, via de administração, período de abstinência e uso total durante a vida. Embora o auto-relato possa ser confiável em algumas instâncias, de modo geral a acurácia, até mesmo do uso de droga recente é, com frequência, altamente suspeito nessa população. Isto fica ainda mais complicado pelas dificuldades encontradas em estudos nos quais o tecido *post-mortem* é utilizado. Além disso, usuários humanos de drogas frequentemente têm sinais de outras formas de psicopatologias. Mais proeminente, a depressão e o transtorno do déficit de atenção são os diagnósticos de comorbidades mais comuns. Obter histórias detalhadas dessas condições pode ser desafiador, tornando difícil determinar se essas condições são anteriores ao uso de cocaína ou o resultado de exposição crônica a drogas (PORRINO e cols., 2004, 2007).

Finalmente, a maioria dos estudos que investigam as bases neurobiológicas dos efeitos da cocaína em humanos tem sido conduzida com sujeitos dependentes de cocaína, em programas de tratamento ativo. Pelo fato de mudanças estruturais e funcionais substanciais acompanharem o uso crônico de cocaína (VOLKOW e cols., 1999; STRICKLAND e cols., 1998; KAUFMAN e cols., 2001), as respostas funcionais de usuários crônicos de drogas, usados na maioria dos estudos, está sujeita a ser bem diferente daquelas de sujeitos com exposição mínima a drogas. Poucos trabalhos, entretanto, são conduzidos em humanos com pouca ou nenhuma experiência com drogas. Portanto, não é possível avaliar a evolução temporal das neuroadaptações que acompanham o uso de drogas, particularmente sem avaliações da resposta funcional à cocaína nos estágios iniciais de exposição à droga. Assim, a própria natureza da investigação humana impede uma avaliação sistemática de muitas das variáveis que podem resultar em neuroadaptações aos efeitos de exposição à droga.

Apesar disso, importantes diferenças individuais nos diferentes estágios da adicção, bem como na vulnerabilidade para a transição para a adicção foram observadas em humanos e animais (ANTHONY e cols., 1994; CROWLEY e cols.,

1998; DE WIT e cols., 1986; DEROCHE-GAMONET e cols., 2004). Diferenças individuais significativas foram observadas na (i) sensibilidade para os efeitos farmacológicos da droga, (ii) propensão para se auto-administrar a droga, (iii) resistência para intoxicação, (iv) sensibilidade para pistas associadas a drogas, (v) recaída, e (vi) funções cognitivas críticas para o desenvolvimento de adicção, como memória operacional, atenção, avaliação da recompensa, emoção, dor e estresse. É importante perceber que o construto de diferença individual aqui abrange variações normais na função e disfunção (ou vulnerabilidade).

Existem, contudo, alguns indícios apontando para os primatas não-humanos como um bom modelo animal para o estudo de drogas psicoativas. A semelhança dos aspectos filogenéticos, da organização morfofuncional, das respostas fisiológicas, dos componentes neuroquímicos e do comportamento entre esses e humanos (WEERTS e cols., 2007), e uma melhor previsibilidade farmacocinética em símios do que em roedores (ex. WARD e SMITH, 2004), são alguns dos exemplos. Existe, inclusive, uma diferença significativa na densidade e distribuição de receptores em regiões cerebrais relacionadas aos efeitos das drogas de abuso entre roedores e primatas não-humanos (ex. CAMPS e cols., 1990; LIDOW, 1989), assim como uma maior homologia gênica do DAT de macacos com o do homem (MILLER e cols., 2001). A importância de sua utilização recai na possibilidade de uma melhor generalização dos resultados obtidos com primatas para os humanos (WEERTS e cols., 2007).

Para minimizar as dificuldades relacionadas ao custo e à manutenção de primatas não-humanos de maior porte em cativeiro, faz-se referência ao gênero *Callithrix*. Este pertence à família dos calitriquídeos e pesa 250-450g quando adulto, tem uma expectativa de vida de 10-12 anos em cativeiro, atinge a maturidade sexual aos 12-18 meses, apresenta uma gestação de 145 dias, dá a luz a gêmeos e não tem um período de anestro lactacional (EPPLÉ, 1975; SUSSMAN e KINZEY, 1984; TARDIF e cols., 1986; GOLDIZEN, 1987; STEVENSON e RYLANDS, 1988).

O *Callithrix penicillata* é conhecido por habitar regiões caracteristicamente inóspitas e se adaptar facilmente ao cativeiro, em comparação a outros símios (STEVENSON e RYLANDS, 1988; SUSSMAN e KINZEY, 1984). Em conjunto, essas características de baixo custo, fácil manejo, adaptação ao cativeiro e alta taxa reprodutiva, vêm contribuindo para o estabelecimento desses símios como sujeitos experimentais em investigações biomédicas, comportamentais e neuropsicofarmacológicas (BARROS e TOMAZ, 2002; MANSFIELD, 2003).

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar a participação do sistema neuropeptidérgico das taquicininas no efeito de sensibilização comportamental induzido pela administração repetida de cocaína em uma espécie de primata não-humano (*Callithrix penicillata*).

3.2. Objetivos específicos

Especificamente, este trabalho se propôs a:

- a) verificar o desenvolvimento de um efeito de sensibilização nos comportamentos de locomoção e/ou vigilância após a administração repetida e sistêmica de cocaína em micos-estrela (*Callithrix penicillata*);
- b) determinar os níveis circulantes de cortisol nesses animais antes e após a administração repetida e sistêmica de cocaína;
- c) analisar o efeito da ativação repetida do receptor taquicinérgico NK₃, com o agonista direto senktide, nas respostas comportamentais induzidas pela administração de cocaína nesses animais;
- d) avaliar os níveis circulantes de cortisol nos micos antes e após a administração repetida e sistêmica de senktide;
- e) estabelecer o uso desse protocolo de sensibilização comportamental como ferramenta experimental no estudo dos mecanismos neuropsicobiológicos da dependência por cocaína em primatas não-humanos, assim como o uso do micos-estrela como modelo experimental nesse tipo de procedimento.

4. METODOLOGIA

4.1. Considerações éticas

O presente trabalho fez parte de um projeto de cooperação internacional Brasil-Alemanha (CAPESD/DAAD/PROBRAL 324/09) entre a Universidade de Brasília e a Universidade de Dusseldorf na Alemanha. O procedimento experimental descrito abaixo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília em 18 de fevereiro de 2011. O experimento foi realizado durante o mês de março do mesmo ano. Uma cópia do parecer encontra-se em anexo. Além disso, todos os preceitos éticos estipulados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) foram rigorosamente observados e a rotina de manejo já aprovada pelo IBAMA foi mantida ao longo de todo o estudo. Conforme estudos anteriores (LIMA e cols., 2008; DE SOUZA SILVA, 2006a,b), não se fez necessário um acompanhamento individualizado dos animais após o experimento. Os mesmos se readaptaram à rotina do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília e não apresentaram efeitos relacionados a uma possível abstinência à cocaína.

4.2. Sujeitos

Foram utilizados 15 sujeitos adultos (≥ 18 meses), machos e fêmeas, da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*; Fig. 3), pesando 260-400 g no início do estudo. Todos os sujeitos foram mantidos no CP-UnB, que é credenciado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) como criadouro de primatas para fins científicos (Registro IBAMA, 1/53/1999/000006-2). O CP-UnB está localizado na Fazenda Água Limpa da Universidade de Brasília, uma área de preservação ambiental, com viveiros que alojam os animais circundados por mata de galeria e que permitem a manutenção dos mesmos sob condições naturais de temperatura, luminosidade e umidade. Os sujeitos que participaram do estudo já faziam parte do plantel no CP-UnB, tendo

sido repassados pelo IBAMA há pelo menos dois anos ou nascidos no próprio CP-UnB.

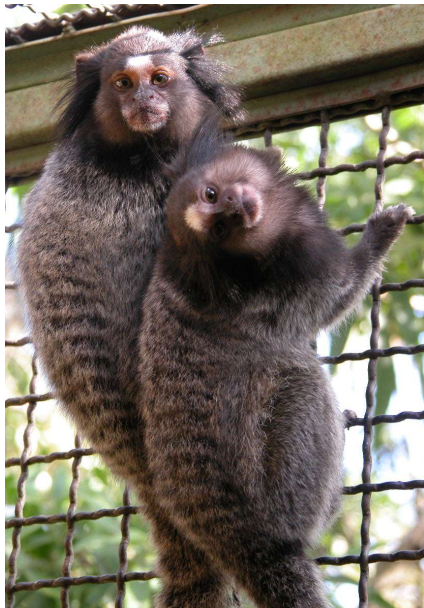


Figura 3. Fotografia de dois indivíduos adultos da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*), mantido em cativeiro no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília. (fotografia: Marília Barros)

Os animais foram alojados em casais heterossexuais, ou em duplas do mesmo sexo, em recintos padrões para calitriquídeos do CP-UnB (1,3 m de largura x 2 m de profundidade x 2 m de altura), porém nem todos os animais do plantel ou de um mesmo viveiro foram utilizados no presente estudo. O pavilhão para calitriquídeos do CP-UnB possui dois corredores paralelos, com doze viveiros cada, separados por um corredor central de segurança (Fig. 4). Portanto, contato olfativo e audível é possível entre todos os membros desse pavilhão. Já o contato visual só é possível entre os animais alojados em lados opostos do corredor de segurança. Acima dos recintos (0,5-1,5 m), um teto formado por placas de telha opaca e transparente cobre o corredor central de segurança e dois terços dos corredores de viveiros.

Cada viveiro é composto por duas paredes laterais de concreto compartilhadas por viveiros adjacentes, e tela metálica (malha: 2,5 cm²) formando a frente, o fundo e o teto. O piso dos viveiros é formado por um estrato de terra coberto com areia lavada, sobreposta por uma camada de serragem. Cada recinto

é equipado com uma caixa-ninho de madeira e um tubo de PVC para provimento de alimento seco (ração) suspensos do teto, vários poleiros de madeira em diferentes alturas e um comedouro de alumínio para alimento fresco.



Figura 4. Fotografias do pavilhão para alojamento de calitriquídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília. Esquerda: vista interna da entrada do corredor central de segurança; Centro: vista externa de um dos corredores de viveiros; Direita: vista externa de dois viveiros. (fotografias: Marília Barros)

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, às 07:30 e 13:00 h, e a sobra retirada às 17:30 h. A dieta consistiu em frutas, legumes, verduras, ovos cozidos, sementes/nozes e proteína (grilos, tenébrios, peito de frango/carne moída cozidos). Água e ração para primatas estavam disponíveis *ad libitum*.

As condições de alojamento e manutenção dos animais estavam de acordo com as normas e regulamentos do IBAMA. Todos os animais foram pesados no início e ao final dos procedimentos do presente trabalho e tiveram acompanhamento veterinário permanente durante a sua realização.

4.3. Aparato experimental

O aparato empregado, o Campo Aberto (CA), consistiu em uma arena retangular de livre circulação (130 cm de largura x 75 cm de profundidade x 40 cm de altura), suspensa a 1,2 m do solo (Fig. 5). Apresentava um chão de tela metálica (malha de 2,5 cm²), três paredes de chapa de alumínio, e a quarta parede e o teto eram de vidro transparente de 4 mm. Uma porta tipo-guilhotina, localizada na

parede oposta à de vidro, dava acesso ao aparato. O mesmo foi pintado todo de branco para facilitar o rastreamento automático dos sujeitos por um programa de análises comportamentais (vide seção 4.4 abaixo).



Figura 5. Fotografias do aparato experimental do Campo Aberto utilizado no estudo. Esquerda: Vista frontal, mostrando a frente e o teto de vidro. Centro: Visão de traz mostrando a caixa transporte acoplada, o piso pintado de branca para contrastar com a cor do animal, o teto e a frente de vidro e a câmera frontal. Direita: Vista da porta de entrada mostrando a câmera superior. (fotografias: Jonathan L Melamed)

O aparato foi montado em uma sala de experimento situada a 50 m dos viveiros de moradia dos animais. Portanto, os sujeitos foram transportados dos seus viveiros até a sala de experimento, e depois de volta aos seus viveiros, via uma caixa de transporte (35 cm largura x 20 cm de profundidade x 23 cm de altura). Esta não permitia a visualização do ambiente durante o transporte, tendo uma porta tipo-guilhotina que se acoplava diretamente à de entrada/saída do aparato.

A observação e o registro das sessões foram realizados via um circuito interno de filmagem. Esse sistema consistiu em duas câmeras digitais firewire (Fire-

i, Unibrain, EUA), uma fixada a aproximadamente 1,5 m diretamente acima do aparato (vista superior) e a outra a 1,5 m na frente da parede de vidro do CA (vista frontal). As duas câmeras foram acopladas diretamente a um computador portátil (*laptop*) localizado em uma sala adjacente à sala de experimento, de onde todas as sessões foram observadas e registradas. O mesmo programa permitiu a divisão do aparato em 15 quadrantes virtuais (26 x 25 x 40 cm) para as análises comportamentais (vide seção 4.4 abaixo).

4.4. Drogas

As seguintes substâncias foram utilizadas:

- a) hidrocloreto de cocaína (Sigma-Aldrich; EUA): dissolvido em solução salina e injetado nas doses de 5 ou 7 mg/kg;
- b) senktide (Bachem, Bubendorf; Switzerland): dissolvido em solução salina e injetado na dose de 0,2 mg/kg.

A administração dos compostos acima foi feita via injeções intraperitoneais e no volume de 1 mL/kg. Solução salina foi empregada como veículo para ambas as drogas, sendo administrada da mesma forma e no mesmo volume. As doses empregadas e o intervalo entre a administração e o teste (observação comportamental) foram determinados com base em estudos prévios com micos (DE SOUZA SILVA e cols., 2006b).

4.5. Coleta e análise dos dados comportamentais

Cada sujeito foi, inicialmente, submetido a três sessões de 5 min de manuseio (*handling*), realizados em intervalos de 24 h, com o intuito de serem habituados aos procedimentos de captura, manuseio, acomodação na caixa-transporte e transporte por curtas distâncias (viveiro de moradia – sala de experimento), independente de qualquer experiência em experimentos anteriores

(Fig. 6). Para tanto, cada mico foi rapidamente capturado no seu viveiro de moradia, com o auxílio de uma rede e luvas de couro, colocado na caixa-transporte e depois levado à sala de experimento. Nesta sala, o animal permaneceu dentro da caixa-transporte (acoplado ao aparato) por 5 min, sendo então levado de volta ao seu viveiro de moradia.

Após as sessões de manuseio, os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais (i.e., salina, cocaína e senktide), conforme detalhado abaixo na Tabela 1. Cada sujeito foi submetido ao mesmo protocolo de sensitização, dividido em três fases consecutivas (Fig. 6). Dessa forma, nos dias 1 a 7, todos os animais foram submetidos diariamente a uma sessão de análise comportamental de 20 min cada (Fase 1). Antes de cada uma dessas sessões, os sujeitos receberam o tratamento pré-estabelecido, ou seja: salina ou 7 mg/kg de cocaína 5 min antes do teste comportamental ou 0,2 mg/kg de senktide 20 min antes do teste. Essa primeira fase de tratamento foi seguida imediatamente por um período de sete dias consecutivos sem a administração de qualquer substância ou teste experimental (Fase 2). No dia 14, independente do grupo, todos os sujeitos receberam uma única administração teste de cocaína 5 min antes de serem observados no aparato do CA por 20 min (Fase 3). Para esta sessão, foi administrado em cada animal uma dose de 5 mg/kg de cocaína.

Em cada sessão (fases 1 e 3), o sujeito foi capturado em seu viveiro de moradia, injetado com o composto pré-estabelecido (i.e., dias 1-7 com salina, cocaína ou senktide; dia 14 com cocaína), colocado dentro da caixa-transporte e levado até a sala de experimento. Após o intervalo pré-estabelecido (de 5 ou 20 min) entre a injeção e o teste de cada grupo, o sujeito foi liberado dentro do aparato. Durante cada sessão de 20 min foi dado acesso livre e espontâneo a todo o aparato do CA, sendo o sujeito levado de volta ao seu viveiro de moradia, via a caixa-transporte, ao final desse intervalo.

Tabela 1. Composição dos três grupos experimentais, indicando o número de sujeitos, os compostos administrados e o intervalo entre o aplicação de cada tratamento e o início da observação comportamental nas fases 1 e 3 do procedimento.

Grupo	No. sujeitos	Fase 1		Fase 3	
		Substância	Intervalo administração-teste	Substância	Intervalo administração-teste
1 – Sal	cinco	solução salina	5 min	cocaína (5 mg/kg)	5 min
2 – Coc	cinco	cocaína (7 mg/kg)	5 min	cocaína (5 mg/kg)	5 min
3 – Snk	cinco	senktide (0,2 mg/kg)	30 min	cocaína (5 mg/kg)	5 min

A ordem dos sujeitos em cada dia de teste foi randomicamente estabelecida e o procedimento experimental realizado entre às 13:00 e 18:00 h. Todas as sessões foram observadas de uma sala adjacente à sala de experimento, através do circuito interno de filmagem, e gravadas no programa de análise comportamentais Any-Maze Video Tracking System (Stoelting Co., EUA).

Em cada sessão de 20 min no aparato do CA, o programa Any-Maze registrou automaticamente o padrão de locomoção, a saber: distância total percorrida em metros, número total de cruzamento de quadrantes (imaginários) e a velocidade média de deslocamento em metros/segundo. Os comportamentos de vigilância, que não puderam ser registrados automaticamente, foram inseridos manualmente no mesmo programa por um experimentador com uma confiabilidade intra-observador >95%. O registro manual se deu via teclas pré-determinadas no teclado do laptop. Os seguintes comportamentos de vigilância foram registrados: 1) *scan* – duração e freqüência de movimentos longos e duradores de varredura da cabeça direcionados ao ambiente, enquanto o animal permanecia parado, com duração ≥ 5 s; 2) *glance* – freqüência de movimentos curtos e rápidos de varredura da cabeça direcionados ao ambiente, enquanto o animal permanecia parado, com duração <5 s; e 3) *leg stand* – freqüência com que o animal ficou em uma posição bipedal (com ou sem o apoio das mãos). Os comportamentos de vigilância foram

baseados em etogramas de calitriquídeos (STEVENSON & RYLANDS, 1988) e estudos comportamentais com esta espécie (BARROS e cols., 2004a, 2004b, 2008).

4.6. Coleta de sangue e análise de cortisol

Foram coletadas amostras de sangue (1,5 mL cada) de cada sujeito nos dias experimentais 0, 8, 15 e 30 (Fig. 6). Portanto, essas quatro amostras foram coletadas nos seguintes momentos ao longo do procedimento experimental descrito acima: 1) dia 0 – uma semana antes do início do procedimento (controle do nível basal); 2) dia 8 – após a última sessão de tratamento da fase 1; 3) dia 15 – após a sessão teste da fase 3; e 4) dia 30 – 30 dias após a sessão teste da fase 3. Todas as coletas foram realizadas das 09:00 às 10:00 h. Portanto, as amostras obtidas nos dias 8 e 15 foram coletadas na manhã seguinte a sessão experimental.

Em cada dia de coleta, o procedimento consistiu em capturar o animal no seu viveiro de moradia, levá-lo até uma sala de procedimento anexo ao pavilhão dos calitriquídeos e anestesiá-lo com o auxílio de um algodão previamente embebido com o anestésico inalatório isoflurano (Fluorane[®]) colocado próximo às vias aéreas do animal. O animal foi considerado anestesiado ao se observar uma diminuição na sua frequência respiratória e uma cessação de movimentos voluntários. Uma vez anestesiado, uma amostra de 1,5 mL de sangue foi obtida por punção da veia femoral com uma seringa de 3 mL e agulha de 0,55 x 20 mm. A amostra obtida foi colocada em um tubo pré-resfriado com ativador de coagulação para dosagem do cortisol sérico, sendo mantida resfriada em gelo até seu processamento inicial no laboratório. O sujeito foi, então, liberado de volta em seu viveiro de moradia e acompanhado durante 15 min pós-anestesia até a sua completa recuperação e provido com suplementos vitamínicos.

O tempo necessário para efetuar a coleta de sangue foi registrado, visto que esse procedimento *per se* pode influenciar os níveis hormonais observados na

amostra. Esse intervalo de coleta foi considerado como o tempo entre a entrada no viveiro do sujeito para sua captura até a conclusão do procedimento da venopunção. Em cada dia de coleta a ordem dos sujeitos foi randomizada e todas as coletas de sangue foram realizadas pelos médicos veterinários do CP-UnB.

As amostras de sangue resfriadas foram centrifugadas por 10 min a 4.000 rpm e temperatura ambiente. O soro de cada amostra foi coletado e armazenado em um tubo eppendorf. O soro foi, então, diluído a um fator de 1:50 com água tri-distilada para as dosagens dos níveis de cortisol. O fator de diluição empregado foi baseado em um estudo prévio com essa mesma espécie no qual foi utilizado um procedimento de coleta e análise semelhante (LIMA et al., 2008). O soro diluído foi analisado para a determinação da concentração sérica de cortisol através de um único ensaio imunoenzimático por fluorescência (*enzyme-linked-fluorescent assay* – ELFA) usando kits comerciais de cortisol para o sistema automatizado MiniVidas (kit: CORS; Biomérieux, EUA). A sensibilidade do ensaio foi de 2 ng/mL e os coeficientes de variação (CVs) inter- e intra-ensaio foram de 9,6% e 8,2%, respectivamente.

4.7. Análise estatística

A análise estatística foi feita no programa SigmaStat (Systat Software Inc.). Para tanto, foram utilizados apenas os dados obtidos na 1ª e 7ª sessão de tratamento (dias 1 e 7) e a sessão teste (dia 14). Os resultados comportamentais e hormonais foram comparados para detecção de possíveis diferenças estatísticas entre e dentro os grupos experimentais. Dessa forma, os dados de cada parâmetro foram analisados via uma Análise de Variância de duas vias de desenho misto (*two-way mixed-design ANOVA*), com o grupo experimental como a variável independente (salina, cocaína e senktide) e a sessão (dias 1, 7 e 14) ou coleta de sangue (dias 0, 8, 15 e 30) como fator de medida repetida. Quando resultados significativos foram obtidos, comparações *post hoc* foram realizadas usando o teste

de Tukey. Além disso, a duração do procedimento de coleta de sangue foi comparada ao respectivo nível de cortisol detectado usando o teste de correlação de Pearson. O nível de significância para todos os testes foi de $p \leq 0,05$. Para cada parâmetro, os resultados estão expressos como a média dos valores e o erro padrão da média (e.p.m.).

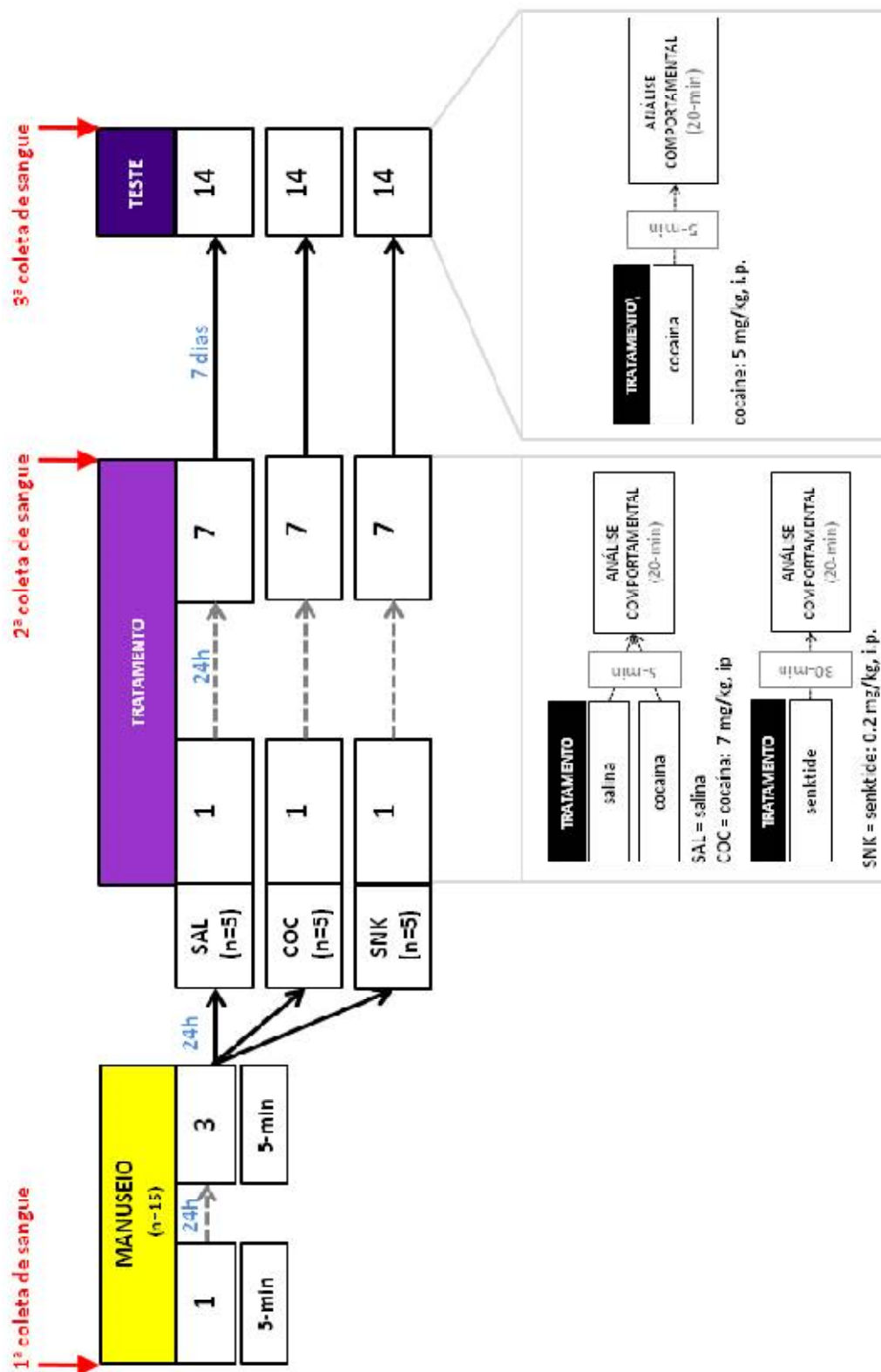


Figura 6. Representação esquemática do procedimento experimental realizado, incluindo as três sessões iniciais de manuseio, as sete sessões de tratamento nos dias 1-7 da Fase 1, o período de sete dias de retirada da Fase 2, a sessão teste no dia 14 da Fase 3 e três das quatro coletas de sangue efetuadas, bem como os compostos empregados em cada etapa.

5. RESULTADOS

5.1. Comportamentos de vigilância

No presente estudo, as respostas de *scan*, *glance* e *leg stand* foram avaliadas como comportamentos de vigilância no mico-estrela (CAINE, 1993; FERRARI e LOPES FERRARI, 1990). Para o comportamento de *scan*, especificamente, a duração do mesmo diferiu significativamente entre as sessões [F(2,36)=7,82, $p<0,01$; Fig. 7]. Embora a comparação entre os três grupos experimentais não tenha atingido níveis significativos [F(2,36)=2,97, $p=0,06$], uma interação significativa foi detectada ao se comparar os fatores grupo vs. sessão [F(4,36)=4,15, $p<0,01$]. Portanto, as diferenças observadas entre as sessões dependeram especificamente do grupo (i.e., do tratamento recebido). De fato, análises *post hoc* indicaram que a duração do comportamento de *scan* observada nos dias 7 e 14 foi significativamente ($p<0,05$) maior do que aquela detectada no dia 1, mas apenas no grupo tratado com cocaína.

Um perfil similar foi detectado para a frequência do comportamento de *scan* (Fig. 7), com diferenças significativas entre [F(2,36)=9,62, $p<0,001$] e dentre os três grupos experimentais [F(2,36)=8,87, $p<0,001$], bem como uma interação significativa entre os fatores grupo e sessão [F(4,36)=3,53, $p<0,05$]. Análises *post hoc* desse parâmetro indicaram que os micos do grupo cocaína realizaram um número significativamente maior ($p<0,05$) de *scans* nos dias 7 e 14, comparado ao dia 1. Nesses mesmos dias (7 e 14), a frequência de *scans* realizada por esse grupo experimental diferiu significativamente ($p<0,05$) dos níveis observados nos sujeitos do grupo salina. Já no grupo senktide, o número de *scans* realizado na sessão teste (dia 14) foi significativamente maior ($p<0,05$), quando comparado aos dias 1 e 7. Esse grupo diferiu significativamente ($p<0,05$) dos sujeitos do grupo salina apenas na sessão teste (dia 14), quando a frequência de *scan* atingiu níveis similares àqueles vistos no grupo cocaína.

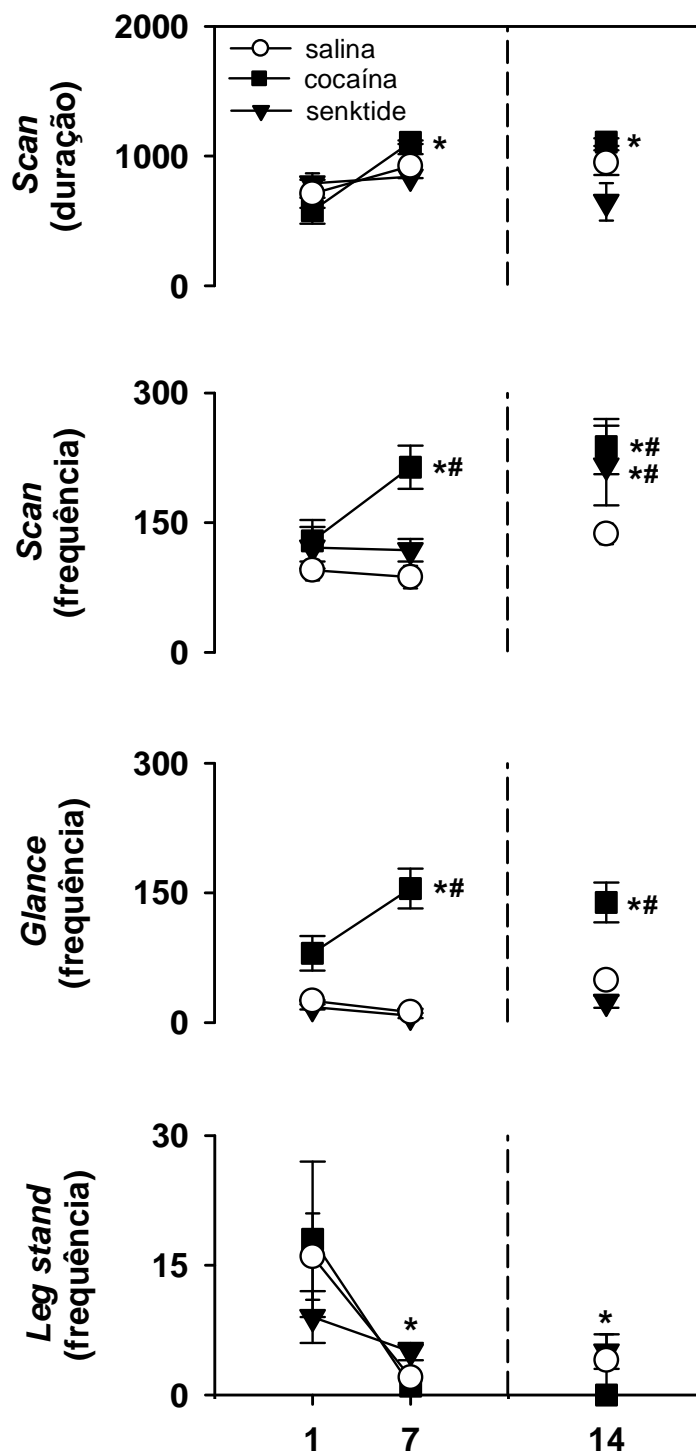


Figura 7. Média (\pm e.p.m.) da duração do comportamento de *scan* (em segundos), bem como a frequência de *scans*, *glances* e *leg stands* observados durante a primeira e última sessão de tratamento (dias 1 e 7, respectivamente), bem como a sessão teste realizada após um intervalo de 7 dias (dia 14), nos animais tratados com salina, cocaína ou senktide. $n=5$ /grupo; $\#p<0,05$ vs. salina; $*p<0,05$ vs. respectiva sessão de tratamento 1.

Para os índices de *g*lance (Fig. 7), também foi observado um efeito significativo entre [F(2,36)=60,88, p<0,001] e dentre os grupos experimentais [F(2,36)=4,09, p<0,05], além de uma interação significativa ao se comparar os fatores grupo vs. sessão [F(4,36)=3,86, p<0,01]. Novamente, a frequência do comportamento de *g*lance foi significativamente (p<0,05) maior nos dias 7 e 14, se comparados ao dia 1, apenas no grupo cocaína. Nessas mesmas sessões, o grupo cocaína também diferiu significativamente (p<0,05) dos grupos salina e senktide. Vale ressaltar que, no grupo salina, os comportamentos de *scan* (duração e frequência) e *g*lance permaneceram constantes ao longo de todas as sessões.

Por outro lado, para os três grupos experimentais, os níveis do último comportamento relacionado à vigilância analisado (i.e., *leg stand*, Fig. 7) foram significativamente menores nos dias 7 e 14, se comparados ao dia 1 [efeito de grupo: F(2,36)=0,09, p=0,092; efeito da sessão: F(2,36)=8,78, p<0,001; interação: F(4,36)=0,88, p=0,49].

5.2. Padrão de atividade locomotora

Para o parâmetro da atividade locomotora foram avaliados a distância percorrida, o número de cruzamentos de quadrantes (imaginários) e a velocidade média de deslocamento dentro da arena do CA. A velocidade média de deslocamento dos micos dentro aparato diferiu significativamente entre as sessões [F(2,36)=4,86, p<0,05; Fig. 8], mas não entre os grupos [F(2,36)=2,55, p=0,09]. Ademais, houve uma interação significativa quando os fatores grupo vs. sessão foram comparados [F(4,36)=2,64, p<0,05], o que indica que as diferenças observadas entre as sessões foram dependentes do grupo experimental. De fato, análises *post hoc* indicaram que, apenas para o grupo senktide, a velocidade média de deslocamento durante a sessão teste (dia 14) foi significativamente (p<0,05) maior do que aquela vista nos dias de tratamento 1 e 7. Para os grupos cocaína e salina, esse parâmetro permaneceu constante ao longo das sessões e em níveis

similares entre si. Para os demais parâmetros (Fig. 8), efeitos significativos entre e dentro os grupos não foram observados, bem como nenhuma interação entre os fatores grupo vs. sessão [Distância percorrida – efeito de grupo: $F(2,36)=0,66$, $p=0,52$; efeito da sessão: $F(2,36)=2,75$, $p=0,08$; interação: $F(4,36)=2,02$, $p=0,11$; Número de cruzamentos – efeito de grupo: $F(2,36)=0,26$, $p=0,78$; efeito da sessão: $F(2,36)=2,03$, $p=0,15$; interação: $F(4,36)=1,86$, $p=0,12$].

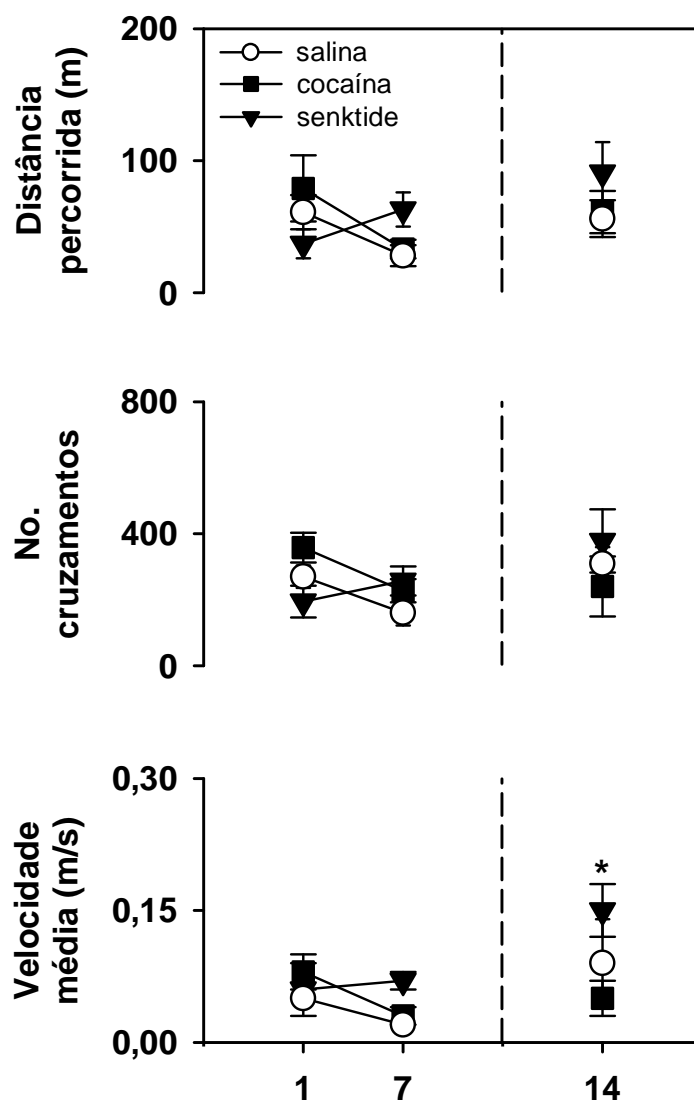


Figura 8. Média (\pm e.p.m.) da distância percorrida (em metros), do número de cruzamentos de quadrantes (imaginários) e da velocidade média de deslocamento (em metros/segundo) dentro do aparato do Campo Aberto, observados durante a primeira e última sessão tratamento (dias 1 e 7, respectivamente), bem como a sessão teste realizada após um intervalo de 7 dias (dia 14), nos micos tratados com salina, cocaína ou senktide; $n=5$ /grupo; * $p<0,05$ vs. respectiva sessão tratamento 1 e 7.

5.3. Níveis séricos de cortisol

5.3.1. Tempo de coleta de sangue

Como os dados hormonais foram obtidos através da análise do sangue coletado dos animais e esses são influenciados pelo nível de estresse ao qual o animal está sujeito, que, por sua vez, é influenciado pelo tempo de manuseio do animal, foi realizado um controle do tempo despendido para obtenção de cada amostra (Tabela 2). Para isso, foi registrado o tempo de: 1) captura do sujeito, entrada do tratador no viveiro do animal, captura propriamente dita do mesmo, e o seu transporte até a sala de procedimento; 2) anestesia do sujeito, aproximação do algodão com anestésico das vias aéreas do animal até o início do efeito (conforme detalhado acima); e 3) e tempo total despendido no procedimento.

Tabela 2. Tempo médio (\pm e.p.m.), em segundos, despendido em cada etapa do procedimento de coleta de sangue, e para cada uma das quatro amostras obtidas, nos micos-estrela dos três grupos experimentais (salina, cocaína e senktide).

Coleta	Duração do procedimento (s)		
	Captura	Anestesia	Punção
Dia 0 – 1ª coleta			
salina	25 \pm 8	95 \pm 7	229 \pm 47
cocaína	31 \pm 5	97 \pm 17	192 \pm 48
senktide	49 \pm 26	104 \pm 26	213 \pm 35
Dia 8 – 2ª coleta			
salina	20 \pm 11	66 \pm 10	254 \pm 65
cocaína	18 \pm 5	90 \pm 14	261 \pm 46
senktide	47 \pm 20	77 \pm 16	145 \pm 15
Dia 15 – 3ª coleta			
salina	25 \pm 10	79 \pm 29	134 \pm 14
cocaína	24 \pm 7	98 \pm 9	144 \pm 11
senktide	41 \pm 8	103 \pm 19	168 \pm 30
Dia 30 – 4ª coleta			
salina	31 \pm 13	90 \pm 18	277 \pm 46
cocaína	24 \pm 6	67 \pm 12	292 \pm 57
senktide	34 \pm 18	98 \pm 14	162 \pm 11

5.3.2. Níveis séricos observados

Os níveis séricos de cortisol diferiram significativamente entre os grupos [$F(2,48)=3,66$, $p<0,05$], mas não entre as quatro amostras coletadas [$F(3,48)=2,19$, $p=0,10$]. Além disso, não houve uma interação significativa entre os fatores grupo e amostra [$F(6,48)=1,70$, $p=0,14$; Fig. 9]. O nível sérico de cortisol observado na amostra de sangue coletada no dia 15 diferiu significativamente ($p<0,05$) entre os três grupos testados, com o grupo cocaína demonstrando uma concentração menor do que aquela detectada nos demais grupos experimentais.

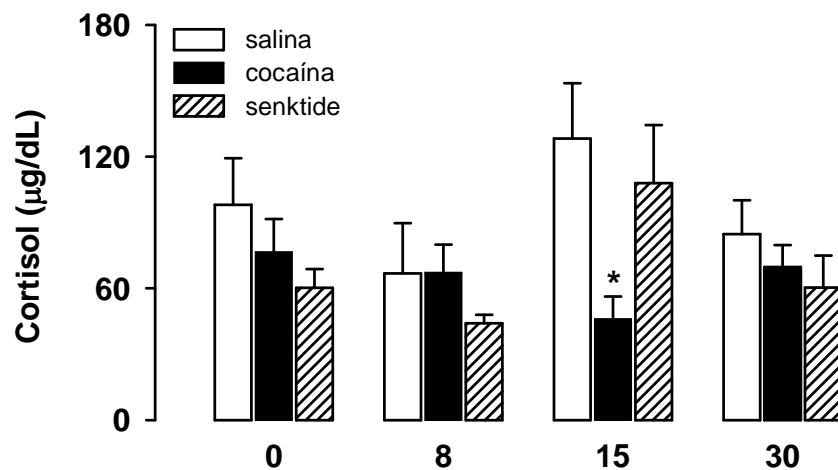


Figura 9. Média (+e.p.m.) do nível de cortisol sérico observado antes da realização dos testes comportamentais (dia 0), nas manhãs após a última sessão de tratamento (dia 8) e sessão teste (dia 15), e 30 dias depois da sessão teste (dia 30) nos micos tratados com salina, cocaína ou senktide; $n=5$ /grupo; * $p<0,05$ vs. respectivo grupo salina e senktide.

5.3.3. Correlações entre os níveis séricos e o tempo de coleta

Para as correlações entre os níveis séricos observados e o tempo de coleta foi empregado a duração total do procedimento. Não houve uma correlação significativa entre as concentrações séricas de cortisol detectadas em cada uma das quatro amostras coletadas com o respectivo tempo necessário para se obter as amostras de sangue (dia 0: $r= -0,03$, $p=0,99$; dia 8: $r=0,39$, $p=0,15$; dia 15: $r=0,14$, $p=0,63$; dia 30: $r=0,04$, $p=0,90$).

6. DISCUSSÃO

6.1. Efeito de hipervigilância e hiperlocomoção

A administração repetida de cocaína nos micos-estrela induziu um aumento significativo nos comportamentos relacionados à vigilância, o que é indicativo de um efeito de hipervigilância. De fato, a duração do comportamento de *scan* foi significativamente maior na última sessão de tratamento (sessão 7), comparada à primeira (sessão 1). Esse efeito foi observado apenas no grupo de animais tratados com cocaína. Além disso, o mesmo padrão de resposta também foi observado para a frequência dos comportamentos de *scan* e *glance*, com níveis maiores dos mesmos na sessão 7, comparada à sessão 1, e apenas no grupo em que foi administrada a cocaína. Para os demais grupos, as taxas de *scan* e *glance* permaneceram constantes entre as sessões 1 e 7. Ou seja, a administração repetida de senktide *per se* não induziu um efeito de hipervigilância.

Os comportamentos de *scan* e *glance* estão intimamente relacionados à capacidade dos micos de detectarem rapidamente diferentes tipos de objetos em seu ambiente (CAINE, 1984; HARDIE e BUCHANAN-SMITH, 1997; BUCHANAN-SMITH, 1999), aumentando em resposta a uma ameaça ou logo antes de se recolherem ao entardecer (CAINE, 1984, 1998; CAINE e WELDON, 1989; HARDIE e BUCHANAN-SMITH, 1997; KOENIG, 1998). Vale ressaltar que esse padrão persiste inclusive em animais nascidos e/ou mantidos em cativeiro (CAINE, 1984; BUCHANAN-SMITH, 1999; BARROS e cols., 2002), indicando a sua importância para o repertório comportamental de calitriquídeos.

No entanto, o efeito de hipervigilância detectado parece ter sido comportamento-dependente, uma vez que, a frequência de *leg stand* observada foi na verdade menor na sessão 7, comparada à sessão 1. Esse padrão se assemelha mais a um efeito de habituação ao ambiente novo em que os animais foram testados (aparato). Ademais, essa redução nos níveis de *leg stand* foi observada em todos os animais, independente do tratamento administrado. O *leg stand*

também é visto como um comportamento de vigilância, uma vez que permite ao indivíduo uma maior visibilidade do seu ambiente (STEVENSON e RYLANDS, 1988), sendo inclusive sensível a manipulações farmacológicas diversas (BARROS e cols., 2002, 2007).

Por outro lado, os parâmetros relacionados à locomoção não foram afetados pelos compostos testados ao se comparar as sessões 1 e 7. Tal resultado é indicativo de que a cocaína e o senktide, por si sós, não induzem um efeito de hiperlocomoção nos micos. Essa constância nos níveis de locomoção, da primeira à última sessão de tratamento, era esperada. As alterações comportamentais induzidas pela cocaína podem ser expressas de maneiras diferentes e, enquanto roedores exibem um padrão comportamental de hiperlocomoção, primatas não-humanos tendem a realizar hipervigilância, sendo estes comportamentos mutuamente excludentes (BRADBERRY, 2007; VANDERSCHRUEN e KALIVAS, 2000). Já foi observado por alguns autores, como por exemplo POST e cols. (1976) e RIDLEY e cols. (1982), a falta do efeito de hiperlocomoção em primatas não-humanos quando da administração repetida de cocaína nestes. Ao que tudo indica, apenas macacos que demonstram altos níveis basais de atividade locomotora tendem a ter uma exacerbação desse tipo de comportamento em resposta a administração de psicoestimulantes (CASTNER e GOLDMAN-RAKIC, 2003; MELLO e cols., 2005), como tipicamente observado em roedores. Em primatas não-humanos o córtex pré-frontal parece exercer um papel fundamental na mediação desse efeito, ao contrário dos roedores onde o NAcc atua de forma expressiva (revisado em CASTNER e WILLIAMS, 2007).

6.2. Efeito de sensibilização comportamental e mediação taquicinérgica

A exposição repetida a vários tipos de drogas de abuso, incluindo a cocaína, leva a um aumento da resposta comportamental normalmente induzida pelas mesmas, um fenômeno denominado sensibilização comportamental (STEKETEE e

KALIVAS, 2011). No presente estudo, esse efeito foi observado nos micos com a administração repetida de cocaína.

De fato, altos níveis dos comportamentos de vigilância foram detectados durante a sessão teste (sessão 14), em comparação com a última sessão de tratamento (sessão 7), apenas nos animais que foram tratados previamente com cocaína. Vale ressaltar que, nessa sessão teste, foi aplicada – depois de um intervalo de sete dias sem nenhuma interferência experimental/farmacológica – uma dose menor de cocaína (5 mg/kg) do que as injetadas durante as sete sessões de tratamento (7 mg/kg), e mesmo assim, a taxa de vigilância permaneceu elevada. Portanto, não houve diferença na duração do comportamento de *scan* e nas frequências de *scan* e *glance* entre as sessões 7 e 14 do grupo cocaína.

No entanto, nos animais que não foram tratados previamente com cocaína, a administração (aguda) de cocaína na dose de 5 mg/kg não foi suficiente para induzir alterações nos comportamentos de vigilância, como observado na comparação entre as sessões 7 e 14 do grupo salina. Nesse sentido, a dose de 5 mg/kg utilizada para a sessão teste parece ter sido baixa a ponto de não influenciar o repertório comportamental dos sujeitos não-sensibilizados pelo tratamento prévio com cocaína.

Além disso, a frequência do comportamento de *leg stand* permaneceu constante entre as sessões 7 e 14, independente do tratamento aplicado anteriormente. Portanto, o estabelecimento de um efeito de sensibilização do comportamento de vigilância nos micos-estrela também parece ser comportamento-dependente, assim como visto no efeito de hipervigilância descrito acima.

Condizente com os resultados negativos para hiperlocomção nessa espécie de primata, não foi constatada a indução de um efeito de sensibilização locomotora nos grupos previamente tratados com cocaína ou salina. Nesses dois grupos experimentais, todos os parâmetros de atividade locomotora permaneceram constantes entre as sessões 7 e 14.

Baseado nos resultados descritos, o presente estudo vai ao encontro com o que afirmam autores como KALVIAS e STEWART (1991), VANDERSCHUREN e KALIVAS (2000) e VEZINA (2004) em relação a roedores. Há um consenso entre esses autores de que roedores expostos repetidamente a psicoestimulantes apresentam respostas comportamentais aumentadas – sensitizadas – quando posteriormente testados com a mesma droga (VEZINA e LEYTON, 2009). Comparativamente, a literatura é escassa quanto aos efeitos progressivos do uso repetido de psicoestimulantes em primatas não-humanos. Essas drogas de abuso não aumentam os aspectos motores de primatas, o que torna difícil a medição instrumental dos efeitos comportamentais (BRADBERRY, 2007). De qualquer forma, há um padrão de comportamentos que parecem se tornar sensitizados com o uso repetido de psicoestimulantes, como estereotípias envolvendo a auto-catação ou a manipulação de objetos, movimentos bucais/linguais, e mais consistentemente, a vigilância (do ambiente) e o rastreamento de objetos não-existentes (POST e cols., 1976; CASTNER e GOLDMAN-RAKIC, 1999). No presente estudo, não foram observados comportamentos estereotipados além dos relacionados à vigilância já descritos acima. Em humanos, a evidência de um efeito de sensitização comportamental parece ser, essencialmente, o surgimento de psicoses paranóicas associadas com o abuso de anfetamina e cocaína (SATEL e cols., 1991; UJIKE e SATO, 2004).

Além disso, vale ressaltar que, muitas das drogas que induzem um efeito de sensitização comportamental são igualmente capazes de produzir uma disfunção cognitiva em humanos (revisado em LUNDQVIST, 2005) e apresentam uma alta propensão de levar à adicção. Em animais sensitizados, a reatividade de neurônios dopaminérgicos do NAcc a um desafio farmacológico está aumentada (revisado em KALIVAS e STEWART, 1991; VEZINA, 2004). Dada a importância das vias dopaminérgicas mesocorticolímbicas na geração de certos comportamentos, incluindo a busca e consumo de drogas de abuso, acredita-se que aumentos

duradouros da reatividade dessas vias poderiam levar a aumentos duradouros no desfecho desses comportamentos (VEZINA e LEYTON, 2009). Essa possibilidade foi importante para o desenvolvimento de uma visão teórica influente que propõe que o influxo de DA no NAcc sensitizado atua juntamente a outras alterações na neuroquímica desse núcleo para aumentar o efeito das drogas e promover sua busca e auto-administração (ROBINSON e BERRIDGE, 1993).

Vários fatores, incluindo o número de administrações, o intervalo entre as aplicações, a dose, o gênero, a idade e a genética do animal podem, em si, afetar o desenvolvimento e a intensidade da sensitização comportamental (POST e CONTEL, 1983). Essa já foi relatada em resposta à cocaína, anfetamina, morfina, etanol, nicotina e Δ^9 -tetrahydrocannabinol (JOYCE e IVERSEN, 1979; ROBINSON e BECKER, 1986; POST e cols., 1992). Além disso, a ocorrência de uma sensitização cruzada entre drogas com mecanismo de ações bem distintos já foi demonstrada. Por exemplo, animais repetidamente expostos a etanol foram sensitizados para a cocaína e vice-versa (ITZHAK e MARTIN, 1999). Ainda, animais com história de exposição repetida a tolueno, via inalação, apresentam uma resposta comportamental sensitizada à cocaína (BEYER e cols., 2001). Isto sugere que, mecanismos comuns subsidiam o desenvolvimento da sensitização comportamental, apesar do fato de diferentes classes de drogas terem sítios de ligação distintos no cérebro. Há, também, a influência do ambiente na sensitização. Esta pode ser dependente ou independente do contexto. VEZINA e cols. (1989) relataram a sensitização cruzada dependente do contexto.

Considerando os diversos possíveis fatores que influenciam a sensitização comportamental, o presente estudo também buscou avaliar uma possível mediação desse efeito pelos receptores taquicinérgicos do tipo NK₃. Nesse sentido, um grupo de animais foi tratado repetidamente com o agonista NK₃ senktide (sessões 1-7), e, após um intervalo de sete dias, foram injetados com uma dose de 5 mg/kg de cocaína (sessão 14). Neste grupo, foi observada uma diferença significativa entre

as sessões 7 e 14 quanto à frequência do comportamento de *scan*. De fato, na sessão 14, os níveis observados não diferiram significativamente da frequência vista no grupo previamente tratado com cocaína. Para os demais comportamentos de vigilância avaliados, não foram detectadas diferenças significativas entre as sessões 7 e 14, tendo-se um nível similar ao observado no grupo salina.

No entanto, a velocidade média detectada após a administração de 5 mg/kg de cocaína na sessão teste, nesse mesmo grupo previamente tratado com *senktide*, foi significativamente maior que a detectada na sessão 1. Nesse grupo, a velocidade média atingida após 5 mg/kg de cocaína foi maior que a vista para os demais grupos, mesmo que essa diferença não tenha atingido níveis significativos. Os demais parâmetros de locomoção permaneceram constantes ao longo do estudo. Logo, considerando os resultados obtidos para o comportamento de *glimp* e a velocidade média, a ativação repetida do receptor taucinérgico NK₃ parece ter potencializado alguns dos efeitos da cocaína nos micos testados no presente estudo.

Em roedores, o bloqueio agudo de receptores NK₃ parece prevenir o desenvolvimento da sensitização comportamental à cocaína. De fato, a habilidade do antagonista do receptor NK₃ SB 222200 de inibir a sensitização locomotora à cocaína sugere um mecanismo envolvendo a liberação de ligantes taucinérgicos endógenos - induzida pela cocaína - que por sua vez ativaria os receptores NK₃. A administração aguda e repetida de cocaína aumenta os níveis de mRNA de pré-protaucinininas no estriado (MATHIEU-KIA e BESSON, 1998; ADAMS e cols., 2001), os quais codificam precursores para os ligantes endógenos do sistema taucinérgico, como a SP e o NKB. Por isso, acredita-se que a ativação de receptores NK₃, por meio da liberação de ligantes endógenos, altere a neurotransmissão dopaminérgica para o NAcc (HUMPEL e cols., 1991; BANNON e cols., 1995), o que pode contribuir para a sensitização comportamental (NWANESHIUDU e UNTERWALD, 2010).

Existem evidências sugerindo o envolvimento dos receptores NK₃ em processos relacionados à memória, à ansiedade e ao reforçamento (HUSTON e cols., 1993). Foi demonstrado em ratos que esses mesmos receptores medeiam os efeitos comportamentais agudos e crônicos da cocaína (JOCHAM e cols., 2006). Ainda, a administração central de SP (HASENÖHRL e cols., 2000) e aminosenktide (CICCOCIOPPPO e cols., 1998) levou à preferência condicionada por lugar.

Contudo, o desenvolvimento de um ensaio para a investigação da atividade do receptor NK₃ *in vivo* tem sido seriamente prejudicado pelas diferenças entre humanos de um lado, e de ratos e camundongos de outro. Em contraste com a alta afinidade e especificidade para os receptores taquicinérgicos humanos, tanto o osanetant e o talnetant apresentam baixa afinidade pelo receptor de camundongos e ratos (NGUYEN-LE e cols., 1996). Essa falta de afinidade parece ser limitada a pequenas moléculas de antagonistas, que interagem com alças de ligação sobrepostas (mas não idênticas) nos domínios transmembrana do receptor NK₃ em humanos (MALHERBE e cols., 2008). De qualquer forma, novos estudos se fazem necessários para melhor avaliar o efeito de ligantes do receptor NK₃ em animais previamente sensibilizados.

6.3. Efeito sobre os níveis séricos de cortisol

O estresse, por meio da ativação do eixo HPA e da liberação de glicocorticóides, influencia muitas regiões cerebrais, incluindo neurônios dopaminérgicos que expressam receptores para corticóides (HARFSTRAND e cols., 1986). A interação de glicocorticóides com o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico pode ter um impacto significativo na vulnerabilidade à auto-administração de drogas de abuso. Em condições basais, a secreção de glicocorticóides e a liberação de dopamina são baixas. Um estresse agudo causa um aumento na secreção de glicocorticóides, que, por aumentar a liberação de dopamina, resulta num aumento da sensibilidade aos efeitos reforçadores das

drogas de abuso, e assim, um aumento da auto-administração (LE MOAL e KOOB, 2007). A exposição repetida ao estresse e um conseqüente aumento repetido na concentração de glicocorticóides prejudica progressivamente o *feedback* negativo dos glicocorticóides pela diminuição do número de seus receptores no hipocampo (LE MOAL e KOOB, 2007). Isto produz aumentos duradouros na secreção de glicocorticóides e na liberação de DA no NAcc. Portanto, após estresse repetido, um aumento na sensibilidade a drogas é encontrado mesmo semanas após o fim da exposição ao estressor (LE MOAL e KOOB, 2007).

Além disso, ratos que receberam injeções repetidas de corticosterona adquirem a auto-administração de cocaína em doses menores do que aqueles injetados com veículo (PIAZZA e cols., 1991a,b). Os glicocorticóides e estimulantes agem no mesmo nível celular, particularmente na região da concha do NAcc (BARROT e cols., 2000) e animais, especialmente aqueles que reagem mais ao estresse e a estimulantes, se auto-administram glicocorticóides da mesma forma que o fazem com psicoestimulantes (PIAZZA e cols., 1993). Esses resultados sugerem que hormônios do estresse podem ser um dos fatores que determinam a vulnerabilidade ao abuso de substâncias.

A retirada de drogas de abuso leva a aumentos da liberação do fator de liberação de corticotropina (CRF), como por exemplo na amígdala. Além disso, antagonistas de CRF bloqueiam a ansiedade ou as respostas aversivas associadas com a retirada de drogas (para revisão: KOOB e LE MOAL, 2005a). No entanto, não existem estudos acerca dos efeitos de uma administração aguda ou repetida de senktide nos níveis de cortisol sérico.

No presente estudo, a administração repetida de cocaína ou senktide não foi capaz de alterar o nível sérico de cortisol dos micos. Em geral, não houve diferenças significativas entre as quatro amostras obtidas em um mesmo grupo ou entre os três grupos experimentais. Apenas na coleta realizada no dia 15 (i.e., na manhã após a sessão teste) foi detectada uma concentração de cortisol

significativamente menor no grupo tratado com cocaína, comparada aos demais animais. Esse resultado pode ter sido influenciado por alguns animais dos grupos senktide e salina (i.e., diferenças individuais) e/ou a uma elevação dos níveis de estresse em resposta à frequência do procedimento de coleta de sangue até essa fase do estudo. Um aumento nos níveis circulantes de cortisol já foi relatado em micos em resposta ao regime de coleta/amostragem (SARNYAI e cols., 1996). Tal efeito pode não ter sido detectado no grupo cocaína em virtude das diversas alterações neuroquímicas e fisiológicas já induzidas inerentemente pela droga. Após um intervalo de 30 dias, não houve mais diferença entre os grupos.

Vale ressaltar que o resultado obtido não parece ter sido influenciado pelo estresse de contenção, uma vez que não houve uma correlação entre os níveis de cortisol observados e o tempo despendido para obtenção das amostras de sangue. Além disso, os níveis basais observados (dia 0) se assemelham a dados previamente publicados para essa (LIMA e cols., 2008) e outras espécies de micos (YAMAMOTO e cols., 1977; CHROUSOS e cols., 1982; KLOSTERMAN e cols., 1986). O longo intervalo entre a administração/observação comportamental e a coleta de sangue também pode ter contribuído para falta de efeito observado nos níveis de cortisol. Porém, LIMA e cols. (2008) também não relatam mudanças nesse parâmetro fisiológico em micos-estrela, mesmo após 30 ou 60-min da administração de uma dose superior à testada no presente estudo (10 mg/kg). Nesse trabalho, os autores sugerem que a falta de efeito possa estar associado ao alto nível basal de glicocorticóides circulantes, típico para várias espécies de primatas do Novo Mundo. Ainda, uma afinidade de ligação ao receptor reduzida é sugerida para explicar a resistência a variações dos níveis séricos de glicocorticóides dos micos (LIMA e cols., 2008).

De qualquer forma, a falta de efeito observado no presente estudo deve ser interpretado com cautela, devendo novos estudos serem realizados para que se

possa melhor avaliar a relação entre a cocaína, o senktide e a ativação do HPA nessa e em outras espécies de primatas não-humanos.

6.4. Perspectivas futuras

Este estudo buscou contribuir com novas informações sobre a mediação via receptores NK₃ cerebrais de alguns aspectos da sensitização comportamental induzida pela cocaína. Contudo, alguns aspectos permanecem a ser estudados. A falta de estudos acerca do efeito da ativação do receptor NK₃ em animais previamente sensitizados aponta para a necessidade de estudos que avaliem aspectos da ativação repetida desses receptores sobre os efeitos da cocaína. Ainda, o pré-tratamento com senktide e o tratamento com cocaína, conforme NWANESHIUDU e UNTERWALD (2009 e 2010) investigaram em ratos, pode ajudar a elucidar as diferenças interespecíficas e permitir melhores extrapolações dos resultados a humanos.

7. CONCLUSÕES

No presente estudo, a respeito da sensitização comportamental induzida pela administração sistêmica e repetida de cocaína em micos-estrela (*Callithrix penicillata*), e da participação do sistema neuropeptidérgico das taquicininas nesse efeito, foi observado que:

f) um regime de administração repetida de doses fixas de cocaína (7 mg/kg) induziu um efeito de hipervigilância, mas não alterou o padrão locomotor dos micos-estrela;

g) o regime descrito acima foi capaz de sensibilizar comportamentos de vigilância nos micos-estrela, avaliado via a administração de uma dose teste de 5 mg/kg de cocaína aplicada uma semana após a suspensão do tratamento (retirada);

h) essa sensitização não se estendeu para todos os comportamentos de vigilância, tendo-se um efeito preferencialmente sobre os comportamentos de *scan* e *glimpse*;

i) os parâmetros de locomoção dos micos não foram sensibilizados pelo regime de administração de cocaína usado no presente estudo;

j) a ativação repetida do receptor taquicinérgico NK₃, com o agonista direto senktide, potencializou o efeito da cocaína no comportamento de vigilância *glimpse* e a velocidade média de locomoção dos micos;

k) os níveis de cortisol dos animais se mantiveram constantes ao longo de todo o procedimento, independente do tratamento administrado (salina, cocaína ou senktide);

l) o protocolo empregado pode vir a ser uma ferramenta experimental ímpar no estudo comparativo de aspectos neuropsicobiológicos da dependência, considerando que foi usado um regime de doses fixas e não escalonadas, como é tipicamente empregado em roedores e primatas não-humanos, respectivamente;

m) o mico-estrela parece ser um bom sujeito experimental em estudos sobre a dependência, podendo atuar como um importante elo entre resultados pré-clínicos (e mais invasivos) obtidos em roedores e dados clínicos advindos de usuários dependentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, D. H., HANSON, G. R., KEEFE, K. A. Differential effects of cocaine and methamphetamine on neurotensin/neuromedin N and preprotachykinin messenger RNA expression in unique regions of the striatum. *Neuroscience* 102, 843 – 851. 2001.

ANTHONY, J.C., WARNER, L. A., KESSLER, R. C. Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: basic findings from the National Comorbidity Survey. *Exp Clin Psychopharmacol* 2, 244 – 268. 1994.

BANNON, M.J., BROWNSCHIDLE, L.A., TIAN, Y., WHITTY, C.J., POOSCH, M.S., D'SA, C., MOODY, C.A. Neurokinin-3 receptors modulate dopamine cell function and alter the effects of 6-hydroxydopamine. *Brain Res.* 695, 19 – 24. 1995.

BARROS, M., DE SOUZA SILVA, M.A., HUSTON, J.P., TOMAZ, C. Anxiolytic-like effects of substance P fragment (SP1–7) in non-human primates (*Callithrix penicillata*). *Peptides* 23 (2002) 967 – 973.

BARROS, M., DE SOUZA SILVA, M.A., HUSTON, J.P., TOMAZ, C. Multibehavioral analysis of fear and anxiety before, during, and after experimentally induced predatory stress in *Callithrix penicillata*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 78 (2004) 357 – 367.

BARROS, M., ALENCAR, C., TOMAZ, C. Differences in aerial and terrestrial visual scanning in captive black tufted-ear marmosets (*Callithrix penicillata*) exposed to a novel environment. *Folia Primatol.* 75, 85 – 92. 2004.

BARROS, M., GIORGETTI, M., SOUTO, A.A.V., VILELA, G., SANTOS, K., BOAS, N.V., TOMAZ, C. Persistent anxiety-like behavior in marmosets following a recent predatory stress condition: Reversal by diazepam. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 86 (2007) 705 – 711.

BARROS, M., ALENCAR, C., DE SOUZA SILVA, M.A., TOMAZ, C. Changes in experimental conditions alter anti-predator vigilance and sequence predictability in captive marmosets. *Behavioral Processes*, Volume 77, Issue 3, March 2008, Pages 351 – 356.

BARROS, M., TOMAZ, C. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 2002; 26:187 – 201.

BARROT, M., MARINELLI, M., ABROUS, D.N., ROUGE-PONT, F., LE MOAL M., PIAZZA, P.V. The dopaminergic hyper-responsiveness of the shell of the nucleus accumbens is hormone dependent. *Eur J Neurosci* 2000; 12:973 – 9.

BAST, T., ZHANG, W.N., FELDON, J. The ventral hippocampus and fear conditioning in rats. Different anterograde amnesias of fear after tetrodotoxin inactivation and infusion of the GABA(A) agonist muscimol. *Exp. Brain. Res.* 139, 39 – 52. 2001.

BAUMANN, M.H., GENDRON, T.M., BECKETTS, K.M., HENNING-FIELD, J.E., GORELICK, D.A., ROTHAMAN, R.B. Effects of intravenous cocaine on plasma cortisol and prolactin in human cocaine abusers. *Biol. Psychol.* 38, 751 – 755.1995.

BEYER, C.E., STAFFORD, D., LESAGE, M.G., GLOWA, J.R., STEKETEE, J.D. Repeated exposure to inhaled toluene induces behavioral and neurochemical

crosssensitization to cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 154:198–204. 2001.

BISHOP, C., WALKER, P.D. Intranigral antagonism of neurokinin 1 and 3 receptors reduces intrastriatal dopamine D1 receptor-stimulated locomotion in the rat. *Brain Res.* 1023, 126 – 133. 2004.

BRADBERRY, C.W. Cocaine sensitization and dopamine mediation of cue effects in rodents, monkeys, and humans: areas of agreement, disagreement, and implications for addiction. *Psychopharmacology (2007)* 191:705 – 717.

BREITER, H.C., GOLLUB, R.L., WEISSKOFF, R.M., KENNEDY, D.N., MAKRIS, N., BERKE, J.D., GOODMAN, J.M., KANTOR, H.L., GASTFRIEND, D.R., RIORDEN, J.P., MATHEW, R.T., ROSEN, B.R., HYMAN, S.E. Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron* 19, 591 – 611. 1997.

BREITER, H.C., ROSEN, B. R. Functional magnetic resonance imaging of brain reward circuitry in the human. *Ann N Y Acad Sci* 877, 523 – 547. 1999.

BUCHANAN-SMITH, H.M. Exploration of unfamiliar areas and detection of potentially threatening objects in single- and mixed-species of tamarins. *Int J Comp Psychol* 1999; 12:2 – 20.

CAINE, N.G. Visual scanning by tamarins: a description of the behavior and tests of two derived hypothesis. *Folia Primatol* 1984; 43:59 – 67.

CAINE, N.G. Flexibility and co-operation as unifying themes in *Saguinus* social organization and behaviour: role of predation pressures. Em: Rylands AB, editor.

Marmosets and tamarins: systematics, behaviour, and ecology. New York: Oxford Univ. Press; 1993. p. 200 – 19.

CAINE, N.G. Cutting costs in response to predatory threat by Geoffroy's marmosets (*Callithrix geoffroyi*). *Am. J. Primatol.* 46, 187 – 196. 1998.

CAINE, N.G., WELDON, P.J. Responses of red-bellied tamarins (*Saguinus labiatus*) to fecal scent of predatory and non-predatory neotropical mammals. *Biotropica* 21: 186-189. 1989.

CAMPS, M., KELLY, P.H., PALACIOS, J.M. Autoradiographic localization of dopamine D1 and D2 receptors in the brain of several mammalian species. *J Neural Transm* 80:105 – 127. 1990.

CANNON, C.M., BSEIKRI, M.R. Is dopamine required for natural reward? *Physiology & Behavior*, Volume 81, Issue 5, July 2004, Pages 741 – 748.

CAPRILES, N., RODAROS, D., SORGE, R. E., STEWART, J. A role for the prefrontal cortex in stress- and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology* 168, 66 – 74. 2003.

CARELLI, R.M., IJAMES, S.G. Nucleus accumbens cell firing during maintenance, extinction, and reinstatement of cocaine self-administration behavior in rats. *Brain Res.* 866, 44 – 54. 2000.

CARLTON, P.L. A primer of behavioral pharmacology. New York: W.H. Freeman and Co.; 1983: 113 – 143.

CASTNER, S.A., GOLDMAN-RAKIC, P.S. Amphetamine sensitization of hallucinatory-like behaviors is dependent on prefrontal cortex in nonhuman primates. *Biol Psychiatry* 2003; 54:105 – 110.

CASTNER, S.A., WILLIAMS, G.V. From vice to virtue: Insights from sensitization in the nonhuman primate. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 31 (2007) 1572 – 1592.

CHEN, L.W., GUAN, Z.L., DING, Y.Q. Mesencephalic dopaminergic neurons expressing neuromedin K receptor (NK3): a double immunocytochemical study in the rat. *Brain Res.* 780, 150 – 154. 1998.

CHROUSOS, G.P., RENQUIST, D., BRANDON, D., EIL, C., PUGHEAT, M., VIGERSKY, R., CUTLER JR., G.B., LORIAUX, D.L., LIPSETT, M.B. Glucocorticoid hormone resistance during primate evolution: receptor-mediated mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 2036 – 2040. 1982.

CICCOCIOPPO, R., PANOCCA, I., POLIDORI, C., FROLDI, R., ANGELETTI, S., MASSI, M. Mechanism of action for reduction of ethanol intake in rats by the tachykinin NK-3 receptor agonist aminosenktide. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 61, 459 – 464. 1998.

CORNISH, J.L., DUFFY, P., KALIVAS, P.W. A role for nucleus accumbens glutamate transmission in the relapse to cocaine-seeking behavior. *Neuroscience* 93, 1359–1367. 1999.

CORNISH, J.L., KALIVAS, P.W. Glutamate transmission in the nucleus accumbens mediates relapse in cocaine addiction. *J Neurosci* 20, RC89. 2000.

CROWLEY, T.J., MACDONALD, M.J., WHITMORE, E.A., MIKULICH, S.K. Cannabis dependence, withdrawal, and reinforcing effects among adolescents with conduct symptoms and substance use disorders. *Drug Alcohol Depend.* 50, 27–37. 1998.

DAM, T.V., ESCHER, E., QUIRION, R. Visualization of neurokinin-3 receptor sites in rat brain using the highly selective ligand [3H]senktide. *Brain Res.* 506,175–179. 1990.

DE SOUZA SILVA, M.A., MELLO JR., E.L., MÜLLER, C.P., JOCHAM, G., MAIOR, R.S., HUSTON, J.P., TOMAZ, C., BARROS, M. The tachykinin NK3 receptor antagonist SR142801 blocks the behavioral effects of cocaine in marmoset monkeys. *European Journal of Pharmacology* 536 (2006) 269–278.

DE SOUZA SILVA, M.A., MELLO JR., E.L., MÜLLER, C.P., JOCHAM, G., MAIOR, R.S., HUSTON, J.P., TOMAZ, C., BARROS, M. Interaction of the tachykinin NK3 receptor agonist senktide with behavioral effects of cocaine in marmosets (*Callithrix penicillata*). *Peptides* 27 (2006) 2214 – 2223.

DE WIT, H., UHLENHUTH, E.H., JOHANSON, C.E. Individual differences in the reinforcing and subjective effects of amphetamine and diazepam. *Drug Alcohol Depend.* 16, 341 – 360. 1986.

DEROCHE-GAMONET, V., BELIN, D., PIAZZA, P.V. Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305, 1014 – 1017. 2004.

DESCHAMPS, K., COUTURE, R. The ventral tegmental area as a putative target for tachykinins in cardiovascular regulation. *Br. J. Pharmacol.* 145, 712 – 727. 2005.

DI CIANO, P., EVERITT, B.J. Dissociable effects of antagonism of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core and shell on cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology* 25, 341 – 360. 2001.

DING, Y. Q., SHIGEMOTO, R., TAKADA, M., OHISHI, H., NAKANISHI, S., MIZUNO, N. Localization of the neuromedin K receptor (NK3) in the central nervous system of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 364, 290 –310. 1996.

DUARTE, C.R., SCHUTZ, B., ZIMMER, A. Incongruent pattern of neurokinin B expression in rat and mouse brains. *Cell and Tissue Research*, 323, 43 – 51. 2006.

ELLIOTT, P.J., MASON, G.S., STEPHENS-SMITH, M., HAGAN, R.M. Behavioral and biochemical responses following activation of midbrain dopamine pathways by receptor selective neurokinin agonists. *Neuropeptides* 19, 119 – 126. 1991.

EMONDS-ALT, X., BICHON, D., DUCOUX, J.P., HEAULME, M., MILOUX, B., PONCELET, M., PROIETTO, V., VAN BROECK, D., VILAIN, P., NELIAT, G., et al. SR 142801, the first potent non-peptide antagonist of the tachykinin NK3 receptor. *Life Sci.* 56, PL 27 – 32. 1995.

EPPLE, G. The behavior of marmoset monkeys. Em: ROSENBLUM, L.A. *Primate behavior: developments in field and laboratory research*, vol 4. Academic Press, New York, pp 195 - 239. 1975.

FELDMAN, R.S., MEYER, J.S., QUENZER, L.F. *Principles of neuropsychopharmacology*, Sinauer Associates, Sunderland. 1997.

FERRARI, S.F., LOPES FERRARI, M.A. Predator avoidance behavior in the buffyheaded marmoset (*Callithrix flaviceps*). *Primates* 1990; 31:323 – 38.

FLEMING, J.A., BYCK, R., BARASH, P.G. Pharmacology and therapeutic applications of cocaine. *Anesthesiology*. 1990 Sep; 73 (3):518 - 31.

GAWIN, F.H. Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 1991; 251:1580 – 6.

GAWIN, F.H. Cocaine addiction: psychology, neurophysiology and treatment. New York: Oxford University Press; 1993.

GAWIN, F.H., KLEBER, H.D. Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Arch Gen Psychiatry* 1986; 43:107 – 13.

GOEDERS, N.E. Stress and cocaine addiction. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301, 785–789. 2002.

GOLDSIZEN, A.W. Tamarins and marmosets: Communal care of offspring. Em: SMUTS, B.B., CHENEY, D.L., SEYFARTH, R.M., WRANGHAM, R.W., STRUHSAKER, T.T. (eds.), *Primate Societies*, University of Chicago Press, Chicago, pp. 34 - 43. 1987.

GRAEFF, F.G., GUIMARÃES, F.S. *Fundamentos de psicofarmacologia*. Editora Atheneu, 1998.

GRAYBIEL, A.M. Habits, rituals, and the evaluative brain. *Annu. Rev. Neurosci.* 31, 359 – 387. 2008.

HAMAMURA, T., AKIYAMA, K., AKIMOTO, K., KASHIHARA, K., OKUMURA, K., UJIKE, H., OTSUKI, S. Co-administration of either a selective D₁ or D₂ dopamine antagonist with methamphetamine prevents methamphetamine-induced behavioral sensitization and neurochemical change, studied by in vivo intracerebral dialysis. *Brain Research*, Volume 546, Issue 1, 12 April 1991, Pages 40 – 46.

HARDIE, S.M., BUCHANAN-SMITH, H.M. Vigilance in single and mixed-species groups of tamarins (*Saguinus labiatus* and *S. fuscicollis*). *Int J Primatol* 1997; 18:217 – 34.

HARFSTRAND, A., FUXE, K., CINTRA, A., AGNATI, L.F., ZINI, I., WIKSTROM, A.C., OKRET, S., YU, Z.Y., GOLDSTEIN, M., STEINBUSCH, H., e cols. Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 83, 9779 – 9783. 1986.

HASENÖHRL, R.U., DE SOUZA SILVA, M.A., NIKOLAUS, S., TOMAZ, C., BRANDAO, M.L., SCHWARTING, R.K., et al. Substance P and its role in neural mechanisms governing learning, anxiety and functional recovery. *Neuropeptides*, 34, 272 – 280. 2000.

HENRY, D., WHITE, F. The persistence of behavioral sensitization parallels enhanced inhibition of nucleus accumbens neurons. *Journal of Neuroscience*, 15, 6287 – 6299. 1995.

HESS, E.J., ALBERS, L.J., LE, H., CREESE, I. Effects of chronic SCH23390 treatment on the biochemical and behavioral properties of D1 and D2 dopamine receptors: potentiated behavioral responses to a D2 dopamine agonist after selective D1 dopamine receptor upregulation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 238, 846 – 854. 1986.

HESS, E.J., NORMAN, A.B., CREESE, I. Chronic treatment with dopamine receptor antagonists: behavioral and pharmacologic effects on D1 and D2 dopamine receptors. *J. Neurosci.* 8, 2361 – 2370. 1988.

HÖKFELT, T., PERNOW, B., WAHREN, J. Substance P: a pioneer amongst neuropeptides. *J. Intern. Med.* 249, 27 – 40. 2001.

HOLMSTEDT, B. LINDGREN, J.E., RIVIER, L., PLOWMAN, T. Cocaine in blood of coca chewers. *Journal of Ethnopharmacology* 1 (1): 69 - 78. 1979.

HUMPEL, C., SARIA, A., REGOLI, D. Injection of tachykinins and selective neurokinin receptor ligands into the substantia nigra reticulata increases striatal dopamine and 5-hydroxytryptamine metabolism. *Eur. J. Pharmacol.* 195, 107 – 114. 1991.

HUSTON, J.P., HASENÖHRL, R.U., BOIX, F., GERHARDT, P., SCHWARTING, R.K.W. Sequence-specific effects of neurokinin substance-P on memory, reinforcement, and brain dopamine activity. *Psychopharmacology* 112, 147 – 162. 1993.

HYMAN, S.E., MALENKA, R.C., NESTLER, E.J., 2006. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 568 – 598. 2006.

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

JAFFE, J.H. Drug addiction and drug use. Em: The pharmacological basis of therapeutics, Ed 8 (GILMAN, A.G., RALL, T.W., NIES, A.S., eds), pp 522 – 573. New York: Goodman and Gilman's. 1990.

JOCHAM, G., LEZOCH, K., MÜLLER, C.P., KART-TEKE, E., HUSTON, J.P., DE SOUZA SILVA, M.A. Neurokinin3 receptor antagonism attenuates cocaine's behavioural activating effects yet potentiates its dopamine enhancing action in the nucleus accumbens core. *European Journal of Neuroscience*, Vol. 24, pp. 1721 – 1732, 2006.

JOCHAM, G., LAUBER, A.C., MULLER, C.P., HUSTON, J.P., DE SOUZA SILVA, M.A. Neurokinin 3 receptor activation potentiates the psychomotor and nucleus accumbens dopamine response to cocaine, but not its place conditioning effects. *Eur. J. Neurosci.* 25, 2457 – 2472. 2007.

JOHANSON, C.E., FISCHMAN, M.W. The pharmacology of cocaine related to its abuse. *Pharmacol Rev* 1989; 41:3 – 52.

JOYCE, E.M., IVERSEN, S.D. The effect of morphine applied locally to mesencephalic dopamine cell bodies on spontaneous motor activity in the rat. *Neurosci Lett* 14:207 – 212. 1979.

KALIVAS, P.W., O'BRIEN, C. Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology* 33, 166 – 180. 2008.

KALIVAS, P.W., STEWART, J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Brain Res Rev* 1991; 16 (3):223 – 44.

KALIVAS, P.W., VOLKOW, N.D. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatr* 162:1403 – 1413. 2005.

KARCH, S.B. Cocaine: history, use, abuse. *Journal of the royal society of medicine* Volume 92 August 1999.

KASSEL, J.D., SHIFFMAN, S., GNYS, M., PATY, J., ZETTLER-SEGAL, M. Psychosocial and personality differences in chippers and regular smokers. *Addict. Behav.* 19, 565 – 575. 1994.

KAUFMAN, M.J., LEVIN, J.M., MAAS, L.C., KUKES, T.J., VILLAFUERTE, R.A., DOSTAL, K., LUKAS, S.E., MENDELSON, J.H., COHEN, B.M., RENSHAW, P.F. Cocaine-induced cerebral vasoconstriction differs as a function of sex and menstrual cycle phase. *Biol Psychiatry* 2001; 49:774 – 81.

KEEGAN, K.D., WOODRUFF, G.N., PINNOCK, R.D. The selective NK3 receptor agonist senktide excites a subpopulation of dopamine-sensitive neurones in the rat substantia nigra pars compacta in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 105, 3 – 5. 1992.

KELLY, R.M., STRICK, P.L. Macro-architecture of basal ganglia loops with the cerebral cortex: use of rabies virus to reveal multisynaptic circuits. *Prog Brain Res.* 2004;143:449-59. Review.

KHAWAJA, A.M., ROGERS, D.F. Tachykinins: receptor to effector. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 28, 721–738. 1996.

KOENIG, A. Visual scanning by common marmosets (*Callithrix jacchus*): functional aspects and the special role of adult males. *Primates* 1998; 39:85 – 90.

KLOSTERMAN, L.L., MURAI, J.T., SIITERI, P.K. Cortisol levels, binding and properties of corticosteroid-binding globulin in the serum of primates. *Endocrinology* 118, 424 – 434. 1986.

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

KOOB, G.F., LE MOAL, M. Plasticity of reward neurocircuitry and the 'dark side' of drug addiction. *Nat. Neurosci.* 8, 1442 – 1444. 2005.

KOOB, G.F., LE MOAL, M. Addiction and the brain antireward system. *Annual Review of Psychology* 59, 29 – 53. 2008.

KUFAHL, P.R., LI, Z., RISINGER, R.C., RAINEY, C.J., WU, G., BLOOM, A.S., LI, S.J. Neural responses to acute cocaine administration in the human brain detected by fMRI. *Neuroimage* 28:904 – 914. 2005.

LE MOAL, M., KOOB, G.F. Drug addiction: Pathways to the disease and pathophysiological perspectives. *European Neuropsychopharmacology* (2007) 17, 377 – 393.

LEVY, A.D., BAUMAN, M.H., VAN DER KAR, L.D. Monoaminergic regulation of neuroendocrine function and its modification by cocaine. *Front. Neuroendocrinol.* 15, 85 – 156. 1994.

LIDOW, M.S., GOLDMAN-RAKIC, P.S., RAKIC, P., INNIS, R.B. Dopamine D2 receptors in the cerebral cortex: Distribution and pharmacological characterization with [³H]raclopride. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 86, 6412 – 6416. 1989.

Liu, Y., Roberts, D.C., Morgan, D. Sensitization of the reinforcing effects of self-administered cocaine in rats: effects of dose and intravenous injection speed. *Eur J Neurosci* 22:195 – 200. 2005.

LIMA, D., SPÍNDOLA, D.B., DIAS, L.O., TOMAZ, C., BARROS, M. Effects of acute systemic cocaine administration on the cortisol, ACTH and prolactin levels of black tufted-ear marmosets. *Psychoneuroendocrinology* (2008) 33, 321 – 327.

LUNDQVIST, T. Cognitive consequences of cannabis use: comparison with abuse of stimulants and heroin with regard to attention, memory and executive functions. *Pharmacol Biochem Behav* 2005; 81 (2):319 – 30.

MAGGI, C.A. The mammalian tachykinin receptors. *Gen. Pharmacol.* 26, 911 – 944. 1995.

MAJEWSKA, M.D. HPA axis and stimulant dependence: an enigmatic relationship *Psychoneuroendocrinology*, Volume 27, Issues 1-2, January-February 2002, Pages 5 – 12.

MALHERBE, P., BISSANTZ, C., KNOFLACH, F., HERNANDEZ, M.C., STEWARD, L., MARCUZ, A., KRATZEISEN, C., ZENNER, M.T., RATNI, H., RIEMER, C., SPOOREN, W., WETTSTEIN, J. Mapping the binding site for tachykinin NK3 receptor antagonists. *Schizophrenia Research*, Volume 102, Issues 1-3, Supplement 2, June 2008, Page 65.

MANSFIELD, K. Marmoset models commonly used in biomedical research. *Comparative Med* 53, 383 - 392. 2003.

MANTSCH, J.R., SCHLUSSMAN, S.D., HO, A., KREEK, M.J. Effects of cocaine self-administration on plasma corticosterone and prolactin in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 294, 239 – 247. 2000.

MARCO, N., THIRION, A., MONS, G., BOUGAULT, I., LE FUR, G., SOUBRIE, P., STEINBERG, R. Activation of dopaminergic and cholinergic neurotransmission by tachykinin NK3 receptor stimulation: an in vivo microdialysis approach in guinea pig. *Neuropeptides* 32, 481 – 488. 1998.

MARINELLI, M., PIAZZA, P.V. Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. *Eur J Neurosci* 2002; 16:387 – 94.

MARQUARDT, A.R., BARROS, H.M.T. Métodos comportamentais para avaliar drogas de abuso. Em: ALMEIDA, R.N. Psicofarmacologia fundamentos básicos. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2006.

MASSI, M., PANOCCA, I., DE CARO, G. The psychopharmacology of tachykinin NK-3 receptors in laboratory animals. *Peptides* 21, 1597 – 1609. 2000.

MATHIEU-KIA, A. M., BESSON, M. J. Repeated administration of cocaine, nicotine and ethanol: effects on preprodynorphin, preprotachykinin A and preproenkephalin mRNA expression in the dorsal and the ventral striatum of the rat. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 54, 141 – 151. 1998.

MCFARLAND, K., LAPISH, C.C., KALIVAS, P.W. Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug seeking behavior. *J. Neurosci.* 23, 3531 – 3537. 2003.

MCFARLAND, K., DAVIDGE, S.B., LAPISH, C.C., KALIVAS, P.W. Limbic and motor circuitry underlying footshock-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *J. Neurosci.* 24, 1551–1560. 2004.

MCFARLAND, K., KALIVAS, P.W. The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J. Neurosci.* 21, 8655 – 8663. 2001.

MCLAUGHLIN, J., SEE, R.E. Selective inactivation of the dorsomedial prefrontal cortex and the basolateral amygdala attenuates conditioned-cued reinstatement of extinguished cocaine seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2003, 168:57 - 65.

MELLO, E.L., MAIOR, R.S., CAREY, R.J., HUSTON, J.P., TOMAZ, C., MÜLLER, C.P. Serotonin(1A)-receptor antagonism blocks psychostimulant properties of diethylpropion in marmosets (*Callithrix penicillata*). *Eur. J. Pharmacol.* 511, 43 – 52. 2005.

MELLO, N.K., MENDELSON, J.H. Cocaine's Effects on Neuroendocrine Systems: Clinical and Preclinical Studies. *Pharmacology Biochemistry*, Vol. 57, No. 3, pp. 571 – 599, 1997.

MELLO, N.K., MENDELSON, J.H. Cocaine, Hormones, and Behavior: Clinical and Preclinical Studies. *Hormones, Brain and Behavior*, Volume 5. 2003.

MILESUNIC, D., MAGNUSON, D.J., HEJNA, M.J., LORENS, J.B., LORENS, S.A., LEE, J.M. Age and species-dependent differences in the neurokinin B system in rat and human brain. *Neurobiology of Aging*, 20, 19 – 35. 1999.

MILLER, G.M., YATIN, S.M., DE LA GARZA, R., GOULET, M., MADRAS, B.K. Cloning of dopamine, norepinephrine and serotonin transporters from monkey brain: Relevance to cocaine sensitivity. *Brain Research: Molecular Brain Research*, 87, 124 – 143. 2001.

NATIONAL INSTITUTE OF DRUG ABUSE. www.drugabuse.gov. Acessado em 20 de setembro de 2011.

NESTLER, E.J., BARROT, M., SELF, D.W. Delta Fos B: a sustained molecular switch for addiction. *NAS* 2001; 98: 11042 – 6.

NGUYEN-LE, L., NGUYEN, Q.T., GOBEIL, F., PHENG, L.H., EMONDS-ALT, X., BRELIERE, J.C., REGOLI, D. Pharmacological characterization of SR 142801: a new non-peptide antagonist of the neurokinin NK-3 receptor. *Pharmacology*, 52, 283 – 291. 1996.

NWANESHIUDU, C.A., UNTERWALD, E.M. Blockade of neurokinin-3 receptors modulates dopamine-mediated behavioral hyperactivity. *Neuropharmacology* 57 (2009) 295 – 301.

NWANESHIUDU, C.A., UNTERWALD, E.M. NK₃ receptor antagonism prevents behavioral sensitization to cocaine: a role of glycogen synthase kinase – 3 in the nucleus accumbens. *J. Neurochem.* (2010) 115, 635 – 642.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. www.who.com acessado em 20 de setembro de 2011.

OVERTON, P., ELLIOTT, P.J., HAGAN, R.M., CLARK, D. Neurokinin agonists differentially affect A9 and A10 dopamine cells in the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 213, 165 – 166. 1992.

PETERS, J., LALUMIERE, R.T., KALIVAS, P.W. Infralimbic prefrontal cortex is responsible for inhibiting cocaine seeking in extinguished rats. *J. Neurosci.* 28, 6046 – 6053. 2008.

PHELPS, E.A., LEDOUX, J.E. Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron* 48, 175 – 187. 2005.

PIAZZA, P.V., DEMINIÈRE, J.M., MACCARI, S., LE MOAL, M., MORMÈDE, P., SIMON, H. Individual vulnerability to drug self-administration: action of corticosterone on dopaminergic systems as a possible pathophysiological mechanism. In *The Mesolimbic Dopamine System: From Motivation to Action*, ed. P Willner, J Scheel-Krüger, pp. 473 – 95. New York: Wiley & Sons. 1991.

PIAZZA, P.V., ROUGÉ-PONT, F., DEMINIÈRE, J.M., KHAROUBY, M., LE MOAL, M., SIMON, H. Dopaminergic activity is reduced in the prefrontal cortex and increased in the nucleus accumbens of rats predisposed to develop amphetamine self-administration. *Brain Res.* 567, 169 – 174. 1991.

PIAZZA, P.V., DEROUCHE, V., DEMINIÈRE, J.M., MACCARI, S., LE MOAL, M., SIMON, H. Corticosterone in the range of stress-induced levels possesses reinforcing properties: implications for sensation-seeking behaviors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 11738 – 11742. 1993.

PLACENZA, F.M., FLETCHER, P.J., ROTZINGER, S., VACCARINO, F.J. Infusion of the substance P analogue, DiMe-C7, into the ventral tegmental area induces reinstatement of cocaine-seeking behaviour in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 177, 111 – 120. 2004.

PORRINO, L.J., DAUNAIS, J.B., SMITH, H.R., NADER, M.A. The expanding effects of cocaine: studies in a nonhuman primate model of cocaine self-administration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27 (2004) 813 – 820.

PORRINO, L.J., SMITH, H.R., NADER, M.A., BEVERIDGE, T.J.R. The effects of cocaine: A shifting target over the course of addiction. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 31 (2007) 1593–1600.

POST, R.M., CONTEL, N.R. Human and animal studies of cocaine: implications for development of behavioral pathology, in *Stimulants: Neurochemical, Behavioral, and Clinical Perspectives* (Creese I ed) pp 169 –203, Raven Press, New York. 1983.

POST, R.M., KOPANDA, R.T., BLACK, K.E. Progressive effects of cocaine on behavior and central amine metabolism in rhesus monkeys: relationship to kindling and psychosis. *Biol Psychiatry* 11:403 – 419. 1976.

POST, R.M., WEISS, S.R., PERT, A. Sensitization and kindling effects of chronic cocaine administration, in *Cocaine: Pharmacology, Physiology and Clinical Strategies* (Lakoski JM, Galloway MP, and White FJ eds) pp 115 – 161, CRC Press, Ann Arbor, MI. 1992.

POST, R.M., WEISS, S.R. Psychomotor stimulant vs. local anesthetic effects of cocaine: role of behavioral sensitization and kindling. *NIDA Res Monogr* 1988; 88:217 – 38.

REDGRAVE, P., GURNEY, K. The short-latency dopamine signal: a role in discovering novel actions? *Nat. Rev. Neurosci.* 7, 967 – 975. 2006.

REGOLI, D., BOUDON, A., FAUCHERE, J.L., 1994. Receptors and antagonists for substance P and related peptides. *Pharmacol. Rev.* 46, 551 – 599. 1994.

REYNOLDS, S.M., ZAHM, D.S. Specificity in the projections of prefrontal and insular cortex to ventral striatopallidum and the extended amygdala. *J. Neurosci.* 25, 11757–11767. 2005.

RIDLEY, R.M., BAKER, H.F., OWEN, F., CROSS, A.J., CROW, T.J. Behavioural and biochemical effects of chronic amphetamine treatment in the vervet monkey. *Psychopharmacology* 1982; 78:245 – 51.

RISINGER, R.C., SALMERON, B.J., ROSS, T.J., AMEN, S.L., SANFILIPPO, M., HOFFMANN, R.G., BLOOM, A.S., GARAVAN, H., STEIN, E.A. Neural correlates of high and craving during cocaine self-administration using BOLD fMRI. *Neuroimage* 26:1097 – 1108. 2005.

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* 1986; 396 (2):157 – 98.

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

ROBINSON, T.E, BERRIDGE. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction* 95 (Suppl. 2):S91 – 117. 2000.

ROBINSON, T.E, BERRIDGE, K.C. *Addiction. Annu. Rev. Psychol.* 2003. 54:25–53.

RUDY, J.W., MATUS-AMAT, P. The ventral hippocampus supports a memory representation of context and contextual fear conditioning: implications for a unitary function of the hippocampus. *Behav. Neurosci.* 119, 154 – 163. 2005.

SARNYAI, Z., MELLO, N.K., MENDELSON, J.H., EROS-SARNYAI, M., MERCER, G. Effects of cocaine on pulsatile activity of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis

in male rhesus monkeys: neuroendocrine and behavioral correlates. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277, 225 – 234. 1996.

SATEL, S.L., SOUTHWICK, S.M., GAWIN, F.H. Clinical features of cocaine induced paranoia. *NIDA Res Monogr* 105:371. 1991.

SCHOENBAUM, G., ROESCH, M.R., STALNAKER, T.A. Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends in Neurosciences* 29:116 – 124. 2006.

SCHULTZ, W., DICKINSON, A. Neuronal coding of prediction errors. *Annu. Rev. Neurosci.* 23, 473–500. 2000.

SHUGRUE, P.J., LANE, M.V., MERCHENTHALER, I. In situ hybridization analysis of the distribution of neurokinin-3 mRNA in the rat central nervous system. *The Journal of Comparative Neurology*, 372, 395 – 414. 1996.

STEKETEE, J.D., KALIVAS, P.W. Drug Wanting: Behavioral Sensitization and Relapse to Drug-Seeking Behavior. *PHARMACOLOGICAL REVIEWS* Vol. 63, No. 2. 2011.

STEVENSON, M.F., RYLANDS, A.B. The marmosets, genus *Callithrix*. In: Mittermeier, R.A., Rylands, A.B., Coimbra-Filho, A., Fonseca, G.A.B., editors. *Ecology and behavior of neotropical primates*, vol. 2. Contagem/Brazil: Littera Maciel/WWF; 1988. p. 131 – 222.

STEWART, J., BADIANI, A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioral Pharmacology*, 4, 289 – 312. 1993.

STOESSL, A.J., SZCZUTKOWSKI, E., GLENN, B., WATSON, I. Behavioural effects of selective tachykinin agonists in midbrain dopamine regions. *Brain Res.* 565, 254 – 262. 1991.

STRICKLAND, T.L., MILLER, B.L., KOWELL, A., STEIN, R. Neurobiology of cocaine-induced organic brain impairment: contributions from functional neuroimaging. *Neuropsychol Rev* 1998; 8:1 – 9.

SUN, W., REBEC, G.V. Repeated cocaine self-administration alters processing of cocaine-related information in rat prefrontal cortex. *J. Neurosci.* 26, 8004 – 8008. 2006.

SUSSMAN, R., KINZEY, W. The ecological role of the Callitrichidae: a review. *Am. J. Phys. Anthropol.* 64, 419 - 449. 1984.

SWANSON, L.W., PETROVICH, G.D. What is the amygdala? *Trends Neurosci.* 21, 323 – 331. 1998.

TARDIF, S.D., CARSON, R.L., GANGAWARE, B.L. Comparison of infant care in family groups of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) and the cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*). *Am. J. Primatol.* 11: 103 – 110. 1986.

UJIKE, H., SATO, M. Clinical features of sensitization to methamphetamine observed in patients with methamphetamine dependence and psychosis. *Ann N Y Acad Sci* 1025: 279 – 287. 2004.

VANDERSCHUREN, L.J., KALIVAS, P.W. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral

sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology* 151:99 – 120. 2000.

VENTON, B.J., SEIPEL, A.T., PHILLIPS, P.E.M., WETSEL, W.C., GITLER, D., GREENGARD, P., AUGUSTINE, G.J., WIGHTMAN, M. Cocaine increases dopamine release by mobilization of a synapse-dependent reserve pool. *The Journal of Neuroscience*, 26 (12): 3206 – 3209, March 22, 2006.

VEZINA, P. Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27, 827 – 839. 2004.

VEZINA, P., GIOVINO, A.A., WISE, R.A., STEWART, J. Environment-specific crosssensitization between the locomotor activating effects of morphine and amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 32, 581 – 584. 1989.

VEZINA, P., LEYTON, M. Conditioned cues and the expression of stimulant sensitization in animals and humans. *Neuropharmacology* 56 (2009) 160 – 168.

VOLKOW, N.D., WANG, G.J., FOWLER, J.S., LOGAN, J., GATLEY, S.J., GIFFORD, A., HITZEMANN, R., DING, Y.S., PAPPAS, N. Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *Am J Psychiatry* 1999, 156:1440 – 1443. 1999.

WALSH, S.L., STOOPS, W.W., MOODY, D.E., LIN, S.N., BIGELOW, G.E. Repeated dosing with oral cocaine in humans: assessment of direct effects, withdrawal, and pharmacokinetics. *Experimental and clinical psychopharmacology*, Volume 17, Issue 4, August 2009, Pages 205 – 216.

WARD, K.W., SMITH, B.R. A comprehensive quantitative and qualitative evaluation of extrapolation of intravenous pharmacokinetic parameters from rat, dog, and monkey to humans: II. Volume of distribution and mean residence time. *Drug Metabolism and Disposition*, 32, 612 – 619. 2004.

WARNER, E.A. Cocaine abuse. *Annals of internal medicine*. August 1, 1993, vol. 119 no. 3 226 – 235.

WEERTS, E.M., FANTEGROSSI, W.E., GOODWIN, A.K. The Value of Nonhuman Primates in Drug Abuse Research. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, Volume 15, Issue 4, August 2007, Pages 309 – 327.

WHITE, N.M. Addictive drugs as reinforcers: multiple partial actions on memory systems. *Addiction* 91: 921 – 49; discussion 51 – 65. 1996.

WHITE, F.J., KALIVAS, P.W. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. *Drug and Alcohol Dependence*, Volume 51, Issues 1-2, 1 June 1998, Pages 141 – 153.

WILSON, S.J., SAYETTE, M.A., FIEZ, J.A. Prefrontal responses to drug cues: a neurocognitive analysis. *Nat Neurosci* 2004, 7: 211 – 214.

YAMAMOTO, S., UTSU, S., TANIOKA, Y., OHSAWA, N. Extremely high levels of corticosteroid and low levels of corticosteroid binding macromolecules in plasma of marmoset monkeys. *Acta Endocrinol.* 85, 398 – 405. 1977.



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Comitê de Ética no Uso Animal

Brasília, 18 de fevereiro de 2011.



DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado “**MODULAÇÃO DA SENSITIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA POR COCAÍNA EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS (CALLITHRIX PENCILATA) VIA RECEPTOR DE TAQUICININAS NK3**”, UnBDOC nº 90524/2010, sob responsabilidade da Profa. Dra. Marília Barros, foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Prof. Antonio Sebben
Coordenador do CEUA