

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde

Soha Mohamad Chabrawi

**Avaliação da preferência condicionada por lugar induzida pela
administração sistêmica de cocaína em primatas não-humanos
(*Callithrix penicillata*).**

Dissertação apresentada como requisito
parcial para a obtenção do Título de
Mestre em Ciências da Saúde pelo
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientadora: Profa. Dra. Marília Barros.

Brasília

2010

Soha Mohamad Chabrawi

Avaliação do preferência condicionada por lugar induzida pela administração sistêmica de cocaína em primatas não-humanos (*Callithrix penicillata*).

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovada em 03 de dezembro de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Marília Barros

Universidade de Brasília – UnB

Prof. Dr. Marcus Lira Brandão

Universidade de São Paulo – USP

Prof. Dr. Vitor Motta

Universidade de Brasília – UnB

Valdir Filgueiras Pessoa (Suplente)

Universidade de Brasília – UnB

A G R A D E C I M E N T O S

- Agradeço, primeiramente, a Deus, que tornou possível a realização deste trabalho mesmo frente todas as adversidades que ocorreram pelo caminho.
- Dedico este trabalho a meu pai (rahmatullah alleihi – Que a Paz de Deus esteja com ele), que não pode acompanhar a realização deste trabalho por ter falecido no final do ano passado, mas sei que estaria muito feliz por mim.
- À minha professora Dra. Marília Barros, muito obrigada por me aceitar em seu grupo de pesquisa, pela paciência, por todo apoio e todos os seus ensinamentos ao longo dessa trajetória, que contribuíram para a minha formação. Pelo incentivo constante à realização do meu trabalho, mesmo quando os dados esperados não eram encontrados!
- Agradeço a minha família que me deu o apoio do qual precisava, nos momentos em que me desesperei achando que não seria possível prosseguir, cada uma de vocês, Mamãe, Zahra, Noha e Arij, vocês foram muito importantes para minha vida pessoal e acadêmica. Obrigada! Amo muito vocês.
- Ao meu amado marido que mesmo tendo entrado no “meio do caminho”, foi de enorme diferença o seu apoio, meu amor! Obrigada por existir na minha vida.

- Agradeço aos meus amigas que me deram incentivo e me levantaram o ânimo quando os diversos problemas da vida me impossibilitavam de continuar, o meu muito obrigada de coração à Nagla Yassin, Carolina Musso, Mariana Silveira, Consuelo Lima, Laís Araujo, Patrícia Lorraine, Yonara Lobo, Isabel Waga, Clotilde Tavares, Isabel Oliveira, João Paulo Gravina, Priscila Cagni, Darlan Mesquita, às meninas do Chá das Senhoras.
- Aos meus ajudantes de campo, Antoniele, Ana Paula, Nathália, Priscila e, especialmente, ao Eduardo que foi um companheiro e esteve comigo desde o início do trabalho e também pode acompanhar as minhas angústias e incertezas, comuns a todo começo de experimento.
- Aos meus sujeitos experimentais: Zeus, Cigano, Belquior, Valium, Valmart, Valente, Miro, Supimpa, Mixo, Michael. Obrigada por colaborar com meu experimento.
- Aos veterinários Dr. Danilo Teixeira e Dr. Raimundo de Oliveira pelo cuidado e carinho constantes com os animais e pelo apoio prestado durante a realização dos experimentos.
- Aos funcionários da Fazenda Água Limpa; Adão Pedro e Geinaldo, por me receberem tão bem no local de trabalho, e sempre se mostrarem dispostos a ajudar.

- Ao CNPq pelo apoio financeiro oferecido pela bolsa de mestrado e pela pontualidade.

- Fonte de financiamento: CNPq, FAP-DF, CAPES, DAAD/PROBRAL.

- À Universidade de Brasília, ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências da Saúde e ao Centro de Primatologia da UnB (CPUnB), por possibilitarem a realização deste trabalho

RESUMO

A dependência é um padrão desadaptado caracterizado pelo uso recorrente de substâncias psicoativas que induzem alterações comportamentais e fisiológicas, além da perda do controle de tomada da droga, gerando importantes distúrbios familiares e sociais. Por este motivo, são crescentes os estudos nesta área para melhor entender os mecanismos que subsidiam a farmacodependência e desenvolver estratégias terapêuticas para o tratamento de usuários. Neste sentido, o teste de preferência-condicionada-por-lugar (*conditioned place preference*, CPP) tem sido muito utilizada em estudos pré-clínicos, mas apenas com roedores. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de um efeito de preferência condicionada por lugar induzida pela administração repetida e sistêmica de cocaína em primatas não-humanos (micos-estrela; *Callithrix penicillata*). Para tanto, os animais foram divididos em dois grupos: cocaína (5 mg/kg, ip) ou controle (salina, ip). Todos os sujeitos foram inicialmente submetidos a oito sessões de habituação ao aparto. Em seguida, foram realizados três ciclos compostos de três sessões de condicionamento (C1-C3, C4-C6, C7-C9) e uma de teste (T1, T2, T3). Ao final do terceiro ciclo, os micos foram submetidos a duas sessões de extinção (E1-E2) e uma nova de teste (T4), e por fim, a uma sessão de recaída (RE) e uma última de teste (T5). Todas as sessões tiveram uma duração de 20-min. Foi observado um aumento significativo no tempo de permanência no compartimento condicionado, em resposta à administração de cocaína, assim como os níveis do comportamento de *scan*, indicando um efeito de preferência condicionada por lugar e hipervigilância, respectivamente. A fase de extinção reverteu ambos os efeitos, sendo que a administração posterior de uma única dose de cocaína só foi capaz de re-estabelecer a hipervigilância. Estes resultados estão em consonância com estudos prévios realizados em roedores e primatas não-humanos. Contudo, novos trabalhos são necessários para melhor elucidar os aspectos metodológicos desse procedimento em primatas não-humanos, visando estabelecer possíveis estratégias para o tratamento da dependência por cocaína.

Palavras-chave: preferência condicionada por lugar (CPP), cocaína, primatas não-humanos, hipervigilância.

ABSTRACT

Drug addiction is a chronic relapsing disorder characterized by compulsive drug intake of psychoactive substances. Behavioral and physiological changes are induced, as well as loss of control over intake, impairing social and occupational function. As such, studies in this field have increased to better elucidate the mechanisms underlying drug addiction and develop new therapeutic strategies to treat chronic drug users. In this sense, the conditioned-place-preference (CPP) test has been widely used in preclinical studies, albeit mainly in rodents. The present study, therefore, aimed at evaluating the development of a contextual conditioning effect in nonhuman primates (marmosets; *Callithrix penicillata*), induced by repeated and systemic cocaine administrations. Marmosets were divided into two groups: cocaine (5 mg/kg, ip) or control (saline, ip). All subjects were initially submitted to eight habituation trials in the apparatus. Then, three sequences of three conditioning sessions (C1-C3, C4-C6, C7-C9) and one test session (T1, T2, T3) were performed. After the third sequence, marmosets underwent two extinction trials (E1-E2) and a new test session (T4). Lastly, a re-instatement (RE) and a final test trial (T5) were held. All sessions lasted 20-min. It was shown a significant increase in the time spent in the conditioned compartment and the levels of scan behavior increased significantly in response to the cocaine injections, suggestive of a contextual conditioning and hypervigilance effect, respectively. While extinction reversed both effects, a subsequent cocaine challenge only re-established hypervigilance in the marmosets. These results are consistent with previous studies in rodents and nonhuman primates. However, further studies are needed to better elucidate several methodological aspects of this procedure in nonhuman primates, to then establish new possible strategies for treating cocaine dependence.

Keywords: conditioned place preference (CPP), cocaine, nonhuman primates, hypervigilance.

SUMÁRIO

➤ Agradecimentos	i
➤ Sumário	iv
➤ Resumo	vi
➤ Abstract	vii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Aspectos gerais da dependência	1
1.2. Farmacodependência da cocaína	5
1.3. Testes pré-clínicos para o estudo da dependência	9
1.4. Uso de primatas não-humanos em estudos neuropsicofarmacológicos -- 14	
2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO ESTUDO	16
3. OBJETIVO	18
3.1. Objetivo Geral	18
3.2. Objetivos específicos	18
4. METODOLOGIA	19
4.1. Sujeitos e condição de alojamento	19
4.2. Drogas empregadas no estudo	21
4.3. Aparato experimental	21
4.4. Procedimento Experimental	23
Fase 1: Habituação	23
Fase 2: Condicionamento e Teste	24

Fase 3: Extinção e Teste -----	25
Fase 4: Recaída e Teste -----	25
4.5. Análise Comportamental e Estatística -----	26
5. RESULTADOS -----	28
5.1. Habituação ao aparato -----	28
5.2. Aquisição e manutenção de um efeito de preferência por lugar -----	28
5.3. Aquisição e manutenção de um efeito de hipervigilância -----	31
6. DISCUSSÃO -----	34
6.1. Habituação ao aparato -----	34
6.2. Aquisição e manutenção de um efeito de preferência por lugar -----	36
6.3. Aquisição e manutenção de um efeito de hipervigilância -----	39
7. CONCLUSÃO -----	42
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA -----	43
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética no Uso Animal -----	61

“Adquire conhecimento: ele habilita o seu possuidor a discernir o certo do errado”.

“Busca conhecimento do berço à sepultura”.

Hadith Sahih (Ditos do profeta Mohamad (SAW)).

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos gerais da dependência

De acordo com a OMS (2004) (1), a farmacodependência é definida como sendo um estado físico e/ou psicológico causado pela ação recíproca entre um organismo vivo e um fármaco. A mesma também é caracterizada pelo impulso irreprimível de usar a substância em questão, de forma contínua ou periódica, a fim de experimentar seus efeitos e evitar o mal-estar induzido pela sua privação.

A dependência também é vista como uma doença do cérebro (2), sendo um transtorno da função cerebral ocasionado pelo consumo de substâncias psicoativas. Estas substâncias afetam os processos cerebrais normais senso-perceptuais, emocionais e motivacionais (3), de modo que quando o uso da droga é interrompido, e a substância não está mais presente no corpo, há uma motivação forte para a retomada do consumo, mesmo após meses ou anos sem a sua administração (2).

Portanto, a dependência é um padrão desadaptado de uso recorrente de substâncias psicoativas que, além de induzir alterações comportamentais e fisiológicas clinicamente significativas, gera importantes distúrbios familiares e sociais. Essa alteração patológica dos mecanismos motivacionais endógenos é classificada, essencialmente, pela perda do controle da auto-administração da substância, o surgimento de sintomas de retirada quando da suspensão do uso e a existência de tolerância aos efeitos da droga, segundo os critérios do *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV, versão revisada) da Associação de Norte-Americana de Psiquiatria (APA, 1994).

Os critérios para diagnóstico explicitam que uma pessoa é dependente quando apresenta pelo menos três dos seguintes critérios: 1) evidência de tolerância, havendo a necessidade de doses crescentes para obter-se os efeitos anteriormente produzidos com doses inferiores ou ainda, acentuada redução do efeito com o uso continuado da mesma quantidade de substância; 2) estado de abstinência fisiológica manifestado quando o consumo é suspenso ou reduzido, ou quando a mesma substância (ou uma substância estreitamente relacionada) é consumida para aliviar ou evitar sintomas de abstinência com; 3) a substância

é freqüentemente consumida em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido com dificuldade de controlar o comportamento de consumo em termos de seu início, término ou níveis de consumo; 4) desejo persistente ou esforços mal-sucedidos no sentido de reduzir ou controlar o uso da substância 5) aumento do tempo empregado em conseguir e/ou consumir a substância ou recuperar-se dos seus efeitos; 6) abandono progressivo ou redução de importantes atividades sociais, ocupacionais ou prazerosas em virtude do uso da substância; e 7) persistência no consumo, apesar de provas evidentes de conseqüências prejudiciais, tais como lesões hepáticas, humor deprimido e perturbação das funções cognitivas (APA, 1994).

Contudo, os sintomas mais facilmente detectados são: a apresentação de um padrão desadaptado de uso, levando a perturbações clinicamente importantes, como a perda do controle de auto-administração da substância, sintomas de retirada quando da suspensão do uso e existência de tolerância aos efeitos da droga.

A dependência, porém, não é um processo que se instala repentinamente no indivíduo, sendo, na verdade, um processo contínuo de cinco etapas gerais: 1) *aquisição*, relacionada aos mecanismos de reforçamento, sistemas neurais de recompensa e poder inerente da droga gerar dependência; 2) *manutenção*, formação do hábito de consumir a substância em questão (4); 3) *retirada*, interrupção do consumo; 4) *compulsão*, associada ao intenso desejo de se obter e consumir a droga após sua retirada (5); e 5) *recaída*, retomada do comportamento de busca e auto-administração (4). Essa divisão é meramente didática, visto que as diferentes etapas podem se sobrepor, consideravelmente, em termos da sintomatologia observada, dos componentes neuroquímicos e fisiológicos que subsidiam as respostas detectadas, assim como das áreas neurais ativadas.

Os mecanismos neurais pelas quais determinadas substâncias psicoativas levam a dependência ainda não estão totalmente elucidados (5). Sabe-se, porém, que esta capacidade está relacionada à ativação das áreas neurais relacionadas aos reforçadores naturais, tais como alimento, água e sexo. Estes

estímulos, assim como as drogas de abuso, têm o efeito comum de aumentar a probabilidade de ocorrência de comportamentos diretamente a eles associados (6). No caso do reforçamento positivo, visto predominantemente na etapa de aquisição da dependência, os comportamentos relacionados à obtenção do estímulo tornam-se mais frequentes com o intuito de se obter o seu efeito prazeroso (7). Por outro lado, no reforçamento negativo, o comportamento também se torna mais frequente, mas agora com o objetivo de diminuir o efeito aversivo provocado pela interrupção no consumo/aceso ao estímulo, ocorrendo principalmente na etapa de manutenção da dependência (7).

Independente de ser um reforçador natural ou uma substância psicoativa com potencial de causar dependência, esses estímulos levam a um aumento na ativação da via dopaminérgica mesocorticolímbica (8). Esta via – conhecida como sistema de ‘recompensa/prazer’ – tem origem na área tegmental ventral do mesencéfalo (VTA) e projeta para o estriado ventral, incluindo o núcleo accumbens (NAc), e outras regiões do sistema límbico, como a amígdala e o septo, assim como para diferentes áreas corticais pré-frontais (Figura 1) (4, 9).

Todas as drogas capazes de ativar o NAc, tais como opióides, nicotina, anfetaminas, etanol e cocaína, são capazes de gerar dependência, mesmo que por mecanismos de ação diferentes (4, 10, 6, 8). Portanto, esta estrutura atua como uma importante interface entre os sistemas límbicos e motor, relacionado à motivação das nossas ações (11).

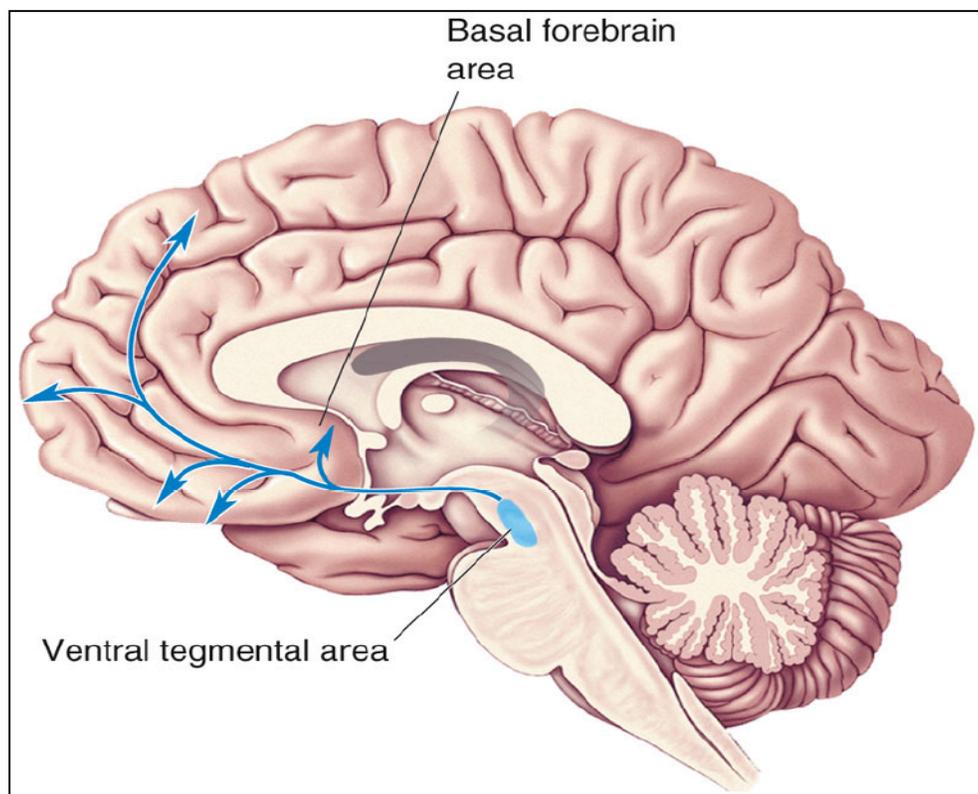


Figura 1: Representação esquemática das vias do sistema dopaminérgico mesolímbico (MACHADO, 2000).

Na verdade, o aumento na disponibilidade extra-celular de dopamina (DA) no NAc, gerado pela drogas de abuso, está relacionado ao comportamento de auto-administração e os processos de reforçamento positivo (12, 8, 7). Porém, sabe-se atualmente que outros neurotransmissores são fundamentais para farmacodependência, a exemplo da serotonina (5-HT), do glutamato e do ácido gama-aminobutírico (GABA) (6). Ademais, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) também é alterado por drogas de abuso, podendo esse efeito estar relacionado aos mecanismos envolvidos na dependência (13, 14).

Uma vez que o presente trabalho abordou aspectos da dependência por cocaína, será apresentado a seguir mais detalhes apenas para essa droga de abuso.

1.2. Farmacodependência da cocaína

A cocaína é um alcalóide extraído das folhas do arbusto de coca (*Erythroxylon coca*), uma planta tipicamente encontrada na Bolívia, Peru, Colômbia e Equador. Desde o século XVI, nativos dos Andes a utilizavam por seu efeito estimulante e eufórico, mascando ou consumido chás da folha (10). Seu uso era indicado para diminuir os efeitos de elevadas altitudes e facilitar a realização de trabalhos pesados nessas regiões, uma vez que diminui os sintomas de cansaço e fome, além de melhorar a resistência do organismo em circunstâncias ambientais adversas. Ela também era utilizada em rituais e eventos religiosos, considerando que os Incas acreditavam que a folha da coca era um presente do deus do Sol (10 observou que o composto causava dormência na língua (15). O psiquiatra Sigmund Freud foi o primeiro a fazer experimentos psicofarmacológicos com a cocaína, estudou as ações fisiológicas desse alcalóide e publicou uma monografia em que relatou as virtudes da droga e a recomendava para o tratamento de alcoolismo, depressão e outras doenças (10). Em 1884, Karl Koller descobriu que o olho humano tornava-se insensível à dor com o uso da cocaína, representando o primeiro passo para a anestesia local, sendo o primeiro a utilizá-la como anestésico tópico em cirurgias oftalmológicas (16, 15). Ainda no século XIX, um químico desenvolveu uma mistura de folhas de coca com vinho, resultando na célebre bebida Vin Mariani. Essa bebida foi experimentada e apreciada por pessoas famosas, como o Papa Leo XVIII, que premiou o químico com uma medalha de ouro (17).

Seu uso se difundiu muito, contudo, na segunda metade do século XIX, quando uma companhia farmacêutica europeia passou a empregá-la em medicamentos, também sendo posteriormente adicionada a bebidas e alimentos (11). Entretanto, por possuir um grande potencial de abuso e toxicidade, gerando rapidamente um estado de dependência, a cocaína não é mais empregada na indústria alimentícia. De fato, o uso indevido e/ou descontrolado deste psicoestimulante vem crescendo em todo o mundo, principalmente em termos de alguns de seus derivados – como o *crack*, que é a base livre da cocaína e a forma mais potente da droga (18).

Os usuários de cocaína buscam, entre outros aspectos, os efeitos a curto prazo por ela propiciados, tais como: euforia, sensação de bem-estar e autoconfiança, exacerbação da sociabilidade e sexualidade, diminuição da fadiga e do sono, assim como melhora no desempenho de tarefas que exigem atenção e cautela (10, 18, 7). A cocaína também altera diversas funções autonômicas e fisiológicas (10), sendo a midríase, anorexia, hipertermia e elevação da pressão arterial, apenas alguns exemplos. Todos esses efeitos, juntamente com um aumento na locomoção e vigilância, ocorrem em poucos segundos/minutos após o consumo, apesar terem um curto intervalo de duração, dependendo da dose e via de administração.

Doses mais elevadas e/ou uso crônico e indiscriminado podem provocar episódios de agressividade, delírios, alucinações, distúrbios do humor, comportamentos estereotipados e irritabilidade (10, 18, 7), além de cefaléia, parada cardiorespiratória, convulsões e óbito (5,19). Esses efeitos são dependentes da frequência cardíaca e pressão arterial, assim como da dose utilizada (7).

O mecanismo pelo qual a cocaína leva a dependência está intimamente relacionado ao neurotransmissor DA. Esse psicoestimulante se liga às proteínas transportadoras de DA (DAT) presentes na membrana pré-sináptica, bloqueando, assim, a recaptção desse neurotransmissor (10, 6). Estudos recentes sugerem que esta droga também possa facilitar a liberação de DA, atuando nos transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT), responsáveis pelo armazenamento deste neurotransmissor nos neurônios pré-sinápticos, porém este mecanismo ainda não se encontra totalmente elucidado (20). Independente do mecanismo específico sabe-se que a cocaína leva a um aumento extracelular substancial de DA (Figura 2) (21, 6). No NAc, este acúmulo proveniente da VTA é visto como um dos principais mecanismos subjacentes ao efeito reforçador e a hiperatividade induzida pela administração da cocaína (ex: 22).

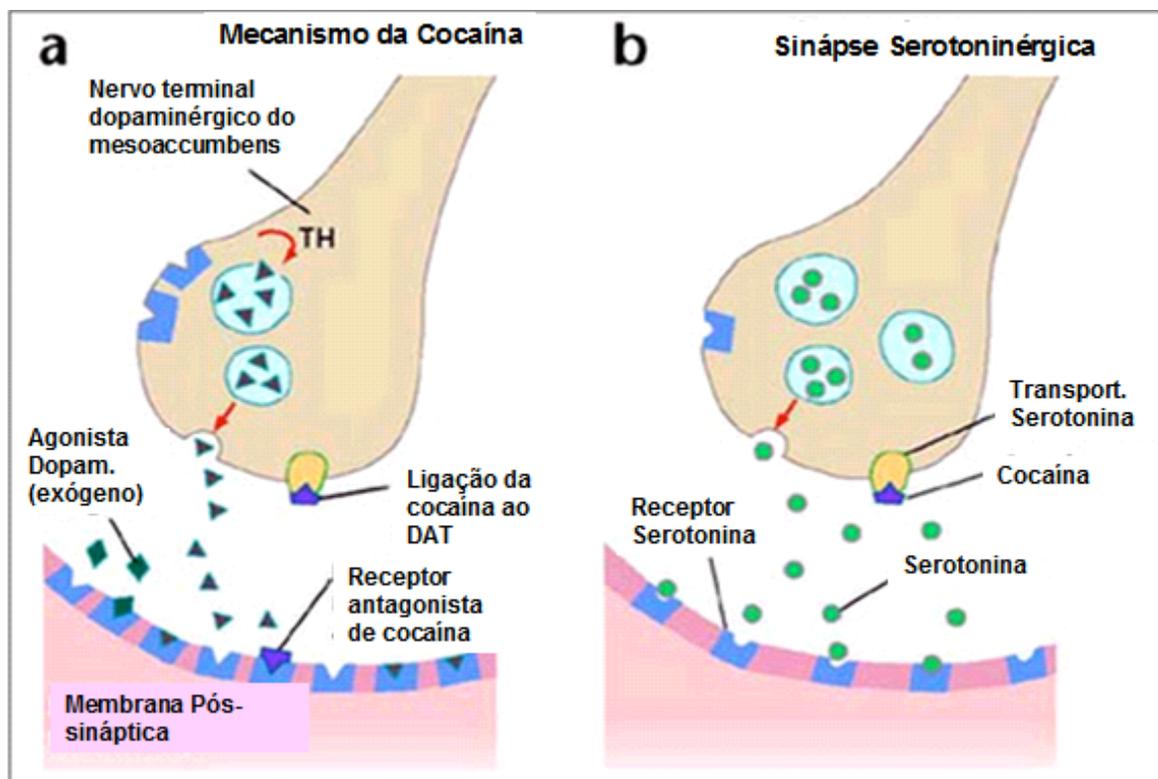


Figura 2: Esquema ilustrativo do mecanismo de ação da cocaína: A cocaína liga-se ao transportador da dopamina (a) impedindo a recaptação desta. O excesso resultante de dopamina na sinapse é responsável pelos efeitos comportamentais observados para cocaína. (b) Em menor escala ocorre a ligação aos transportadores de serotonina e noradrenalina, resultando também no acúmulo destes neurotransmissores (adaptado de CAINE, 1998).

Contudo, estudos empregando camundongos *knockouts* para DAT (ex. 23) sugerem que outros neurotransmissores também exercem um importante papel modulador na dependência por cocaína, via mecanismos dependentes e/ou independentes de DA (23, 24). Por exemplo, a cocaína aumenta a disponibilidade de 5-HT no NAc (Figura 2) (6), podendo haver, portanto, uma interação entre os sistemas DA/5-HT nesta, e talvez outras regiões com altas concentrações de receptores 5-HT. De fato, a administração de um antagonista de receptores 5-HT_{1A} (WAY 100635) bloqueou, enquanto que a de um agonista (8-OH-DPAT) aumentou a hiperatividade induzida por baixas doses de cocaína em roedores, sem alterar a capacidade dessa última em aumentar a disponibilidade de DA em regiões relacionadas ao processo de reforçamento (25, 26, 27, 28, 29, 24).

Além disso, a substância P (SP), um neuropeptídeo da família das taquicininas, possui um conhecido efeito reforçador (ex. 30), aumentando a concentração extracelular de DA (31). Com a administração de antagonistas de receptores NK₁, ligante preferencial da SP, estes efeitos foram bloqueados (32, 33, 34). Recentemente, em ratos e primatas neotropicais, os receptores NK₃ também se mostraram relacionados aos efeitos comportamentais e/ou neuroquímicos da cocaína (35; 36, 37).

Além dessas alterações neuroquímicas, há importantes modificações endócrinas, como a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e a inibição da prolactina (38). A primeira decorre, principalmente, 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 (39) e de cortisol em primatas não-humanos e no homem (40, 41). O mecanismo exato de como a cocaína estimula o eixo HPA ainda não está totalmente elucidado, apesar de haver indícios de uma modulação direta via neurotransmissores, como a DA e 5-HT (14).

Como o eixo HPA constitui o principal sistema endógeno relacionado ao estresse (19), vários autores vêm sugerindo a existência de uma importante relação entre este sistema e os mecanismos neurais que subsidiam a farmacodependência (19, 42). Nesse sentido, os glicocorticóides atuam diretamente sobre o mecanismo reforçador da cocaína, uma vez que facilitam a neurotransmissão de DA no NAc (43). Portanto, as alterações hormonais observadas a partir do uso deste psicoestimulante podem estar relacionadas, em parte, aos mecanismos da dependência, com uma resposta de recaída após a sua retirada. Vale ressaltar que a ativação do eixo HPA não é uma condição primordial para que a droga induza seus efeitos eufóricos comportamentais, nem para o desenvolvimento da dependência (43).

1.3. Testes pré-clínicos para o estudo da dependência

A dependência, um distúrbio complexo e que ocorre inerentemente em humanos, possui ainda muitos aspectos a serem elucidados, incluindo o desenvolvimento de estratégias farmacoterapêuticas eficazes para o tratamento de usuários crônicos de cocaína ou até mesmo para a prevenção desta psicopatologia. Para entender melhor os efeitos neuroquímicos, comportamentais e fisiológicos resultantes do consumo da cocaína, bem como estabelecer a inter-relação entre os mesmos, contribuições significativas tem sido obtidas através de estudos que empregam modelos animais.

Estudos desta natureza permitem verificar, de forma mais controlada, os diversos efeitos da administração de cocaína, assim como avaliar a relação desses com vários estímulos ambientais que contribuem para as diferentes etapas da dependência, e auxiliar no desenvolvimento de estratégias terapêuticas para o seu tratamento. Por outro lado, estudos clínicos, realizados com usuários, apresentam complicações éticas e metodológicas, como a influência do uso concomitante de outras substâncias que dificultam a interpretação dos efeitos provocados apenas pelo uso da cocaína (25).

Empregado em diversos animais – incluindo aves, roedores e primatas não-humanos – o teste de auto-administração está baseado essencialmente no aprendizado de um condicionamento operante/instrumental, na qual há um aumento na probabilidade de (re)ocorrência de um determinado comportamento (ex: pressionar uma barra), devido à obtenção subsequente de um reforçador subjetivamente prazeroso (droga) (7). Nesse procedimento, o animal é inicialmente treinado para emitir uma determinada resposta, geralmente a de pressionar uma barra ou de cheirar. Como consequência desse comportamento, um sistema automatizado fornece uma dose pré-determinada da droga ao sujeito. Avalia-se então a frequência com que o comportamento treinado ocorre, sendo o seu aumento progressivo e constante um indicador da perda do controle da auto-administração, visto por sua vez como o desenvolvimento e/ou estabelecimento um estado de dependência no animal em questão.

O teste de auto-administração tem sido largamente empregado para elucidar os mecanismos de reforçamento, apresentando grande validade fenomenológica, teórica e preditiva, visto que: 1) em usuários dependentes de diversas substâncias, são observadas alterações nos padrões de busca e de auto-administração; 2) circuitos neurais relacionados ao processo de reforçamento, a exemplo do NAc, são ativados durante o comportamento de auto-administração; e 3) apenas drogas auto-administradas por humanos também o são, de forma voluntária, por animais (7).

Neste tipo de procedimento, ocorre a administração ativa da cocaína pelo próprio indivíduo, o que se aproxima mais das condições observadas na dependência no homem (44), além de empregar um sistema automatizado de testes, que diminui o contato/interferência com o experimentador (45). Estudos de auto-administração também permitem uma análise intra-individual, facilitando inclusive a obtenção de curvas dose-resposta mais detalhadas, uma vez que possibilita o uso de amostra pareadas/dependentes (44). Existe ainda uma grande variabilidade em termos da forma com que o esquema de reforçamento é realizado (razão fixa/variável, intervalo fixo/variável), da via de administração (oral, iv, icv) e da variável sendo medida (taxa de resposta, consumo), propiciando maior flexibilidade experimental (45).

Embora o modelo de auto-administração apresente validade aparente e generalização entre espécies, ele possui algumas desvantagens. Requer várias sessões para obtenção de níveis estáveis de resposta e assim demanda um maior investimento de tempo para realização do procedimento. Além disso, apresenta grande variabilidade inter-individual, requer um investimento para sua automação e necessita de procedimentos cirúrgicos para implantação de cânulas/cateteres, além de ser necessários cuidados especiais para manter o funcionamento do cateter para a administração da cocaína (44).

Outro procedimento, o de preferência-condicionada-por-lugar (*conditioned place-preference* – CPP) vem sendo empregado com uma frequência cada vez maior nos últimos 10 anos (46), devido em parte as suas inúmeras vantagens e simplicidade (46). Esse teste, baseado no condicionamento pavloviano clássico,

reflete a capacidade de estímulos ambientais originalmente neutros adquirirem propriedades motivacionais positivas após serem apresentados repetidamente na presença de uma substância com potencial de abuso (45), a exemplo da cocaína. Estímulos variados, como cor, textura, tamanho ou odores podem ser usados na obtenção de uma preferência condicionada por lugar (44), tendo sido evidenciado – em quase sua totalidade – em roedores (44, 47).

O teste de CPP, comparado ao de auto-administração, pode estar mensurando aspectos distintos do processo da dependência, visto que envolve a administração passiva da droga via o experimentador, apresenta apenas uma concordância parcial em termos dos compostos capazes de induzir a resposta esperada, e responde distintamente a determinadas manipulações neurofarmacológicas (44). Portanto, o CPP parece ser uma ferramenta complementar ao teste de auto-administração na avaliação dos mecanismos neurais subjacentes a farmacodependência, sendo que também apresenta uma validade fenomenológica, teórica e preditiva (44). Usuários crônicos desenvolvem comportamentos condicionados a diferentes estímulos (48), principalmente ambientais, que por sua vez contribuem significativamente para a retomada do comportamento de busca e auto-administração. Sendo assim, segundo os critérios da DSM-IV para classificar um indivíduo como dependente, de acordo com o procedimento de preferência condicionada por lugar, este permite avaliar a dependência pelo estado de abstinência, uma vez que é sabido que um dos fatores que fazem com que usuários de droga retomem à esta prática após um período de abstinência, é a presença de pistas ambientais relacionadas à administração da droga.

Via este procedimento, torna-se possível avaliar vários aspectos relacionados aos mecanismos neurais que contribuem para a dependência, destacando-se: 1) o processo de reforçamento através da mensuração dos estados motivacionais condicionados; 2) o efeito de sensibilização e/ou tolerância; 3) a relação temporal da associação estímulo-resposta; 4) a discriminação entre diferentes tipos de reforçadores e 5) a identificação de que estímulos ambientais contribuem para a fissura e recaída (44, 46). A

simplicidade, o baixo custo, a necessidade de poucas sessões de pareamento, a sensibilidade mesmo em baixas doses da droga, a dispensa de procedimentos cirúrgicos prévios, a obtenção de medidas de reforçamento e aversão, a realização da sessão teste na ausência da droga e a possibilidade de medir diferentes aspectos comportamentais (tais como locomoção, vigilância) também são aspectos importantes que favorecem o uso do CPP como ferramenta experimental (44).

Outra vantagem do teste de CPP consiste na sua aplicabilidade em vários tipos de modelos animais, além de roedores. Por exemplo, a aquisição de preferência condicionada por lugar induzida por cocaína também já foi demonstrada em aves (49). Nesse estudo foram utilizados estímulos visuais, e cores em particular, visto que esse sistema sensorial é bem desenvolvido em aves (49). Isto contrasta com as pistas contextuais multimodais (visuais, táteis, olfativas), tipicamente utilizadas em roedores, cuja acuidade visual é relativamente pobre. A possibilidade de realizar estudos comparando diferentes espécies pode fornecer dados importantes de como os mecanismos de condicionamento diferem entre os elementos contextuais visual, táteis e olfativos (44).

Dessa forma, o procedimento de CPP tornou-se uma alternativa popular ao procedimento de auto-administração para avaliar os efeitos de recompensa de uma série de drogas, incluindo a cocaína (50, 51, 53). O primeiro estudo utilizando uma metodologia similar ao CPP talvez tenha sido conduzido por SPRAGG (1940) (52), que realizou injeções diárias de morfina em chimpanzés. Depois de instaurada a dependência, os chimpanzés foram treinados para escolher entre uma caixa branca contendo uma seringa com uma dose de morfina e uma caixa preta contendo uma banana. Quando privados de morfina os chimpanzés escolheram abrir a caixa branca com a seringa, mas quando pré-tratados com a droga em questão, os chimpanzés escolheram a caixa preta com alimento. Com base neste trabalho, BEACH (1957) (54) demonstrou que ratos dependentes de morfina também apresentavam uma preferência pelo braço branco de um labirinto em Y, quando pareado com morfina.

O efeito observado em roedores submetidos ao CPP varia de acordo com o número de sessões de condicionamento, o intervalo entre as sessões, a dose administrada, a via de administração, o intervalo entre a injeção e a sessão, o local onde a droga foi injetada, a natureza do estímulo ambiental e o uso de estímulos uni- ou polimodais (revisado em 2, 46). Opióides e cocaína, porem, induzem um efeito robusto em diferentes condições experimentais (53).

Embora o teste de CPP possa ser empregado em diferentes modelos animais, primatas não-humanos ainda não são muito testados neste tipo procedimento (44, apesar de 52, 55).

1.4. Uso de primatas não-humanos em estudos neuropsicofarmacológicos

Vários são os estudos utilizando roedores como modelo animal para se investigar o processo de adicção. O seu mérito é indiscutível, tendo dado uma importante contribuição para o nosso entendimento atual dos mecanismos neurais que subsidiam a adicção. Mas, para minimizar possíveis restrições ao se generalizar para humanos os resultados obtidos com roedores, primatas não-humanos têm sido empregados com uma freqüência cada vez maior em estudos neuropsicofarmacológicos (56).

Os aspectos filogenéticos, a organização morfofuncional, as respostas fisiológicas, os componentes neuroquímicos e o comportamento de primatas não-humanos são mais parecidos com os de humanos que os de qualquer outro modelo animal (47). Várias espécies de primatas têm sido utilizadas como a etapa final de ensaios pré-clínicos no estabelecimento da segurança e eficácia de novos tratamentos farmacológicos (57). Além disso, tem-se uma melhor previsibilidade farmacocinética em símios, do que em roedores (58). 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 (59; 60), assim como uma maior homologia gênica do DAT de macacos com o do homem, que o de roedores (61). Estudos de longo-prazo e comparações intra-individuais, que permitem a diminuição do

número de sujeitos, são possíveis em várias espécies de primatas devido a sua longevidade (47).

Porém, muitas são as dificuldades de se trabalhar com estes animais. A exigência de uma dieta especial, espaço, higiene e interação social são parâmetros importantes a ser levados em consideração para evitar anormalidades comportamentais e fisiológicas (48, 49, 50). A fim de minimizar as dificuldades relacionadas ao custo e à manutenção de primatas não-humanos em cativeiros, nas últimas duas décadas tem surgido um interesse por espécies do Novo Mundo.

Em particular, o gênero *Callithrix*, pertencente à família dos calitriquídeos, pesa entre 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 estro pós-parto (62, 63). Possuem também, um sistema nervoso que se assemelha ao dos demais antropóides (64). Apesar da grande destruição do seu habitat natural, e conseqüente risco de extinção, as espécies *Callithrix jacchus* (mico-comum) e *C. penicillata* (mico-estrela; Figura 3) nunca foram consideradas ameaçadas ou estiveram vulneráveis à extinção. Essas duas espécies são conhecidas por habitarem regiões caracteristicamente inóspitas (cerrado e caatinga) e se adaptarem facilmente ao cativeiro, em comparação a outros símios (62, 65). 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 (66).



Figura 3: Fotografia de um indivíduo adulto da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*).

2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA DO ESTUDO

O abuso e dependência de drogas são problemas graves enfrentados pela nossa sociedade nos dias atuais, devendo ser tratados como uma questão de saúde pública, uma vez que envolvem uma problemática muito maior do que o mero tratamento clínico dos usuários. Esta prática acaba acometendo vários indivíduos, tendo prejuízos na sua vida profissional, social e familiar, podendo estar relacionada a causa direta ou indireta de vários crimes e mortes, além de ser um importante vetor para a transmissão de doenças como a hepatite B e a AIDS (6, 11).

Com relação à cocaína, especificamente, estima-se que 13,4 milhões de pessoas no mundo usam anualmente este psicoestimulante (1), sendo a maior parcela encontrada nas Américas, principalmente nos Estados Unidos (1). No Brasil, o consumo de cocaína por estudantes de 10-18 anos do ensino fundamental e médio das escolas públicas brasileiras aumentou de 0,6% em 1987 para 2,1% em 1997, permanecendo nesta taxa entre 1997-2004 (1, 66). No Distrito Federal, segundo dados do CEBRID (2004) (67), as drogas mais consumidas por adolescentes homens foram a maconha, a cocaína, os anabolizantes e os energéticos, enquanto que entre as mulheres, houve predomínio de anfetamínicos e ansiolíticos.

A configuração deste quadro tem proporcionado o avanço dos métodos de diagnósticos, da caracterização dos mecanismos neurobiológicos e da farmacologia das drogas, além de ter trazido uma nova compreensão da dependência que pode ser mais facilmente diagnosticada e tratada por um profissional treinado na área de saúde.

Por isso, estudos acerca da farmacodependência possuem um caráter de alta relevância, visto o crescente número de dependentes e o fato de que seus mecanismos precisam ser melhores elucidados. Além disso, as opções para os tratamentos ainda são restritas, visto que nem todos os mecanismos neurais associados às respostas comportamentais e fisiológicas destes distúrbios estão suficientemente esclarecidos. Portanto, trabalhos empregando animais são de suma importância para o desenvolvimento de tratamentos alternativos, e talvez

mais eficazes, que, a médio e longo prazo, possam ser aplicados em humanos usuários de drogas.

Para atingir esta meta, também torna-se necessário o desenvolvimento de novas estratégias experimentais para o estudo da dependência empregando animais. Além disso, o uso/adaptação de ferramentas já estabelecidas em roedores – os principais animais focados em estudos dessa natureza – para outros modelos animais fornecerá importantes subsídios comparativos para a elucidação dos mecanismos subjacentes à dependência que ocorre em humanos.

Nesse contexto, e conforme já detalhado acima, primatas não-humanos constituem bons modelos para esse tipo de estudo. Porém, poucos são os procedimentos já estabelecidos e sendo empregados com estes sujeitos.

3. OBJETIVO

3.1. Objetivo Geral

Este estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento de preferência condicionada por lugar induzida pela administração sistêmica e repetida de cocaína em primatas não-humanos (micos-estrela; *Callithrix penicillata*).

3.2. Objetivos específicos

Este trabalho se propôs, especificamente, a:

- Avaliar o perfil do repertório comportamental de micos-estrela adultos cativos ao longo de exposições repetidas ao aparato a ser usado no estudo;
- Detectar se os sujeitos apresentam alguma preferência natural prévia por um dos compartimentos do aparato;
- Induzir um efeito de preferência condicionada por lugar e analisar uma resposta de hipervigilância nos micos por meio de administrações repetidas e sistêmicas de cocaína, juntamente como a exposição à apenas um dos compartimentos do aparato;
- Analisar o perfil de extinção e recaída (após uma única dose de cocaína) de um possível efeito de preferência condicionada por lugar induzida pela cocaína nesses sujeitos;
- Investigar quais aspectos da neurobiologia da dependência esta metodologia permite avaliar;
- Avaliar a viabilidade de se usar o teste desta metodologia, em uma espécie de primata não-humano, como ferramenta experimental para o estudo da dependência por cocaína e estabelecer a espécie mico-estrela como um modelo animal em procedimentos dessa natureza.

4. METODOLOGIA

4.1. Sujeitos e condição de alojamento

No presente estudo foram utilizados nove sujeitos adultos (>18 meses), de ambos os sexos, da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*), pesando entre 290-420g no início do procedimento. Os micos foram mantidos em cativeiro no pavilhão de calitriquídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUnB). Esse pavilhão é circundado por mata de galeria, permitindo a manutenção dos animais sob condições naturais de temperatura, luminosidade e umidade. Nem todos os sujeitos desse pavilhão foram inclusos no estudo, mas todos já faziam parte do plantel do CPUnB, tendo sido repassados pelo IBAMA ou nascidos no próprio Centro há pelo menos 18 meses. O CPUnB, localizado na Fazenda Água Limpa (FAL) (16°30"S, 46°30"W) e aproximadamente 25 km do centro de Brasília, é credenciado pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis – IBAMA, como criadouro de primatas para fins científicos (Registro IBAMA 1/53/1999/000006-2).

Os micos foram alojados em pares ou grupos mistos de três animais, sendo que alguns deles não foram utilizados neste presente estudo. Cada par/grupo foi mantido em um viveiro-padrão para calitriquídeo do CPUnB (1,3 m de largura x 2 m de profundidade x 2 m de altura). O pavilhão específico para calitriquídeos (Figura 4) possui dois corredores, com doze viveiros cada, separados por um corredor central de segurança. Portanto, contato olfativo e audível era possível entre todos os membros desse pavilhão. Contato visual só era possível entre os animais alojados no lado oposto do corredor de segurança. Cada viveiro era formado 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 dos recintos. O piso do viveiro era formado por um estrato de terra coberto com areia lavada e em cima uma camada de serragem.



Figura 4: Fotografias do Pavilhão para Calitriquídeos do CPUnB. (A) Vista frontal do pavilhão: porta de acesso ao pavilhão; (B) Vista interna do pavilhão: corredor de segurança e disposição dos viveiros, (C) Vista lateral do pavilhão; e (D) Vista da outra lateral do pavilhão, mostrando os viveiros.

O pavilhão era coberto com telha Eternit® intercalada com telha transparente, situadas 50-100 cm acima da tela superior dos viveiros. Esse sistema de telha cobria todo o corredor central e dois terços de cada viveiro. A parte não coberta permitiu o acesso de raios solares e chuva. Cada viveiro foi provido com: uma caixa-ninho suspensa feita de bambu e forrada por dentro com um coberto tipo flanela, vários poleiros de madeira em diferentes alturas formando um sistema de balanços fixados na tela superior, um suporte com recipiente de alumínio para alimento fresco, um tubo de alimentação em PVC pendurado do teto para ração seca, e um sistema de bebedouro automatizado para água.

A alimentação foi fornecida duas vezes ao dia, às 07:00 h e 13:00 h. Esta consistia de uma mistura de frutas e legumes frescos, com farinha de minhocas. Houve uma variação da alimentação, por três dias da semana, que consistia em ovos cozidos, diversas nozes e/ou peito de frango cozido. Água e alimento seco são disponibilizados *ad libitum*. Toda a rotina alimentar e de manejo adotadas pelo CPUUnB, e que foram mantidas ao longo do estudo, estão em conformidade com o IBAMA. Durante o estudo os animais foram acompanhados por um médico veterinário, assim como, pesados e avaliados no início de cada mês. Além disso, os testes experimentais descritos abaixo também foram realizados nas dependências do CPUUnB.

4.2. Drogas empregadas no estudo

Hidrocloreto de cocaína (0 and 5 mg/kg; Sigma-Aldrich, EUA) foi dissolvido em solução salina e injetado via intraperitoneal, 5 minutos antes do teste comportamental, em um volume de 1 ml/kg. A escolha da dose de cocaína a ser empregada nesse estudo foi baseada em trabalhos anteriores em que foi demonstrando um efeito comportamental e fisiológico em micostrela (de 36, 37 68). A compra e utilização do hidrocloreto de cocaína em pesquisas no CPUUnB foram autorizadas pela Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA, Ministério da Saúde (no. 129/2005).

4.3. Aparato experimental

O experimento foi realizado em uma caixa retangular (caixa CPP: 150 cm largura x 30 cm profundidade x 35 cm altura), suspensa 1,20 m do chão. Essa caixa foi dividida em três compartimentos distintos; dois compartimentos laterais inter-conectados por um compartimento central (neutro) (Figura 5). Todos os compartimentos eram formados por três paredes e um piso de chapa de metal, e uma quarta parede e teto de vidro 4 mm.



Figura 5. Vista superior da caixa de CPP utilizada no estudo com um sujeito dentro, indicando a divisão em três compartimentos: dois laterais e um central (neutro), com suas respectivas portas tipo-guilhotina e revestimento interno diferenciado.

O compartimento central (30 cm largura x 30 cm profundidade x 35 cm altura), com um interior branco e liso, tinha uma porta tipo guilhotina em cada uma das três paredes de metal: uma central (que permitia a entrada/saída do aparato, oposta a parede de vidro), e uma em cada parede lateral (que permitia o acesso a cada compartimento lateral). Esses compartimentos laterais para realização do condicionamento, embora idênticos em tamanho (60 cm largura x 30 cm profundidade x 35 cm altura), tinham diferentes estímulos visuais e táteis. Um deles apresentava um padrão interno quadriculado preto-e-branco no chão e nas paredes, sendo os mesmos revestidos com uma tela metálica. O outro compartimento possuía um piso e paredes de textura ondulada e com um padrão de listras diagonais preto-e-branco (Figura 5). O tampo e a única parede de vidro dos três compartimentos foram mantidos transparentes de forma a permitir a visualização e registro dos comportamentos dos animais em cada sessão.

O estudo foi realizado em uma sala separada do pavilhão de moradia dos sujeitos. Dessa forma, os animais foram transportados de seus viveiros de moradia até a sala de experimento, e após a realização do teste, levados de volta. O traslado foi realizado em uma caixa-transporte (35 cm largura x 20 cm

profundidade x 23 cm altura), o qual não permitia visualização do ambiente externo pelo sujeito e possuía uma porta tipo-guilhotina que acoplava diretamente a entrada/saída da caixa CPP.

As sessões foram monitoradas por meio de um sistema de circuito interno de filmagem com duas câmeras digitais (Fire-i, Unibrain, EUA), uma instalada 1 m acima do aparato (vista superior) e outra localizada a 1,5 m da parede de vidro frontal do aparato (visão lateral). Essas câmeras foram conectadas a um computador portátil localizado do lado de fora da sala de experimento, de onde todas as sessões foram observadas e registradas. Duas lâmpadas, de 100 W cada, foram fixadas em paredes opostas da sala de experimento.

4.4. Procedimento Experimental

Os sujeitos foram submetidos ao mesmo procedimento descrito abaixo, consistindo em quatro fases realizadas consecutivamente (Figura 6). O procedimento foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da UnB (em anexo), respeitando o 'Princípio Brasileiro de Uso de Animais de Laboratório' determinado pelo COBEA.

Independente da fase, cada sessão realizada consistiu em capturar o sujeito em seu viveiro de moradia e colocá-lo na caixa-transporte. O animal foi então levado a sala de experimento e liberado no compartimento central da caixa CPP após um intervalo de 5 min, iniciando assim uma sessão. Transcorrido esse intervalo, o animal foi levado de volta ao seu viveiro de moradia, via caixa-transporte. A ordem com que os sujeitos foram testados variou aleatoriamente em cada dia, e todos os animais foram testados apenas uma vez por dia. As sessões foram realizadas das 13:00 às 17:00 h, em intervalos de 24h.

Fase 1: Habituação

Nesta primeira fase, cada sujeito foi submetido a oito sessões de habituação ao aparato. Durante essa fase, as portas tipo-guilhotina laterais da caixa CPP, que dão acesso do compartimento central aos laterais, foram

mantidas abertas, conferindo ao sujeito o acesso livre e espontâneo a todo aparato. Todas as oito sessões foram realizadas na ausência da administração de qualquer substância. Essa fase teve como objetivo habituar os animais à caixa CPP, uma vez que ambientes novos são estímulos conhecidamente ansiogênicos em micos (66; 2004, 2008), além de verificar possíveis preferências naturais dos animais por um dos dois compartimentos laterais do aparato.

Fase 2: Condicionamento e Teste

Na segunda fase do estudo, realizada 24-h após a última sessão de habituação, os micos foram divididos aleatoriamente em dois grupos: salina (n = 4) e cocaína (n = 5). Nessa fase foram realizados três ciclos de sessões, cada um contendo uma sequência de três condicionamentos e um teste (Figura 6). Cada sessão teve uma duração de 20-min e foram realizadas em intervalos de 24-h.



Figura 6: Representação esquemática da seqüência de sessões realizadas no estudo, incluindo as nove sessões de condicionamento (C1 – C9) e seus respectivos testes (T1 – T3) referentes a Fase 2; as sessões referente a Fase de Extinção (E1– E2) e seu respectivo teste (T4) e a última fase experimental, a recaída e seu respectivo teste (T5).

Nas nove sessões de condicionamento (C1-C3, C4-C6 e C7-C9) os sujeitos do grupo cocaína foram injetados via ip com 5 mg/kg do referido composto depois de serem capturados em seus viveiros de moradia e 5-min

antes de liberados no aparato. Os micos do grupo controle, por sua vez, receberam apenas uma injeção ip de salina. Também nessas sessões, os micos somente tiveram acesso a um dos compartimentos laterais (além do compartimento central), sendo esse denominado de compartimento condicionado (CC). Quatro sujeitos foram condicionados em seu compartimento preferido, independentemente do grupo ao qual pertencia, e os outros cinco tiveram acesso ao compartimento não-preferido. A preferência foi estabelecida como sendo o compartimento lateral que o animal mais ocupou durante as sessões de habituação. A mesma foi determinada pela média do tempo de permanência em cada compartimento nas últimas quatro sessões de habituação. Além disso, quatro sujeitos foram condicionados ao compartimento apresentando o padrão visual interno quadriculado e cinco ao que tinha o padrão com listras diagonais. Vale ressaltar que, para cada mico, o compartimento estabelecido como sendo o CC permaneceu o mesmo durante todo o experimento.

Nas três sessões teste (T1-T3), cada uma realizada após uma sequência de três sessões de condicionamento, os sujeitos de ambos os grupos não somente tiveram livre acesso a todo o aparato, como também foram realizadas na ausência de qualquer tratamento (Figura 6).

Fase 3: Extinção e Teste

A terceira fase do trabalho, realizada 24-h após a sessão T3, consistiu em submeter os micos de ambos os grupos a duas sessões de extinção (E1-E2) e mais uma de teste (T4) (Figura 6). Nas duas primeiras, salina foi administrada aos dois grupos 5-min antes dos micos serem liberados na caixa CPP e acesso foi dado apenas ao compartimento condicionado. Na sessão T4, seguiu-se o mesmo procedimento descrito na fase anterior.

Fase 4: Recaída e Teste

Na última fase, realizada 24-h após a sessão T3, foram realizadas mais duas sessões: uma de recaída e mais uma de teste (T5) (Figura 6). Na sessão

de recaída o efeito comportamental de uma única dose de cocaína, administrada na dose de 5 mg/kg e 5-min antes da liberação no aparato, foi avaliado no grupo droga-pareado. Nos animais que haviam recebido salina (grupo controle), foi administrada uma nova injeção de salina 5-min antes de serem expostos a caixa CPP. Durante a sessão de recaída, apenas o compartimento condicionado, estabelecido anteriormente, esteve novamente acessível aos sujeitos de ambos os grupos. Uma última sessão teste, também realizada conforme já descrito acima na fase 3, foi realizada no último dia do experimento.

4.5. Análise Comportamental e Estatística

Em todas as sessões, o comportamento dos micos de ambos os grupos foi observado e gravado – via o circuito interno de filmagem acoplado ao computador portátil localizado fora da sala de experimento – no programa de análises comportamentais ANY-maze Video Tracking System (v.4.63; Stoelting Co., EUA). O tempo de permanência, o número de entradas, a distância percorrida e o número de cruzamento de um compartimento ao outro foram registrados automaticamente pelo programa usando a imagem fornecida pela câmera localizada em cima do aparato. A aquisição da preferência condicionada por lugar foi determinada pelo tempo que o animal permaneceu no compartimento condicionado da caixa CPP durante as sessões teste.

Os demais comportamentos avaliados no estudo também foram registrados no mesmo programa, por um experimentador com 95% de confiabilidade intra-observador. Estes comportamentos foram obtidos manualmente, pressionando teclas previamente determinadas do computador, em resposta ao desempenho comportamental apresentado pelo sujeito. Foram eles: 1) *scan*, freqüência do movimento de varredura da cabeça com duração > 5-s, enquanto o animal permaneceu parado; e 2) atividade exploratória, freqüência de *leg-stand* (levantar o corpo em uma posição bípede), *head-cock* (movimento da cabeça de um lado para o outro) e cheirar/lamber qualquer parte do aparato.

Para os parâmetros de distância percorrida, número de cruzamento, atividade exploratória e *scan*, os resultados da primeira e última sessão de habituação, agrupando os dados dos nove sujeitos, foram analisados usando o teste-t para amostras pareadas. O tempo de permanência e o número de entradas em cada compartimento do aparato também foram comparados entre a primeira e última sessão de habituação empregando uma Análise de Variância (ANOVA) de duas vias (*two-way*) para medidas repetidas, utilizando como fatores 'sessão' (H1 e H8) e 'compartimento' (direita, esquerda e central). Uma ANOVA de duas vias, com 'sessão' (H1 e sessões subsequentes) e 'grupo experimental' (salina e cocaína) como fatores, foi utilizada para analisar os parâmetros comportamentais avaliados durante as sessões de condicionamento, teste, extinção e recaída. Quando resultados significativos foram obtidos, o teste de Dunnett foi empregado para realizar comparações pareadas múltiplas. Para todos os testes, o nível de significância foi estabelecido em $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Habituação ao aparato

Ao longo da fase inicial de habituação a caixa CPP, foi observada uma diminuição significativa dos níveis de exploração dos micos dentro do aparato, quando a primeira e última sessão foram comparadas ($t_8=3,56$; $p<0,01$; Figura 6). Além disto, a distância total percorrida diminuiu, apesar de não atingir níveis significativos (H1 x H8: $t_8=-0,38$; $p=0,71$), enquanto que o número de cruzamentos entre os compartimentos permaneceu inalterado (H1 x H8: $t_8=1,33$; $p=0,22$). No entanto, a frequência de entrada no compartimento central da caixa CPP foi significativamente maior do que nos dois compartimentos laterais (H1 x H8: $F_{2,8}=27,18$; $p<0,01$), sendo que esse perfil permaneceu inalterado ao se comparar a primeira e a última sessão de habituação ($F_{1,8}=0,20$; $p=0,67$). O tempo de permanência em cada compartimento do aparato também foi semelhante dentre ($F_{2,8}=2,11$; $p=0,15$) e entre as sessões (H1 x H8: $F_{1,8}=0,91$; $p=0,37$), sendo esse mesmo padrão observado para a frequência do comportamento de *scan* (H1 x H8: $t_8=-1,22$; $p=0,26$; Figura 6).

5.2. Aquisição de um efeito de preferência condicionada por lugar

Ao analisar as três primeiras sessões teste (T1-T3), realizadas ao final de cada ciclo de três sessões de condicionamento da segunda fase do estudo, foi detectado um efeito de preferência por lugar, dependente do tipo de tratamento administrado (Figura 7).

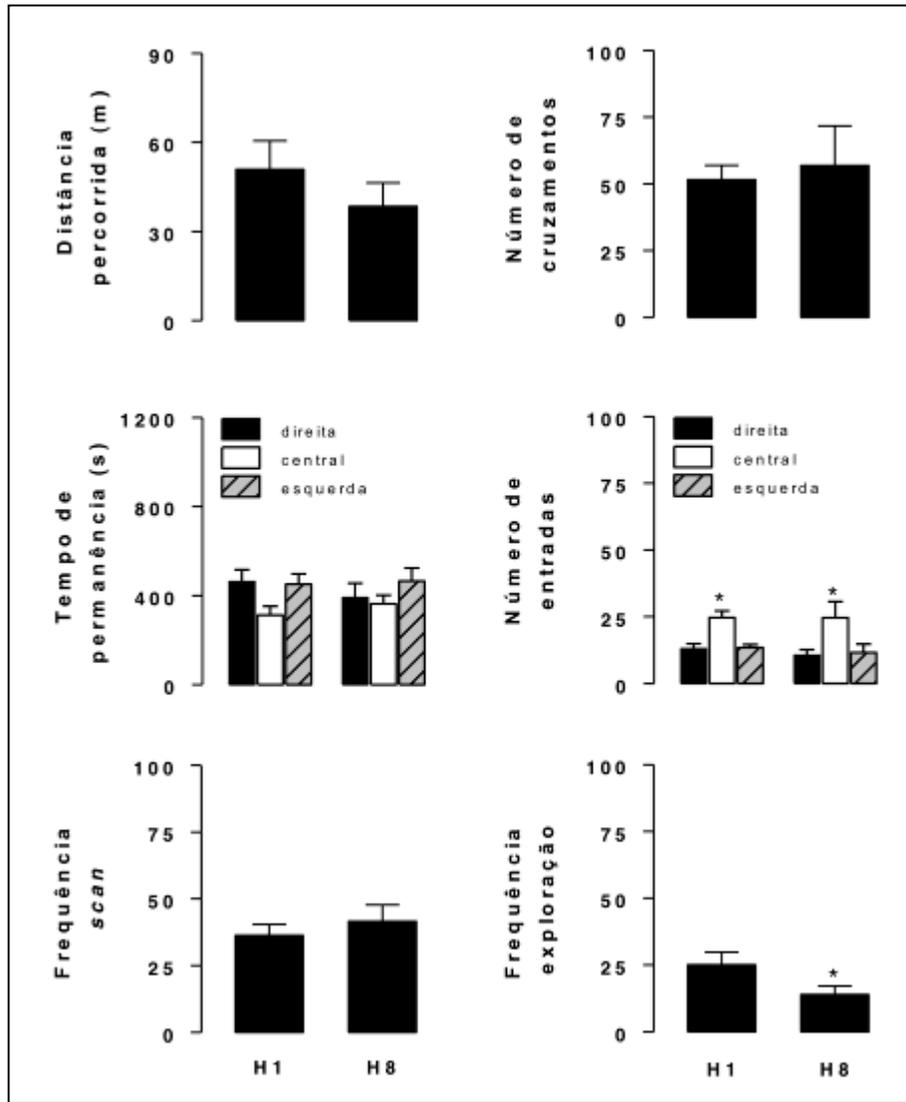


Figura 6: Média (+e.p.m.) dos parâmetros comportamentais registrados ao longo dos 20-min da primeira (H1) e última (H8) sessão de habituação ao aparato. *Superior:* distância total percorrida, em metros (esquerda), e o número total de cruzamentos entre os três compartimentos (direita); *Centro:* tempo total de permanência, em segundos, em cada um dos três compartimentos (esquerda) e o número total de entradas em cada compartimento (direita); *Inferior:* frequência do comportamento de *scan* (esquerda) e de atividades exploratórias (cheiro, *lamber*, *leg-stand* e *head-cock*). n=9; *p<0,05 vs. compartimentos direito/esquerdo (no. entradas) ou H1 (exploração).

De fato, o tempo que os sujeitos do grupo cocaína permaneceram no compartimento condicionado foi significativamente maior na sessão T3 comparado à H8 (controle) ($F_{5,7}=3,55$; $p<0,05$). Por outro lado, a permanência no compartimento não-condicionado na sessão T3 por esses mesmos micos foi significativamente menor, também se comparado ao controle H8 ($F_{5,7}=3,13$; $p<0,05$). Esse perfil diferenciado de ocupação da caixa CPP não foi observado

durante as sessões T4 ou T5, realizadas ao final das fases de extinção e recaída, respectivamente, independente do tratamento que foi administrado durante as sessões de condicionamento. Apesar de não ter sido detectado um efeito de grupo (cocaína vs. salina) – tanto no compartimento condicionado ($F_{1,7}=0,92$; $p=0,31$), quanto no não-condicionado ($F_{1,7}=0,85$; $p=0,55$) – a diferença observada entre as sessões foi dependente do grupo, visto que houve uma interação significativa entre os fatores sessão x grupo (compartimento condicionado: $F_{5,35}=2,89$; $p<0,05$; compartimento não-condicionado: $F_{5,35}=3,21$; $p<0,05$).

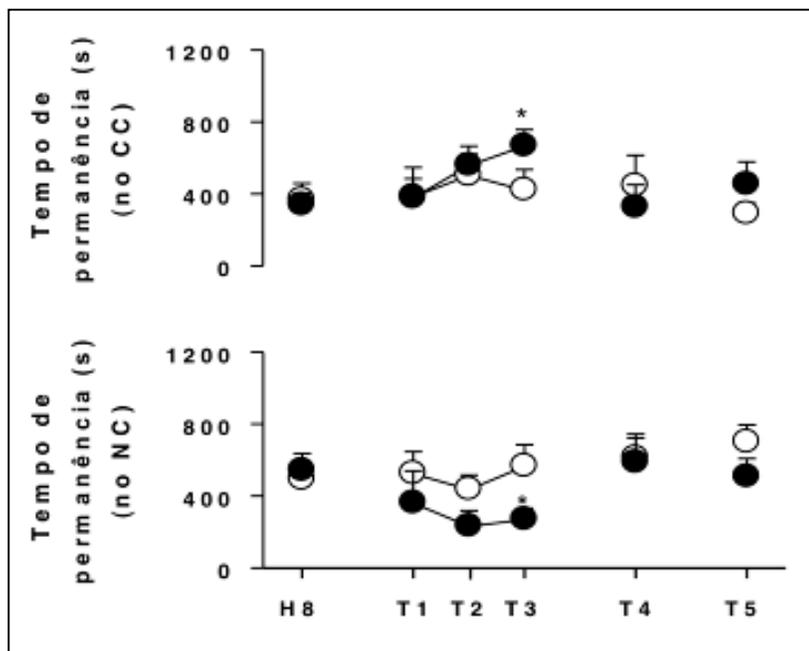


Figura 7: Tempo médio (+e.p.m.) de permanência, em segundos, no compartimento condicionado (CC) e não-condicionado (NC) da caixa CPP durante últimas sessões de habituação (H8) e as cinco sessões teste (T1-T5) realizadas ao longo de todo o estudo para os animais do grupo cocaína (bolinhas pretas; $n=5$) e controle (bolinhas brancas; $n=4$). Nenhum tratamento foi administrado nas sessões teste; T1-T3 foram realizadas após cada ciclo de três sessões de condicionamento (fase 2); T4 foi realizada após as duas sessões de extinção (fase 3); T5 foi realizada após a sessão de recaída (fase 4). * $p<0,05$ vs. sessão H8 do grupo cocaína.

Ao longo das sessões teste também foi observado um efeito significativo para o comportamento de *scan* ($F_{5,7}=2,98$; $p<0,05$, Tabela 1) e a distância total percorrida pelos micos dentro do aparato ($F_{5,7}=3,30$; $p<0,05$; Tabela 1). No entanto, análises *post hoc* indicaram que essas diferenças não são referentes à

comparações entre a sessão H8 e as T1-T5. Além disso, não foram observadas diferenças significativas entres os grupos cocaína e salina ou uma interação entres os fatores sessão x grupo (*scan*: $F_{1,7}=4,59$; $p=0,07$; $F_{5,35}=0,44$; $p=0,82$; distância total percorrida: $F_{1,7}=2,88$; $p=0,13$; $F_{5,35}=0,99$; $p=0,44$, respectivamente). O número de cruzamentos entre os compartimentos manteve-se constante ao longo das sessões teste ($F_{5,7}=0,75$; $p=0,59$), assim como não houve uma diferença significativa entre os dois grupos ($F_{1,7}=1,15$; $p=0,32$) ou uma interação entre os fatores sessão x grupo ($F_{5,35}=0,62$; $p=0,69$; Tabela 1).

Tabela 1. Comportamentos de *scan* e locomoção observados na caixa de CPP durante cada sessão teste.

Comportament o	Sessão*					
	H8	T1	T2	T3	T4	T5
<i>Frequência de Scan</i>						
Grupo salina	30±4	35±5	39±14	44±12	27±7	28±8
Grupo	51±9	44±5	64±15	67±4	54±4	45±9
<i>Distância Total Percorrida (m)</i>						
Grupo salina	51±14	58±21	56±18	44±15	28±12	50±14
Grupo	28±6	21±5	38±7	18±4	17±5	36±6
<i>Número de Cruzamentos</i>						
Grupo salina	70±32	74±25	69±33	63±30	41±18	77±4
Grupo	46±11	28±11	53±16	28±10	43±18	52±10

Dados expressos como a média+e.p.m.

*H8 = última sessão de habituação; T1-T5 = sessões teste 1-5 (T1-T3 realizados após cada ciclo de três sessões de condicionamento; T4 realizado após as sessões de extinção; T5 realizado após a sessão de recaída).

5.3. Aquisição de um efeito de hipervigilância

Ao longo das nove sessões de condicionamento, realizadas durante a fase 2 do estudo (C1-C9), foi detectado um efeito de hipervigilância induzido pela administração repetida de cocaína. Especificamente, foi observado um aumento progressivo nos níveis de *scan* ao longo dessas sessões (Figura 8). A

freqüência desse comportamento de vigilância foi significativamente maior durante as sessões C1 e C6-C9, quando comparadas ao controle H8 ($F_{12,7}=4,17$; $p<0,001$), sendo essa resposta observada somente nos animais tratados com cocaína ($F_{1,7}=20,27$; $p<0,01$). De fato, as diferenças observadas para esse comportamento ao longo das sessões de condicionamento foram dependentes do grupo experimental, uma vez que houve uma interação significativa entre os fatores sessões x grupo ($F_{12,83}=2,27$; $p<0,05$).

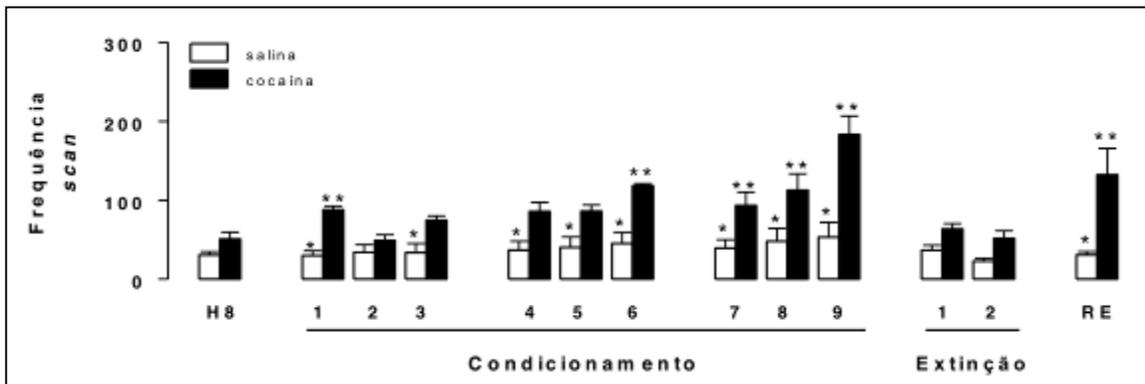


Figura 8: Média (+e.p.m.) da freqüência do comportamento de *scan* realizados pelos animais tratados com cocaína (n=5) e salina (n=4) na última sessão de habituação (H8), nas nove sessões de condicionamento, nas duas sessões de extinção e na sessão de recaída. * $p<0,05$ vs. grupo cocaína da respectiva sessão; ** $p<0,05$ vs. H8 do grupo cocaína.

Com a suspensão da administração de cocaína durante as duas sessões de extinção (fase 3), o efeito de hipervigilância nesse grupo foi revertido e a freqüência do comportamento de *scan* voltou a níveis similares ao que foi observado durante a sessão controle H8 e no grupo salina (Figura 8). Por outro lado, a administração de uma única dose de cocaína, durante a sessão de recaída (fase 4), elevou novamente os níveis de *scan* comparado a sessão H8 e ao grupo salina (Figura 8).

Contudo, o padrão de locomoção na caixa CPP permaneceu constante ao longo das sessões de condicionamento, extinção e recaída. Para os parâmetros de distância total percorrida e número de cruzamentos entre os compartimentos não foram observadas diferenças significativas entre as sessões, entre os dois grupos ou uma interação entre os fatores sessões x grupo (distância percorrida: $F_{12,7}=1,68$; $p=0,09$; $F_{1,7}=0,29$; $p=0,61$; $F_{12,83}=1,73$; $p=0,08$; número cruzamento:

$F_{12,7}=0,78$; $p=0,67$; $F_{1,7}=0,38$; $p=0,56$; $F_{12,83}=0,78$; $p=0,67$, respectivamente; Figura 9).

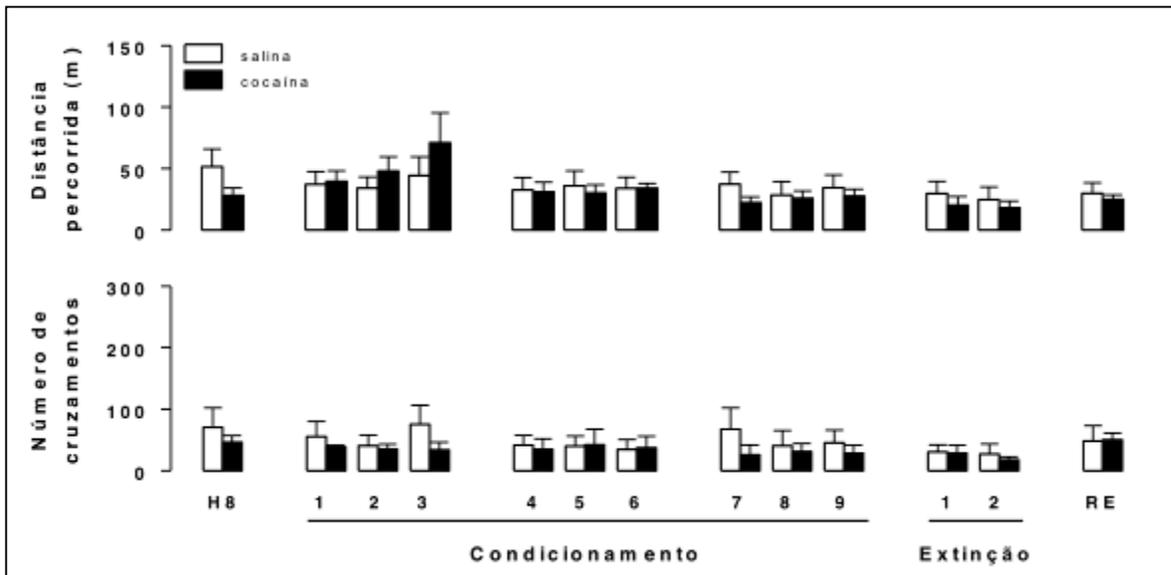


Figura 9: Média (+e.p.m.) da distância total percorrida (em metros) e do número de cruzamentos realizados pelos animais tratados com cocaína (n=5) e salina (n=4) na última sessão de habituação (H8), nas nove sessões de condicionamento, nas duas sessões de extinção e na sessão de recaída.

6. DISCUSSÃO

6.1. Habituação ao aparato

A exposição repetida dos micos ao ambiente do aparato que seria empregado nos testes posteriores de preferência condicionada por lugar induziu um efeito de habituação, apesar desse não ter sido muito pronunciado. Nesse sentido, não foi observado uma alteração nos padrões de locomoção dentro da caixa CPP, quando comparada a primeira e última sessão – tanto em termos da distância percorrida, como do número de cruzamentos entre os três comportamentos do aparato. Houve, contudo, uma diminuição significativa na atividade exploratória destes animais a caixa CPP, da primeira para a última sessão.

Em micos-estrela, a exposição a novos ambientes induz medo, ansiedade e respostas comportamentais e fisiológicas relacionadas ao estresse (69, 70). A reação comportamental inicial, caracterizada principalmente pelos altos níveis de locomoção e vocalizações (69, 70), diminui rapidamente para um nível basal estável após exposições repetidas ao ambiente em questão (revisado em 66). O padrão de locomoção é muitas vezes visto como uma boa medida de habituação à ambientes novos (71). Portanto, baseado em estudos prévios utilizando a mesma espécie de primata (66, 72, 73, 74), esperava-se encontrar um perfil de diminuição no padrão locomotor dos micos no presente estudo.

Contudo, a locomoção e a atividade exploratória parecem ser variáveis independentes, não sendo necessariamente correlacionadas para a análise do efeito da habituação (75, 62). De fato, foi observado uma diminuição da exploração, enquanto que a locomoção permaneceu constante. Também vale ressaltar importantes diferenças metodológicas entre o presente estudo e os trabalhos realizados anteriormente com micos, o que pode ter influenciado o perfil de habituação desses animais a caixa CPP, especificamente. Nesse sentido, foram empregados aparatos, duração de exposição e intervalo entre sessões diferentes de estudos prévios utilizando a mesma espécie de primatas não-humanos (ver 66, 72, 74).

O comportamento de *scan*, visto como uma forma de vigilância em micos (76), também permaneceu estável ao longo das exposições repetidas dos sujeitos ao aparato, comparando-se a primeira e última sessão. Esperava-se observar uma diminuição nos níveis de *scan*, corroborando assim o efeito de habituação observado para a atividade exploratória. Tal fato não foi encontrado, possivelmente por esses animais apresentam altos níveis basais de vigilância, tanto em ambiente natural (77), como cativo (78, 72), os quais tendem a permanecer constante mesmo com exposições repetidas a ambientes novos em micos (77, 78, 72) e em outros calitriquídeos (76, 79, 80). A manutenção de altos níveis de vigilância é vista como uma importante estratégia de anti-predação nesses pequenos primatas neotropicais (72).

Ao longo dessas sessões iniciais de habituação a caixa CPP, também não foi detectada uma preferência natural por qualquer um dos dois compartimentos laterais. Esse perfil geral – considerando todos os sujeitos testados – pode ser evidenciado pelo fato dos sujeitos terem permanecido o mesmo tempo em cada um dos compartimentos laterais, além do número de entradas nesses locais ter sido semelhante. Esse resultado não implica, porém, que cada sujeito testado não tenha demonstrado um tempo de permanência maior em determinado compartimento lateral, em detrimento do outro. Essa preferência apenas não foi muito pronunciada. Mas, essas pequenas preferências individuais observadas foram utilizadas para determinação de qual compartimento seria designado a cada sujeito como sendo o compartimento condicionado nas sessões subseqüentes desse estudo. Vale ressaltar que houve um número maior de entradas no compartimento central, sendo isso provavelmente devido à disposição dos três compartimentos do próprio aparato.

Portanto, considerando o perfil comportamental observado ao longo das oito sessões de habituação realizadas na primeira fase do estudo, acredita-se que as alterações detectadas nas sessões subseqüentes ocorreram, provavelmente, devido ao tratamento farmacológico administrado e não em resposta à exposição a um novo ambiente.

6.2. Aquisição de um efeito de preferência condicionada por lugar

A administração repetida e sistêmica de cocaína induziu um efeito de preferência condicionada por lugar nos micos. Esses demonstraram uma preferência pelo compartimento condicionado, visto que houve um aumento significativo do tempo de permanência nesse local do aparato durante a terceira sessão teste (T3), comparado a última sessão de habituação (H8). Ao mesmo tempo, houve uma diminuição significativa no tempo permanecido pelos micos no compartimento não-condicionado, comparando-se as sessões T3 e H8. Vale ressaltar que essa preferência foi vista apenas nos animais que haviam recebido o tratamento com cocaína. Nos que foram tratados com salina, não foi verificada qualquer alteração significativa no tempo de permanência em cada um dos dois compartimentos da caixa CPP ao longo das três primeiras sessões teste.

Contudo, o efeito observado não parece ter sido tão pronunciado como aquele tipicamente relatado para roedores. De fato, esses animais são largamente empregados em estudos utilizando o teste de CPP para avaliar o efeito de diversas drogas de abuso, incluindo a cocaína (revisado em 51, 46). Mesmo assim, nesse grupo, o efeito observado pode variar de acordo com inúmeras variáveis metodológicas, incluindo o número de sessões de condicionamento, o intervalo entre as sessões, a dose administrada, a via de administração, o intervalo entre a injeção e a sessão, o local onde a droga foi injetada, a natureza do estímulo ambiental e o uso de estímulos uni- ou polimodais (revisado em 2, 46).

Como o presente trabalho consiste no primeiro estudo demonstrando claramente o desenvolvimento de uma resposta de preferência condicionada por lugar associado à uma droga de abuso empregando primatas não-humanos como modelos experimentais (apesar de 52), diferentes variáveis metodológicas ainda precisam ser investigadas. Estudo analisando a influência da variação da dosagem de droga (6 ou 25 mg/kg de cocaína) e do número de sessões de condicionamento (8, 12, 16, 20 ou 40 dias) para testar a magnitude do efeito da recaída utilizando roedores como modelo animal demonstrou que o efeito de preferência por lugar foi igual em todos os grupos, independentemente do

número de sessões de condicionamento ou da dosagem de droga administrada (81). Contudo, não se pode descartar a possibilidade de existir diferenças inter-específicas na resposta de preferência condicionada por lugar entre roedores e primatas.

Apesar de ser comum o procedimento de pseudo-condicionamento (82), este não foi desenvolvido no presente trabalho com os micos para se evitar um possível excesso de sessões sem administração da cocaína, o que se assemelharia a sessões de extinção e assim confundir ou prejudicar o animal na associação com pistas ambientais associadas à cocaína. Contudo, em estudos posteriores, tal procedimento poderá ser revisto e realizado para garantir esse aspecto do método.

O presente estudo também mostrou que as sessões realizadas na fase subsequente de extinção foram capazes de reverter o efeito da preferência-por-lugar induzida pela administração repetida de cocaína no compartimento condicionado. Após duas sessões de exposição a esse compartimento do aparato, com a administração apenas de salina, o tempo de permanência nesse local em uma sessão teste subsequente (T4) retornou a níveis basais de antes da administração da cocaína (sessão H8), assim como o tempo no compartimento não-condicionado. Dessa forma, não foram observadas mais diferenças entre os grupos cocaína e salina, para ambos os compartimentos.

Contudo, a administração de uma única dose de cocaína, após a fase de extinção, foi incapaz de restabelecer os níveis de preferência pelo compartimento condicionado (sessão T5) nos micos. Em roedores, a administração de uma dose única (*priming dose*) de cocaína é suficiente para restabelecer o efeito de preferência condicionada por lugar em testes de CPP (83, 84, 85).

Após um período de abstinência, vários são os fatores que contribuem para a fissura pela droga, e assim desencadear uma possível recaída. Dentre esses, destacam-se uma nova administração de uma dose da droga (86, 87), a exposição a pistas ambientais previamente associadas à administração do composto em questão (88, 89, 90, 91), e situações diversas que geram um

estado de estresse no indivíduo (92, 93). Na verdade, os primeiros dois aspectos estavam presentes na sessão teste da fase de recaída (T5), ou seja, a exposição à droga e ao ambiente previamente associado a mesma, e por esse motivo, esperava-se observar o re-estabelecimento dos padrões de preferência observados nas sessões anteriores. O fato do efeito de preferência condicionada por lugar *per se* não ter sido muito marcante, sendo observado um aumento significativo no tempo de permanência no compartimento condicionado do aparato apenas depois de nove sessões de condicionamento, pode ter influenciado esse resultado. Doses maiores e/ou mais sessões de condicionamento talvez possam gerar um efeito mais pronunciado de condicionamento, conforme discutido acima, e assim facilitar o seu re-estabelecimento após uma fase de abstinência. Novas investigações serão necessárias para estabelecer quais aspectos metodológicos poderiam contribuir, em micos, para esse efeito.

De qualquer forma, em estudos pré-clínicos, o teste de preferência condicionada por lugar é um dos modelos mais populares para investigar os mecanismos e efeitos que subsidiam a dependência por drogas de abuso, assim como para o desenvolvimento de estratégias para o tratamento de dependentes. Curiosamente, semelhante à sensitização locomotora que se desenvolve a partir de repetidas administrações de estimulantes e opiáceos, este procedimento parece sensível para várias drogas de abuso, como os opiáceos, anfetaminas e cocaína (94). Esse procedimento também tem sido largamente empregado na investigação de aspectos relacionados a tolerância, além da crescente literatura avaliando aspectos da extinção e recaída (revisado em 46). Mas, para minimizar possíveis restrições ao se generalizar para humanos os resultados obtidos com roedores, primatas não-humanos têm sido empregados com uma frequência cada vez maior. Em um trabalho também com micos, por exemplo, (56), demonstraram um efeito de preferência condicionada por lugar utilizando alimento como reforçador.

Sabe-se que a exposição repetida à psicoestimulantes gera mudanças neuroquímicas em áreas do sistema motivacional do cérebro, com

conseqüências moleculares e anatômicas que desencadeiam a transição de um simples uso da droga, para um uso que se caracteriza como dependência. Essas alterações, muitas vezes presentes na ausência temporária (ou até de longo prazo) da droga no organismo parecem ser fundamentais, levando a um aumento na capacidade de liberação de DA no cérebro, e no NAc em particular. Pistas presentes no ambiente que evocam memórias relacionadas ao uso da droga, mantêm a liberação de DA, mesmo durante o período de abstinência. Desta forma, quando um sujeito é inserido em um contexto ambiental que o remete à droga, mesmo sem a administração desta, ele apresentará os comportamentos quando da tomada da droga.

6.3. Aquisição de um efeito de hipervigilância

A exposição repetida de cocaína nos animais induziu importantes alterações no seu repertório comportamental. Nesse sentido, ao longo das nove sessões de condicionamento foi verificado um aumento gradual e constante nos níveis do comportamento de *scan* dos micos administrados com cocaína, se comparado a sessão H8. Em micos-estrela, assim como nos demais membros do seu gênero, o comportamento de *scan* é emitido em níveis basais elevados (76). Facilita a detecção de objetos no ambiente, incluindo possíveis predadores (76, 95, 80), sendo considerado como uma importante e altamente complexa estratégia anti-predação (72). Portanto, nesses macacos, o aumento observado no comportamento de *scan* parece consistir em um efeito de hipervigilância.

Esse efeito em resposta a administrações repetidas de psicoestimulantes, como a cocaína, é mais comumente encontrado em primatas não-humanos e no homem. Em roedores, por sua vez, a resposta mais frequente em termos do efeito psicoestimulante dessa droga é a de hiperlocomoção (96). De fato, a distância percorrida e o número de cruzamentos, empregados como índices de locomoção no presente estudo, permaneceram inalterados ao longo das sessões de condicionamento em ambos os grupos experimentais.

Em alguns casos, este efeito pode ser influenciado pelo contexto ambiental. Mais especificamente, os animais que receberam a administração da

droga repetidamente em um mesmo ambiente (em geral, no aparato de teste) apresentam uma reatividade comportamental para o composto em questão maior do que a mostrada por animais que recebem o mesmo tratamento, mas em ambientes diferentes (97). Apesar deste paralelo, o desenvolvimento de um efeito hipervigilância/hiperlocomoção e de condicionamento de preferência condicionada por lugar podem ser dissociáveis (98) e, portanto, parecem refletir, pelo menos em parte, mecanismos neurais diferentes.

Na verdade, em roedores, o efeito de hiperatividade locomotora induzida pela cocaína vem sendo considerado como um homólogo da euforia apresentada em humanos (99). Já a resposta de hipervigilância, constituída por atividades compulsivas e estereotipadas, poderia representar sintomas psicóticos, semelhantes àqueles observados após a administração de altas doses de psicoestimulantes e na esquizofrenia em humanos, atuando assim como um modelo animal dessa importante psicopatologia (97). Assim sendo, este padrão de hipervigilância apresentado por primatas não-humanos nessas condições se assemelharia mais ao que também é visto em humanos, do que o que é encontrado em roedores. Agora, esse efeito também foi demonstrado no mico-estrela, uma espécie de primata de pequeno porte que apresenta inúmeras vantagens para estudos neuropsicofarmacológicos, conforme citado na Introdução desse trabalho.

Além disso, vale ressaltar que na fase subsequente do presente estudo – a de extinção, quando os mesmos sujeitos receberão injeções de salina – os níveis do comportamento de *scan* não somente voltaram a mesma frequência que a observada durante a habituação inicial ao aparato, como também não diferiram mais do grupo controle. O fornecimento de uma nova administração na mesma dose de cocaína, re-estabeleceu os níveis elevados do comportamento de *scan*, como os que foram observados nas últimas sessões de condicionamento.

Apesar de não se poder afirmar que esse efeito representa um de sensibilização comportamental, uma vez que a mesma dose de cocaína foi empregada e que os animais controle foram injetados com salina, a resposta

demonstrada pelos micos indica que isso poderia estar ocorrendo. Novos estudos, empregando um procedimento experimental especificamente voltado para a determinação de um efeito de sensitização comportamental na resposta de vigiância, terão que ser realizados. A sensitização comportamental é definida como um processo característico das drogas psicoestimulantes pelo qual um indivíduo apresenta uma resposta potencializada a um estímulo ambiental e farmacológico por meio de repetidas exposições (100, 101, 13), interferindo em parâmetros fisiológicos, como alterações na sensibilidade do receptor, assim como nos mecanismos de aprendizado e plasticidade (102).

Na verdade, em primatas, o desenvolvimento desse efeito em resposta à administração repetida de diferentes psicoestimulantes já foi relatada (103, 104, 105). Esses estudos estabeleceram um claro padrão de comportamentos passíveis de serem sensitizados, tais como estereotipias envolvendo auto-catação ou manipulação de objetos, movimentos com a língua, e mais consistente, uma alteração no monitoramento visual do ambiente (103, 104). Em roedores, os padrões de locomoção, e de auto-catação são os mais relatados quanto à sensitização (revisado em 96). A atividade dos neurônios dopaminérgicos do NAc desses animais também está aumentada durante a re-exposição à droga (106). Tais efeitos são duradouros e podem permanecer por até um ano no caso da atividade locomotora (3) e três meses para o aumento de DA no NAc (107).

1. CONCLUSÃO

- Ao longo das oito sessões iniciais no aparato (caixa CPP), sem manipulações farmacológicas, os micos-estrela demonstraram um efeito de habituação, indicado pela redução nos níveis de exploração, mesmo que esse não tenha sido tão evidente como já relatado quando essa mesma espécie é exposta à ambientes novos;
- Nas mesmas sessões de habituação ao aparato, os sujeitos não apresentaram uma preferência por um dos compartimentos laterais, apesar de ter sido visto um efeito sutil em nível individual;
- A administração repetida e sistêmica de cocaína induziu, após oito sessões de pareamento com um dos compartimentos do aparato, um efeito de preferência condicionada por lugar nos animais. Apesar deste efeito ter sido rapidamente revertido nas sessões seguintes de pareamento do mesmo ambiente com a administração de salina, a injeção subsequente de uma única dose de cocaína não foi capaz de re-estabelecer o preferência condicionada por lugar previamente visto;
- A administração repetida e sistêmica de cocaína também induziu nos micos um efeito de hipervigilância, mas não de hiperlocomoção, como tipicamente relatado para macacos e humanos. A hipervigilância foi revertida quando da interrupção da droga, voltando a ser restabelecida após a administração de uma única dose de cocaína;
- As respostas de preferência condicionada por lugar e hipervigilância observadas nos micos-estrela são consoantes com as descritas na literatura, em roedores e humanos, corroborando assim o uso do procedimento empregado no presente estudo e essa espécie de primata não-humano em investigações neuropsicofarmacológicas relacionadas à dependência por cocaína.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. OMS – Organização Mundial da Saúde. Neurociência de consumo e dependência de substâncias psicoativas: resumo. Organização Mundial de Saúde, Genebra; 2006:1-40.
2. O'Brien CP, Gardner EL. Critical assessment of how to study addiction and its treatment: Human and non-human animal models. *Pharmacol & Ther.* 2005; 108: 18–58.
3. Paulson PE, Camp DM, Robinson TE. Time course of transient behavioral depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats. *Psychopharmacol.* 1991; 103: 480–492.
4. Graciele F. G. Graeff FG, Guimarães FS. Abuso e Dependência de Drogas. Fundamentos de psicofarmacologia. 2ª ed. São Paulo: Atheneu. 1998.
5. Marquardt AR, Barros HMT. Métodos Comportamentais para avaliar drogas de abuso. In: Almeida, R.N. Psicofarmacologia fundamentos básicos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
6. Nestler EJ, Hyman SE, Malenka RC. Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience. New York: McGraw-Hill, 2001

7. O'Brein, C. P. Drogadicção e Uso Abusivo de Drogas. Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da Terapêutica. Califórnia: McGraw-Hill, 2006.
8. Cannon CM, Bseikri R. Is dopamine required for natural reward? *Physiol & Behav*, 2004; 81: 741–748.
9. Lent, R. Cem Bilhões de Neurônios: conceitos fundamentais de neurociência. São Paulo: Atheneu; 2001.
10. Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. Principles of Neuropsychopharmacology. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1997.
11. Ventulani, J. Drug addiction, Part 1. Psychoactive substances in the past and presence. *Polish JI of Pharmacol*. 2001; 53: 201–214.
12. White NM. Addictive drugs as reinforcers: multiple partial actions on memory systems. *Addict* 1996; 91: 921–949.
13. Kalivas PW, Stewart J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Rev*. 1991; 3: 223–244.
14. Lavicky J, Dunn AJ. Corticotropin-releasing factor stimulates catecholamine release in hypothalamus and prefrontal cortex in freelymoving rats as assessed by microdialysis. *J Neurochem*. 1993; 60: 602–612.

15. Catterall AW, Mackie K. Anestésicos Locais. Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da Terapêutica. Califórnia: Ed.McGraw-Hill, 2006.
16. Haas LF. Coca shrub (*Erythroxylum coca*). J Neurol Neurosurg Psych. 1995; 50(1): 25.
17. Ferreira PEM, Martini RK. Cocaine: myths, history and abuse. Revista Brasileira de Psiquiatria. 2001; 23: 96–99.
18. Carlson NR. A Aprendizagem e a Memória: Mecanismos Básicos. Fisiologia do Comportamento. São Paulo: Manole, 2002.
19. Mello NK, Mendelson JH. Cocaine's effects on neuroendocrine systems: clinical and preclinical studies. Pharmacol Biochem Behav. 1997; 57: 571–599.
20. Venton BJ, Seipel AT, Phillips PEM, Wetsel WC, Giltler D, Greengard P, Augustine GJ, Wightman M. Cocaine increases dopamine release by mobilization of a synapse-dependent reserve pool. The Journal of Neurosci. 2006; 26: 3206–3209.
21. Ritz MC, Lamb RJ, Goldberg SR, Kuhar MJ. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self administration of cocaine. Science. 1987; 237: 1219–1223.
22. Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology, and function of reward pathways. Trends Pharmacology Science. 1992; 13: 177–184.
23. Elliot JM, Beveridge TJR. Psychostimulants and monoamine transporters: upsetting the balance. Curr Op Pharmacol. 2004; 5: 94–100.

24. Muller CP, Carey RJ, Huston JP. Serotonin as an important mediator of cocaine's behavioral effects. *Drugs of today*. 2003; 39: 497–511.
25. Carey RJ, Damianopoulos EN, DePalma G. The 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635 can block the low dose locomotor stimulant effects of cocaine. *Brain Res*. 2000; 862: 242–246.
26. Carey RJ, De Palma G, Damianopoulos E. Cocaine and serotonin: a role for the 5-HT_{1A} receptor site in the mediation of cocaine stimulant effects. *Behav Brain Res*. 2001; 126: 127-133.
27. Carey RJ, De Palma G, Damianopoulos E. 5-HT_{1A} agonist/antagonist modification of cocaine stimulant effects: implications for cocaine mechanisms. *Behav Brain Res*. 2002; 132: 37-46.
28. Müller CP, de Souza Silva MA, De Palma G, Tomaz C, Carey RJ, Huston JP. The selective serotonin_{1A}-receptor antagonist WAY 100635 blocks behavioural stimulating effects of cocaine but not ventral striatal dopamine release. *Behav Brain Res*. 2002a; 134: 337–346.
29. Müller CP, Carey RJ, de Souza Silva MA, Jocham G, Huston JP. Cocaine increases serotonergic activity in the hippocampus and nucleus accumbens in vivo: 5-HT_{1A}-receptor antagonism blocks behavioural but potentiates serotonergic activation. *Synap*. 2002b; 45: 67–77.
30. Hasenöhrl RU, de Souza-Silva MA, Nikolaus S, Tomaz C, Brandão ML, Schwarting R, Huston JP. Substance P and its role in neural mechanisms governing learning, anxiety and functional recovery. *Neuropep*. 2000; 34: 272-280.

31. Kombian SB, Ananthalakshmi KVV, Parvathy SS, Matowe WC. Substance P depresses excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens through dopaminergic and purinergic mechanisms. *J Neurophysiol.* 2003; 89: 728-737.
32. Gygi SP, Gibb JW, Johnson M, Hanson GR. Blockade of tachykinin NK₁ receptors by CP-96345 enhances dopamine release and the striatal dopamine effects of methamphetamine in rats. *Euro J Pharmacol.* 1993; 250: 77-180.
33. Gonzalez-Nicolini V, McGinty JF. NK-1 receptor blockade decreases amphetamine-induced behavior and neuropeptide mRNA expression in the striatum. *Brain Res.* 2002; 931: 41–49.
34. Loonam TM, Noailles TAH, Yu J, Zhu JPQ, Angulo JA. Substance P and cholecystokinin regulate neurochemical responses to cocaine and methamphetamine in the striatum. *Life Scien.* 2003; 73: 727–739.
35. Jocham G, Lezoch K, Muller CP, Kart-Teke E, Huston JP, de Souza Silva MA. Neurokinin receptor antagonism attenuates cocaine's behavioural activating effects yet potentiates its dopamine-enhancing action in the nucleus accumbens core. *Europ J Neuros.* 2006; 24: 1721–1732.
36. de Sousa e Silva MA, Mello EL, Muller CP, Jocham G, Maior RS, Huston JP, Tomaz C, Barros M. The neurokinin-3 receptor antagonist SR142801 blocks the behavioral of cocaine in marmoset monkeys. *Europ J Neuros.* 2006a; 536: 269–278.
37. De Sousa E Silva MA, Mello EL, Muller CP, Jocham G, Maior RS, Huston JP, Tomaz C, Barros, M. Interaction of the tachykinin NK3 receptor

- agonist senktide with behavioral effects of cocaine in marmosets (*Callithrix penicillata*). *Pept.* 2006b; 27: 2214–2223.
38. Levy AD, Baumann MH, Kar LDV. Monoaminergic regulation of neuroendocrine function and its modification by cocaine. *Frontiers in Neuroendocrinol.* 1994; 15: 85-156.
39. Mantsch JR, Schlussmann SD, Ho A, Kreek MJ. Effects of cocaine self-administration on plasma corticosterone and prolactin in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000; 294: 239-247.
40. Baumann MH, Gendron TM, Beckett KM, Henningfield JE, Gorelick DA, Rothman RB. Effects of iv cocaine on plasma cortisol and prolactin in human cocaine abusers. *Biol Psyc.* 1995; 38: 751-755;.
41. Sarnyai Z, Bíró E, Penke B, Telegdy G. The cocaine-induced elevation of plasma corticosterone is mediated by endogenous corticotropin-releasing factor (CRF) in rats. *Brain Res.* 1992; 589: 154–156;.
42. Majewska MD. HPA axis and stimulant dependence: an enigmatic relationship. *Psychoneuroendocrinol.* 2002; 27: 5-27.
43. Marinelli M, Piazza PV. Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. *Europ J Neurosc.* 2002; 16: 387-394.
44. Bardo MT, Bevins RA. Conditioned place preference: what does it add to our understanding of preclinical reward. *Psychopharmacol.* 2000; 153: 31–43.

45. Sanchis-Segura C, Spanagel R. Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addict*. 2007; 11; 2–38.
46. Tzschentke TM. Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addict Biol*. 2007; 12: 227–246.
47. Weerts E, Fantergrossi WE, Goodwin AK. The Value of Nonhuman Primates in Drug Abuse Research. *Am Psychol Assoc*. 2007; 15: 309–327.
48. Bardo MT, Neisewander JL. Single-trial conditioned place preference using intravenous morphine. *Pharmacology Biochem Behav*. 1986; 25: 1101–1105.
49. Hughes RA, Baker MR, Rettig KM. Cocaine-conditioned place preference in young precocial domestic fowl. *Exp Clin Psychopharmacol*. 1995; 3: 105–111.
50. Carr GD, White NM. Anatomical disassociation of amphetamine's rewarding and aversive effects: an intracranial microinjection study. *Psychopharmacol*. 1986; 89: 340–346.
51. Schechter MD, Calcagnetti DJ. Trends in place preference conditioning with a cross-indexed bibliography: 1957–1991. *Neurosc Biobehav Rev*. 1998; 17: 21–41.
52. Spragg SDS. Morphine addiction in chimpanzees. *Comp Psychol Mon*. 1940; 15: 1–132.

53. Tzschentke TM, Schmidt WJ. Does the noncompetitive NMDA receptor antagonist dizocilpine (MK801) really block behavioural sensitization associated with repeated drug administration? *Trends Pharmacol Scien.* 1998; 447–451.
54. Beach HD. Some effects of morphine on habit function. *Can J Psychol.* 1957; 11: 193–198.
55. Pomerantz SM, Wertz I, Hepner B, Wasio L, Piazza I. Cocaine-induced conditioned place preference in rhesus monkeys. *Soc Neurosc Abst.* 1992; 18: 1572.
56. Valentinuzzi VS, Neto SP, Carneiro BT, Santana KS, Araujo JF, Ralph MR. Memory for time of training modulates performance on a place conditioning task in marmosets. *Neurobiol Learn Mem.* 2008; 4: 604–607.
57. King FA, Yarbrough CJ, Anderson DC, Gordon TP, Gould KG. *Primates. Scien.* 1998; 240: 475–1482.
58. War KW, Smith BR. 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 Metab Dispos.* 2004; 32: 612–619.
59. Camps M, Kelly PH, Palacios JM. Autoradiographic localization of dopamine D1 and D2 receptors in the brain of several mammalian species. *J Neur Transm.* 1990; 80: 105–127.
60. Lidow MS, Goldman-Rakic PS, Rakic P, Innis RB. Dopamine D2 receptors in the cerebral cortex: Distribution and pharmacological characterization with [³H]raclopride. *Proc Nat Acad Sci.* 1989; 86: 6412–6416.

61. Miller GM, Yatin SM, De La Garza R, Goulet M, MADRAS BK. Cloning of dopamine, norepinephrine and serotonin transporters from monkey brain: Relevance to cocaine sensitivity. *Mol Brain Res.* 2001; 87: 124–143.
62. Stevenson MF, Rylands AB. The marmosets, genus *Callithrix*. In: Mittermeier, R. A.; Rylands, A. B.; Coimbra-Filho, A.; Fonseca, G. A. B. *Ecology and behavior of neotropical primates*, Contagem: Littera Maciel Ltda/WWF vol 2, 1988, p. 131-222.
63. Tardif SD, Carson RI, Gangaware BL. Comparison of infant groups of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) and the cotton-top tamarin (*Saguinus aedipus*). *Am J Primatol.* 1986; 11: 103-110.
64. Reis FP, Erhat EA. The brain of the marmoset (*Callithrix jacchus*). *Acta Anatom.* 1979; 103: 350-357.
65. Sussman RW, Kinzey WG. The ecological role of the Callitrichidae: a review. *Am J Phys Anthropol.* 1984; 64: 419-449.
66. Barros M, Tomaz C. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. *Neuroscience Biobehav Rev.* 2002; 26: 187-201.
67. CEBRID: Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas; V Levantamento Nacional sobre o Consumo de Drogas Psicotrópicas entre Estudantes do Ensino Fundamental e Médio da Rede Pública de Ensino nas 27 Capitais Brasileiras – 2004.
68. Lima D, Spíndola DB, Dias LO, Tomaz C, Barros M. Effects of acute systemic cocaine administration on the cortisol, ACTH and prolactin levels

- of black tufted-ear marmosets. *Psychoneuroend.* 2008; 33: 321–327.
69. Dettling AC, Feldon J Pryce, CR. Early deprivation and behavioral and Dettling physiological responses to social separation/novelty in the marmoset. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002; 73: 259–269.
70. Smith TE, Mcgreer-Whitwoth B, French JA. Close proximity of the heterosexual partner reduced the physiological and behavioural consequences of novel-cage housing in black tufted-ear marmosets (*Callithrix kuhli*). *Horm Behav.* 1998; 34: 211–222.
71. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Europ J Pharmacol.* 2003; 463: 3–33.
72. Barros M, Alencar C, Tomaz C. Differences in aerial and terrestrial visual scanning in captive black tufted-ear mar1mosets (*Callithrix penicillata*) exposed to a novel environment. *Folia Primatol.* 2004a; 75: 85–92.
73. Barros M, Souza Silva MA, Huston JP, Tomaz C. Multibehavioral analysis of fear and anxiety before, during, and after experimentally induced predatory stress in *Callithrix penicillata*. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004b; 78: 357-367.
74. Cagni P, Gonçalves IJr, Ziller F, Emile N, Barros M. Humans and natural predators induce different fear/anxiety reactions and response pattern to diazepam in marmoset monkeys. *Pharmacol Biochem Behav.* 2009; 93: 134–140.

75. Stevenson MF, Poole TB. An ethogram of the common marmoset (*Callithrix jacchus jacchus*): general behavioural repertoire. *Anim Behav.* 1976; 24: 428–451.
76. Caine NG. Visual scanning by tamarins: a description of the behavior and tests of two derived hypothesis. *Folia Primatol.* 1984; 43: 59–67.
77. Caine NG. Cutting costs in response to predatory threat by Geoffroy's marmosets (*Callithrix geoffroyi*). *Am J Primatol.* 1998; 46: 187–196.
78. 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.* 2003b; 75: 82– 95.
79. 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.* 2003b; 75: 82– 95,
80. Hardie SM, Buchanan-Smith HM. Vigilance in single and mixed-species groups of tamarins (*Saguinus labiatus* and *S. fuscicollis*). *Internat J Primatol.* 1997; 18: 217–234.
81. Rodríguez-Arias M, Castillo A, Daza-Losada M, Aguilar MA, Miñarro J. Effects of extended cocaine conditioning in the reinstatement of place preference. *Physiol & Behav.* 2009; 96: 620–630.
- 82.
83. Mueller D, Stewart J. Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. *Behav Brain Res.* 2000; 115: 39–47.

84. Itzhak Y, Martin JL. Cocaine-induced Conditioned Place Preference in Mice: Induction, Extinction and Reinstatement by Related Psychostimulants. *Neuropsychopharmacol.* 2002; 26: 130–134.
85. Kuzmin A, Sandin J, Terenius L, Ogren SO. Acquisition, expression, and reinstatement of ethanol-induced conditioned place preference in mice: effects of opioid receptor-like 1 receptor agonists and naloxone. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 304: 310–318.
86. Brigham J, Henningfield JE, Stitzer ML. Smoking relapse: a review. *Inter J Addic.* 1990; 25: 1239–1255.
87. Kassel JD, Stroud LR, Paronis CA. Smoking, stress, and negative affect: correlation, causation, and context across stages of smoking. *Psychology Bulletin.* 2003; 129: 270–304.
88. Shalev U, Grimm JW, Shaham Y. Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacology Review*, v. 54, p. 1–42, 2002.
89. Spealman RD, Lee B, Tefenbacher S, Platt DM, Rowlett JK, Khroyan TV. Triggers of relapse: nonhuman primate models of reinstated cocaine seeking. *Nebraska Symposium on Motivation.* 2004; 50: 57–84.
90. Stewart J. Pathways to relapse: factors controlling the reinitiation of drug seeking after abstinence. *Nebraska Symposium on Motivation.* 2004; 50: 197–234.
91. Weiss F. Neurobiology of craving, conditioned reward and relapse. *Cur Op Pharmacol.* 2005; 5: 9–19.

92. Liu X, Weiss F. Additive effect of stress and drug cues on reinstatement of ethanol seeking: exacerbation by history of dependence and role of concurrent activation of corticotropin-releasing factor and opioid mechanisms. *J Neurosci*. 2002; 22: 7856–7861.
93. Goddard B, Leri F. Reinstatement of conditioned reinforcing properties of cocaine-conditioned stimuli. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006; 83: 540–546.
94. Lett BT. Repeated exposures intensify rather than diminish the rewarding effects of amphetamine, morphine, and cocaine. *Psychopharmacol*. 1989; 98: 357–362.
95. Koenig A. Visual scanning by common marmosets (*Callithrix jacchus*): functional aspects and the special role of adult males. *Prim*. 1998; 39: 85–90.
96. Bradberry CW. Cocaine sensitization and dopamine mediation of cue effects in rodents, monkeys, and humans: areas of agreement, disagreement, and implications for addiction *Psychopharmacol*. 2007; 191: 705–717.
97. Tirelli E, Laviola G, Adriani W. Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. *Neurosci Biobehav Rev*. 2003; 27: 163–178.
98. Shimosato K, Ohkuda S. Simultaneous monitoring of conditioned place preference and locomotor sensitization following repeated administration of cocaine and methamphetamine. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000; 66: 285–292.

99. Wise RA, Bozarth MA. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev.* 1987; 94: 469–492.
100. Wallach MB, Gershon S. Sensitization to amphetamines. *Psychopharmacol Bull.* 1971; 4: 30–31.
101. Leith NJ, Kuczenski R. Two dissociable components of behavioral sensitization following repeated amphetamine administration. *Psychopharmacol (Berl).* 76: 310–315.
102. Martinez D, Narendran R, Foltin RW, Slifstein M, Hwang DR, Broft A, Huang Y, Cooper TB, Fischman MW, Kleber HD, Laruelle M. Amphetamine-induced dopamine release: markedly blunted in cocaine dependence and predictive of the choice to self-administer cocaine. *Am J Psych.* 2007; 164: 622–629.
103. Castner SA, Goldman-Rakic PS. Long-lasting psychotomimetic consequences of repeated low-dose amphetamine exposure in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacol.* 1999; 20: 10–28.
104. Ridley RM, Baker HF, Owen F, Cross AJ, Crow TJ. Behavioural and biochemical effects of chronic amphetamine treatment in the vervet monkey. *Psychopharmacol (Berl).* 1982; 78: 245–251.
105. Farfel GM, Kleven MS, Woolverton WL, Seiden LS, Perry BD. Effects of repeated injections of cocaine on catecholamine receptor binding sites, dopamine transporter binding sites and behavior in rhesus monkey. *Brain*

Res. 1992; 578: 235–243.

106. Vanderschuren LJ, Kalivas PW. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology*, v. 151, v. 99–120, 2000.

107. Hamamura T, Akiyama K, Akimoto K, Kashihara K, Okumura K, Ujike H. 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 Res.* 1991; 546: 40–46.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL



Universidade de Brasília

Instituto de Ciências Biológicas
Comitê de Ética no Uso Animal

Brasília, 26 de agosto de 2008.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "AVALIAÇÃO DA DEPENDÊNCIA E ALTERAÇÕES NA MEMÓRIA ESPACIAL INDUZIDAS PELA ADMINISTRAÇÃO DE COCAÍNA EM PRIMATAS", UNBDOC nº 44183/2008, sob responsabilidade da Profa. 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