

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

IRI SANDRO PAMPOLHA LIMA

**ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS, COMPORTAMENTAIS E
HISTOLÓGICAS PROMOVIDAS PELA COCAÍNA ISOLADAMENTE
E EM ASSOCIAÇÃO COM IMIPRAMINA, TOPIRAMATO E
PENTOXIFILINA EM RATOS**

**FORTALEZA-CE
2009**

IRI SANDRO PAMPOLHA LIMA

**ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS, COMPORTAMENTAIS E
HISTOLÓGICAS PROMOVIDAS PELA COCAÍNA ISOLADAMENTE
E EM ASSOCIAÇÃO COM IMIPRAMINA, TOPIRAMATO E
PENTOXIFILINA EM RATOS**

IRI SANDRO PAMPOLHA LIMA

Tese de doutorado submetida à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Farmacologia do
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
da Faculdade de Medicina da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial
para obtenção do título de Doutor em
Farmacologia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Glauce Socorro
Barros Vianna

**Fortaleza-CE
2009**

L698a Lima, Iri Sandro Pampolha

Alterações neuroquímicas, comportamentais e histológicas promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina em ratos / Iri Sandro Pampolha Lima. – Fortaleza-Ce, 2009.

162 f. : il.

**Orientadora: Profa. Dra. Glauce Socorro Barros Vianna
Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Ceará. Faculdade
de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.**

**1. Cocaína 2. Imipramina 3. Pentoxifilina 4. Memória I. Vianna,
Glauce Socorro Barros (Orient.) II. Título.**

CDD: 616.8647

IRI SANDRO PAMPOLHA LIMA

**ALTERAÇÕES NEUROQUÍMICAS, COMPORTAMENTAIS E
HISTOLÓGICAS PROMOVIDAS PELA COCAÍNA ISOLADAMENTE E EM
ASSOCIAÇÃO COM IMIPRAMINA, TOPIRAMATO E PENTOXIFILINA
EM RATOS.**

Tese de doutorado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Farmacologia.

Aprovada em: 12/02/2009

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Glauce Socorro Barros Vianna (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. Antonio José Lapa
Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi
Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC

Prof^a. Dra. Marta Maria de França Fonteles
Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof^a. Dra. Danielle Silveira Macêdo
Universidade Federal do Ceará – UFC

*A Deus por trilhar de maneira tão especial a minha
vida colocando nela somente pessoas especiais*

*Aos meus amados pais, Irmatines e Fátima,
incentivadores e amigos de todas as horas.*

*Aos meus irmãos, Alan e Wallace
pela presença e apoio constantes.*

*À minha esposa Érica, pelo apoio e
incentivo em todos os momentos*

*À minha filha Laura, por ser uma
inesgotável fonte de inspiração*

Agradecimentos

À Profa. Glauce Socorro Barros Viana, pela orientação, paciência e incentivo para a realização deste trabalho.

Aos funcionários e bolsistas da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte – FMJ, que em muito contribuíram para a realização deste trabalho;

Ao Amigo Hélio, pelos conselhos e ajuda em todos os momentos.

Ao amigo da pós-graduação Cícero pelos incentivos e discussões constantes.

Aos amigos da Pós-graduação Marta Fonteles, Cléa Sousa, Danielle Macedo, Lissiana Magna e todos os demais componentes o laboratório de neurofarmacologia pela colaboração em muitos momentos.

Aos Profs. do curso de pós-graduação em Farmacologia, pelos conhecimentos transmitidos e constante disponibilidade.

À Professora Geanne Cunha pela valiosa contribuição e orientação.

Ao Prof. Newton Silva Santos pela colaboração na realização de procedimentos experimentais.

À Vilani Bastos, pela colaboração em todos os momentos.

A todos os bolsistas pelo companheirismo e dedicação na execução dos experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará pelo apoio e cooperação.

À Polícia Federal de Fortaleza, em especial à Dra. Graça, pelo apoio incondicional e pela realização das análises necessárias.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro.

ÍNDICE

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Lista de Abreviaturas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 Drogas de Abuso	19
1.2 Cocaína	22
1.2.1 Histórico	22
1.2.2 Formas de Cocaína	28
1.2.3 Vias de Exposição	29
1.2.4 Biotransformação da Cocaína	31
1.3 Cocaína e Neurotransmissão	32
1.3.1 Dopamina	32
1.3.2 Distribuição dos Neurônios Dopaminérgicos	33
1.3.3 Papel da Dopamina no Comportamento	34
1.3.4 O Transportador de Dopamina	35
1.3.5 Efeito da Cocaína no Sistema Dopaminérgico	37
1.3.6 Circuitos Encefálicos e Drogas de Abuso	39
1.4 Topiramato	45
1.4.1 Considerações Gerais	45
1.5 Imipramina	47
1.5.1 Considerações Gerais	47
1.6 Pentoxifilina	49
1.6.1 Considerações Gerais	49
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	53
2.1 Justificativa	53
2.2 Objetivos Geral e Específicos	54

3. MATERIAIS E MÉTODOS	57
3.1 Animais	57
3.2 Drogas	58
3.2.1 Preparo das Drogas	58
3.2.2 Determinação do Grau de Pureza da Cocaína	58
3.3 Tratamento dos Grupos Experimentais	59
3.4 Estudos Comportamentais	60
3.4.1 Teste da Atividade Locomotora	60
3.4.2 Teste da Esquiva Passiva	61
3.4.3 Teste de Labirinto Aquático	62
3.4.4 Teste de Labirinto em Cruz Elevada	62
3.4.5 Teste do Nado Forçado	63
3.5 Dissecção das Áreas Cerebrais	64
3.6 Determinação de Monoaminas e Metabólitos com HPLC	65
3.7 Culturas de Células Mesencefálicas de Rato	68
3.8 Ensaio de Neurotoxicidade – teste do MTT	68
3.9 Determinação do fluxo sanguíneo cerebral através de cintilografia	69
3.10 Dosagem de Nitrito/Nitrato	69
3.11 Estudo Histopatológico	70
3.12 Análise Estatística	71
4. RESULTADOS	73
4.1 Teste de Atividade Locomotora Espontânea	73
4.2 Teste da Esquiva Passiva	77
4.3 Teste de Labirinto Aquático	82
4.4 Teste de Labirinto em Cruz Elevada	86
4.5 Teste do Nado Forçado	89

4.6 Efeitos da Administração repetida de Cocaína, Imipramina e a Combinação Destes Sobre as Concentrações de DA, DOPAC, 5-HT E 5-HIAA em CE de Ratos.	91
4.7 Efeitos da Administração repetida de Cocaína, Topiramato e a Combinação Destes Sobre as Concentrações de DA, DOPAC e NE em CE de Ratos.	94
4.8. Efeitos promovidos pela cocaína em células mesencefálicas de ratos expostas à 6-OHDA 10µM determinados pelo teste do MTT	98
4.9. Efeitos da administração repetida de cocaína, topiramato e a combinação destes sobre o fluxo sanguíneo cerebral em ratos.	100
4.10. Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina e topiramato sobre a formação de nitrito em cérebro de ratos.	102
4.11. Análise histológica de cérebro de animais tratados com cocaína, imipramina e a associação destas drogas.	104
5. DISCUSSÃO	110
6. CONCLUSÕES	130
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	134

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste de esquiiva passiva, em ratos.	79
Tabela 2-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato no teste de esquiiva passiva, em ratos.	80
Tabela 3-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com pentoxifilina no teste de esquiiva passiva, em ratos.	81
Tabela 4-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste labirinto aquático, em ratos.	83
Tabela 5-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato no teste de labirinto aquático, em ratos.	84
Tabela 6-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com pentoxifilina no teste de labirinto aquático, em ratos.	85
Tabela 7-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste de labirinto em cruz elevada, em ratos.	87
Tabela 8-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato no teste de labirinto em cruz elevada, em ratos.	88
Tabela 9-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre os níveis de dopamina e seus metabólitos (ng/g de tecido) em estriado de ratos.	92
Tabela 10-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre os níveis de 5-HT e seu metabólito (ng/g de tecido) em estriado de ratos.	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Foto das folhas da espécie <i>Erythroxylon coca</i>	22
Figura 2-	Representação da estrutura da cocaína	23
Figura 3-	Vias dopaminérgicas em cérebro de ratos	34
Figura 4-	Ações da cocaína sobre o processo de recaptação de dopamina	37
Figura 5-	Sistema dopaminérgico mesocorticolímbico	39
Figura 6-	Estrutura química do topiramato	45
Figura 7-	Estrutura química da imipramina	48
Figura 8-	Estrutura química da pentoxifilina	50
Figura 9-	Cromatografia da cocaína em comparação com padrão da Polícia Federal	59
Figura 10-	Aparelho de HPLC com detecção de fluorescência e eletroquímica	66
Figura 11-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a atividade locomotora espontânea em ratos.	74
Figura 12-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre a atividade locomotora espontânea em ratos.	75
Figura 13-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com pentoxifilina sobre a atividade locomotora espontânea em ratos.	76
Figura 14-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre o tempo de imobilidade no teste de nado forçado.	90
Figura 15-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre os níveis de dopamina em corpo estriado de rato.	95
Figura 16-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre os níveis de DOPAC em corpo estriado de rato	96

Figura 17-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre os níveis de noradrenalina em corpo estriado de rato	97
Figura 18-	Efeito da cocaína em células mesencefálicas de ratos expostas à 6-OHDA.	99
Figura 19-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre o fluxo sanguíneo cerebral em ratos	101
Figura 20-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina e topiramato sobre a formação de nitrito em cérebro de ratos.	103
Figura 21-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular	105
Figura 22-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular	106
Figura 23-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular	107
Figura 24-	Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular	108

LISTA DE ABREVIATURAS

µl	Microlitro
5-HIAA	Ácido-5-hidroxiindolacético
5-HT	Serotonina
6-OHDA	6-hidroxi-dopamina
ALE	Atividade locomotora espontânea
ANOVA	Análise de variância
ATV	Área tegmentar ventral
CE	Corpo estriado
Coc	Cocaína
DA	Dopamina
DOPA	Diidroxifenilalanina
DAT	Dopamine transporter - Proteína transportadora de dopamina
DOPAC	Ácido diidroxifenilacético
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EPM	Erro padrão da média
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
HVA	Ácido homovanílico
Imi	Imipramina
mg	miligrama
mL	mililitro
MTT	3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium brometo
NAc	Núcleo acumbente
NA	Noradrenalina
NEBA	Número de entradas nos braços abertos
NEBF	Número de entradas nos braços fechados
NC	Número de cruzamentos

NMDA	N-metil-D-aspartato
NO	Óxido Nítrico
NOS	NO sintase
Pent	Pentoxifilina
SNC	Sistema nervoso central
TP	Tempo de permanência
TPBA	Tempo de permanência nos braços abertos
TPBF	Tempo de permanência nos braços fechados
TPM	Topiramato
i.p.	Intraperitoneal
v.o.	Via oral

RESUMO

A cocaína é reconhecida por produzir marcantes alterações sobre o humor e comportamento humanos. Este trabalho teve como objetivo estudar as alterações neuroquímicas, comportamentais e histopatológicas promovidos pela administração repetida (7 dias) de cocaína isoladamente ou em associação com imipramina, um antidepressivo tricíclico, topiramato, um antiepiléptico, e pentoxifilina, um vasodilatador, em ratos. Ratos Wistar machos (200-250 g) foram tratados diariamente com cocaína isoladamente (Coc, 10 e 20 mg/kg, i.p.) ou em associação com imipramina (Imi, 12.5 ou 25 mg/kg, v.o.), topiramato (TPM, 50mg/kg, v.o.), pentoxifilina (Pent, 50mg/kg, i.p.) durante 7 dias. Cocaína causou um aumento significativo da atividade locomotora, e sua combinação com Imipramina, topiramato e pentoxifilina bloqueou os efeitos promovidos pela cocaína. No teste de esQUIVA passiva, a cocaína reduziu a memória de curto e de longo prazo enquanto que a imipramina reverteu parcialmente os efeitos da cocaína. Pentoxifilina bloqueou completamente os efeitos da cocaína. No labirinto aquático, a cocaína aumentou o tempo para encontrar a plataforma, efeito revertido totalmente pela imipramina e pentoxifilina e parcialmente pelo topiramato. No teste de labirinto em cruz elevada, cocaína e imipramina diminuíram o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos. A combinação das duas drogas reverteu parcialmente estes efeitos. No teste de nado forçado, cocaína e imipramina diminuíram significativamente o tempo de imobilidade do animal. Cocaína promoveu aumento dos níveis de dopamina (DA) e diminuição de HVA em corpo estriado, efeitos estes bloqueados por imipramina e topiramato. Cocaína também aumentou Noradrenalina (NA), efeito bloqueado pelo topiramato. Contudo, cocaína não alterou os níveis de serotonina (5-HT). Imipramina aumentou os níveis de 5-HT. A exposição de cultura primária de células mesencefálicas de ratos a cocaína reduziu a morte celular causada pela 6-OHDA (10 μ M). Cocaína diminuiu o fluxo sanguíneo cerebral e este efeito foi completamente revertido pelo topiramato. Cocaína aumentou os níveis de nitrito no cérebro dos animais e este efeito foi bloqueado pela imipramina e topiramato. Nos estudos histológicos, cocaína promoveu um dano significativo no córtex e giro denteado do hipocampo, efeito revertido pela imipramina. Estes resultados são de grande importância, especialmente em relação a atenuação do prejuízo cognitivo, a redução do fluxo sanguíneo cerebral, a formação de nitrito e a morte celular induzidos pela cocaína.

Palavras-chave: Cocaína, imipramina, pentoxifilina, memória.

ABSTRACT

Cocaine is known to produce marked alterations in behavior and mood in humans. This work was designed to study the interference of the combination of imipramine, a tricyclic antidepressant, topiramate, an antiepileptic drug, and pentoxifylline, a drug with hemorrheologic properties with cocaine on behavioral, neurochemical and histological alterations. Male Wistar rats (200 g) were treated daily with cocaine alone (Coc, 10 and 20 mg/kg, i.p.) or in association with imipramine (Imi, 12.5 or 25 mg/kg, p.o.), topiramate (TPM, 50mg/kg, p.o.), pentoxifylline (Pent, 50mg/kg, i.p.) for 7 days. Cocaine caused increases in rat's locomotor activity, and its combination with Imipramine, topiramate and pentoxifylline completely blocked cocaine effects. In the passive avoidance test, cocaine impaired short-term and long-term memory and imipramine partly reversed this effect. Topiramate didn't promote alterations and pentoxifylline completely blocked cocaine effects. In the water maze test, cocaine increased the time to find the platform and this effect was completely reversed by imipramine and pentoxifylline. Topiramate partly reversed the cocaine effect in the spatial memory. In the elevated plus maze test, cocaine and imipramine decreased the number of entrances in the open arms and the time spent in the open arms. The combination of the two drugs partially reversed these effects. In the forced swimming test, both cocaine and imipramine decreased the animal's immobility time. Cocaine also increasing dopamine (DA) and decreasing HVA levels in CE, effects blocked by imipramine and topiramate. Cocaine also increasing Noradrenaline (NA) levels, effect blocked by topiramate. Imipramine alone increasing 5-HT levels. Ours results show that the exposition to cocaine in primary rat mesencephalic cell culture before 6-OHDA reduce significantly the cell death caused by a 6-OHDA (10 μ M). Cocaine significantly decreased cerebral blood flow and this effect was completely reversed by topiramate. Cocaine significantly increased the nitrite levels in the brain's rat and this effect was completely reversed by imipramine and topiramate. In the histological studies, cocaine significantly damaged the cortex and DG region of the hippocampus, reducing neuronal cell counts and this effect was completely reversed by imipramine. Its results is an important point, especially those related to the attenuation of cocaine-induced cognitive impairments, cerebral blood flow, nitrite formation and cell death.

Keywords: Cocaine, imipramine, pentoxifylline, memory.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Drogas de Abuso

O termo droga teve origem na palavra *droog* (holandês antigo) que significa folha seca. Atualmente a medicina define droga como sendo qualquer substância que é capaz de modificar funções dos organismos vivos, resultando em mudanças fisiológicas ou de comportamento (Leite et al., 1999).

Dependendo da ação que as drogas apresentam no SNC, podem ser divididas em três grupos. Um grupo é formado por aquelas drogas que diminuem a atividade cerebral, ou seja, deprimem o seu funcionamento, o que significa dizer que a pessoa que faz uso desse tipo de droga fica "desligada", "devagar", desinteressada pelas coisas. Em um segundo grupo estão aquelas que atuam aumentando a atividade do cérebro, ou seja, estimulam o seu funcionamento fazendo com que, a pessoa que se utiliza dessas drogas, fique "ligada", "elétrica", sem sono. Há um terceiro grupo, constituído por aquelas drogas que agem modificando mais qualitativamente que quantitativamente a atividade do cérebro. O cérebro passa a funcionar de forma anormal e a sua atividade fica perturbada (Beedle et al., 1997).

As drogas de abuso representam um problema significativo nos Estados Unidos, com uma estimativa de 22,5 milhões de pessoas com idade superior a 12 anos (9,4% da população) classificadas como já tendo usado estas drogas (Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA). National survey on drug use and health, 2004).

O uso contínuo de substâncias ilícitas continua sendo um problema a ser resolvido na sociedade. Em muitos casos, o uso casual de substâncias gera uma desordem no uso destas, como por exemplo, o abuso (o uso desregrado com conseqüente prejuízo para o usuário) e a dependência (vício, o uso compulsivo de uma substância a despeito de problemas significativos decorrentes de seu uso)

[American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, (DSM-IV). In: Washington, DC, 1994].

Importantes pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de padronizar tratamentos medicamentosos para a dependência e abuso a drogas ilícitas. Aproximações farmacoterapêuticas efetivas para manter a abstinência em adictos estão disponíveis, particularmente para reduzir o desejo e a busca pela droga em usuários de nicotina, álcool e heroína. Contudo, cerca de 60% dos dependentes em álcool, opióides e cocaína que receberam tratamento para dependência tiveram recaída em até um ano. Assim, mais pesquisas são essenciais para aumentar a eficácia destes tratamentos e oferecer novas opções para estes pacientes. O desenvolvimento de novos agentes farmacológicos para o tratamento da dependência aumentaria bastante as opções atualmente disponíveis, principalmente no caso de medicamentos que reduzam a abstinência e o desejo e previnam as possíveis recaídas (Bubar et al., 2006).

O principal componente lesivo destas drogas é o estado de dependência que estas promovem nos usuários. Em estudos científicos, a dependência física é definida como um estado adaptativo que se manifesta por intensos distúrbios fisiológicos quando a administração da droga é suspensa, enquanto que a dependência psíquica é caracterizada como uma condição na qual a droga produz uma sensação de satisfação que leva a uma necessidade periódica ou contínua de administração da droga para produzir prazer (Dupont et al., 1997).

As drogas de abuso são causadoras de muitos problemas comuns para várias sociedades do mundo. Antigos textos religiosos mostram que, em todas as épocas e lugares, os seres humanos deliberadamente usaram substâncias capazes de modificar o funcionamento do sistema nervoso, induzindo sensações corporais e estados psicológicos alterados. Essas drogas têm grande poder destrutivo não apenas para o indivíduo, mas também para sua família e a sociedade. Dentre as drogas de abuso hoje disponíveis, temos a cocaína e o etanol como os agentes mais utilizados, sendo estas drogas alvos de inúmeros estudos. Progressos

substanciais têm sido realizados na elucidação das ações moleculares e celulares da cocaína e do etanol, entretanto, os sítios e mecanismos que participam nos seus efeitos não estão bem elucidados (Leite et al., 1999).

A adição gerada pela cocaína continua sendo um grande problema de saúde pública, sendo uma condição clínica crônica onde pode ocorrer deterioração fisiológica, social e psiquiátrica do usuário. O mecanismo de ação da cocaína envolve a inibição de transportadores neuronais de monoaminas em algumas estruturas cerebrais e primariamente no sistema de recaptção de dopamina localizado nos neurônios mesolímbicos. A cocaína rapidamente incrementa a neurotransmissão dopaminérgica e promove alterações adaptativas em circuitos cerebrais envolvidos com reforço, recompensa, sensibilização e o elevado poder viciante desta droga (Maurice et al., 2002).

A cocaína é reconhecida por produzir alterações marcantes no comportamento humano, e sua administração repetida aumenta a probabilidade de abuso, levando ao desenvolvimento do vício. Mudanças na plasticidade sináptica nos neurônios dopaminérgicos na área tegumentar ventral podem contribuir para este evento (Liu et al., 2005). Este aumento na plasticidade sináptica na área tegumentar ventral pode ser importante para a formação da memória associada à droga.

Embora não existam tratamentos farmacológicos aprovados para a dependência promovida pela cocaína, algumas drogas têm sido testadas com alguns resultados promissores (Sofuoglu e Kosten, 2005). A cocaína parece estimular a neurotransmissão dopaminérgica através do bloqueio da recaptção de dopamina. Contudo, evidências sugerem que, em situações de uso crônico, os terminais nervosos podem ter seus estoques de dopamina depletados. A depleção de dopamina tem sido associada com a disforia que se desenvolve durante a retirada de cocaína e o subsequente desejo por mais droga. Assim, alterações na neurotransmissão dopaminérgica podem ser responsáveis pelo padrão compulsivo de uso da droga. Com altas doses e uso regular, outros sistemas de

neurotransmissores tais como serotoninérgico podem provavelmente direta ou indiretamente mediar toxicidade no sistema nervoso central (Agarwal, 2005).

1.2. Cocaína

1.2.1. Histórico

A cocaína é uma substância naturalmente encontrada em dezenas de espécies vegetais do gênero *Erythroxylum* (figura 1), sendo a *Erythroxylum coca* e a *Erythroxylum novogranatense* as mais utilizadas no cultivo para a produção da droga.



Figura 1 – Folhas da planta *Erythroxylum coca*
(Fonte: www.cenpre.furg.br/cocaina/fotos.htm)

O hábito de mascar as folhas de coca pelos indígenas da região dos Andes data de longo tempo. Com a chegada dos conquistadores espanhóis, esta forma de uso foi estimulada, pois o consumo da droga facilitava a exploração do trabalho escravo. Levada para a Europa pelos espanhóis, durante os séculos XVI e XVII, difundiu-se o uso das folhas de coca na terapia sob as mais diversas

aplicações: os males do estômago, ulcerações de pele, doenças venéreas e dores de cabeça, musculares e de dente (Gold, 1993, Escohotado, 1993).

A cocaína (figura 2), principal alcalóide ativo existente nas folhas da *Erythroxylum coca*, foi isolada em 1860 por Niemann, que constatou seu gosto amargo e o efeito peculiar que produzia na língua, tornando-a dormente e quase insensível. Por volta de 1880, a cocaína estava disponível comercialmente, sendo, logo, incorporada a diversas beberagens, entre essas, o famoso Vin Mariani, que era conhecido como o “vinho dos atletas”. Rapidamente relatos enfatizavam os poderes miraculosos da droga, bem como sua capacidade de eliminar a fadiga (Gold, 1993).

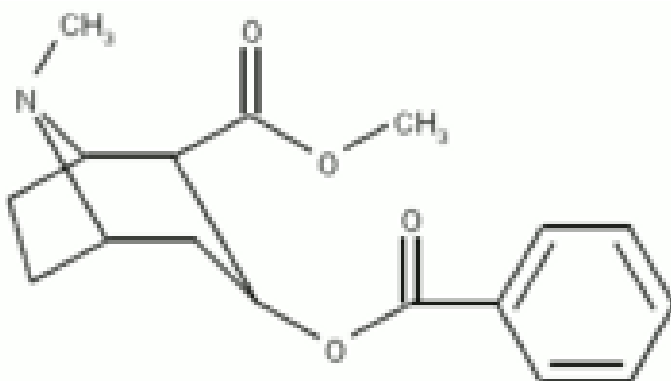


Figura 2 - Representação da estrutura da cocaína

Fonte: ZARZUELA, J. L. Química Legal. In: TOCHETTO, D. Tratado de Perícias Criminalísticas. Porto Alegre: Ed. Sagra-DC Luzzatto, 1995, cap.8, p.164-169.

Em 1884, Sigmund Freud fez o primeiro estudo pormenorizado dos efeitos fisiológicos da cocaína e no livro *Ueber Coca* sugeriu cinco possíveis aplicações da substância: aumentar a capacidade física, em doenças do aparelho digestivo, no controle da morfinomania, como estimulante sexual e anestésico local. Na mesma época, Carl Koller introduziu a cocaína na anestesia local da córnea, e Hall, na odontologia. A anestesia espinhal verdadeira foi obtida por

Augusto Bier, em 1898, ao injetar a substância em animais, em um assistente e nele mesmo (Musto, 1992).

Nos Estados Unidos, por volta de 1885, a cocaína foi adicionada – juntamente com a cafeína – em um remédio popular considerado como o protótipo da Coca-Cola, com indicações de uso contra dor de cabeça e como estimulante. Em 1892, Asa G. Chandler fundou a Coca-Cola Company e colocou a bebida no mercado como um tônico para pessoas debilitadas. Até meados deste século (1903-06), esta bebida continha aproximadamente 60mg de cocaína em 230 mL. A partir da sua extração, a cocaína passou a ser empregada em vários produtos. Nesta época, nos Estados Unidos, extratos de coca eram relatados como sendo a cura do alcoolismo e morfismo, sendo que esses preparados pavimentaram o caminho para a cocaína em sua forma pura a partir de 1880. A cocaína foi distribuída na Europa, pelo laboratório Merck, a especialistas para realizarem experimentos com a droga. Nesta época, Sigmund Freud dedicou-se ao estudo da cocaína. A euforia social relacionada à cocaína começou a se dissipar a partir da última década do século passado. Relatos detalhando a dependência à cocaína, comportamento psicótico induzido, convulsões e mortes causadas pelo consumo, gradativamente se acumularam na literatura. Freud, em 1887, publicava *Fissura e medo da cocaína*, descrevendo os sintomas paranóicos, as alucinações e deterioração física e mental associada ao consumo repetido (Musto, 1992).

Nas décadas que se seguiram à introdução da cocaína nos Estados Unidos, ela podia ser obtida em dois níveis diferentes: industrializado ou médico e por meio do comércio da droga pura nas ruas. Até a última década do século XIX não existia, naquele país, legislação sobre os atos médicos ou medicamentos em nível nacional. Mesmo as profissões médicas estavam se organizando naquela época, de forma que não existia controle sobre a propaganda da cocaína ou sobre os produtos que continham a substância. Leis passaram a ser decretadas para coibir o acesso fácil à substância acarretando um fortalecimento gradativo do

mercado ilícito de cocaína, fazendo com que a droga ilícita ficasse muito mais acessível.

A partir de 1900, surgiram vários medicamentos e bebidas à base de cocaína ou de folhas de coca que permaneceram no mercado até 1914, quando foi editado o *Harrison Narcotic Act*, que tornou ilegal o uso e a venda de cocaína nos Estados Unidos da América. Em 1924, a Associação Americana de Medicina realizou um estudo que atribuiu a morte de 26 pacientes à utilização da cocaína como anestésico, o que restringiu o seu uso na clínica. O público, em resposta a estas informações, passava a pressionar as autoridades para tomada de uma posição contra a droga. A visão social da cocaína transformou-se em 30 anos (a partir de 1884); de um tônico anunciado sem efeitos colaterais para a droga com restrições mais severas da história atual; porém, no início do século XX, a droga continuava a ser permitida para propósitos médicos. O período seguinte foi caracterizado pela extinção quase total do consumo da droga. Os anos a partir de 1920 foram caracterizados pelo consumo de derivados opiáceos e *Cannabis*, como ocorria no período imediatamente anterior à cocaína. No início da década de 30, a cocaína deixava de ser um problema social pela diminuição do uso. De 1914 a 1970, o consumo da droga, devido às suas propriedades eufóricas, ficou restrito a alguns segmentos da sociedade. A partir dos anos 70, com as restrições impostas à comercialização das anfetaminas, voltou o uso generalizado de cocaína nos Estados Unidos da América, e no início da década de 80, com a introdução do crack, o consumo aumentou de forma alarmante (Gold, 1993).

É muito difícil explicar a o aumento da utilização de cocaína nos Estados Unidos a partir do início da década de 70. Esse ressurgimento implicou, também, no quadro de consumo de cocaína que pode ser observado desde a última década no Brasil. Um grande número de fatores, porém, convergiram para a mudança no hábito de consumo de drogas na população dos Estados Unidos; o primeiro deles refere-se a uma população que nasceu e cresceu consumindo drogas. O consumo de maconha e alucinógenos durante a década de 60 por um grande número de

jovens norte-americanos resultou na ausência do temor das restrições legais, bem como das conseqüências médicas do assim chamado consumo *light* de drogas (Kendall, 1991).

Infelizmente, a cocaína, até o início da década de 80, ressurgiu envolta por uma reputação de ser incapaz de promover dependência, de ser segura em relação às conseqüências médicas e sociais e de ação ultracurta: a droga perfeita para interação social. Tornou-se, em princípio, a droga dos ricos e famosos; músicos cantavam suas virtudes, filmes mostravam o uso da cocaína como glamouroso, isento de riscos (Weiss, 1994). No Brasil, considerado o maior corredor de tráfico da droga do mundo, a cocaína trazia uma série de problemas que atingia as mesmas proporções nos países industrializados; o mascar das folhas de coca acarreta dependência semelhante à causada pela nicotina, sendo associada ao empobrecimento das funções mentais. Além do bem conhecido estado de anarquia e corrupção pública nos quais os países produtores se encontravam, o imenso crescimento da produção, atividade das mais lucrativas, vinha causando conseqüências sociais e ambientais incalculáveis (Negrete, 1992). Nenhuma outra plantação conhecida causa níveis similares de erosão, principalmente por seu cultivo junto às encostas andinas (Kendall, 1991). Uma respeitável parcela da população dos países produtores encontra-se envolvida em atividades relacionadas ao tráfico (Negrete, 1992).

No Brasil, a cocaína era livremente comercializada já no início do século, integrante de remédios ou em sua forma pura. Esta situação permaneceu até 1921, quando as leis começaram a restringir o seu consumo. Em 1962, no primeiro levantamento brasileiro sobre internações motivadas por consumo de drogas, observou-se que apenas quatro casos eram motivados pelo consumo da cocaína, enquanto neste mesmo ano 8.462 internações foram motivadas por álcool. Com o crescimento do consumo observado na última década, em 1992 houve 866 internações em hospitais psiquiátricos por intoxicação aguda ou dependência da droga. Em populações específicas, como as crianças de rua de

grandes cidades, a cocaína é proporcionalmente muito mais consumida (relatos em 46,5% destas crianças na cidade de São Paulo). Com o surgimento do *crack* no estado de São Paulo durante esta década, porém, o consumo e as conseqüências têm crescido vertiginosamente (Leite et al., 1999).

A cocaína apresenta um elevado potencial para abuso e continua sendo um importante problema de saúde pública, com 2,3 milhões de usuários apenas nos Estados Unidos (United States Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Office of Applied Studies. 2001). Apesar dos esforços contínuos, ainda não temos a disponibilidade de tratamentos farmacológicos eficientes para a dependência a cocaína (Sofuoglu et al, 2006). Muitos estudos, contudo, tem mostrado uma relação entre os resultados dos tratamentos e uma variedade de variáveis demográficas e relacionadas ao uso da droga (Sofuoglu et al, 2006).

O uso de substancias de abuso como a cocaína apresenta um elevado custo dentro das desordens neuropsiquiátricas. Na última década, muito progresso foi feito em relação ao entendimento dos efeitos das drogas de abuso sobre o cérebro. O vício a drogas de abuso é agora considerado uma doença do sistema nervosa central, pois o abuso de drogas afeta varias funções cerebrais. Prejuízos neurológicos observados em usuários de drogas podem refletir disfunções neurológicas e neurotoxicidade induzidas pela droga de abuso (Cunha et al., 2008).

Os efeitos da cocaína sobre o processo cognitivo têm sido estudados em vários trabalhos recentes. Muitos estudos na literatura demonstram que a exposição repetida à cocaína ou anfetamina promove função deficiente do córtex prefrontal, córtex orbital e amígdala (Roesch et al. 2007; Schoenbaum et al. 2004). Além disso, a administração repetida de psicoestimulantes tem promovido déficits de atenção e redução na capacidade de aprendizado (Dalley et al. 2005; Jentsch et al. 2002), processos estes que dependem de um córtex prefrontal intacto e funcional. Não obstante, poucos estudos tem relacionado a exposição a

psicoestimulantes com o aprendizado e a memória relacionados com o hipocampo.

1.2.2. Formas de cocaína

A cocaína é o único anestésico local que ocorre naturalmente, estando presente nas folhas da *Erythroxylum coca* na proporção de 0,5 a 1,0%. É um éster do ácido benzóico e da ecgonina (derivado da tropina) (Musto, 1992).

A *Erythroxylum coca* é a mais antiga das cocas cultivadas, sendo encontrada ainda em um estado semi-selvagem nos Andes peruanos e bolivianos.

Sua cultura data de vários milênios e é responsável pela maior parte do suprimento mundial de cocaína. O processo de extração da cocaína para consumo ilícito é iniciado colocando-se as folhas e solventes orgânicos (querosene, gasolina) em recipientes (tanques); após um período de maceração, o extrato orgânico é separado das folhas e evaporado. O resíduo obtido, denominado pasta de coca, contém cocaína juntamente com outros alcalóides e óleos essenciais. A droga pode ser obtida, também, por meio da secagem das folhas, digestão com ácido sulfúrico e posterior extração, após precipitação com bicarbonato de sódio. Este produto pode conter sulfato de cocaína (40-85%), além da cocaína na forma de base.

A pasta de coca é então tratada com ácido clorídrico (HCl) para formação de cloridrato de cocaína, que corresponde a forma usual de tráfico. É raro, contudo, encontrá-la na forma pura, sendo normalmente “diluída” com a adição de produtos que procuram mimetizar sua ação farmacológica, cor ou sabor. São utilizados para esta finalidade outros anestésicos locais (lidocaína), cafeína, efedrina, feniciclina, quinina, estricnina, manitol, sacarose, heroína, talco e outros.

O cloridrato de cocaína apresenta-se na forma de pó ou grânulos brancos, insolúveis em éter e solúveis em água, etanol e clorofórmio, apresentando ponto

de fusão a 196°C. A partir do cloridrato é possível obter cocaína na forma de base, que é volátil e quimicamente mais estável. Essa transformação pode ser obtida pela adição de soluções alcalinas (bicarbonato) ao cloridrato, extração com éter dietílico e posterior evaporação do solvente orgânico pelo aquecimento. O produto obtido dessa maneira é a cocaína na forma de base livre, mas o aquecimento propicia a ocorrência de explosões devido às características do éter (Musto, 1992).

1.2.3. Vias de exposição

A cocaína pode ser utilizada por aplicação direta nas mucosas ou através das vias oral, respiratória (aspirada ou fumada) ou intravenosa. As vias de exposição mais utilizadas ocorrem por meio do sistema respiratório pela aspiração e absorção intranasal do cloridrato de cocaína ou pela inalação e absorção pulmonar da fumaça proveniente do ato de fumar a cocaína na forma Crack. A cocaína pode ser consumida por várias vias e em uma grande variedade de doses (Jones, 1987). O uso intravaginal já foi reportado (Collins et al., 1994). A droga também pode ser aplicada por via retal (Schrank 1993). A cocaína apresenta ação equipotente quando fumada ou administrada endovenosamente em termos de pico plasmático (Fischman, 1988). Além disso, a cocaína fumada (incluindo o crack) não apresenta os riscos de infecção nem carrega o estigma (Johanson e Fischman, 1989).

A cinética de absorção intranasal é de extrema importância clínica, pelo fato da droga ser muito utilizada por esta via. Após utilização pela via intranasal, o pico máximo de concentração plasmática é observado entre 30 a 120 minutos após o uso. Essa variação ocorre pelo fato de a cocaína produzir diferentes graus de vasoconstrição, ocorrência de biotransformação no próprio local de administração (mucosa nasal), diferenças interindividuais de velocidade de

hidrólise ou diferenças na prática da técnica de aspiração que leva à deglutição parcial da droga.

Quando a cocaína é utilizada na forma fumada (pasta, *crack* ou merla), sua velocidade de absorção pode ser comparada a da via endovenosa, levando alguns minutos para a droga atingir a circulação sistêmica e o cérebro. A absorção nesta via ocorre nos alvéolos pulmonares, sendo facilitada pela extensa superfície pulmonar e pelo tamanho das partículas produzidas na volatilização do *crack*. O aparecimento dos efeitos desejados depende da quantidade da droga liberada na corrente sanguínea, a qual está diretamente relacionada com a eficiência do ato de fumar. O pico máximo de concentração plasmática é obtido com 6 a 8 minutos após a tragada (Musto, 1992).

A injeção de cocaína é utilizada mais comumente por dependentes em relação aos usuários ocasionais. Quando administrada na forma injetável, até um grama da droga é adicionado, em cada ocasião, em uma colher. Adiciona-se então água, sendo a mistura resultante colocada em uma seringa e injetada. A euforia acontece imediatamente. O uso intravenoso de cocaína produz o pico de *high* (aumento da força, energia e sensação de autoconfiança) 10 a 15 minutos após a injeção, com duração de cerca de 30 a 45 minutos. Efeitos intensos podem ocorrer com doses muito menores do que aquelas administradas oralmente (Rowbotham e Lowenstein, 1990). A morte súbita pode ocorrer rapidamente como resultado de um colapso cardiorrespiratório.

A administração intranasal é uma via comum de utilização da droga. A cocaína quando preparada para inalação é colocada em uma superfície translúcida, como um espelho, onde ela é finamente cortada com uma lâmina de barbear e organizada em *filas*. Uma fila de cocaína consiste em aproximadamente 20 a 30 mg (Commissaris, 1989; Cox et al., 1983). Seguindo a inalação, há uma rápida passagem da cocaína para corrente sanguínea através da mucosa nasal rica em capilares, e os níveis sanguíneos aumentam rapidamente (em 30 segundos a 2 minutos), com pico de 15 minutos a 1 hora após a inalação. (Higgins et al., 1990;

Weiss et al., 1994). Efeitos no humor são evidentes em 15 a 30 minutos após a administração intranasal, e os efeitos cardiovasculares, incluindo elevação da pressão arterial, aparecem em 15 a 20 minutos. Estes efeitos geralmente desaparecem em 45 a 60 minutos, embora os metabólitos da cocaína ainda estejam presentes na circulação por 4 a 6 horas após a administração (Weiss et al., 1994).

A cocaína pode ser fumada tanto na forma de pasta de coca como de crack, forma mais freqüentemente usada. O conteúdo de cocaína na fumaça inalada é rapidamente absorvido e a concentração sanguínea aumenta rapidamente. Efeitos subjetivos como euforia e bem-estar geral ocorrem logo no início do uso. Com o uso prolongado, porém, ocorre uma menor sensação de euforia, acompanhada de ansiedade, hostilidade e extrema depressão. No caso do crack, há uma intensa euforia inicial acompanhada por severa depressão, agitação e desejo por cocaína, 10 minutos após o uso (Leite et al., 1999).

O cloridrato de cocaína pode ser aplicado topicamente (única via lícita de administração) como anestésico. Por causa de sua insuficiente absorção cutânea, não ocorrem efeitos psicotrópicos nesta via de administração (Brown, 1989; Ritchie e Greene, 1990).

1.2.4. BIOTRANSFORMAÇÃO DA COCAÍNA

A cocaína é convertida extensamente a produtos de biotransformação no organismo por meio de processos enzimáticos e químicos, sendo pouco excretada na urina na sua forma inalterada. Os principais produtos de biotransformação são a benzoilecgonina e, em menor proporção, a ecgonina, a norcocaína e a benzoilnorcocaína (Leite, 1999).

A benzoilecgonina corresponde a 29-45% da excreção urinária. Para sua formação, a cocaína sofre hidrólise espontânea (pH dependente) do grupo éster carboxílico. O éster metil ecgonina, maior produto de biotransformação depois da

benzoilecgonina, resulta da hidrólise espontânea e degradação enzimática por ação das colinesterases plasmáticas e hepáticas. A hidrólise enzimática da benzoilecgonina e a espontânea do éster metil ecgonina resultam no aparecimento da ecgonina, que pode contribuir com 1 a 8% da excreção urinária de cocaína. Outro produto de biotransformação é a norcocaína, que ocorre apenas em pequena fração (2 a 6%), mas que é farmacologicamente ativa.

1.3. COCAÍNA E NEUROTRANSMISSÃO

1.3.1. DOPAMINA

- Produção e distribuição no cérebro

O aminoácido tirosina é o precursor dos neurotransmissores aminérgicos que possuem estrutura química denominada de catecol. Estes neurotransmissores são denominados catecolaminas e compreendem a dopamina, noradrenalina e adrenalina. Neurônios catecolaminérgicos estão relacionados com a regulação do movimento, humor, atenção e das funções viscerais. Os neurônios dopaminérgicos (produtores de dopamina) apresentam a enzima tirosina hidroxilase (TH), um catalizador da conversão de tirosina em DOPA (Diidroxifenilalanina). O DOPA é convertido então no neurotransmissor dopamina pela dopa descarboxilase. Quando é gerado um potencial de ação (despolarização da membrana), ocorre a exocitose do neurotransmissor dopamina para a fenda sináptica. A dopamina atua então em receptores pré e pós-sinápticos para promoção de seus efeitos, sendo recaptada para o neurônio para o término do processo sinalizador (Bear, 2001; Connors 2001).

1.3.2 – DISTRIBUIÇÃO DOS NEURÔNIOS DOPAMINÉRGICOS

Os neurônios dopaminérgicos têm origem em três grupos celulares localizados no cérebro. Estes são classificados em A8, A9 e A10 (Dahlstrom & Fuxe, 1964, Bjorklund & Lindvall, 1984), correspondendo às regiões cerebrais denominadas campo retrorubral (A8), substância negra pars compacta (A9) e área tegumentar ventral (A10) (Figura 3). Os axônios dos neurônios dopaminérgicos provenientes destes grupos celulares se estendem para regiões do mesencéfalo, formando três sistemas neuronais:

- Sistema nigroestriatal que compreende os neurônios dopaminérgicos originados no grupo de células A9 e que termina na região denominada corpo estriado dorsal. Esta região contém o núcleo caudado e o putamen e esta envolvida com o aprendizado de movimentos complexos executados automaticamente sob comando voluntário.
- O segundo circuito, o sistema mesolímbico, é originado no grupo A10 e parte do grupo A9. Estes neurônios terminam no estriado ventral, o qual inclui o núcleo accumbens e tubérculo olfatório, o septo, a amígdala central e o núcleo profundo da formação reticular (Ungerstedt, 1971). O estriado ventral tem papel no aprendizado e no desempenho de certos comportamentos de motivação.
- O terceiro grupo de neurônios dopaminérgicos se origina nos grupos A9 e A10 e termina em várias regiões do córtex cerebral que são envolvidas na atenção e memória curta, formando o sistema mesocortical (Thierry et al., 1973).

VIAS DOPAMINÉRGICAS NO CÉREBRO

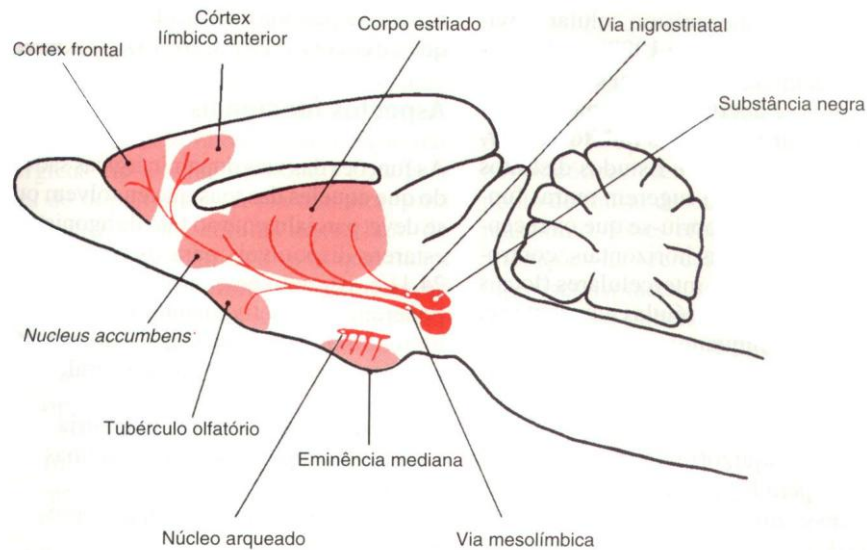


Figura 3 – Vias dopaminérgicas em cérebro de ratos

1.3.3. PAPEL DA DOPAMINA NO COMPORTAMENTO

Inúmeras evidências indicam que a dopamina exerce um importante papel na motivação e no reforço (Wise 1982; Robbins et al., 1989; Di Chiara 1995). A ação da dopamina no comportamento depende de três fatores principais: (1) o tipo de estímulo que ativa os neurônios dopaminérgicos, (2) a(s) área(s) cerebral (is) afetada(s) pela dopamina e (3) o modo de neurotransmissão dopaminérgica (se fásico-sináptico ou tônico-não-sináptico).

Os neurônios dopaminérgicos são ativados por estímulos encorajadores para os animais interpretarem ou repetirem certo comportamento (estímulo motivacional). Estes estímulos convergem dos grupos celulares dopaminérgicos A8, A9 e A10 para várias áreas cerebrais onde ficam as terminações dos neurônios dopaminérgicos. Assim, através da ativação destes neurônios, o

estímulo motivacional pode influenciar a atividade de várias partes do cérebro que podem determinar diferentes funções comportamentais. Este mecanismo pode ser uma das razões do extenso papel da dopamina no comportamento.

1.3.4. O TRANSPORTADOR DE DOPAMINA

A cocaína bloqueia a captação de dopamina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) e norepinefrina (NE) no SNC (Figura 4), promovendo um acúmulo destes neurotransmissores na fenda sináptica. Existe uma correlação positiva significativa entre as potências da cocaína e alguns compostos relacionados, que bloqueiam a captação de dopamina e suas habilidades como reforçadores em situações de auto-administração em macacos rhesus (Ritz et al., 1987), sendo que correlações significativas entre os efeitos de reforço e o bloqueio da captação de NE e 5-HT não foram encontradas. Estes dados sugerem que o bloqueio da captação de dopamina é um passo essencial na mediação dos efeitos de reforço da cocaína. Outro suporte desta hipótese dopaminérgica provém da evidência de que o receptor da cocaína e o transportador de dopamina são proteínas idênticas. Particularmente, fortes evidências provêm dos experimentos de clonagem. Outros estudos mostram que vários inibidores da captação de dopamina, como os análogos da cocaína de alta afinidade, mazindol e vários análogos do GBR12909, se ligam a um sítio comum e interagem competitivamente, o que leva à conclusão de que eles se ligam ao transportador de dopamina (Carroll et al., 1992; Reith et al., 1992). Além do mais, Grilli et al., (1991), mostraram que a expressão de sítios de ligação da cocaína e sítios de captação de dopamina ocorrem ao mesmo tempo durante o desenvolvimento celular *in vitro*.

Uma outra indicação de que os sítios de ligação da cocaína e o transportador de dopamina estão intimamente relacionados é o fato de que os

sítios de ligação da cocaína são distribuídos no SNC em áreas que apresentam altas concentrações de dopamina em terminais nervosos. Enquanto estes dados indicam um papel proeminente da dopamina, alguns trabalhos indicam que interações significativas entre diferentes sistemas mediadores neuroquímicos, como o serotoninérgico, gabaérgico e adrenérgico, podem estar envolvidos na modulação das ações de reforço da cocaína e compostos relacionados.

Grandes progressos também foram alcançados na elucidação das características da estrutura da cocaína, que são significativas na ligação ao transportador de dopamina. As características estruturais importantes incluem a configuração levorotatória, um substituinte beta-orientado em C-2 e C-3, e o anel benzênico no carbono C-3 (Ritchie et al., 1990).

Além das características estruturais relevantes na ligação da cocaína, vários laboratórios estão envolvidos na caracterização da proteína transportadora de dopamina propriamente dita. Estes estudos levaram ao desenvolvimento de técnicas que eventualmente resultaram na clonagem e expressão do DNAc do transportador de dopamina cocaína-sensível (Kilty et al., 1991; Shimada et al., 1991). Este achado dá a oportunidade de elucidar a seqüência molecular que resulta na captação de dopamina e determinar como este processo é perturbado pela cocaína. Finalmente, este conhecimento pode ser útil no desenvolvimento de medicamentos para o tratamento da dependência pela cocaína. Pela alteração do transportador de dopamina através de mutações sítio-direcionadas, é possível determinar se as mudanças diferentemente alteram a ligação de cocaína e dopamina. O achado de que um resíduo de ácido aspártico encontrado em uma região particular parece ser crucial para ambos, transporte de dopamina e ligação da cocaína, enquanto outras áreas são importantes apenas para o transporte de dopamina, dá suporte à possibilidade da capacidade do desenvolvimento de antagonistas da cocaína que não interfiram com o transporte normal de dopamina (Kitayama et al., 1992).

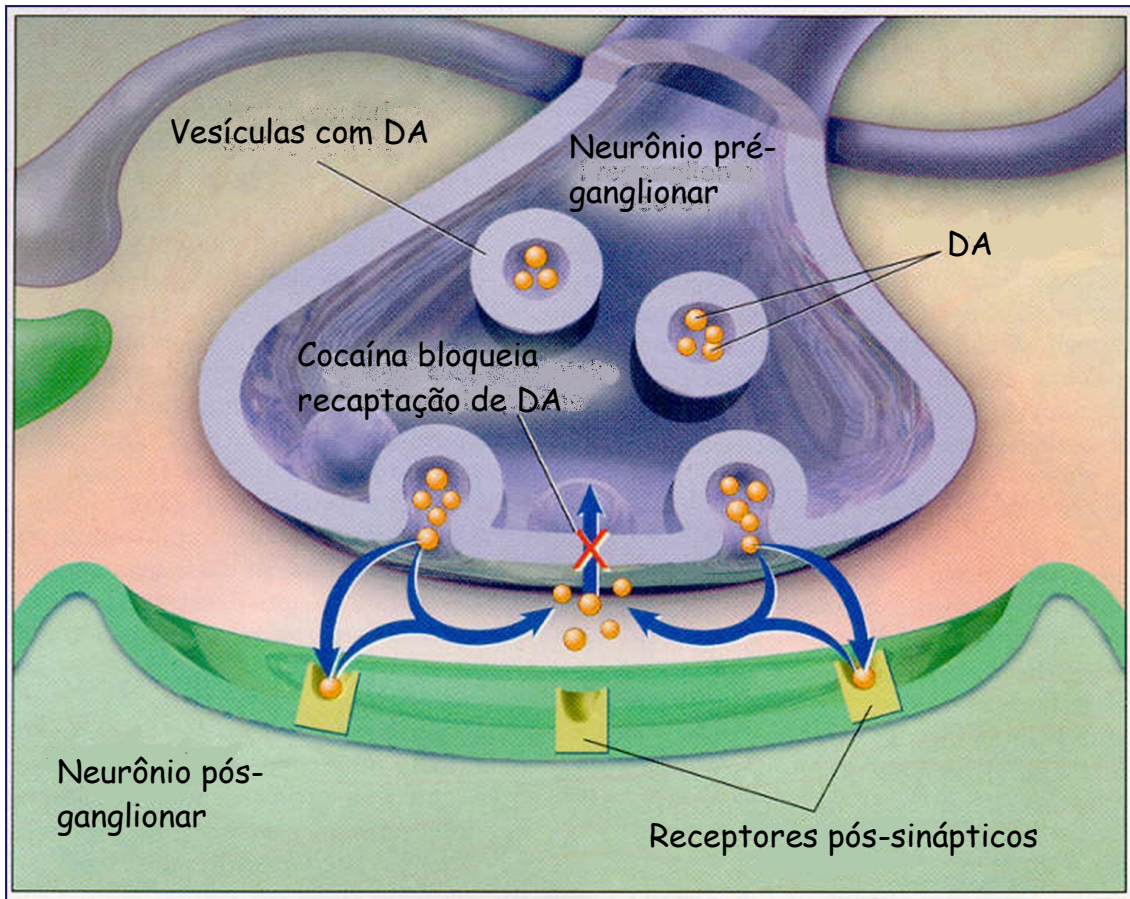


Figura 4 – Ações da cocaína sobre o processo de recaptação de dopamina.

1.3.5. EFEITO DA COCAÍNA NO SISTEMA DOPAMINÉRGICO

A cocaína produz muitos efeitos neuroquímicos, mas seu principal mecanismo de ação envolve a monoamina dopamina. A cocaína produz um bloqueio na recaptação de dopamina, permitindo que esta fique na fenda sináptica por um período prolongado de tempo. O aumento deste neurotransmissor em certas áreas do cérebro, como por exemplo, no núcleo accumbens, é responsável pelos efeitos de reforço da cocaína (figura 4).

A ativação do sistema nervoso simpático também ocorre, explicando os efeitos simpaticomiméticos da cocaína, os quais incluem: taquicardia, aumento

da pressão arterial sistólica, midríase e outros efeitos simpáticos (Ritchie e Greene, 1990). Mais especificamente, os receptores D_1 , D_2 e D_3 podem estar envolvidos no efeito de reforço no sistema dopaminérgico mesolímbico. A atividade do receptor D_1 foi demonstrada predominantemente em partes periféricas do Núcleo accumbens, o qual está relacionado com aspectos motivacionais do vício promovido pela cocaína (Koob et al., 1997). Leshner (1996), também sugeriu que os receptores D_1 podem estar envolvidos na saciedade pela cocaína, visto que agonistas D_1 suprimem a auto-administração em ratos. Os receptores D_2 têm também importância nos efeitos de reforço da cocaína. De acordo com Leshner 1996, estes receptores têm um possível papel nos comportamentos motores envolvidos no vício por cocaína, considerando que agonistas D_2 induzem um comportamento de procura pela droga. Koob et al., 1997, sugeriram que isto é devido a um aumento na quantidade de receptores D_2 no corpo estriado, o qual está envolvido nos comportamentos motores. Os receptores D_3 também têm efeitos sobre a habilidade da cocaína em produzir reforço, mas o mecanismo de ação destes receptores ainda precisa ser elucidado (Koob et al., 1997). Semelhante aos receptores D_1 , os receptores D_3 foram encontrados no *shell* do núcleo accumbens, mas não na parte central. (Koob et al., 1997). Em suma, os receptores D_1 , D_2 e D_3 exercem um papel na habilidade da cocaína produzir reforço.

O bloqueio da recaptação de dopamina pode estar relacionado a um aumento na atividade locomotora com os dias de administração. Feldman et al., (1997) demonstraram que microinjeções de cocaína no núcleo accumbens resultavam em aumento na atividade locomotora. Porém, estes pesquisadores explicaram que o mecanismo pelo qual a cocaína produz seus efeitos comportamentais pode envolver mais do que um simples bloqueio na recaptação de dopamina.

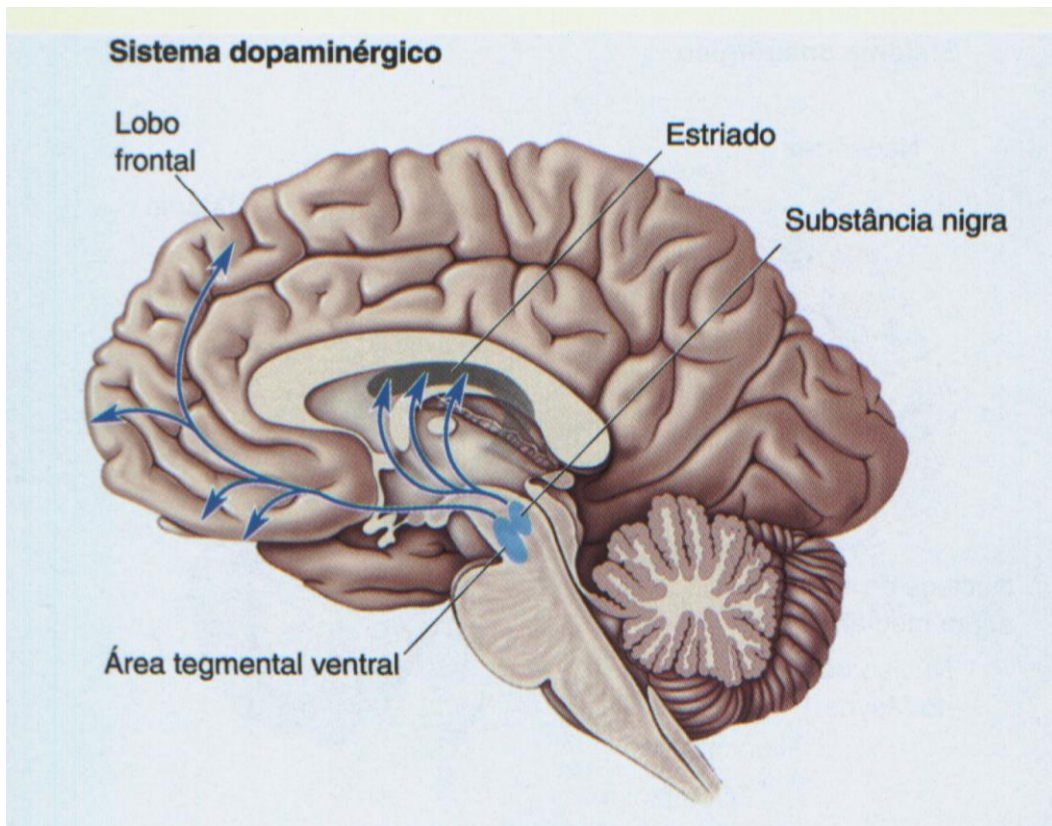


Figura 5 – Sistema dopaminérgico mesocorticolímbico

Fonte: Neurociências – Desvendando o sistema nervoso - Bear, Mark F. 2002.

1.3.6. CIRCUITOS ENCEFÁLICOS E DROGAS DE ABUSO

O sistema mesolímbico é primariamente regulado pela dopamina e parece ser responsável pelos efeitos agudos de reforço das drogas de abuso (Heidbreder et al, 2005; Kreek et al, 2002). Os mediadores neurobiológicos das ações psicoestimulantes centrais da cocaína parecem ser as catecolaminas centrais, principalmente o neurotransmissor dopamina. Neurônios dopaminérgicos da área tegmentar ventral (ATV) que inervam o córtex límbico e frontal são necessários para as ações agudas de reforço promovidas pela cocaína.

As bases celulares para as ações da cocaína no sistema dopaminérgico começaram a ser elucidadas por meio da administração de ligantes marcados, White e Wang demonstraram que a dopamina deprime normalmente a atividade espontânea do núcleo accumbens inervado por neurônios dopaminérgicos da área tegumentar ventral, sendo esta ação três a dez vezes mais potente nesta em relação ao núcleo accumbens. Embora a ação da dopamina no núcleo accumbens se dê através da interação com receptores das famílias D1 e D2, na ATV ocorre interação predominante com receptores D2-símile.

A cocaína atua alterando os sistemas de neurotransmissores endógenos. Centralmente, a cocaína atua na neurotransmissão catecolaminérgica incluindo tanto as vias noradrenérgicas como dopaminérgicas. A via noradrenérgica parece ser importante na mediação da ativação dos efeitos inespecíficos estimulantes, incluindo complicações cardiovasculares e o aparecimento dos sintomas que aparecem após a interrupção do uso dos estimulantes (Gawin e Ellinwood, 1988; Kosten, 1990). Os circuitos dopaminérgicos cerebrais parecem ser importantes na euforia e nos efeitos de reforço induzidos pelos estimulantes, os quais mantêm o abuso dos estimulantes (Shepherd, 1988).

A via serotoninérgica também tem um papel no abuso da cocaína, embora isto não tenha sido firmemente estabelecido (Kosten, 1990; Shepherd, 1988). A via dopaminérgica mesolímbica/mesocortical é importante para a auto-administração da cocaína (Wise, 1987).

Os neurônios dopaminérgicos da ATV são células que se originam das vias dopaminérgicas mesolímbica/mesocortical e promovem inervação dopaminérgica para o núcleo accumbens (Oades and Halliday, 1987). As propriedades de recompensa da cocaína podem ser devidas ao bloqueio da recaptação de dopamina no núcleo accumbens, o que incrementa e prolonga a liberação sináptica de dopamina (Ritz et al., 1987; Koob and Bloom, 1988).

A cocaína incrementa os níveis de dopamina na área tegumentar ventral por bloqueio dos transportadores dopaminérgicos pré-sinápticos, bem como

bloqueia também os transportadores pré-sinápticos de serotonina e noradrenalina (Kreek et al, 2002; Kalivas et al, 2005). Com a utilização crônica de cocaína, ocorre um aumento na expressão de receptores opióides κ , receptores de dinorfinas e receptores glutamatérgicos, como um possível meio de regular o aumento nos níveis de dopamina, enquanto promovem o efeito de reforço da droga (Kreek et al, 2002; Kalivas et al, 2005).

O mecanismo central de ação da cocaína e outros estimulantes com alto potencial de abuso parece ser a estimulação da via de recompensa dopaminérgica no cérebro (Gawin e Ellinwood, 1988; Goeders e Smith, 1983; Yokel e Wise, 1975). De acordo com Kosten 1990, as seguintes ações ocorrem na sinapse durante a ação estimulatória: a liberação de catecolaminas dos terminais pré-sinápticos; o bloqueio da captação da dopamina, NE e 5-HT (principal mecanismo de inativação dos neurotransmissores) e alterações na sensibilidade do receptor com o uso crônico. O uso crônico pode resultar em outros efeitos que não só os resultantes da disponibilidade aumentada de catecolaminas e 5-HT. Estes incluem sensibilização (tolerância reversa) e tolerância.

A sensibilização comportamental pode estar localizada no Núcleo accumbens, embora outros sistemas neurais possam mediar os efeitos motores agudos da cocaína (Kalivas e Duffy, 1990). Foi demonstrado que a sensibilização induzida por cocaína pode ser bloqueada pelo haloperidol, um fármaco antipsicótico antagonista dopaminérgico (Weiss et al., 1989), enquanto a administração de apomorfina, um agonista do receptor dopaminérgico, previne o desenvolvimento de uma resposta de sensibilização à anfetamina em camundongos (Riffée et al., 1987), mas não previne a sensibilização induzida pela administração subcrônica de cocaína (Riffée et al., 1988); estes resultados sugerem que a sensibilização para estes dois estimulantes pode envolver diferentes processos.

A tolerância aos efeitos da cocaína pode se desenvolver através da redução da inibição da recaptação com o uso crônico, diminuindo a liberação dos

neurotransmissores, talvez devido à depleção no terminal pré-sináptico (embora este mecanismo não tenha sido confirmado) ou alterações na sensibilidade do receptor nos seus sítios pré- e pós-sinápticos levando a uma auto inibição neuronal (Kosten, 1990).

A hipótese dopaminérgica procura explicar as propriedades de reforço da cocaína. Ela propõe que a cocaína liga-se ao transportador de dopamina e inibe a recaptação do neurotransmissor. Como resultado, a neurotransmissão dopaminérgica é potencializada na via mesolímbica, levando ao reforço de eventos associados com a ligação da cocaína e inibição da entrada de dopamina em nível molecular (Kuhar, 1992). Como outras drogas, tais como nicotina e álcool, também ativam a via mesolímbica, isto pode servir como via comum final para numerosas substâncias psicoativas, tanto em seu sítio de ação como em outros locais no SNC (Kuhar et al., 1991).

Existem evidências substanciais da hipótese dopaminérgica em animais, mas poucas em humanos. Ritz et al., (1987), reportaram em animais evidências de que a inibição do transportador de dopamina é o mecanismo primário responsável pelos efeitos de reforço da cocaína e o sítio receptor, ou sítio de ação onde os eventos resultantes dos efeitos de reforço são iniciados, embora outros sítios não possam ser excluídos. Entre as linhas de evidência disponíveis em humanos para esta explicação, Kuhar et al., 1991, listam as seguintes: 1) estudos de tomografia emissora de pósitrons (TEP), que mostram similaridades no tempo de curso entre a ocupação do receptor de cocaína (transportador de dopamina) e os efeitos da cocaína; 2) a presença de paranóia e psicose em ambos os usuários de cocaína de forma prolongada ou em altas doses e na esquizofrenia, uma desordem que envolve a via dopaminérgica límbica; 3) a ação de estimulantes indiretos do receptor de dopamina, tais como, metilfenidato ou bromocriptina em reduzir com sucesso o desejo inicial pela droga, sugerindo que o agente dopaminérgico pode influenciar o mesmo processo como a cocaína (Dackes et al., 1987; Khantzian et al., 1984); 4) a preferência mostrada por bloqueadores da

captação de dopamina em estudos de escolha feitos com várias drogas (Chatt et al., 1987); 5) e a sugestão de que decanoato de flupentixol, um bloqueador do receptor de dopamina, pode diminuir o desejo pela droga (Giannini et al., 1986; Gawin et al., 1989). A administração de drogas bloqueadoras de receptores dopaminérgicos, tais como clorpromazina ou haloperidol não reduziram a euforia induzida pela cocaína ou auto-administração, mas reduziram os sintomas psicóticos (Gawin 1986a). O haloperidol também falhou na tentativa de atenuar o rush (sensação de curta duração que ocorre imediatamente após a administração da droga e é caracterizada por uma sensação de poder e extremo prazer comparado a um orgasmo), apenas modestamente influenciando os efeitos subjetivos da cocaína e atenuando o aumento da pressão sistólica e diastólica induzido pela cocaína (Shere et al., 1989).

Estes achados sugerem que um bloqueio nos receptores D2 (subtipo de receptor dopaminérgico do qual o haloperidol é antagonista primário) não afetou fortemente a euforia causada pela cocaína, embora o pré-tratamento com bloqueadores do receptor dopaminérgico tenham prevenido a euforia pela anfetamina. Estes resultados sugerem a possibilidade de que mecanismos dopaminérgicos estejam envolvidos no início do uso da cocaína, mas não em fenômenos tardios como a dependência e o desejo. Usando um simples estudo de TEP, Pearlson et al., 1993 encontraram que a cocaína administrada endovenosamente produziu efeitos subjetivos (auto-limitados, como *rush e high*) correspondendo com diminuições regionais no fluxo sanguíneo cerebral para sítios ricos em terminais dopaminérgicos, sugerindo o envolvimento do sistema dopaminérgico na produção destes estados subjetivos.

Enquanto os efeitos da cocaína no sistema dopaminérgico neuronal no cérebro são possivelmente mediados pelo bloqueio de curto período na recaptação de dopamina, o uso prolongado resulta na depleção de dopamina nestes mesmos sítios (Volkow et al., 1990). Esta depleção pode resultar na interrupção da transmissão dopaminérgica, causando disforia e ânsia pela droga.

No estudo de Volkow et al., 1990, porém, foi demonstrada uma recuperação na disponibilidade do receptor dopaminérgico pós-sináptico a níveis normais em usuários de cocaína detoxificados depois de um período de um mês livre da droga. Outro estudo também examinou a possibilidade de que a exposição à cocaína altera o transportador de dopamina e concluiu que a regulação do transportador de dopamina é altamente sensível aos regimes de uso e intervalos de retirada da droga (Little et al., 1993).

Vários aspectos do mecanismo definem as bases das intervenções farmacológicas para o tratamento do abuso da cocaína. Por exemplo, quando as vias dopaminérgicas são antagonizadas por neurolépticos, os quais atuam como bloqueadores dopaminérgicos (Phillips et al., 1983), ou quando estas vias são destruídas quimicamente ou retiradas cirurgicamente (Bozarth e Wise, 1986; Roberts et al., 1977), os efeitos comportamentais da cocaína são eliminados. As qualidades eufóricas e de reforço da cocaína podem também ocorrer como um resultado do efeito da droga no sistema 5-HT, embora os mecanismos envolvidos não sejam ainda conhecidos. A administração da cocaína aumenta a liberação do neurotransmissor 5-HT nos sítios sinápticos pela inibição da recaptção da 5-HT, como já descrito anteriormente, da mesma maneira pela qual afeta a dopamina e NE (Hall et al., 1990), resultando na redução do turnover de 5-HT. Desta forma, agentes que modulam a 5-HT também influenciam a ação da cocaína (Johnson e Vocci, 1993).

Também é conhecido que agonistas opióides como morfina e metadona estimulam a transmissão dopaminérgica no sistema mesolímbico, enquanto agonistas opióides κ reduzem na mesma extensão. Desde que buprenorfina (um agonista parcial - μ) suprime a auto-administração de cocaína em macacos Rhesus na mesma extensão que suprime a auto-administração dos opióides, pode existir uma possível ligação entre o sistema opióide e os sistemas responsáveis pela produção dos efeitos de reforço da cocaína em primatas (Johnson e Vocci, 1993).

1.4. TOPIRAMATO

1.4.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O topiramato [2,3:4,5-bis-O-(1-metiletilideno)b-Dfrutopiranosose sulfamato] (Figura 6) é um composto com um amplo espectro de atividades antiepilépticas, tanto em modelos experimentais como em estudos clínicos (Shank e Gardocki, 1994; Wauquier et al, 1996; Bourgeois et al, 1996).

Este agente foi inicialmente sintetizado como um fármaco antidiabético, e atuaria inibindo a enzima frutose-1,6-bisfosfatase e assim a gliconeogênese. Contudo, a inabilidade do topiramato em reduzir os níveis glicêmicos em ratos determinou a interrupção prematura desta linha de pesquisa. A similaridade estrutural do topiramato com a acetazolamida, a qual tem efeitos anticonvulsivantes, encorajou pesquisas para testar uma possível atividade anticonvulsivante do topiramato. O topiramato é hoje classificado como um potente antiepiléptico com intensas propriedades neuroprotetoras (Khan et al., 2003; Johnson et al., 2003).

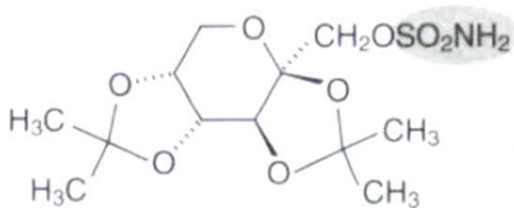


Figura 6 – Estrutura química do topiramato

(Fonte: Johnson, 2005)

Várias ações farmacológicas deste composto têm sido identificadas como fatores que contribuem para sua ação anticonvulsivante, dentre os quais: (a) bloqueio de canais de Na^+ voltagem dependentes, o que reduz a duração e a frequência dos potenciais de (Zona e Ciotti, 1997; Delorenzo et al, 2000); (b) um efeito modulador sobre os receptores GABA_A do ácido γ –aminobutírico (GABA) com consequente potencialização do GABA (White et al, 2000) e um efeito inibidor sobre os receptores ionotrópicos glutamatérgicos NMDA (N-metil-D-aspartato) e AMPA (Skradski et al, 2000, Hargreaves e Iain, 2007).

Adicionalmente, o topiramato inibe algumas isoenzimas da anidrase carbônica (Dodgson et al, 2000) e aumenta o metabolismo energético em ratos por mecanismos desconhecidos (Richard et al, 2000). O Topiramato tem demonstrado ainda ações neuroprotetoras em modelos animais de isquemia cerebral focal (Yang e Li, 2000; Lee et al, 2000). Estas ações oferecem novas perspectivas para o uso desta droga, mas os mecanismos que levam a estas ações neuroprotetoras permanecem não elucidados.

Estudos recentes sugerem que mecanismos de reforço similares associados com o uso de cocaína e álcool resultam no aumento da atividade do sistema dopaminérgico mesolímbico (Soderpalm et al, 2000, Hargreaves e Iain, 2007). O topiramato é uma droga antiepiléptica com múltiplos mecanismos de ação, o que poderia justificar sua possível utilidade no tratamento de dependentes (Soderpalm et al, 2000; White et al, 2000; Zhang et al, 2000; Johnson et al, 2005). Tem sido teorizado que estas ações em conjunto podem diminuir a facilitação dopaminérgica promovida por drogas de abuso (Johnson et al, 2005).

Estudos recentes em relação ao vício tem focado no papel exercido pelo glutamato. Enquanto os receptores NMDA têm sido envolvidos com a indução do vício, os receptores AMPA podem mediar o estabelecimento do vício. (Goosens et al, 2004; Zullino et al, 2005).

O topiramato tem sido investigado como um tratamento potencial para uma variedade de desordens incluindo diabetes mellitus, obesidade, desordens associadas a ansiedade e desordens impulsivas tais como o vício e a dependência gerados por drogas de abuso (Johnson et al., 2003; Rubio et al., 2004).

Esta ação seria benéfica no tratamento do vício, pois a cocaína e outras drogas de abuso facilitam a atividade dopaminérgica mesolímbica (Soderpalm et al, 2000). O topiramato poderia assim não só diminuir os efeitos de reforço promovidos pela cocaína, mas também contribuir no tratamento da abstinência pelo decréscimo da sensibilidade neuronal (Johnson et al, 2005, Cornish et al, 2000).

1.5. IMIPRAMINA

1.5.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Hafliger e Schindler no final da década de 1940 sintetizaram uma série de mais de 40 compostos derivados iminodibenzil para possíveis usos como antihistamínicos, sedativos, analgésicos e antiparkinsonianos. Um destes compostos era a imipramina, um composto dibenzazepínico, que diferia estruturalmente em relação aos demais agentes antipsicóticos. Estudos posteriores em animais foram realizados, e poucos compostos, incluindo a imipramina, foram selecionados para ensaios terapêuticos com base em suas propriedades sedativas e hipnóticas. Durante os estudos clínicos destes agentes, foi observado que a imipramina, diferentemente das fenotiazinas (Kuhn et al, 1958), foi relativamente ineficaz em reduzir a agitação e inquietude nos pacientes psicóticos, porém teve uma ação marcante em pacientes depressivos. Desde então, evidências acumuladas demonstram sua eficácia no tratamento da depressão maior (Potter et al., 1998; Thase e Nolen, 2000).

Antidepressivos tricíclicos com uma cadeia lateral terciária (incluindo amitriptilina, doxepina, e imipramina) promovem bloqueio da recaptação de serotonina e norepinefrina, enquanto que clomipramina é relativamente seletiva para a recaptação de serotonina. Seguindo estes estudos iniciais, mais inibidores seletivos da recaptação de serotonina foram desenvolvidos no início da década de 70 (Goodman e Gilman, 2006).

É bem estabelecido que a imipramina (Figura 7) e antidepressivos tricíclicos relacionados potencializam a ação de aminas biogênicas através do bloqueio de sua inativação fisiológica, transporte e recaptação, nas terminações nervosas (Horn et al., 1971; Barbaccia et al., 1983). Também tem sido demonstrado que a imipramina pode atuar em uma variedade de canais iônicos: canais de cálcio tipo-L (Choi et al., 1992), canais de cálcio sensíveis a potássio, canais tipo SK/IK (Gavrilova-Ruch et al., 2002); canais de sódio voltagem-dependentes (Ogata & Narahashi, 1989; Nicholson et al., 2002) e canais de potássio voltagem-dependentes (Wooltorton e Mathie, 1993; Kuo, 1998; Teschemacher et al., 1999; Dreixler et al., 2000). Previamente (Cuellar-Quintero et al., 2001), tem sido reportado que a imipramina promove inibição de correntes de potássio nos neurônios ganglionares cervicais superiores (SCGs) e que este efeito pode contribuir para ações intracelulares da imipramina.

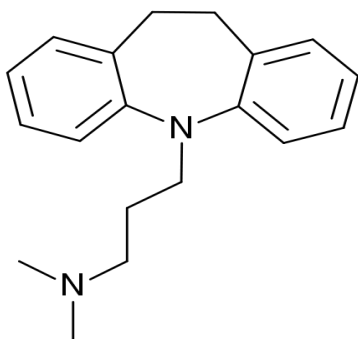


Figura7 – Estrutura química da imipramina

(Fonte: dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fdaDrug1)

Tem sido proposto ainda que correntes iônicas de potássio tem um papel relevante na modulação da excitabilidade neuronal (Brown & Adams, 1980; Brown & Higashida, 1988; Marrion, 1997). Além disso, estudos tem suportado que a imipramina altera a regulação do fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (Hilgemann & Ball, 1996; Ford et al., 2003; Loussouarn et al., 2003). Em vários estudos pré-clínicos recentes, os antidepressivos tricíclicos tem sido relacionados como potenciais novos anestésicos locais, como bloqueadores de canais de sódio, similarmente aos anestésicos locais.

O conhecimento relacionado às propriedades farmacológicas dos antidepressivos permanece incompleto. As ações da imipramina incluem vários mecanismos diferentes e adaptações secundárias em seus mecanismos de ação relacionados com o bloqueio da recaptação de monoaminas.

Em adição aos seus efeitos inibitórios sobre transportadores monoaminérgicos, imipramina interage também com receptores alfa-adrenérgicos. A presença ou ausência desta interação parece ser crítica para o aumento da concentração extracelular de norepinefrina nas em sinapses neuronais. Os receptores α_2 incluem autoreceptores pré-sinápticos que limitam a atividade neurofisiológica de neurônios noradrenérgicos ascendentes do *locus ceruleus* (Foote e Aston-Jones, 1995).

Outras alterações adaptativas têm sido observadas em resposta ao tratamento de longo prazo com antidepressivos tricíclicos. Estas incluem alteração na sensibilidade de receptores muscarínicos da acetilcolina bem como de receptores do ácido gama-aminobutírico (GABA_B) e possivelmente receptores glutamatérgicos N-metil-D-aspartato (NMDA) (Kitamura et al., 1991).

1.6. PENTOXIFILINA

1.6.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A pentoxifilina, 3,7-dimetil-1(5'-oxo-hexil) (Figura 8) xantina, é uma droga que apresenta ações hemodinamicas e é indicada para o tratamento da claudicação intermitente (Ward et al, 1987; Samlaska et al, 1994; Moher et al, 2000), atuando como inibidor da fosfodiesterase tipo 5. O estudo da fosfodiesterase foi iniciado com o trabalho de Henry Hyde Salter em 1886. Um asmático que observou que quando ingeria café com o estomago vazio, passava a apresentar uma respiração mais fácil, sendo este efeito atribuído a uma propriedade broncodilatadora da cafeína.

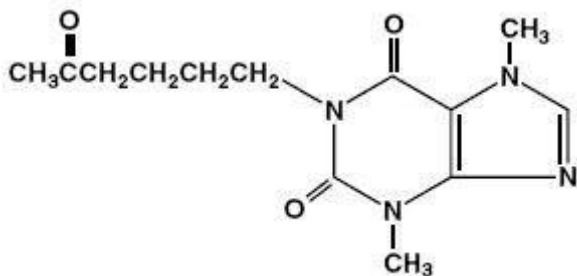


Figura 8 – Estrutura química da pentoxifilina

(Fonte: dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fdaDrug1)

Embora o mecanismo de ação ainda fosse desconhecido, estudos demonstraram que a cafeína era um inibidor não-seletivo e fraco da fosfodiesterase. Subsequentemente, análogos da cafeína, incluindo a teofilina, foram introduzidos com sucesso no tratamento de doenças respiratórias. Trabalhos realizados por Earl Sutherland e Ted Rall e publicados em 1958, identificaram inicialmente um nucleotídeo estável ao calor, o monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) em extratos de fígado como um segundo mensageiro e sugeriram que este poderia mediar muitos efeitos celulares de neurotransmissores e hormônios. A descoberta do cAMP foi seguida de 5 anos até a identificação do

segundo mensageiro intracelular, a guanosina monofosfato cíclica (cGMP), em urina de ratos (Ashman et al., 1963).

No mesmo estudo, inibidores de fosfodiesterase foram identificados e a fosfodiesterase foi relacionada com a inativação do cAMP. Foi demonstrado também que a cafeína inibia a atividade desta enzima, provendo um mecanismo plausível para suas diversas atividades (Sutherland, 1958).

Com o advento da biologia molecular, o número de isoformas de fosfodiesterase identificadas aumentou bastante e somente em 1995 sua nomenclatura foi padronizada (Beavo, 1995). Hoje, 11 grupos de isoenzimas foram identificadas, incluindo a recentemente caracterizada PDE4A11 (Wallace et al., 2005). A atividade da enzima fosfodiesterase tem sido identificada em várias células no corpo, o que tem levantado muitas possibilidades para o aumento de alvos terapêuticos seletivos (Lugnier, 2005).

A pentoxifilina é um inibidor da enzima fosfodiesterase, responsável pela destruição de cAMP. É considerado um fármaco que promove aumento no movimento de espermatozoides (Tesarik et al., 1992b; Yovich et al., 1990) e inibidor da formação de espécies reativas de oxigênio (Gavella et al., 1991; Yovich, 1993). É também indicada para o tratamento da claudicação intermitente, embora a eficácia clínica da droga para esta indicação permaneça controversa. Tem sido sugerido também que a pentoxifilina pode ser utilizada em doenças que afetam o fluxo sanguíneo para a retina, tais como retinopatia diabética (Sonkin et al., 1993; Schmetterer et al., 1996) ou degeneração macular (Kruger et al., 1998). O efeito terapêutico da pentoxifilina nestas condições pode ser relacionada com um aumento do fluxo sanguíneo capilar tanto por uma alteração na deformabilidade de eritrócitos e leucócitos bem como por um efeito vasodilatador direto. A pentoxifilina também tem demonstrado ainda ser benéfica em desordens imunologicamente mediadas, como por exemplo, dermatite de contato, hanseníase, artrite reumatoide, câncer e malária (Graninger *et al.*, 1991; Huizinga *et al.*, 1996; Sampaio *et al.*, 1998).

2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICATIVA

O uso de drogas de abuso representa hoje um problema significativo em vários países, incluindo o Brasil. Em muitos casos, o uso casual destas substâncias leva a dependência física e psicológica, com inúmeras conseqüências para o usuário, tanto em aspectos sócias de convívio como no desenvolvimento de alterações patológicas.

Importantes pesquisas têm sido desenvolvidas na tentativa de padronizar tratamentos medicamentosos para a dependência e abuso a drogas ilícitas, mas para alguns agentes abusivos os tratamentos disponíveis são escassos e pouco eficientes. Alguns destes tratamentos reduzem apenas o desejo pela droga, mas não diminuem suas toxicidades. Assim, mais pesquisas são essenciais para aumentar a eficácia destes tratamentos e oferecer novas opções para estes pacientes. No caso específico de usuários de cocaína, não temos ainda um tratamento farmacológico padronizado totalmente eficiente em reverter os aspectos ligados ao desejo de consumir a droga e as suas toxicidades.

A busca por um tratamento eficiente para a dependência e as toxicidades geradas pela cocaína nos levou a selecionar três drogas para o nosso estudo. Escolhemos a imipramina por ser um antidepressivo já associado ao tratamento de usuários de drogas ilícitas. O topiramato foi selecionado por seus resultados promissores no tratamento da dependência ao álcool e a pentoxifilina por suas possíveis propriedades neuroprotetoras.

Deste modo, investigamos os efeitos promovidos pela imipramina, topiramato e pentoxifilina sobre as alterações neuroquímicas, comportamentais e histológicas promovidas pela cocaína.

2.2. OBJETIVOS

GERAL

Estudar as possíveis alterações neuroquímicas, comportamentais e histopatológicas promovidos pela administração repetida (7 dias) de cocaína isoladamente ou em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina em ratos.

ESPECÍFICOS

- Determinar possíveis alterações na atividade locomotora espontânea promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina;

- Observar as ações promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina no teste de labirinto em cruz elevada com o intuito de se determinar atividades ansiolíticas e ou ansiogênicas;

- Avaliar as ações da cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste de nado forçado;

- Avaliar as ações promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina no teste de labirinto aquático objetivando determinar possíveis alterações no processo de aquisição da memória espacial;

- Determinar possíveis alterações no teste de esquiva passiva promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina com o intuito de se determinar possíveis alterações sobre o processo de formação e consolidação de memória;

- Avaliar as ações da cocaína isoladamente e em associação com imipramina e topiramato sobre os níveis de dopamina (DA), 5- hidroxitriptamina (5-HT) e seus metabólitos: ácido 3, 4 dihidroxifenilacético (DOPAC), ácido homovanílico (HVA) e ácido 5- hidroxiindol- 3 acético (5-HIAA) em corpo estriado de ratos após um período de retirada de 24 h usando a técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com detecção eletroquímica;

- Verificar as ações da cocaína isoladamente e em associação com imipramina e topiramato sobre os níveis de nitrito em cérebro de ratos;

- Determinar o percentual de células dopaminérgicas viáveis, em cultura primária de células mesencefálicas de fetos *in vitro* de rato na presença e na ausência de 6-OHDA e os efeitos da cocaína sobre estes percentuais.

- Analisar possíveis alterações histopatológicas promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre cortes cerebrais de córtex e hipocampo de ratos, visando observar possíveis lesões microscópicas promovidas pelo uso destas drogas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS

Foram utilizados ratos machos Wistar (200-250g) provenientes do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram mantidos em temperaturas controladas de 22 ± 2 °C com ciclo claro/escuro de 12 horas e com uma dieta padrão e água *ad libitum*. Os grupos variaram de 12 a 22 animais.

Durante todos os experimentos, os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 6 animais, em condições ambientais semelhantes, com ciclos de alternância claro/escuro de 12 horas, recebendo ração padrão tipo purina e água *ad libitum*. Os experimentos foram realizados de acordo com o guia de cuidados e usos de animais de laboratório do Departamento de saúde e serviços humanos dos Estados Unidos da América (EUA).

3.2. DROGAS

3.2.1. PREPARO DAS DROGAS

Cocaína (cloridrato de cocaína, fornecido pela Polícia Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil) foi dissolvida em água bidestilada, obtendo-se a concentração de 20 mg/mL para ser administrada na dose 20 mg/kg. Imipramina (obtida do laboratório Cristalia Farma, Brasil) foi dissolvida em água bidestilada, obtendo-se a concentração de 12,5 e 25 mg/mL para ser administrada na dose 12,5 e 25 mg/kg. Topiramato (obtido do laboratório Janssen-Cilag, Brasil) foi dissolvido em água bidestilada, obtendo-se a concentração de 50 mg/mL para ser administrada na dose 50 mg/kg. Pentoxifilina (obtida do laboratório Aventis Pharma, Brasil) ampolas foi utilizada na dose de 50mg/kg.

3. 2.2. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE PUREZA DA COCAÍNA

Para determinação do grau de pureza, foram realizadas análises físico-químicas no Laboratório de Perícia da Polícia Federal. Entre os testes realizados, foram determinados o ponto de fusão e o comportamento da substância em cromatografia, sempre comparando os resultados com os valores de um padrão da Polícia Federal.

Com relação ao ponto de fusão, um parâmetro que nos permite estimar o grau de pureza da cocaína na amostra, o valor encontrado para a amostra utilizada nos experimentos assinalados nesta tese foi de 140°C em relação ao padrão da policia federal que registrou um valor de 180°C. Essa proximidade de valores significa que a amostra apresenta um razoável grau de pureza em relação às drogas comumente utilizadas por usuários (cocaína de rua).

Outro parâmetro avaliado foi o comportamento da amostra em cromatografia. Como observado na figura 9, a amostra se comportou da mesma maneira que o padrão, comprovando novamente se tratar de cocaína. Apartir das análises realizadas foi determinado um grau de pureza de 30% para a cocaína utilizada nos presentes experimentos.

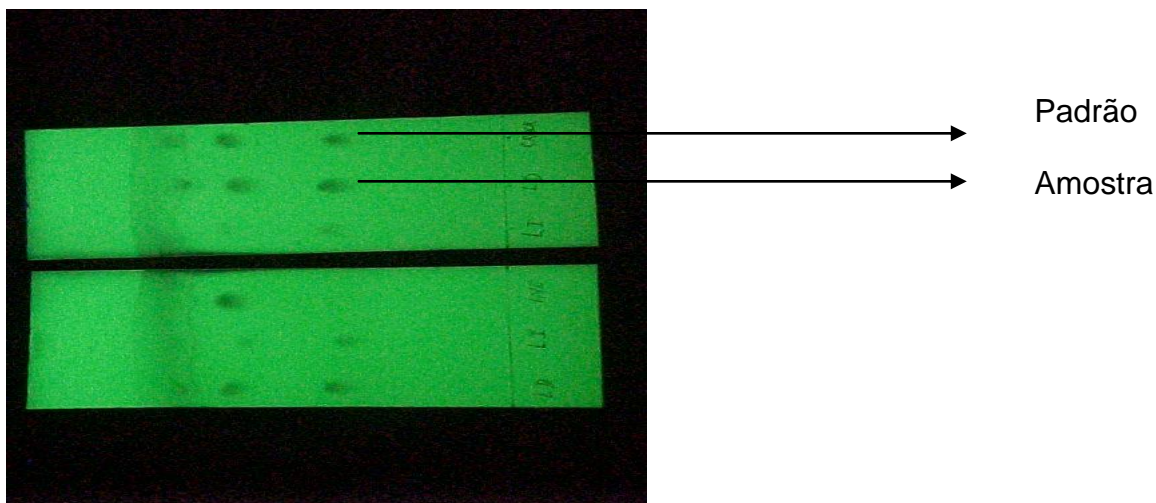


Figura 9 – Cromatografia da cocaína em comparação com padrão da Polícia Federal (Fonte: Departamento de análises químicas - Polícia Federal - Ceará)

3.3. TRATAMENTO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

Esse projeto foi aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa Animal – CEPA da Universidade Federal do Ceará, segundo os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Os animais foram tratados com cocaína isoladamente (Coc, 10 e 20 mg/kg, i.p., por 7 dias) ou em associação com Imipramina (Imi, 12,5 e 25 mg/kg, v.o.), Topiramato (TPM, 50 mg/kg, v.o.) e pentoxifilina (Pent, 50 mg/kg, i.p.).

Para os tratamentos por via oral foi utilizada uma cânula intragástrica de polietileno. Quando a via oral era utilizada, o animal recebia inicialmente a droga

por via oral (topiramato e imipramina) e 30 minutos após era tratado com cocaína. Os animais controle foram tratados com solução salina 0,9%.

24h após a última administração, os animais foram submetidos aos testes comportamentais. Após a realização dos testes, os animais foram então sacrificados, seus cérebros removidos e a área cerebral de interesse (corpo estriado – rica em neurônios dopaminérgicos) dissecada sobre gelo para o preparo de homogenatos e posterior análise em HPLC. Para o preparo das laminas para estudo histopatológico, os animais tiveram seus cérebros dissecados e seus hipocampos (ricos em neurônios colinérgicos) foram removidos para o preparo das laminas.

Para o preparo de culturas de células mesencefálicas, foram utilizadas ratas Wistar grávidas, (200 – 240g) provenientes do biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Ceará. Os animais foram levemente anestesiados com éter e mortos por deslocamento cervical e sua área abdominal foi aberta para a retirada dos embriões. As culturas de células mesencefálicas contendo células neuronais e gliais foram obtidas de mesencéfalo de embriões de rato Wistar de 17-20 dias de gravidez como descrito por CHOI et al., (1987).

3. 4. ESTUDOS COMPORTAMENTAIS

3.4.1. TESTE DA ATIVIDADE LOCOMOTORA

Para realização do teste, foi utilizada a metodologia empregada por Shimada et al., (1997). Ratos foram acomodadas em caixas de atividade individuais, com 35 cm de comprimento, 23 cm de profundidade e 20 cm de altura (modelo 7400 Ugo Basile, Itália).

Durante todos os experimentos, os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 6 animais, em condições ambientais semelhantes, em um

ambiente livre de sons e com ciclos de alternância claro/escuro de 12 horas. A atividade locomotora espontânea (ALE) foi determinada 24 horas após o último tratamento durante um período de 15 minutos por uma unidade eletrônica (modelo 7401, Ugo basile). A ALE foi expressa como número de contagens/15 minutos, onde essa contagem representa o número de movimentos do animal.

3.4.2. TESTE DA ESQUIVA PASSIVA

O aparelho da esquiva-passiva consistiu em uma caixa de acrílico (48 x 22 x 22 cm), dividida em dois compartimentos (um claro, iluminado por uma lâmpada e um compartimento escuro, com piso eletrificada), separados por uma porta.

O protocolo foi realizado de acordo com Imanishi et al (1996). Após o tratamento com as drogas, cada animal foi colocado no equipamento (desligado) durante 1 min para habituação. Decorrido este tempo, o animal era retirado e após 30 segundos, recolocado no compartimento claro do aparelho (desta vez, ligado) para iniciar a fase de treino. Ao passar do compartimento claro para o escuro, o animal recebia um choque de 0,5 mA de intensidade, durante 1 segundo, e era retirado do aparelho logo em seguida. Após 15 minutos, o procedimento era repetido para registrar o tempo que o animal levava para entrar no compartimento escuro do aparelho (latência) e receber o choque novamente. Esta fase avaliava o aprendizado do camundongo (esquiva 15min). Decorridas 24 horas, o procedimento era realizado mais uma vez para avaliar a memória do animal (esquiva 24 horas). O tempo limite de permanência do animal no compartimento claro era de 300 segundos. O modelo utilizou escopolamina (0,5 mg/kg, i.p.) como padrão para indução da amnésia.

3.4.3. TESTE DE LABIRINTO AQUÁTICO

O labirinto aquático consiste de uma piscina circular de cor preta (1,7 m de diâmetro e 1,0 m de altura) com água (0.59 m de profundidade), localizada dentro de uma sala com várias pistas visuais colocadas na parede e temperatura controlada (22 °C). A plataforma utilizada para o teste se encontrava submersa a 2 cm da superfície da água.

Após os tratamentos, cada animal foi submetido a um treino na piscina que foi realizado em dois dias. Os animais foram individualmente liberados a partir de 4 posições (leste, oeste, norte e sul) com o focinho virado para a parede e tiveram um tempo máximo de 54 segundos para encontrar a plataforma. Ao encontrar a plataforma, o animal permaneceu nesta por 10 segundos. Caso o animal não encontrasse a plataforma ao término dos 54 segundos, ele era colocado nesta pelo pesquisador onde ficara por 10 segundos. Passados os 10 segundos, o animal era retirado da piscina por 30 segundos e então o processo era repetido (seis vezes para cada animal). Este procedimento foi repetido com 24 horas. Após a repetição, o animal foi submetido ao teste com 48 horas, onde neste o animal foi colocado uma única vez na piscina, sendo neste teste avaliado o tempo necessário para o animal encontrar a plataforma.

3.4.4. TESTE DE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

O labirinto em cruz elevado (LCE) (Lister, 1990) consiste de dois braços abertos opostos (30 x 5 x 25 cm) e dois fechados (30 x 5 x 25 cm), também opostos, em forma de cruz. Os braços abertos e fechados estão conectados por uma plataforma central (5 x 5 cm). A plataforma, as paredes laterais dos braços fechados são confeccionados em acrílico transparente e o chão em acrílico preto. O aparelho está elevado a uma altura de 45cm do nível do chão. Uma hora após os tratamentos, os animais são colocados no centro do aparelho com a cabeça

voltada para um dos braços fechados e o seu comportamento observado por 5 min. As medidas comportamentais registradas no LCE são: frequência de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e nos fechados. A frequência total de entradas é obtida pela soma simples das frequências de entradas nos braços abertos e nos fechados. Para análise estatística dos dados e confecção dos gráficos a percentagem de entradas no braço aberto é calculada dividindo-se a frequência de entradas nos abertos pela frequência total de entradas, e esse índice multiplicado por 100. De maneira semelhante é calculada a percentagem do tempo que os animais permanecem nos braços fechados. Podem também ser registrados no labirinto medidos de avaliação etológica como o número de imersão de cabeça (“head-dippings”) e posturas de avaliação de risco (“stritch attend postures”) que são medidas de avaliação de risco, o tempo de permanência na plataforma central e o número de bolos fecais (dados não mostrados). Um aumento seletivo nos parâmetros correspondentes aos braços abertos revela um efeito ansiolítico (Pelow et al. 1985), entre outros achados. O diazepam, na dose de 0,75 mg/Kg, via i.p., é utilizado como droga padrão, a fim de se verificar a confiabilidade do teste (dados não mostrados).

3.4.5. TESTE DO NADO FORÇADO

Os animais são pré-tratados com as drogas em estudos e após 1 hora são submetidos ao teste proposto por Porsolt et. Al. 1978 para avaliar uma possível ação antidepressiva. O procedimento experimental consiste em colocar os animais individualmente em cilindros plásticos (altura – 35 cm; diâmetro –24 cm), contendo 26 cm de água, por um período de 6 minutos, no qual é registrado o tempo total de imobilidade para cada animal, além da latência para apresentação de tal comportamento, a partir do segundo minuto. Considera-se como “imobilidade” quando o animal faz apenas os movimentos mínimos para manter a cabeça fora da água. A fase experimental é composta de dois estágios.

No primeiro, os animais são colocados no cilindro por um período de 15 minutos. O segundo estágio é realizado 24 horas depois, onde os animais são colocados no cilindro por um período de 6 minutos, sendo avaliado o tempo de imobilidade do animal. Os antidepressivos aumentam a latência para a imobilidade e reduzem o tempo de imobilidade apresentado pelos animais. Imipramina, (30 mg/Kg, via i.p.) foi utilizada como droga padrão, a fim de verificar a confiabilidade do teste.

3.5. DISSECAÇÃO DAS ÁREAS CEREBRAIS

Os animais foram decapitados com uma guilhotina (Harvard, USA), os encéfalos retirados rapidamente e colocados sobre papel alumínio em uma placa de Petri com gelo. Acompanhando a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi retirada das leptomeninges com o auxílio de uma pinça reta de microdissecação, a qual, progredindo delicada e tangencialmente aos ventrículos laterais, divulsionou o córtex em toda a sua extensão fronto-occipital. O córtex já divulsionado foi rebatido para os lados, expondo parte do corpo estriado.

O corpo estriado (caudado, putamen e núcleo accumbens) foi isolado das estruturas circunjacentes por divulsionamento com uma tesoura de microdissecação, sendo a sua retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex (Zilles & Wree, 1985).

Terminada a dissecação, o corpo estriado foi colocado em papel alumínio previamente identificado e pesado, sendo então armazenado a -70°C para uso posterior. Quando necessária a estocagem por certo período de tempo (no máximo 1 mês a -70°C), os tecidos foram considerados como tendo a mesma viabilidade para experimentação que os ensaiados imediatamente ou 24 horas após a dissecação (Burke & Greenbaun, 1987; Fielder et al., 1987).

3.6. DETERMINAÇÃO DE MONOAMINAS E SEUS METABÓLITOS COM HPLC

Para a determinação dos níveis de catecolaminas, foi utilizado o equipamento de HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Na cromatografia líquida clássica, um adsorvente (alumina ou sílica) é empacotado em uma coluna e é eluído por um líquido ideal (fase móvel). Uma mistura para ser separada é introduzida na coluna, e é carregada através da mesma por um líquido eluente. Se um composto da mistura (soluto) é adsorvido fracamente pela superfície da fase sólida estacionária, ele atravessará a coluna mais rapidamente que outro soluto que seja mais rapidamente adsorvido. Então, a separação dos solutos é possível se existem diferenças na adsorção pelo sólido.

Os detectores eletroquímicos medem a condutância do eluente, ou a corrente associada com a oxidação ou redução dos solutos. Para ser capaz de detectar, no primeiro caso os solutos devem ser iônicos, e no segundo caso os solutos devem ter a característica de serem relativamente fáceis de oxidarem ou reduzirem.

Detectores eletroquímicos que medem corrente associada com a redução ou oxidação de solutos são chamados detectores amperométricos ou coulométricos. Neste estudo, foi utilizado o tipo amperométrico que reage com uma quantidade muito menor de soluto, em torno de 1 %. Todas as técnicas eletroquímicas envolvem a aplicação de um potencial para um eletrodo (geralmente de carbono vítreo), oxidação da substância que está sendo estudada próximo à superfície do eletrodo, seguindo a amplificação e medida da corrente produzida. As catecolaminas são oxidadas nos grupos de anel hidroxil para produzir um derivado ortoquinona com a liberação de dois elétrons.

- Procedimento Experimental

Os animais foram decapitados 24 h após a última injeção e, imediatamente, tiveram seus cérebros dissecados sob gelo. O CE foi utilizado para preparar homogenatos a 10 %. Os tecidos cerebrais foram sonicados em ácido perclórico (HClO_4) por 30 s e centrifugados por 15 minutos em centrífuga refrigerada a 15.000 rpm. Uma alíquota de 20 μl do sobrenadante foi, então, injetada no equipamento de HPLC (Figura 10), para a análise química.



Figura 10 - Aparelho de HPLC com detecção de fluorescência e eletroquímica – Departamento de fisiologia e farmacologia – Universidade Federal do Ceará.

Para a análise das monoaminas, uma coluna CLC-ODS (M) com comprimento de 25 cm, calibre 4,6 mm e diâmetro da partícula de 3 μm , da Shimadzu-Japão, foi utilizada. A fase móvel utilizada foi composta por tampão ácido cítrico 0,163 M, pH 3,0, contendo ácido octanosulfônico sódico, 0,69 M (SOS), como reagente formador do par iônico, acetonitrila 4 % v/v e tetrahydrofurano 1,7 % v/v. Dopamina (DA), DOPAC (Ácido diidroxifenilacético

(DOPAC), Ácido homovanílico (HVA), Serotonina (5-HT), Ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) e Noradrenalina (NA) foram eletronicamente detectados usando um detector amperométrico (Modelo L-ECD-6A da Shimadzu, Japão) pela oxidação em um eletrodo de carbono vítreo fixado em 0,85 V relativo a um eletrodo de referência de Ag-AgCl.

- SOLUÇÕES REAGENTES

- **Fase Móvel**

Foram pesados 15,75 g de ácido cítrico (grupo química, RJ, Brasil) e completado para um volume de 400 mL com água puríssima (Milli-Q). Esta solução foi ajustada para pH 3,0 com hidróxido de sódio 12,5 M (Reagen, RJ Brasil). A esta solução foi adicionado o SOS 75 mg (Sigma, MO, EUA) e completado o volume para 471,5 mL com água Milli-Q. Em seguida, foi procedida a filtração e degaseificação, e posteriormente adição de 20 mL de acetonitrila (Carlo Erba Reagenti, MI, Itália) e 10 mL de tetrahydrofurano (Sigma, MO, EUA) para um volume final de 500 mL.

- **Ácido Perclórico 0,1 M**

Foram adicionados 1,8 mL de ácido perclórico (Sigma, MO, EUA) em um balão volumétrico e completado o volume para 300 mL.

- **Padrões**

Os padrões foram preparados em uma concentração final de 4 ng de NA, dopaminérgico, 5-HT, DOPAC, HVA e 5-HIAA (Sigma, MO, EUA). A partir da altura ou área dos picos desses padrões, as amostras foram calculadas no programa *Microsoft Excel* em um computador PC e os resultados expressos em ng/g de tecido.

3.7. CULTURAS DE CÉLULAS MESENCEFÁLICAS DE RATO

Ratas fêmeas grávidas foram levemente anestesiadas com éter e mortas por deslocamento cervical e sua área abdominal foi aberta para a retirada dos embriões. As culturas de células mesencefálicas contendo células neuronais e gliais foram obtidas de mesencéfalo de embriões de rato Wistar de 17-20 dias de gravidez como descrito por CHOI ET al., (1987). As células mesencefálicas foram então dissecadas mecanicamente e suspensas em Meio Essencial de Eagle (MEM) completado com soro de cavalo 10%, estreptomicina (100 mg/ml), penicilina (1000 UI/ml), actinomicina C (2.5 mg/ml), bicarbonato de sódio (24 mM) e glicose (11 mM). A suspensão de células foi contada, sendo antes a viabilidade avaliada por Azul de Tripam. Posteriormente estas células plaqueadas em placas multi-well de 96 poços e 6 poços previamente tratadas com polyisina com uma concentração de 5×10^4 células/poço. As culturas foram mantidas a 37 °C em estufa a 5% CO₂. Quatro dias depois do plaqueamento, as culturas foram utilizadas para experimentação.

3.8. ENSAIO DE NEUROTOXICIDADE - TESTE DO MTT

A neurotoxicidade foi avaliada usando o ensaio MTT (MOSMANN , 1983), que se baseia no fato do 3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio (MTT) ser reduzido pelas mitocôndrias das células viáveis a um sal (sal de Formazan), sendo a quantidade deste sal um indicativo da viabilidade celular. Decorridos 4 dias de cultura, a cocaína nas doses de 0,1, 1, 5, 10 e 50 µg/ml e deferoxamina (40 µM) (usada como controle positivo) foram adicionados a cultura, juntamente com 6-OHDA (200 µM). Decorridas 24 h de incubação, o meio foi descartado e incubado um novo meio (200 µL) contendo 10% de 3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium brometo (MTT), na concentração de 5 mg/mL em cada poço, onde estas células foram incubadas por mais 3 h. Após

este período, descartou-se o sobrenadante e adicionou-se então 150 µL de DMSO puro para a lise das células e solubilização do formazan as placas foram agitadas em agitador de placas, decorridos 15 min de agitação, a absorbância foi medida em leitor de microplacas a 540 nm. A inibição da redução do MTT indica a diminuição da viabilidade celular.

3.9. DETERMINAÇÃO DO FLUXO SANGUÍNEO CEREBRAL ATRAVÉS DE CINTILOGRAFIA

Após 24 horas do último dia de tratamento, os animais foram anestesiados com hidrato de cloral (400 mg/kg, ip) e após 2 a 3 h, receberam etilenodicisteína dietil ester E.V. marcada com Tc 99, 1mCi (ECD-99Tc), para obtenção de imagem cintilográfica. Em seguida, cortes transversais, sagitais e coronais (5-6 cortes) de 1,3 mm foram analisados no Programa Scion, para registro gráfico da densidade ótica vs. número de pixels e subsequente determinação de cada área (em pix^2) através do Programa Origin.

3. 10. DOSAGEM DE NITRITO/NITRATO

O reativo de Griess (N-1-naftiletilenodiamina a 0,1% em água bidestilada, sulfanilamina 1% em ácido fosfórico 5%) revela a presença de nitrito em uma amostra (urina, plasma, homogenato tecidual) conforme descrito por Green et al. 1981, por uma reação de diazotização que forma um cromóforo de cor rósea, com um pico de absorbância em 560 nm.

Reagentes Utilizados:

Need 0,1% (N-1-naftiletilenodiamina)

Sulfanilamida 1% em ácido fosfórico 5%

Ácido fosfórico 5%

Reagentes para uso (Reagente de Griess)

Foram misturadas em partes iguais de Need 0,1%, H₂O bidestilada, Sulfanilamida 1% e Ácido fosfórico 5%.

Curva padrão

Solução estoque de NaNO₂ (10 mM em tampão). Foram pesadas 7 mg e dissolvidas em 10 mL de água destilada. Foram feitas diluições em série e usadas na obtenção da curva padrão (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,76 µM).

Protocolo

Para realização do ensaio foram usados 100 µL do reagente de Griess e adicionados 100 µL do sobrenadante (centrifugado) do homogenato a 10% do estriado dos ratos em salina ou 100 µL dos padrões em várias concentrações. Para o branco foram usados 100 µL do reagente de Griess e adicionados 100 µL de salina. A leitura da absorbância foi feita em 560 nm. As leituras da absorbância dos padrões (y) foram plotadas contra a concentração de cada padrão (x), então se determinou a equação da reta, que foi usada para a determinação da concentração de nitrito em cada amostra.

3.11. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO

Animais foram tratados diariamente com cocaína (Coc, 20 mg/kg, i.p., por 7 dias) e imipramina (Imi, 25 mg/kg, v.o.) isoladamente ou em associação. A Imipramina foi administrada 30 minutos antes da administração de cocaína. Os animais controle receberam salina (0.4 ml/rato, i.p.). Após 24 h da última injeção, os animais foram decapitados, e seus cérebros dissecados em gelo. Secções de 5 µm do córtex e hipocampo foram retiradas de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson, 1986. As secções foram pós-fixadas em paraformaldeído e coradas com Violeta de Cresil.

3.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos dados foi acompanhada por um computador PC, utilizando o programa Graph Pad Prisma 5. Para comparação de dados paramétricos foi utilizada Análise de Variância (ANOVA) com Student-Newman-Keuls como teste *post hoc* para comparações múltiplas. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas em $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.0. RESULTADOS

4.1. Teste de atividade locomotora espontânea

Os resultados do teste de atividade locomotora espontânea (ALE) foram expressos como número de contagens/15 minutos. A cocaína, como previsto, promoveu um aumento significativo e dose dependente da atividade locomotora (72 e 359% de aumento), nas doses de 10 e 20 mg/kg, i.p., respectivamente, quando comparada ao grupo controle (Controle: $1077,0 \pm 102,3$; Coc10: $1854,0 \pm 325,1$, $q = 4.660$, $p < 0,01$; Coc20: $4942,0 \pm 262,3$, $q = 23.18$, $p < 0.001$), como ilustrado na figura 11. Por outro lado, a imipramina isoladamente (12,5 e 25 mg/kg, v.o.) diminuiu de maneira dose-dependente a atividade locomotora em 37 e 60%, respectivamente, quando comparado ao controle (Imi12.5: $679,0 \pm 104,9$, ns; Imi25: $436,1 \pm 58,2$, n.s.). Na associação de cocaína com imipramina tanto em baixas doses como em altas doses, a imipramina bloqueou os efeitos psicoestimulantes da cocaína, com os valores de atividade locomotora ficando próximos ao do grupo controle (Coc + Imi baixas doses: $528,0 \pm 124,1$, ns; Coc + Imi altas doses: $903,8 \pm 77,5$, n.s.). Em relação ao topiramato (Figura 12), este isoladamente (50 mg/kg, v.o.) promoveu um aumento de 32% na atividade locomotora quando comparado ao controle (TPM 50: $1423,0 \pm 77,8$, n.s.). Na associação entre cocaína com topiramato (Coc 20mg + TPM 50mg), o topiramato bloqueou os efeitos psicoestimulantes da cocaína, reduzindo os valores de atividade locomotora (Coc 20mg + TPM 50mg: $1679,0 \pm 222,6$; n.s.). Já nos animais tratados com pentoxifilina (Figura 13), esta isoladamente (50 mg/kg, i.p.) não promoveu alterações significativas sobre a atividade locomotora, quando comparado ao controle (Pent 50: $1080,0 \pm 56,5$; n.s.). Na associação de cocaína com pentoxifilina (cocaína 20mg + pentoxifilina 50mg), a pentoxifilina bloqueou os efeitos psicoestimulantes da cocaína, com os valores de atividade locomotora ficando próximos ao do grupo controle (Coc 20mg + Pent 50: $1204,0 \pm 123,5$; n.s.).

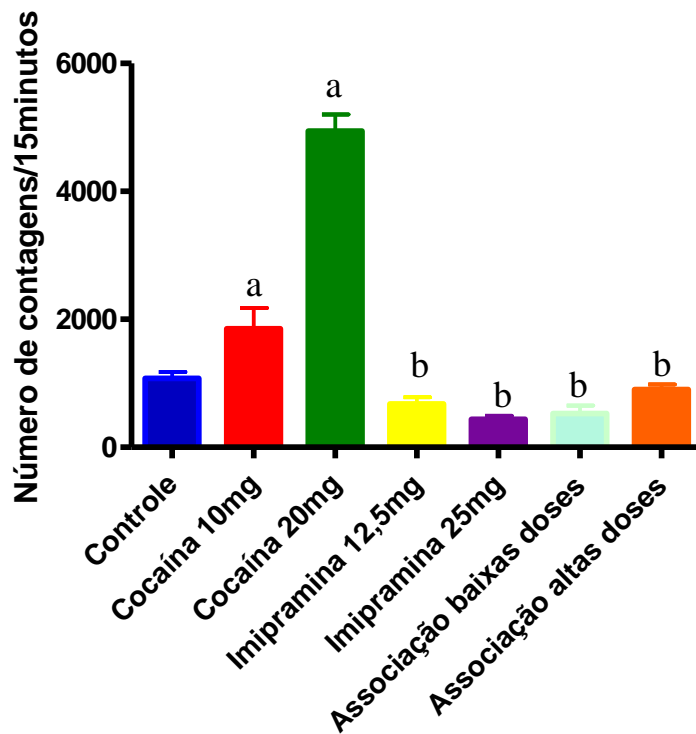


Figura 11 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a atividade locomotora espontânea em ratos. A atividade locomotora espontânea foi medida por 15 min 24 h após a última administração das drogas. Ratos Wistar (200-250 g) foram tratados por via intraperitoneal com cocaína nas doses de 10 e 20mg/kg, imipramina por via oral nas doses de 12,5 e 25 mg/kg ou a associação destes (Coc 10mg + Imi 12,5mg = associação baixas doses; Cocaína 20mg + Imipramina 25mg = associação altas doses). Os valores representam média \pm EPM (n= 10-12 ratos por grupo). “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

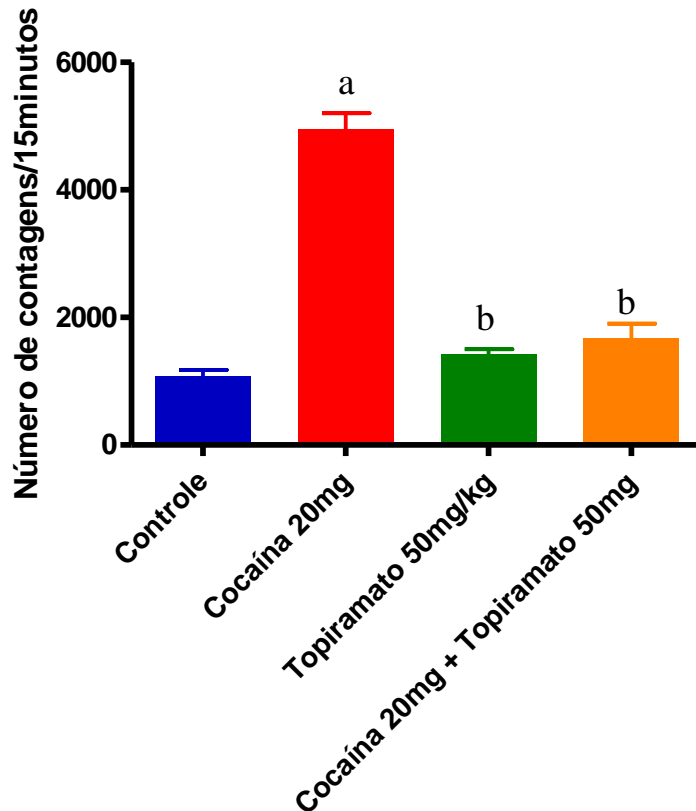


Figura 12 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre a atividade locomotora espontânea em ratos. A atividade locomotora espontânea foi medida por 15 min 24 após a última administração das drogas. Ratos Wistar (200-250 g) foram tratados por via intraperitoneal com cocaína na dose de 20 mg/kg, topiramato por via oral na dose de 50 mg/kg e a associação destes. Os valores representam média \pm EPM (n= 10-12 ratos por grupo).). “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

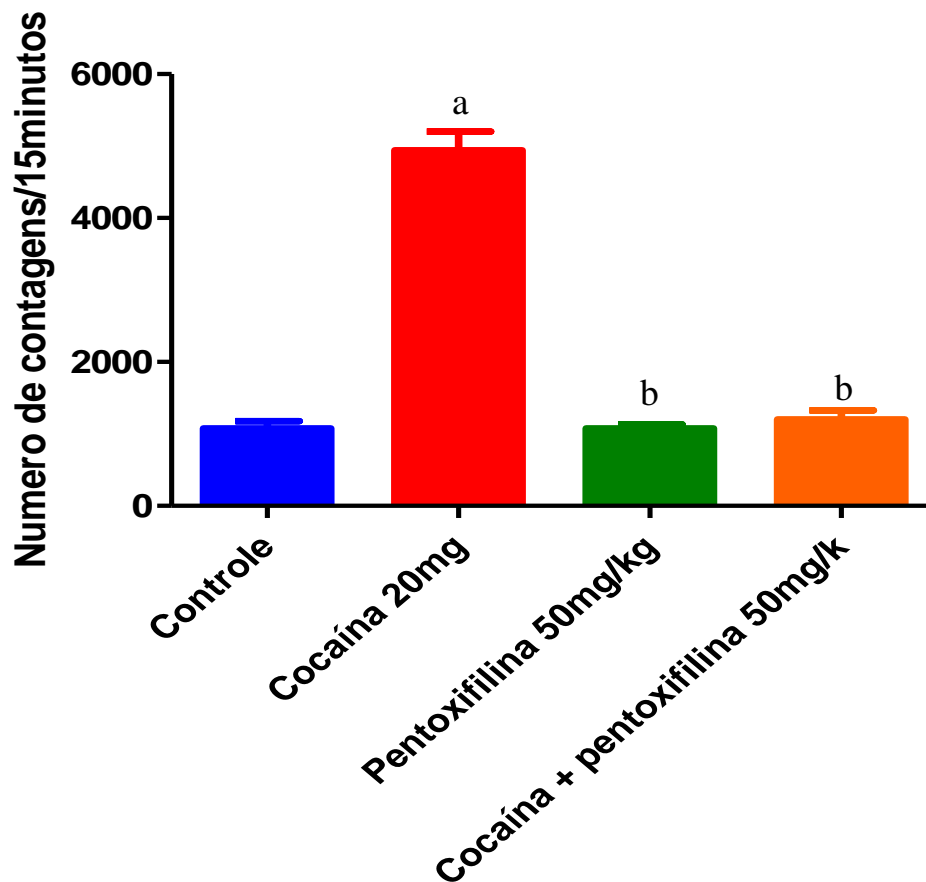


Figura 13 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com pentoxifilina sobre a atividade locomotora espontânea em ratos. A atividade locomotora espontânea foi medida por 15 min 24 h após a ultima administração das drogas. Ratos Wistar (200-250 g) foram tratados por via intraperitoneal com cocaína na dose de 20 mg/kg, pentoxifilina por via intraperitoneal na dose de 50 mg/kg e a associação destas. Os valores representam média \pm EPM (n= 10-12 ratos por grupo). “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

4.2. Teste de esquiiva passiva

No teste de esquiiva passiva, Coc (20 mg/kg, i.p.) prejudicou significativamente ($p < 0.05$) não somente a memória de curto prazo (75% de redução), mas também a de longo prazo (94% de redução, $p < 0.001$), quando comparado ao grupo controle, indicando uma alteração no processo de aquisição e consolidação da memória, respectivamente, como ilustrado na Tabela 1. O efeito promovido pela cocaína foi dose-dependente, e na menor dose, a redução na memória de longo prazo foi menor. A escopolamina, uma droga antimuscarínica reconhecida por reduzir as funções cognitivas, foi utilizada como controle positivo, reduzindo tanto a memória de curto prazo (94%) como a de longo prazo (86%). Imi, em ambas as doses, reduziu significativamente a memória de longo prazo em 70% ($p < 0.001$). Surpreendentemente, enquanto que a imi reverteu completamente os efeitos da cocaína sobre a memória de curto prazo, o mesmo não ocorreu com a memória de longo prazo, onde o grupo tratado com a associação teve um efeito predominante da cocaína (Memória de curto prazo, Coc20 + Imi25: $178,2 \pm 42,5$ s, n.s.; Memória de longo prazo, Coc20 + Imi25: $54,4 \pm 14,0$ s, $q = 9.936$, $p < 0.001$), quando comparado ao grupo controle (Memória de curto prazo: $232,0 \pm 41,0$; Memória de longo prazo: $241,6 \pm 27,0$).

A Tabela 2 mostra que o TPM não alterou de maneira significativa a memória de curto e longo prazo (Memória de curto prazo, TPM50: $217,2 \pm 5,9$ s, n.s.; Memória de longo prazo, TPM50: $296,2 \pm 3,8$ s, n.s.) nem conseguiu reverter as ações promovidas pela cocaína sobre a memória de curto e longo prazo no grupo tratado com a associação (Memória de curto prazo, Coc20 + TPM50: $68,3 \pm 21,0$ s, $q = 5.853$, $p < 0.001$; Memória de longo prazo, Coc20 + TPM50: $54,3 \pm 12,8$ s, $q = 9,536$, $p < 0.001$) quando comparado ao grupo controle.

Em relação a Pent, isoladamente a droga não alterou significativamente a memória de curto e longo prazo (Memória de curto prazo, Pent50: $246,9 \pm 32,9$ s, n.s.; Memória de longo prazo, Pent50: $184,0 \pm 49,5$ n.s.), porém conseguiu reverter de maneira significativa os efeitos promovidos pela cocaína sobre a memória de curto e longo prazo no grupo tratado com a associação (Memória de curto prazo, Coc20 + Pent50: $300,0 \pm 0,7$ s, n.s.; Memória de longo prazo, Coc20 + Pent50: $192,9 \pm 44,6$ s, n.s.) quando comparado ao grupo controle (Tabela 3).

Tabela 1: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste de esquiwa passiva, em ratos.

Grupos	Latencia (15 min)	Latencia (24 h)
Controle	232,0 ± 41,0 (8)	241,6 ± 27,0 (13)
Escopolamina	14,9 ± 6,0 (7) ^a	35,1 ± 9,6 (11) ^a
Coc10	--	53,6 ± 12,0 (8) ^{a,b}
Coc20	58,9 ± 15,0 (8) ^a	14,8 ± 2,3 (12) ^a
Imi 12.5	--	72,4 ± 14,0 (7) ^{a,b}
Imi25	215,0 ± 41,0 (9) ^b	68,2 ± 23,0 (11) ^{a,b}
Coc10+Imi12,5	--	53,6 ± 12,0 (6) ^{a,b}
Coc20+Imi25	178,0 ± 42,0 (9) ^b	67,6 ± 19,0 (10) ^{a,b}

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M. O número de animais esta entre parênteses. Coc10 e Coc20 e Imi12,5 e Imi25 representam cocaína nas doses de 10 e 20mg/kg i.p., e imipramina nas doses de 12.5 e 25 mg/kg, v.o., respectivamente, administradas como descrito na metodologia. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 2: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato no teste de esquiva passiva, em ratos.

Grupos	Latencia (15 min)	Latencia (24 h)
Controle	232,0 ± 41,0 (8)	241,6 ± 27,0 (13)
Escopolamina	14,9 ± 6,0 (7) ^{a,b}	35,1 ± 9,6 (11) ^{a,b}
Coc20	58,9 ± 15,0 (8) ^a	14,8 ± 2,3 (12) ^a
TPM50	217,2 ± 5,9 (8) ^b	296,2 ± 3,8 (8) ^b
Coc20+TPM50	68,3 ± 21,0 (9) ^a	54,3 ± 12,8 (8) ^a

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M. O número de animais esta entre parênteses. Coc20 e TPM50 são cocaína na dose de 20mg/kg i.p., e topiramato na dose de 50 mg/kg, v.o., respectivamente, administradas como descrito na metodologia. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 3: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com pentoxifilina no teste de esQUIVA passiva, em ratos.

Grupos	Latencia (15 min)	Latencia (24 h)
Controle	232,0 ± 41,0 (8)	241,6 ± 27,0 (13)
Escopolamina	14,9 ± 6,0 (7) ^{a,b}	35,1 ± 9,6 (11) ^a
Coc20	58,9 ± 15,0 (8) ^a	14,8 ± 2,3 (12) ^a
Pent50	246,9 ± 32,9 (8) ^b	184,0 ± 49,5 (8) ^b
Coc20+Pent50	300,0 ± 0,7 (8) ^b	192,9 ± 44,6 (8) ^b

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M. O número de animais esta entre parênteses. Coc20 e Pent50 são cocaína na dose de 20mg/kg i.p., e pentoxifilina na dose de 50 mg/kg, i.p. respectivamente, administradas como descrito na metodologia. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

4.3. Teste de labirinto aquático

No teste de labirinto aquático (water maze), utilizado para avaliar a memória espacial, Coc e Imi mostraram efeitos opostos (Tabela 4). Assim, enquanto a Coc aumentou o tempo de latência do animal (segundos) para encontrar a plataforma em 101%, quando comparado ao controle ($p < 0.001$), Imi diminuiu significativamente este parâmetro em 35% ($p < 0.05$). Surpreendentemente, nenhuma alteração foi observada nos animais tratados com a combinação das drogas (Coc20: $40,5 \pm 3,3$ s, $q = 6.240$, $p < 0.001$, IMI25: $13,0 \pm 1,0$ s, $q = 4.190$, $p < 0,05$, Coc20 + Imi25: $21,0 \pm 4,0$ s, n.s.), sendo observado um tempo de latência para encontrar a plataforma similar ao grupo controle (Controle: $20,1 \pm 3,3$).

Na tabela 5 podemos observar que o TPM isoladamente aumentou em 57% ($p < 0.05$) o tempo de latência do animal para encontrar a plataforma, sendo este comportamento mantido na associação entre Coc20 e TPM50, onde o tempo de latência do animal para encontrar a plataforma aumentou em 72% (TPM50: $31,6 \pm 4,8$ s, $q = 2.937$, $p < 0,05$, Coc20 + TPM50: $34,7 \pm 2,3$ s, $q = 3.590$, $p < 0,05$).

Entretanto, nos animais tratados com Pent, observamos uma redução de 50% no tempo de latência do animal para encontrar a plataforma (Tabela 6). Em relação ao grupo tratado com a associação entre Coc20 e Pent50, a pent conseguiu reverter os efeitos promovidos pela cocaína, ficando os valores de latência para encontrar a plataforma similares aos do grupo controle (Pent50: $10,1 \pm 2,6$ s, n.s., Coc20 + Pent50: $16,7 \pm 5,8$ s, n.s.).

Tabela 4: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste labirinto aquático, em ratos.

Grupos	Tempo para encontrar a plataforma (segundos)
Controle	20,1 ± 3,3 (21)
Coc20	40,5 ± 3,3 (17) ^a
Imi25	13,0 ± 1,0 (18) ^b
Coc20+ Imi25	21,0 ± 4,0 (19) ^b

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M. O número de animais esta entre parênteses. Coc20 e Imi25 são cocaína na dose de 20 mg/kg i.p., e imipramina na dose de 25 mg/kg, v.o. respectivamente, administradas como descrito na metodologia. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 5: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato no teste de labirinto aquático, em ratos.

Grupos	Tempo para encontrar a plataforma (segundos)
Controle	20,1 ± 3,3 (21)
Coc20	40,5 ± 3,3 (17) ^a
TPM50	31,6 ± 4,8 (10)
Coc20+ TPM50	34,7 ± 2,3 (10)

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M. O número de animais está entre parênteses. Coc20 e TPM50 representam cocaína na dose de 20mg/kg i.p., e topiramato na dose de 50 mg/kg, v.o. respectivamente, administradas como descrito na metodologia. “a” vs. Controle quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 6: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com pentoxifilina no teste de labirinto aquático, em ratos.

Grupos	Tempo para encontrar a plataforma (segundos)
Controle	20,1 ± 3,3 (21)
Coc20	40,5 ± 3,3 (17) ^a
Pent50	10,1 ± 2,6 (08) ^b
Coc20+ Pent50	16,7 ± 5,8 (08) ^b

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M. O número de animais esta entre parênteses. Coc20 e TPM50 representam cocaína na dose de 20 mg/kg i.p., e topiramato na dose de 50 mg/kg, v.o. respectivamente, administradas como descrito na metodologia. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

4.4. Teste de labirinto labirinto em cruz elevado

No teste de labirinto em cruz elevado (tabela 7), Coc nas doses de 10 e 20 mg/kg, i.p. reduziu de maneira dose dependente em 32 (não significativo) e 62% ($p < 0,001$) e em 62% ($p < 0,001$) e 89% ($p < 0,001$) o número de entradas nos braços abertos (NEBA) e o tempo de permanência (segundos) nos braços abertos (TPBA), respectivamente, quando comparado ao grupo controle. Estes parâmetros também foram reduzidos, em menor extensão, pela Imi, onde NEBA foi reduzido em 49% ($p < 0,05$, na dose de 25 mg/kg, v.o.) e o TPBA em 55% ($p < 0,01$ e $0,001$, nas doses de 12,5 e 25 mg/kg, respectivamente). A imi promoveu ainda uma diminuição de 17% no número de entradas nos braços fechados (NEBF). Na combinação de Coc com Imi em doses altas, a imi reverteu completamente os efeitos da Coc no NEBA, e bloqueou parcialmente os efeitos da Coc no TPBA, quando comparado ao grupo controle.

Na tabela 8 observamos que o topiramato não promoveu alterações significativas e nenhum dos parâmetros analisados, nem conseguiu reverter as ações da Coc nos grupos tratados com a associação Coc20 + TPM50.

Tabela 7: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina no teste de labirinto em cruz elevada, em ratos.

Grupos	TPBA	TPBF	NEBA	
Controle	66,4 ± 8,2 (21)	217,6 ± 17,0 (19)	4,7 ± 0,57 (25)	5,2 ± 0,7 (15)
Coc10	25,5 ± 6,8 (19) ^{a,b}	242,6 ± 14,1 (19)	3,2 ± 0,6 (19) ^b	5,1 ± 0,7 (17)
Coc20	7,6 ± 4,4 (19) ^a	259,7 ± 17,6 (20)	0,78 ± 0,3 (24) ^a	3,1 ± 0,7 (18) ^a
Imi12.5	33,4 ± 7,2 (19) ^{a,b}	235,3 ± 11,8 (19)	3,9 ± 0,6 (21) ^b	5,5 ± 0,8 (14)
Imi25	29,6 ± 8,3 (20) ^{a,b}	238,7 ± 20,2 (19)	2,4 ± 0,4 (24) ^{a,b}	4,3 ± 0,6 (16) ^a
Coc10 + Imi12.5	23,5 ± 6,4 (14) ^{a,b}	233,2 ± 13,6 (14)	4,0 ± 0,6 (11) ^b	5,2 ± 0,7 (11)
Coc20 + Imi25	21,1 ± 8,0 (14) ^{a,b}	249,8 ± 14,8 (20)	3,7 ± 0,6 (21) ^b	7,6 ± 1,1 (16)
NEBF				

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M do número de entradas nos braços abertos (NEBA) e braços fechados (NEBF), e do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e braços fechados (TPBF). O número de animais esta entre parênteses. Coc10 e Coc20 = cocaína nas doses de 10 e 20 mg/kg i.p.; Imi12.5 e Imi25 = Imipramina nas doses de 12,5 e 25 mg/kg v.o. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 8: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato no teste de labirinto em cruz elevada, em ratos.

Grupos	TPBA	TPBF	NEBA	NEBF
Controle	66,4 ± 8,2 (21)	217,6 ± 17,0 (19)	4,7 ± 0,57 (25)	5,2 ± 0,7 (15)
Coc20	7,6 ± 4,4 (19) ^a	259,7 ± 17,6 (20)	0,78 ± 0,3 (24) ^a	3,1 ± 0,7 (18) ^a
TPM50	83,7 ± 17,5 (10) ^b	215,2 ± 12,0 (10)	5,0 ± 0,9 (10) ^b	4,8 ± 0,8 (10)
Coc20 + TPM50	17,2 ± 6,01(10) ^{a,b}	221,3 ± 8,1 (10)	0,9 ± 0,9 (10) ^a	4,9 ± 0,4 (10)

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M do número de entradas nos braços abertos (NEBA) e braços fechados (NEBF), e do tempo de permanência nos braços abertos (TPBA) e braços fechados (TPBF). O número de animais esta entre parênteses. Coc20 = cocaína na dose de 20 mg/kg i.p.; TPM50 = Topiramato na dose de 50 mg/kg v.o. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

4.5. Teste de nado forçado

No teste do nado forçado, tanto Coc como Imi diminuíram significativamente em 42% (Coc, 20 mg/kg, i.p.) e 64% (Imi, 25 mg/kg, v.o.) o tempo de imobilidade do animal (Figura 14), quando comparado ao grupo controle, indicando um efeito antidepressivo de ambas as drogas. A associação das duas drogas não alterou estes resultados (Controle: $163,4 \pm 15,6$; Coc20: $95,1 \pm 6,4$; $q = 6.685$; $p < 0,001$; Imi25: $58,8 \pm 6,8$; $q = 10.33$; $p < 0,001$; Coc20 + Imi25: $88,4 \pm 9,1$; $q = 2.986$; $p < 0,05$).

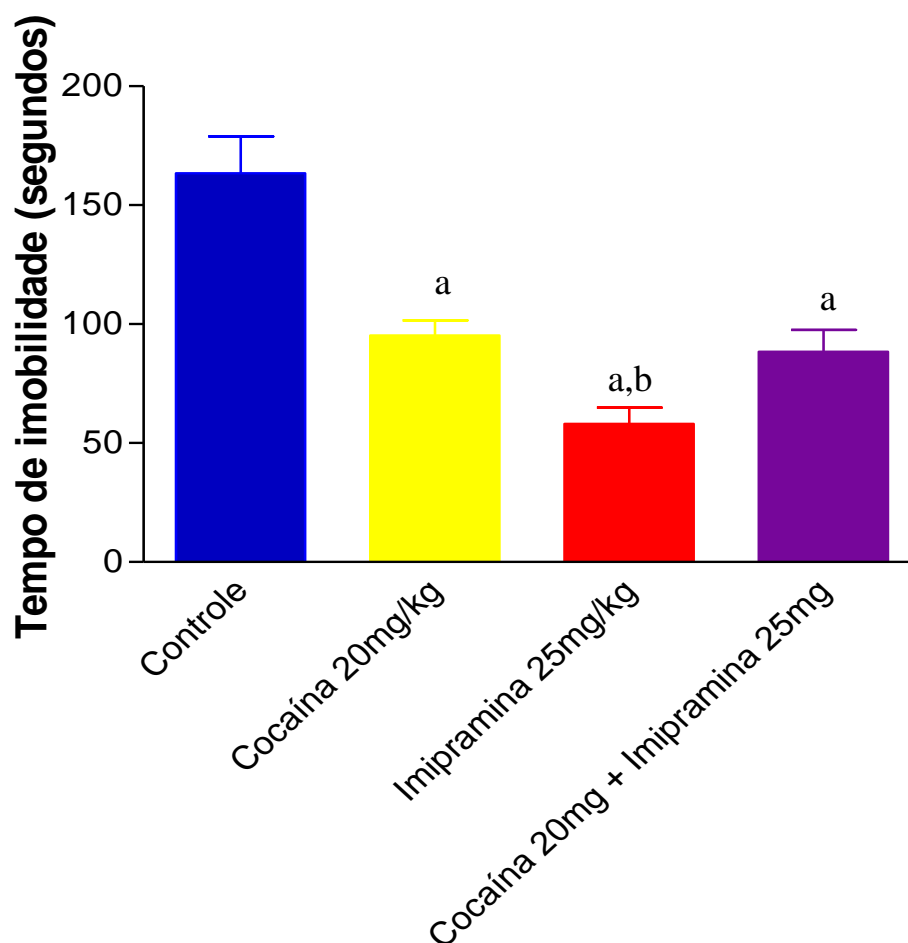


Figura 14 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre o tempo de imobilidade no teste de nado forçado. O tempo de imobilidade (segundos) foi medido 24 horas após a última administração das drogas. Ratos Wistar (200-250g) foram tratados por via intraperitoneal com cocaína na dose de 20mg/kg, imipramina por via oral na dose de 25 mg/kg e a associação destes. Os valores representam média \pm EPM (n= 12 ratos por grupo). “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

4.6. Efeitos da administração repetida de cocaína, imipramina e a combinação destas sobre as concentrações de DA, DOPAC, 5-HT e 5-HIAA em CE de ratos.

Os resultados da análise de monoaminas pela técnica de HPLC com detecção eletroquímica foram expressos em ng/g de tecido. Nossos resultados mostraram que a cocaína, como esperado, aumentou em 94% os níveis de dopamina ($p < 0.01$), enquanto que a imipramina isoladamente não demonstrou efeitos significativos, quando comparado ao grupo controle (Tabela 9). Contudo, a combinação de Imi com Coc bloqueou significativamente os efeitos da Coc, deixando os níveis de dopamina próximos aos do grupo controle. Nenhum efeito significativo foi observado após a administração de Imi ou Coc sobre os níveis de DOPAC (um metabólito da dopamina), quando comparado ao controle. Contudo, a combinação de Imi e Coc aumentou significativamente os níveis de DOPAC em 83%. Por outro lado, cocaína, imipramina e a combinação destas diminuiu significativamente em 47% os níveis de HVA, um outro metabólito da dopamina. Em relação aos níveis de serotonina (5-HT) e seu metabólito 5-HIAA, nós mostramos que imipramina aumentou em 87% os níveis de 5-HT, enquanto que a cocaína não apresentou efeitos significativos (Tabela 10), mas bloqueou o efeito da imipramina. Não foram observados efeitos da Coc, Imi ou de sua associação sobre os níveis de 5-HIAA, quando comparado ao grupo controle.

Tabela 9: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre os níveis de dopamina e seus metabólitos (ng/g de tecido) em CE de ratos.

GRUPOS	DA	DOPAC	HVA
Controle	2235,0 ± 257,4 (10)	1765,0 ± 297,9 (8)	2658,0 ± 487,2 (6)
Coc20	4353,0 ± 617,0 (13) ^a	1932,0 ± 360,6 (13)	668,1 ± 229,3 (12) ^a
Imi25	2581,0 ± 154,5 (13) ^b	2407,0 ± 499,9 (10)	1350,0 ± 310,0 (11) ^{a,b}
Coc20 +Imi25	2978,0 ± 417,5 (8) ^b	3231,0 ± 887,4 (7) ^a	1424,0 ± 370,9 (10) ^{a,b}

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M (ng/g de tecido). O número de animais esta entre parênteses. Coc20 = cocaína na dose de 20 mg/kg i.p.; Imi25 = Imipramina na dose de 25 mg/kg v.o. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

Tabela 10: Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre os níveis de 5-HT e seu metabólito (ng/g de tecido) em CE de ratos.

GRUPO	5-HT	5-HIAA
Controle	1396,0 ± 344,4 (6)	2190,0 ± 665,6 (7)
Coc20	1656,0 ± 546,9 (9)	3461,0 ± 631,5 (8)
Imi25	2612,0 ± 285,3 (10) ^a	3346,0 ± 1041,0 (7)
Coc20+ Imi25	1294,0 ± 231,7 (7)	4791,0 ± 909,2 (7) ^{a,b}

Os resultados estão expressos como média ± E.P.M (ng/g de tecido). O número de animais esta entre parênteses. Coc20 = cocaína na dose de 20 mg/kg i.p.; Imi25 = Imipramina na dose de 25 mg/kg v.o. “a” vs. Controle quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newmans-Keuls como teste *post hoc*).

4.7. Efeitos da administração repetida de cocaína, topiramato e a combinação destes sobre as concentrações de DA, DOPAC e NE em CE de ratos.

Com relação aos animais tratados com TPM, observamos que este isoladamente não alterou de maneira significativa as concentrações de dopamina, quando comparado ao grupo controle. Entretanto, no grupo tratado com a associação TPM e Coc, o TPM reverteu completamente as ações promovidas pela cocaína, deixando os valores dos níveis de dopamina próximos aos do grupo controle (Figura 15). Nenhum efeito significativo foi observado após a administração de TPM ou Coc sobre os níveis de DOPAC, quando comparado ao controle. (Figura 16). Os animais tratados com Coc apresentaram um aumento significativo de 85% nos níveis de noradrenalina. O TPM isoladamente não alterou de maneira significativa os níveis de noradrenalina, porém, no grupo tratado com a associação TPM e Coc, o TPM bloqueou totalmente as ações promovidas pela Coc, deixando os valores de noradrenalina próximos aos do grupo controle (Figura 17).

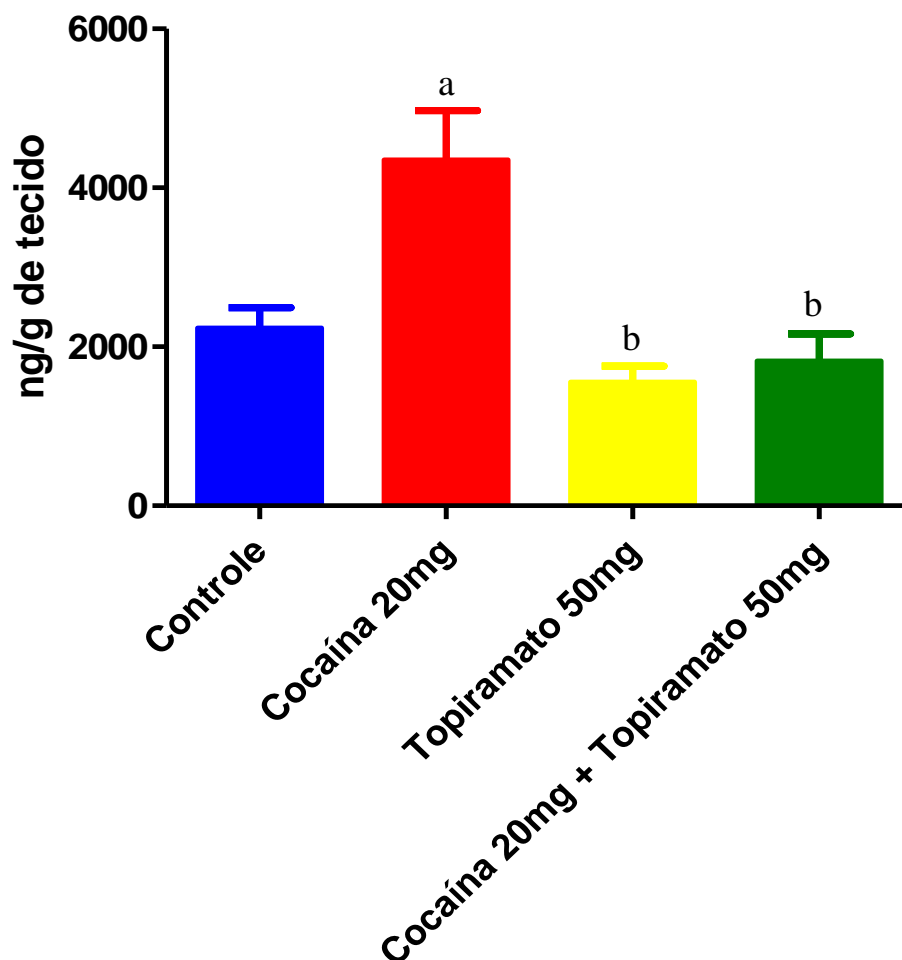


Figura 15 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre os níveis de dopamina em corpo estriado de rato. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg, i.p. e Topiramato 50 mg/kg v.o., sendo decapitados 24 h após a última injeção. Os níveis dos neurotransmissores e metabólitos foram determinados em HPLC. Os valores representam a média + EPM com (n) de 8 a 12 animais em cada grupo experimental. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

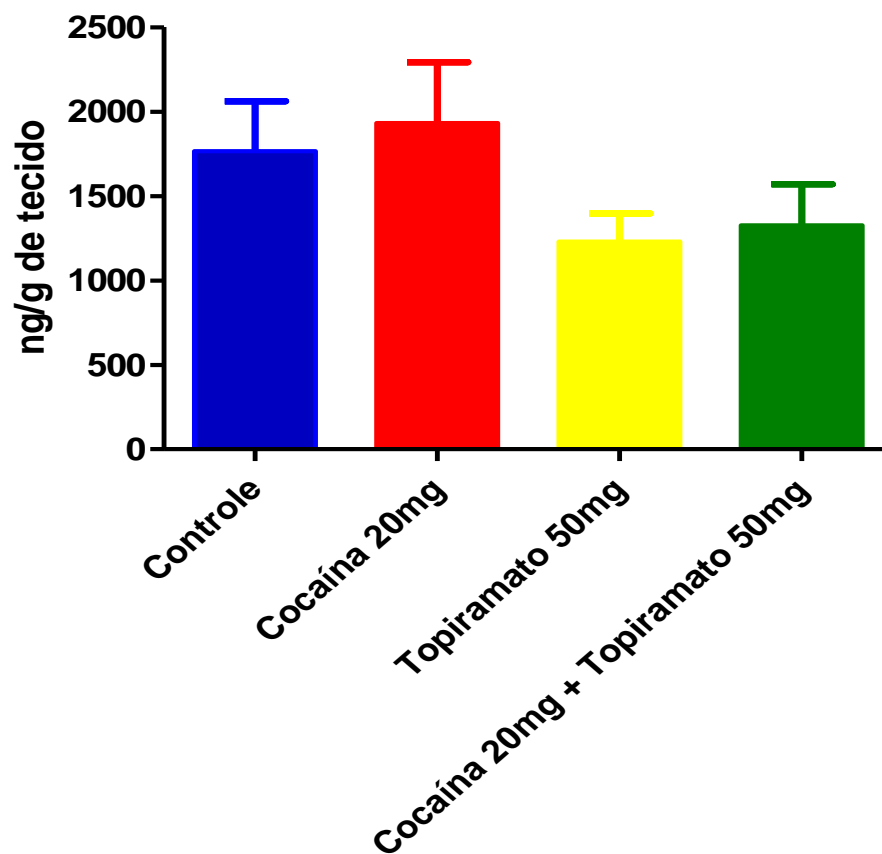


Figura 16 - Efeitos da administração subcrônica de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre os níveis de DOPAC em corpo estriado de rato. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg, i.p. e Topiramato 50 mg/kg v.o., sendo decapitados 24 h após a última injeção. Os níveis dos neurotransmissores e metabólitos foram determinados em HPLC. Os valores representam a média + EPM com (n) de 8 a 12 animais em cada grupo experimental.

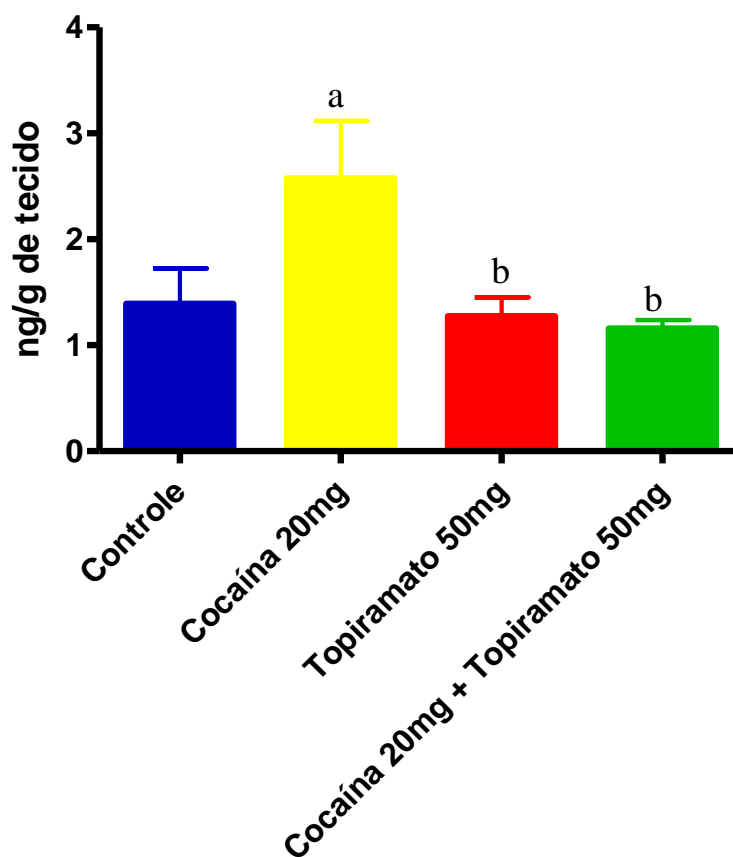


Figura 17 - Efeitos da administração subcrônica de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre os níveis de NA em corpo estriado de rato. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg, i.p. e Topiramato 50mg/kg v.o., sendo decapitados 24 h após a última injeção. Os níveis dos neurotransmissores e metabólitos foram determinados em HPLC. Os valores representam a média + EPM com (n) de 8 a 12 animais em cada grupo experimental. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

4.8. Efeitos promovidos pela cocaína em células mesencefálicas de ratos expostas à 6-OHDA 10 μ M, determinados pelo teste do MTT.

A figura 18 mostra que a cocaína, quando adicionada 3 h antes da 6-OHDA 10 μ M, reduziu a neurotoxicidade induzida pela 6-OHDA em células mesencefálicas de rato, expressa pelo número de células viáveis presentes na cultura. Os resultados mostram que a adição de 10 μ M da neurotoxina diminuiu para 64% a viabilidade celular (absorbância do MTT: controle = $0,3505 \pm 0,001$; 6-OHDA 10 μ M = $0,2273 \pm 0,0135$). A Coc na concentrações de 50 μ g/ml preveniu significativamente ($p < 0,05$, ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls) a toxicidade induzida pela 6-OHDA (absorbância do MTT: Coc 50 + 6-OHDA = $0,3264 \pm 0,019$ (aumento da viabilidade celular em relação a 6-OHDA 10 μ M) = (43%);

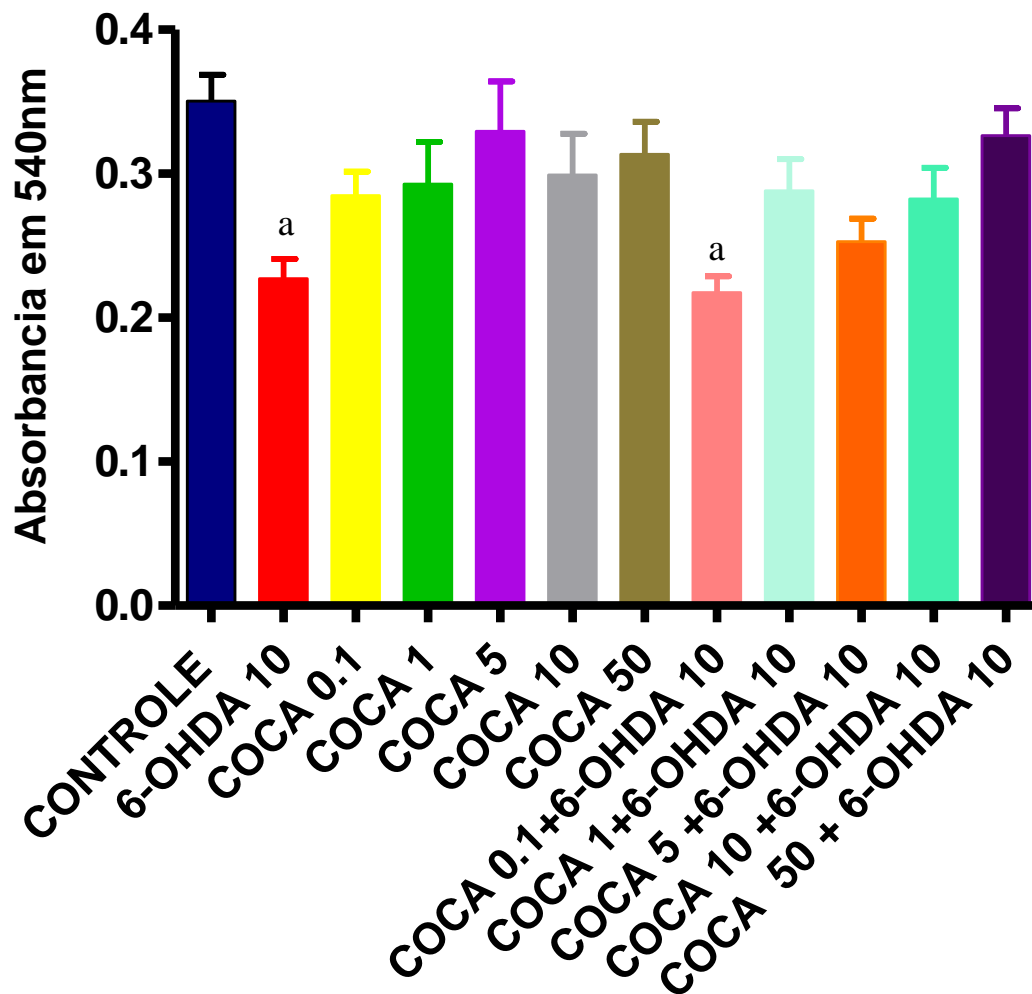


FIGURA 18 - Efeito da cocaína em células mesencefálicas de ratos expostas à 6-OHDA. As células foram cultivadas durante 4 dias. A Coc (0,1; 1; 5; 10 e 50 $\mu\text{g/ml}$) foi adicionada 3 h antes da 6-OHDA (10 μM). Após 24 hs, a viabilidade celular foi determinada pelo MTT. Os valores estão expressos como média \pm EPM, “a” vs. Controle, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

4.9. Efeitos da administração repetida de cocaína, topiramato e a combinação destes sobre o fluxo sanguíneo cerebral em ratos.

Em relação ao fluxo sanguíneo cerebral, observamos na figura 19 que a cocaína promoveu uma redução pequena porém significativa de 13,4% no fluxo sanguíneo cerebral em relação ao grupo controle (Controle: $6596,0 \pm 50,0$; Coc20: $5712,0 \pm 70,0$ pixels, $q = 11.78$; $p < 0,001$).

O topiramato isoladamente não promoveu alterações significativas sobre o fluxo sanguíneo, mas na associação de TPM e Coc, o topiramato reverteu completamente os efeitos promovidos pela cocaína (TPM50: $6611,0 \pm 74,0$; Coc20 + TPM50: $6467,0 \pm 100,0$ pixels, n.s.) em relação ao grupo controle.

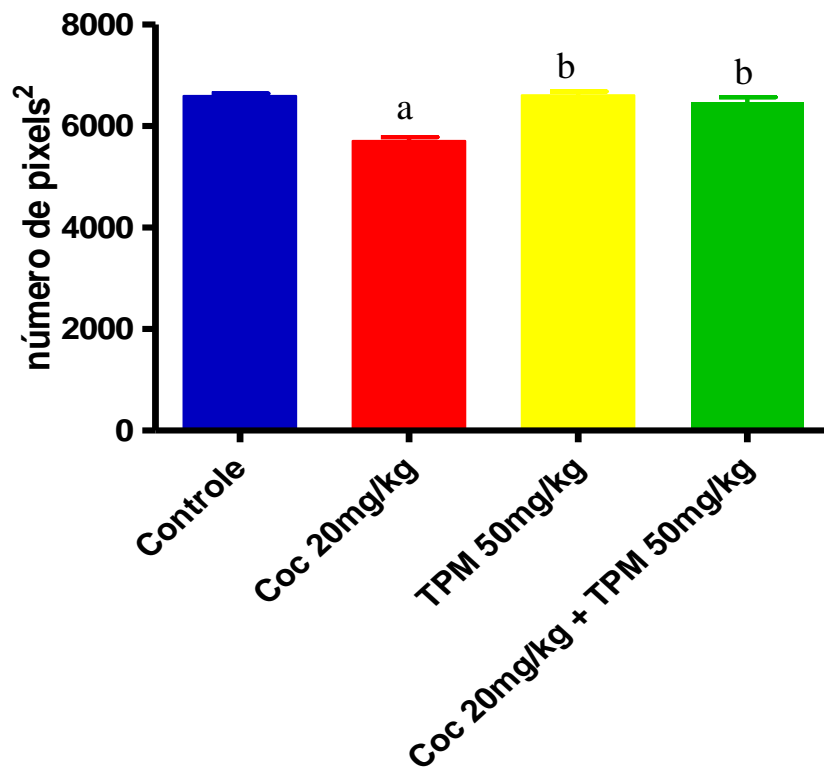


Figura 19 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com topiramato sobre o fluxo sanguíneo cerebral em ratos. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg, i.p. e Topiramato 50 mg/kg v.o. Após 24 horas do último dia de tratamento, os animais receberam contraste para obtenção de imagem cintilográfica. Os valores representam a média + EPM do número de pixels² com (n) de 12 animais em cada grupo experimental. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

4.10. Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina e topiramato sobre a formação de nitrito em cérebro de ratos.

Observamos na figura 20 que a cocaína na dose de 20mg aumentou significativamente em 36% a formação de nitrito em relação ao grupo controle (Controle: $0,047 \pm 0,007$; Coc20: $0,064 \pm 0,008$; $q = 2.949$; $p < 0.05$). No grupo tratado com Coc + TPM, o topiramato reverteu completamente as ações promovidas pela cocaína (Coc20+TPM50: $0,034 \pm 0,004$) e no grupo tratado com Coc + Imi, a imipramina não só bloqueou os efeitos promovidos pela cocaína como também reduziu significativamente em 51% a formação de nitrito em relação ao grupo controle (Coc20+Imi25: $0,023 \pm 0,001$; $q = 4.095$; $p < 0,05$).

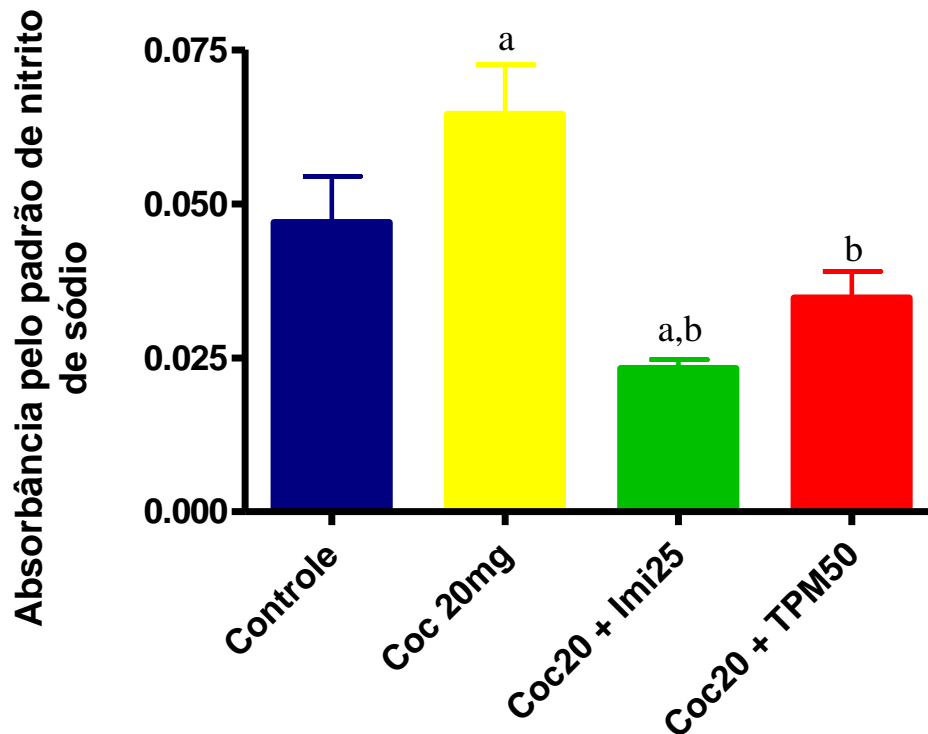


Figura 20 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina e topiramato sobre a formação de nitrito em cérebro de ratos. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg isoladamente e em associação com imipramina 25 mg/kg v.o. e Topiramato 50 mg/kg v.o. Após 24 h do último dia de tratamento, os animais foram dissecados para determinação da formação de nitrito. Os valores representam a média + EPM com (n) de 8 - 10 animais em cada grupo experimental. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e teste Student-Newman-Keuls, como teste *post hoc*).

4.11. Análise histológica de cerebro de animais tratados com cocaína, imipramina e a associação destas drogas.

Nos estudos histológicos, a contagem de células neuronais de secções cerebrais coradas com violeta Cresil revelaram que o cerebro de ratos tratados com Coc mostraram um dano significativo no giro denteado (redução de 16% na viabilidade celular) (Figuras 21 e 22), e no cortex (redução de 52,2% na viabilidade celular) (Figuras 23 e 24), mas não nas regiões CA1 e CA3 do hipocampo, quando comparado ao grupo controle (considerado como 100% de células viáveis).

No grupo tratado com Coc + Imi, a imipramina reverteu os efeitos promovidos pela cocaína, reduzindo a lesão do cortex cerebral (39,4% de perda celular) e da região GD (redução de 1,1% na viabilidade celular), quando comparado ao grupo controle.

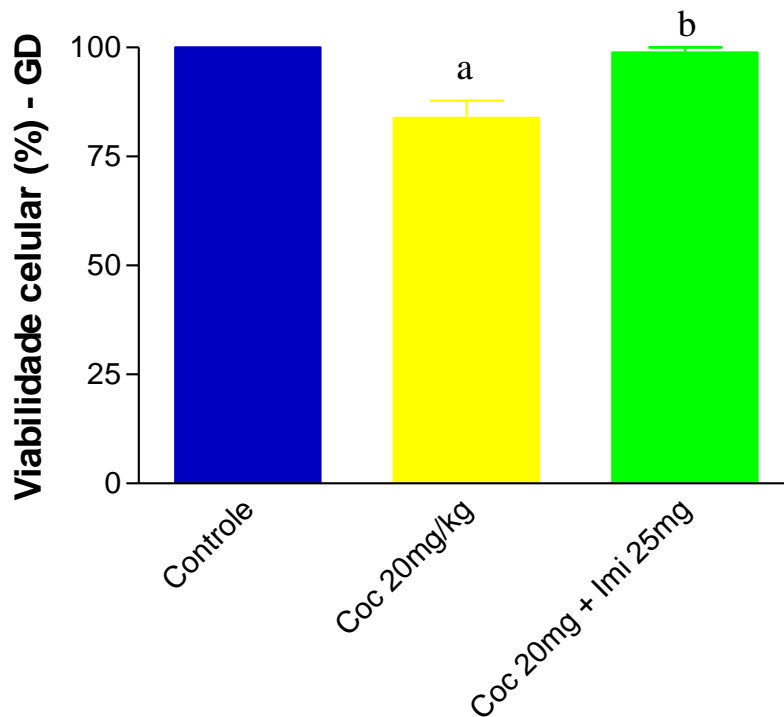


Figura 21 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular no giro denteado. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg i.p. isoladamente e em associação com imipramina 25 mg/kg v.o. O teste avaliou o número de células viáveis no giro denteado (GD) do hipocampo dos animais através de coloração de fatias do GD hipocampal com violeta cresil. “a” e “b” vs. Controle e Cocaína 20mg respectivamente, quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

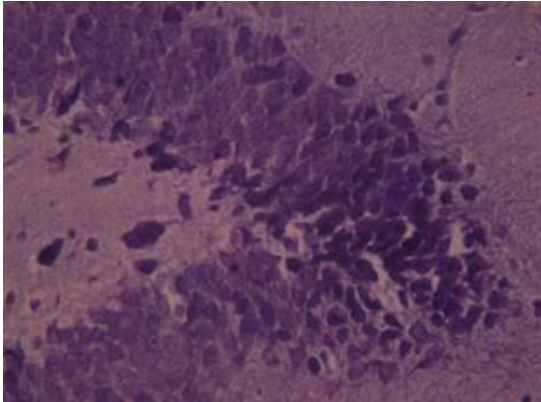
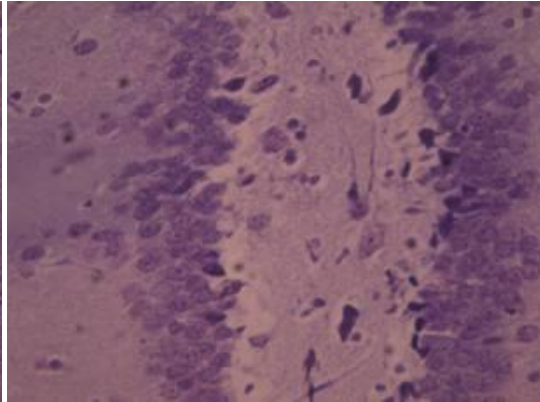
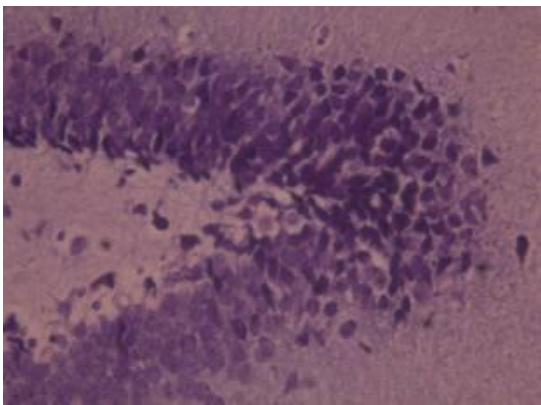
**Controle****Cocaína 20mg/kg****Cocaína 20mg/kg + Imipramina 25mg/kg**

FIGURA 22 – Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg isoladamente e em associação com imipramina 25mg/kg v.o. O teste avaliou o número de células viáveis na região GD do hipocampo dos animais.

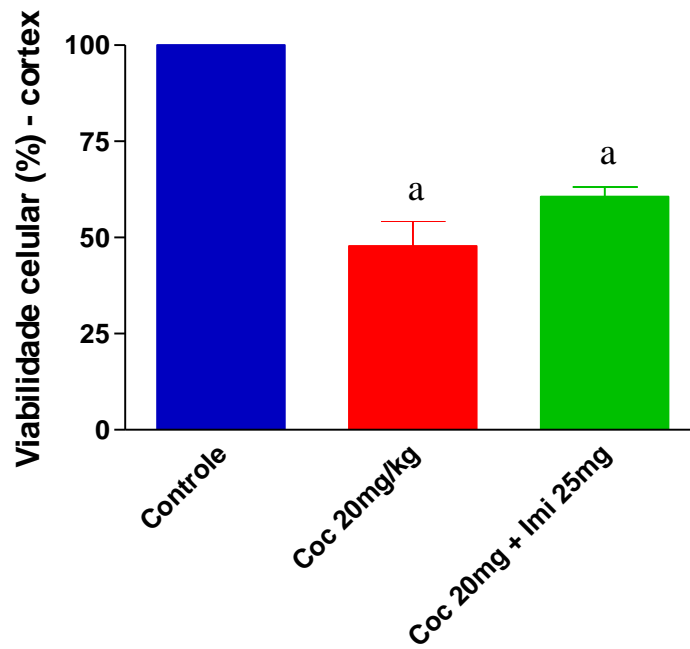


Figura 23 - Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular no córtex. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg isoladamente e em associação com imipramina 25mg/kg v.o. O teste avaliou o número de células viáveis no córtex cerebral dos animais. “a” Controle quando $p < 0,05$ (ANOVA e Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*).

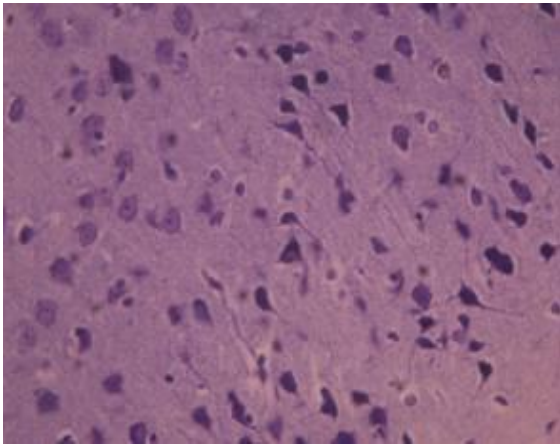
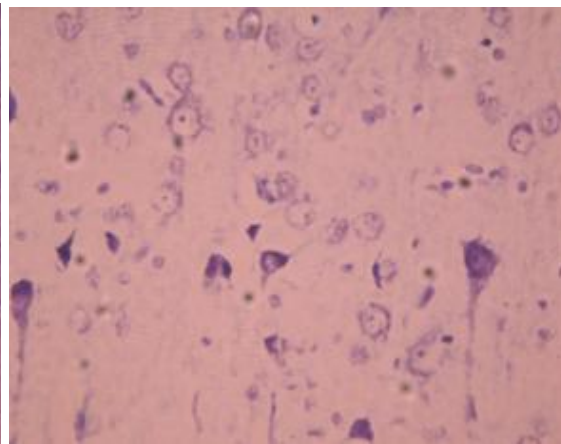
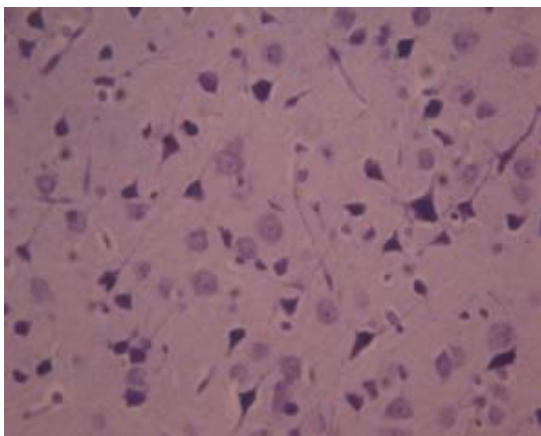
**Controle****Cocaína 20mg/kg****Cocaína 20mg/kg + Imipramina 25mg/kg**

FIGURA 24 – Efeitos da administração repetida de cocaína isoladamente e em associação com imipramina sobre a viabilidade celular. Os animais foram tratados diariamente por 7 dias com cocaína 20 mg/kg isoladamente e em associação com imipramina 25mg/kg v.o. O teste avaliou o numero de células viáveis no córtex cerebral dos animais.

5. DISCUSSÃO

5.0. DISCUSSÃO

Este trabalho teve como objetivo estudar as alterações neurobiológicas (níveis de monoaminas – DA, DOPAC e 5-HT, e seus metabólitos), comportamentais e histológicas desencadeadas pelo uso sub-crônico da cocaína isoladamente e em associação com imipramina, um antidepressivo tricíclico, topiramato, um anticonvulsivante e pentoxifilina, droga utilizada na claudicação intermitente, em ratos 24 h após a retirada das drogas. Foram analisadas ainda alterações no fluxo sanguíneo cerebral e na viabilidade neuronal em áreas específicas do cérebro *in vivo* e em cultura de células no intuito de se observar possíveis ações neurotóxicas da cocaína sobre neurônios dopaminérgicos. Os protocolos *in vitro* que simulam esta perda neuronal dopaminérgica utilizaram cultura primária de células mesencefálicas de ratos, por serem ricas em neurônios dopaminérgicos.

Nos nossos experimentos, o período de retirada foi de 24 h, período este que deve ser entendido como o tempo decorrido após o último dia de tratamento com cocaína, imipramina, topiramato, pentoxifilina e a associação destes, tendo o tratamento com a cocaína a duração de 7 dias, o que não implica necessariamente em uma síndrome de abstinência fisiológica ou comportamental.

Neurônios dopaminérgicos mesolímbicos que se originam na ATV e se projetam para o núcleo accumbens e outras áreas do mesencéfalo são substratos bem conhecidos para a recompensa e o reforço e são também importantes alvos para a ação da cocaína e outros psicoestimulantes. Muitos estudos descrevem os efeitos da administração de drogas nesta via (Wise & Bozarth, 1987; Koob & Bloom, 1988; Kuhar et al., 1991) sendo que os mais recentes, feitos em animais, observaram os efeitos que ocorrem com a retirada após administração repetida de cocaína nos parâmetros bioquímicos associados com neurônios mesolímbicos. Os resultados mostraram mudanças importantes e prolongadas nos neurônios durante o período de retirada. Alterações nos neurotransmissores, receptores ou

enzimas freqüentemente refletem algumas modificações gerais ou perturbações e isto pode criar um neurônio em degeneração. Estas mudanças podem ser similares àquelas que ocorrem em humanos durante a retirada após um uso crônico e, dessa forma, auxiliar no entendimento das bases ou alguns aspectos do desejo e recaída ao uso de drogas (Kuhar et al., 1996).

A despeito dos avanços e achados promissores obtidos em estudos pré-clínicos, não existem ainda tratamentos farmacológicos aprovados para o abuso gerado pela cocaína (Preti, 2007). Estudos utilizando moduladores dopaminérgicos corticomesolímbicos indiretos não tem demonstrado eficácia superior a placebo.

Existem evidências (Bolla et al., 1999) indicando que usuários crônicos e que utilizam altas doses de cocaína apresentam deficiência persistente na função cognitiva. Vários pesquisadores têm avaliado o uso de antidepressivos tricíclicos, como a imipramina, no tratamento de dependentes em cocaína. A base deste uso seria de que estes agentes revertem alguns sintomas da depressão. Os antidepressivos podem também ser utilizados para reverter os sintomas da retirada no abuso crônico de cocaína devido a sua ação bloqueadora da recaptação de catecolaminas e estabilização de receptores (see Taylor and Gold, 1990).

Alguns estudos recentes também têm demonstrado um possível efeito benéfico do topiramato como neuroprotetor, uma droga anticonvulsivante com diversos mecanismos de ação. Extensas considerações em relação ao tratamento da dependência a cocaína tem sido feitas com agonistas e antagonistas dopaminérgicos. Os anticonvulsivantes, como o topiramato, tem sido considerados opções para o tratamento da dependência baseado na hipótese de que mecanismos ligados a epilepsia podem contribuir para a dependência (Minozzi et al, 2008).

A pentoxifilina, um inibidor da fosfodiesterase tipo 5, tem sido extremamente empregada em várias patologias cerebrovasculares, incluindo

ataques isquêmicos transitórios, seqüelas de trombozes e hemorragias cerebrais. A droga demonstra ainda apresentar atividade antiagregante plaquetária e redutora da produção de radicais livres (Savas et al, 2002). Como a cocaína reconhecidamente pode promover alterações isquêmicas cerebrais (Hoebert et al, 2006), procuramos avaliar possíveis ações neuroprotetoras promovidas pela pentoxifilina em animais tratados com cocaína.

No presente trabalho, nós demonstramos que a cocaína aumenta significativamente e de maneira dose-dependente a atividade locomotora em ratos, e este efeito é bloqueado pela imipramina, a qual isoladamente não altera este parâmetro. Evidências (Selling et al., 2006) sugerem que psicoestimulantes, tais como a cocaína, podem exercer efeitos estimulantes sobre os mecanismos de recompensa e atividade locomotora por meio de um incremento na neurotransmissão dopaminérgica na porção ventral do corpo estriado. Antidepressivos são freqüentemente utilizados para tentar auxiliar pessoas no tratamento da depressão e diminuindo o desejo de consumir a droga (efeito compulsivo) que ocorrem quando o uso de cocaína é interrompido. Enquanto a administração aguda de cocaína aumenta os níveis de DA, 5-HT e NA, através do bloqueio das recaptações pré-sinápticas destes neurotransmissores, usuários crônicos de cocaína apresentam uma *downregulation* no sistema de monoaminas. A depressão pós-uso de cocaína e o desejo de consumir a droga podem estar relacionados com esta *downregulation*. A farmacoterapia antidepressiva, através do aumento dos níveis de monoaminas, pode aliviar os sintomas da abstinência a cocaína, bem como a disforia e o desejo de consumo da droga através de sua ação antidepressiva (Lima et al., 2006). Contudo, não existem evidências conclusivas que suportem o uso clínico de antidepressivos no tratamento de dependentes em cocaína.

A administração continuada de psicoestimulantes em roedores resulta em um aumento progressivo na resposta locomotora estimulante a uma subsequente dose adicional do psicoestimulante (Robinson e Becker 1986; Kalivas e Stewart

1991). Este fenômeno é referido como *sensibilização comportamental* e é utilizado como modelo animal para o aumento progressivo da disforia, ansiedade e paranóia que frequentemente estão associados com o abuso crônico de psicoestimulantes (Segal e Weinstock 1983; Post e Weiss 1988). Esta sensibilização à cocaína pode ser produzida por uma única exposição à droga e é de longa duração (Post & Rose, 1976).

Nós demonstramos ainda que o topiramato também bloqueou as ações estimulantes da cocaína sobre a atividade locomotora, não apresentando nenhuma alteração sobre este parâmetro quando utilizado isoladamente. Alguns autores têm demonstrado uma ação redutora da atividade locomotora em animais tratados com topiramato e uma possível explicação para estas ações é o antagonismo dos receptores NMDA glutamatérgicos e a potencialização do neurotransmissor inibitório GABA. Embora isoladamente o topiramato não tenha alterado a atividade locomotora dos animais, no presente trabalho, quando associado à cocaína, produziu bloqueio efetivo das ações estimulantes desta.

A pentoxifilina também promoveu um bloqueio do aumento da atividade locomotora induzida pela cocaína, mas não alterou este parâmetro quando utilizada isoladamente, demonstrando também uma possível ação benéfica em usuários de cocaína.

Nós observamos que a cocaína produz uma deficiência cognitiva na memória de curto prazo (aquisição) bem como na de longo prazo (consolidação), conforme dados obtidos no teste de esquiiva passiva. Existem evidências de que indivíduos adictos em cocaína apresentam diminuição generalizada leve da função neurocognitiva (Goldstein et al., 2004) e, em relação a outras desordens psicopatológicas tais como esquizofrenia, a severidade do prejuízo neuropsicológico em usuários de cocaína é modesta, embora não seja indicativa de ausência de disfunção neurocognitiva.

Embora estudos dos efeitos do abuso de cocaína sejam controversos com respeito a tipos específicos de deficiências observadas, a vasta maioria destes

estudos indica algum déficit em certas funções cognitivas, tais como atenção, aprendizado e memória (Joyanovski et al., 2005). Interessantemente, no presente trabalho, a imipramina isoladamente alterou somente a memória de longo prazo e reverteu parcialmente o prejuízo causado pela cocaína na aquisição de memória, mas não na consolidação da memória.

Várias evidências indicam que alterações no processo de formação da memória estão relacionadas com o estado depressivo, e que a memória pode melhorar consideravelmente em pacientes deprimidos após o tratamento crônico com antidepressivos (Burt et al. 1995). Contudo, os antidepressivos, apesar de aliviarem os sintomas da depressão, podem também apresentar impactos negativos sobre as funções cognitivas. Déficits na memória têm sido observados com várias classes de antidepressivos. Em estudos clínicos, observou-se que a administração de antidepressivos sedativos com um componente anticolinérgico marcante, como os antidepressivos tricíclicos, é prejudicial para a memória (Van Laar et al. 2002).

Tem sido também demonstrado que a administração pós-treinamento de imipramina diminui a consolidação da memória no teste de esQUIVA passiva (Zarindast et al., 2003) em roedores. Estes autores concluíram que mecanismos relacionados com o adrenoceptor α_2 podem estar envolvidos na diminuição da memória induzida por imipramina. Contudo, os autores não excluem a participação de outros mecanismos, tais como a ativação de receptores GABA_B (Zarindast et al., 2004).

Em nosso estudo, o topiramato não alterou de maneira significativa a memória de curto prazo e de longo prazo, nem tão pouco reverteu as alterações induzidas pela cocaína nos animais tratados com a associação. Alguns autores relatam alterações cognitivas promovidas pelo topiramato, enquanto outros não comprovam este evento. O mecanismo preciso pelo qual o topiramato poderia causar alterações cognitivas não é bem compreendido, contudo algumas evidências sugerem que sua ação potencializadora sobre o neurotransmissor

GABA e o antagonismo do receptor glutamatérgico NMDA podem estar envolvidos, gerando ações inibitórias sobre o córtex frontal (Petty, 1995; LaRoche e Helmers, 2004). Porém estas alterações no processo cognitivo seriam dose e tempo-dependentes, o que justificaria ausência de alterações como observado em nossos resultados.

Já a Pentoxifilina, embora não tenha alterado significativamente o processo de formação de memória isoladamente, bloqueou completamente as alterações promovidas pela cocaína. Trabalhos recentes tem demonstrado que a pentoxifilina em doses baixas, moderadas e altas reduz a latência para encontrar a plataforma no teste de labirinto aquático e aumenta a latência de entrada no teste de esquiva passiva. A pentoxifilina também tem demonstrado melhorar a memória em animais com déficits cognitivos induzidos pelo etanol (Yuan et al, 2007). Estas ações podem dever-se em parte as ações vasodilatadoras cerebrais e redutoras de radicais livres relacionados com neurotoxicidade em regiões envolvidas com a consolidação de memória. Outros autores relacionam a melhora cognitiva promovida pela pentoxifilina com sua capacidade de antagonizar a neurotoxicidade induzida por TNF α , relacionada com prejuízos cognitivos por lesões no hipocampo (Bluthé et al, 2005)

No presente trabalho, deficiências cognitivas induzidas pela cocaína também foram observadas no teste de labirinto aquático, amplamente utilizado para avaliação da memória espacial. Neste teste, um aumento significativo na latência para encontrar a plataforma foi observado após a administração sub-crônica de cocaína. Este resultado é similar a outros (Quirk et al., 2001), que mostraram que cocaína causa um aumento significativo na latência de fuga, como acessado pelo teste de labirinto aquático. Estes autores concluem que, embora a cocaína não bloqueie o aprendizado, a eficiência com que a tarefa é aprendida foi comprometida. Por outro lado, nós mostramos que a imipramina diminuiu este parâmetro, indicando uma performance um pouco melhor quando comparado ao grupo controle, e também bloqueou os efeitos promovidos pela cocaína.

Evidências acumuladas correlacionam níveis elevados de glicocorticóides e reduções cognitivas, em ratos e humanos mais velhos. Fármacos antidepressivos aumentam a regulação por *feedback* negativo do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e reduzem os níveis plasmáticos de glicocorticóides. Estudos recentes (Yau et al., 2002) mostram que tratamentos de longo prazo com antidepressivos tricíclicos, tais como imipramina, diminuem a prevalência de prejuízo cognitivo em ratos velhos. Além disso, o envolvimento de catecolaminas cerebrais e seus efeitos facilitatórios sobre o aprendizado são bem documentados (de Barar et al., 1980), e pesquisadores tem mostrado que o aprendizado e a memória podem ser modificados por drogas que alteram o sistema dopaminérgico central (Blatt, 1998). É ainda conhecido que o sistema mesolímbico dopaminérgico é envolvido com o processo de consolidação da memória (Blatt, 1988).

Nós demonstramos ainda que o topiramato isoladamente também promoveu deficiências cognitivas no teste de labirinto aquático e não alterou as ações promovidas pela cocaína no grupo tratado com a associação. Conforme discutido anteriormente, estas alterações cognitivas podem estar relacionadas com a ação potencializadora do topiramato sobre o neurotransmissor GABA e o antagonismo do receptor glutamatérgico NMDA, gerando ações inibitórias sobre o córtex frontal (Petty, 1995; LaRoche e Helmers, 2004).

Ainda em relação aos resultados obtidos no labirinto aquático, a pentoxifilina isoladamente não alterou de maneira significativa os parâmetros avaliados, mas bloqueou completamente as alterações promovidas pela cocaína nos animais tratados com a associação cocaína + pentoxifilina. Os mecanismos envolvidos não são totalmente compreendidos, mas assim como nos resultados obtidos na esQUIVA passiva, a pentoxifilina foi extremamente eficiente em bloquear as alterações promovidas pela cocaína sobre o processo de formação de memória nos animais, sendo que esta ação pode estar relacionada com mecanismos neuroprotetores promovidas pela pentoxifilina.

Nós demonstramos ainda que a cocaína administrada sub-cronicamente em ratos promove efeitos ansiogênicos, sendo estes atenuados pela imipramina. A imipramina é um composto dibenzazepínico com uma cadeia lateral terciária que bloqueia a captação neuronal de serotonina e norepinefrina. Esta droga é relativamente seletiva para a inibição do transportador de noradrenalina e para a recaptação de serotonina, porém não bloqueia o transportador de dopamina. No teste do labirinto em cruz elevado, usado para avaliar atividades ansiolíticas e ansiogênicas, nós demonstramos que a cocaína diminui significativamente não somente o número de entradas nos braços abertos, mas também o tempo despendido nestes. Ambos os paradigmas foram bloqueados pela imipramina. Estudos clínicos bem como em animais tem indicado que tanto a administração como a retirada de cocaína aumentam a ansiedade. Vários tipos de drogas e diferentes protocolos têm sido realizados na tentativa de reduzir a ansiedade induzida pela cocaína.

Assim, recentemente, Paine et al., (2002), mostraram que benzodiazepínicos aliviam a ansiedade induzida pela cocaína. Estes autores reportam que a administração de cocaína e a retirada reduzem a porcentagem de tempo perdido e o número de entradas nos braços abertos. Benzodiazepínicos aliviam a ansiedade induzida pela retirada da cocaína de maneira dose-dependente, mas não atenuam significativamente a ansiedade induzida pela administração de cocaína.

Nos demonstramos também que ainda em relação a atividade ansiogênica da cocaína, o topiramato não conseguiu reverter as alterações promovidas por esta no teste de labirinto em cruz elevada, não apresentando portanto um efeito ansiolítico. Alguns autores tem demonstrado atividade ansiolítica para o topiramato quando a ansiedade é gerada como um sinal da retirada ao álcool (Cagetti et al, 2004). Uma possível explicação para esta atividade ansiolítica seria a potencialização gabaérgica promovida pelo topiramato. Porém, no nosso estudo

a ansiedade era gerada diretamente pela cocaína, o que pode explicar a ineficácia do topiramato em reverter o quadro.

Em comum com todas as outras classes de substâncias de abuso, a dependência a cocaína tem demonstrado ser fortemente associada com depressão por pesquisas clínicas e na comunidade (Rounsaville, 2004).

O abuso de cocaína pode levar a *overdose* (relacionada com convulsões e/ou *status epilepticus*) e a quadros patológicos tais como esquizofrenia, depressão e ansiedade (Macedo et al., 2004). Antidepressivos são comumente usados por adictos, devido a seu potencial efeito em alguns mecanismos não totalmente compreendidos envolvidos com as desordens apresentadas em usuários de drogas e no tratamento da co-morbidade depressão. Contudo mais estudos são necessários para se ter realmente uma base conclusiva a respeito.

Interessantemente, os inibidores seletivos da recaptação de serotonina não têm apresentado vantagens significativas quando comparados com os antidepressivos tricíclicos no tratamento das desordens em usuários de substância de abuso (Torrens et al., 2005). Tem sido recentemente reportado (McDowell et al., 2005) que desipramina, um antidepressivo tricíclico, seria um tratamento efetivo para a depressão observada em pacientes dependentes de cocaína. No presente estudo, a cocaína mostrou um efeito antidepressivo similar ao da imipramina no teste de nado forçado, possivelmente porque psicoestimulantes reduzem o tempo de imobilidade. A redução no tempo de imobilidade é um reflexo do aumento na atividade motora.

Evidências crescentes sugerem que mecanismos dopaminérgicos isoladamente não explicam totalmente os efeitos psicoemocionais e comportamentais da cocaína (Kiyatkin e Rebec, 2000). Assim, os dados destes autores suportam a existência de mecanismos independentes do sistema dopaminérgico para as ações da cocaína, envolvendo uma interação direta com canais de sódio que pode contribuir para alterações na atividade neuronal, tendo assim um papel na mediação dos efeitos psicoemocionais e comportamentais da

cocaína. Estudos mais antigos (Rawling and Fozzard, 1979) mostram que a imipramina tem uma ação direta sobre a membrana de fibras de Purkinje cardíacas. Este mecanismo de ação provavelmente envolve tanto a redução do gradiente de Na^+ como uma lentificação marcante no tempo da constante de recuperação de correntes de entrada de sódio no miocárdio.

Os efeitos de reforço da cocaína podem ser relacionados com sua eficiência em bloquear o transportador que recapta a dopamina da sinapse neuronal, levando ao aumento da concentração de dopamina em sítios corticais cerebrais (Ritz et al., 1987).

A ação primária da cocaína seria interferir com o transporte de dopamina, NE e 5-HT (Boja e Mell, 1998; Gawin, 1991; Feldman et al., 1997). A cocaína parece não produzir liberação, mas sim atuar aumentando os níveis intersinápticos dos neurotransmissores pelo bloqueio da sua recaptação (Boja e Mell, 1998; Gawin 1991; Feldman et al., 1997). Esta elevação nos níveis de neurotransmissores intersinápticos, especialmente a dopamina, pode produzir os efeitos de desejo pelo uso da droga. Boja e Mell, (1998) detalham os efeitos da cocaína no transportador de dopamina (DAT). O DAT consiste em uma estrutura que apresenta sítios de ligação para uma molécula de dopamina, cloreto e dois íons sódio. Quando estes compostos estão ligados, o transportador sofre uma alteração conformacional, liberando dopamina dentro do neurônio pré-sináptico. A dopamina é muito importante no sistema de recompensa do cérebro, e seu aumento provavelmente contribui para o elevado potencial para causar dependência (Katzung, 2006). Contudo, a cocaína também bloqueia a recaptação de NE e 5-HT, e o uso crônico de cocaína produz alterações nestes sistemas de neurotransmissores, como mensurado pela redução em seus metabólitos (Goodman e Gilman, 2008).

É bem conhecido que as propriedades psicoestimulantes da cocaína derivam do aumento de monoaminas, via inibição sináptica do transportador utilizado na recaptação (Broderick et al., 2004). A utilização por curtos períodos

parece estimular a neurotransmissão dopaminérgica através do bloqueio da recaptação de dopamina. Contudo, evidências sugerem que a utilização por longos períodos de tempo de cocaína pode promover nos terminais nervosos a depleção de dopamina.

A depleção de dopamina tem sido teorizada como um fator que contribui para a disforia que se desenvolve na retirada da cocaína e o subsequente desejo por mais da droga. Seguindo esta lógica, a neurotransmissão dopaminérgica pode ser responsável pelo desenvolvimento de padrões compulsivos de uso (Agarwal, 2005). No presente trabalho, os efeitos estimulantes sobre a atividade locomotora são relacionados com o aumento dos níveis de dopamina no estriado de ratos.

Neste trabalho foi observado que 24 h após a última administração de cocaína isoladamente, os níveis de dopamina aumentaram significativamente, ocorrendo ainda uma redução significativa nos níveis de HVA. Os níveis de DOPAC não foram alterados de maneira significativa pela cocaína isoladamente.

Com relação aos metabólitos da DA, DOPAC e HVA, nossos resultados estão parcialmente de acordo com os de Yeh e De Souza, que ao tratarem animais com cocaína (20 mg/kg, 2 vezes ao dia, por 8 dias) ou salina observaram que 1, 8, 15 ou 48 dias após a última injeção de cocaína, as concentrações de NE, DA, 5-HT e seus metabólitos no córtex frontal, hipocampo, corpo estriado, hipotálamo, mesencéfalo, tronco encefálico e medula espinhal não foram significativamente diferentes daquelas encontradas nos animais tratados com salina em nenhum dos períodos de retirada examinados.

Também não foram observadas alterações significantes nos níveis de serotonina (5-HT) e seu metabólito 5-HIAA promovidas isoladamente pela cocaína, embora o tratamento com imipramina isoladamente tenha aumentado de maneira significativa os níveis de 5-HT, um resultado esperado devido ao mecanismo de ação da droga. O aumento da concentração de dopamina durante o tratamento com cocaína em homogenatos de corpo estriado é citado na literatura, entretanto, os resultados com relação à retirada da droga, ainda são controversos.

Alguns pesquisadores encontraram uma persistência no aumento desta monoamina, enquanto outros observaram níveis diminuídos ou inalterados após 24 h de retirada da cocaína.

Embora a imipramina e o topiramato isoladamente não tenham apresentado ações significativas sobre os níveis estriatais de dopamina, estes agentes bloquearam completamente os efeitos promovidos pela cocaína nos animais tratados com a associação destas. Trabalhos demonstram que o tratamento crônico com antidepressivos, como a imipramina, aumenta a neurotransmissão dopaminérgica no sistema dopaminérgico mesolímbico (D'Aquila, 2003), o que difere dos resultados obtidos em nosso estudo, embora deva ser considerada a diferença de tempo entre os protocolos adotados. No nosso estudo os animais foram tratados por apenas 7 dias, tempo talvez insuficiente para promover alterações dopaminérgicas pelo antidepressivo.

Já em relação ao topiramato, sua ação em bloquear as alterações dopaminérgicas promovidas pela cocaína poderia ser explicada por evidências que sugerem que este agente inibe a liberação de dopamina, reduzindo assim sua concentração extracelular no sistema nervoso central. Este mecanismo pode ser significativo para o tratamento da dependência a cocaína, em virtude de a dopamina estar relacionada diretamente com o vício (Olmsted et al, 2008).

Surpreendentemente, um efeito sinérgico foi observado sobre os níveis de DOPAC após a administração da associação entre imipramina e cocaína, quando comparado com o efeito de cada uma destas individualmente. Já o topiramato não alterou este metabólito de maneira significativa, embora tenha apresentado uma tendência de redução em relação aos animais controle. Nós demonstramos ainda que a cocaína aumentou de maneira significativa os níveis de noradrenalina no cérebro de ratos, sendo que nos animais tratados com a associação de cocaína e topiramato, o topiramato reverteu este aumento. Alguns trabalhos tem demonstrado que o topiramato consegue atenuar o aumento da liberação de monoaminas promovido pela nicotina (Schiffer et al, 2001), o que pode explicar

em parte o bloqueio das ações da cocaína sobre os níveis de dopamina e noradrenalina.

Um estudo recente (Nakamura et al., 2006) mostrou que a administração de cocaína causa um efeito estimulante na atividade locomotora e aumento nos níveis de 5-HT e DA no cérebro de roedores. Estes autores sugerem que o sistema serotoninérgico pré-frontal tem um papel no efeito estimulante da atividade locomotora em camundongos. Contudo, o presente trabalho não observou qualquer incremento sobre os níveis de 5-HT após a administração de cocaína em ratos.

A administração aguda de cocaína (uma única injeção da droga) (Broderick et al., 2004) aumenta significativamente a liberação de DA e 5-HT, bem como a locomoção. Embora nosso protocolo experimental seja diferente (nós utilizamos administração diária de cocaína durante 7 dias), aqueles resultados concordam parcialmente com os nossos, pois como descrito anteriormente não observamos qualquer incremento nos níveis de 5-HT nos animais tratados com cocaína.

Outros autores também têm mostrado que a cocaína atua como um estimulante sobre as monoaminas, DA e 5-HT, e sobre a atividade locomotora. Assim, Carey et al., (2005), observaram que os efeitos psicoestimulantes da cocaína dependem criticamente do sistema serotoninérgico, no qual o receptor serotoninérgico do subtipo 5-HT_{1A} é um componente essencial, e mostraram contribuições divergentes para os efeitos comportamentais da cocaína em varias populações pré e pós-sinápticas de receptores 5-HT_{1A}.

Outros autores (Hoplight et al., 2005) demonstraram que a cocaína facilita a transmissão dopaminérgica nos neurônios da área tegumentar ventral (ATV) que se projetam para o núcleo accumbens, e experimentos prévios sugerem que os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1B} estão envolvidos neste efeito. Especificamente, a ativação de receptores 5-HT_{1B} na ATV durante a exposição a cocaína incrementa a liberação de dopamina no núcleo accumbens, e aumenta a

atividade locomotora, o reforço e a recompensa induzidas pela cocaína. Contudo, a implicação da transmissão serotoninérgica no efeito estimulante da cocaína sobre a atividade locomotora permanece uma questão ainda controversa. Assim, Fletcher et al., (2004), mostraram que um inibidor seletivo da recaptação de serotonina, a fluoxetina, aumenta alguns dos efeitos comportamentais promovidos pela cocaína, incluindo estímulo da atividade locomotora. De acordo com estes autores, este efeito não parece depender de um aumento na função 5-HT, pois a fluoxetina foi também efetiva em ratos com depleção substancial de 5-HT, e dois outros bloqueadores seletivos da recaptação de serotonina não alteraram os efeitos da cocaína.

Estudamos ainda em nosso trabalho uma possível neurotoxicidade celular promovida pela cocaína isoladamente. Em decorrência de sua maior ação sobre neurônios dopaminérgicos, escolhemos trabalhar com cultura de células mesencefálicas de ratos, utilizando como neurotoxina a 6-hidroxidopamina (6-OHDA) isoladamente e em associação com cocaína para um comparativo com as ações promovidas pela cocaína isoladamente.

A determinação da atividade das enzimas mitocondriais pode ser utilizada como ferramenta para se determinar a viabilidade celular. Dentre elas a determinação da clivagem do sal de tetrazólium (MTT) pelas desidrogenases mitocondriais formando um sal de tetrazólium é um ótimo modelo para o estudo de drogas com ação neuroprotetora (GUANGJUN et al., 2002).

Nós mostramos que a cocaína no intervalo de concentrações utilizadas não alterou de maneira significativa a viabilidade celular sobre as células mesencefálicas. Quando associada com a 6-OHDA, a cocaína reverteu significativamente a neurotoxicidade induzida pela 6-OHDA (10 μ M), o que pode ser relacionado com o mecanismo de ação da cocaína promovendo o bloqueio da captação da 6-OHDA pelos neurônios dopaminérgicos.

Avaliamos ainda possíveis alterações sobre o fluxo sanguíneo cerebral através de cintilografia. No presente trabalho, a cocaína promoveu uma redução

significativa do fluxo sanguíneo em relação ao grupo controle, sendo este efeito revertido pelo topiramato. O Abuso de cocaína e outros agentes simpaticomiméticos tem sido reportado como fator de risco para quadros isquêmicos cerebrais por meio de suas ações vasoconstrictoras cerebrais (Zandio et al., 2008; Yoon et al., 2007). Alguns autores sugerem que esta vasoconstrição possa ser mediada pela liberação de uma substância vasoconstrictora endógena, a endotelina 1 (Yoon et al., 2007), mas o mecanismo preciso desta ação permanece desconhecido. Por sua vez, alguns trabalhos recentes têm demonstrado um efeito protetor do topiramato em quadros isquêmicos, mediado por uma possível ação vasodilatadora mediada pelo bloqueio dos receptores α -adrenérgicos (Choi et al., 2007), o que está de acordo com os nossos resultados. Outros trabalhos referem ainda que esta ação protetora do topiramato pode estar relacionada com o bloqueio glutamatérgico, onde a hiperexcitabilidade glutamatérgica é um fator de risco para a hipoxia (Noh et al., 2006).

Ainda em relação a uma possível ação neurotóxica, avaliamos as ações promovidas pela cocaína sobre a formação de nitrito em cérebro de ratos isoladamente e em associação com imipramina e topiramato. Efeitos específicos do óxido nítrico (NO) no complexo I mitocondrial têm sido demonstrados nos últimos anos. Assim, CLEMENTI e cols. (1998) observaram que o NO em concentrações micromolares e por longos períodos de tempo, inibe a respiração e a atividade do complexo I. Assim, uma longa exposição ao NO induz a produção de O_2^- e $ONOO^-$ nas mitocôndrias cardíacas e hepáticas, resultando em inibição permanente de NADH, enquanto os complexos II e III permanecem sem alterações. Uma possível relação entre NO e cálcio durante a isquemia foi descrita recentemente (JEKABSONE et al., 2003), tendo sido demonstrado que o NO e o cálcio causaram perda do citocromo c mitocondrial e ativaram a via de apoptose dependente de caspase 3, eventos que se relacionam com a morte neuronal.

A reação de Griess é um método de espectrometria para análise de nitritos (NO₂⁻) em soluções aquosas. O nitrito é um produto do metabolismo oxidativo do NO. Assim, é possível relacionar os níveis de nitrito e nitrato nas amostras com a formação de radicais livres. Enquanto a produção endógena em níveis satisfatórios de NO pode ser benéfica para o organismo, sua produção excessiva foi implicada na patogenia de muitas doenças envolvendo os sistemas cardiovascular, imunológicos e nervoso central (BARREIRO et al., 2003).

Nós demonstramos que a cocaína aumentou de maneira significativa a formação de nitrito quando comparado ao grupo controle. Numa et al., 2008, sugere uma variedade de mecanismos para a neurotoxicidade gerada pela cocaína, incluindo a possibilidade da cocaína induzir um aumento do estresse oxidativa, da formação de óxido nítrico e derivados e oxidação excessiva da dopamina. Outros trabalhos demonstram que a cocaína promove um aumento na expressão da enzima óxido nítrico sintetase induzível, envolvida com a formação de NO em processos inflamatórios e infecciosos (Elliott et al, 2003). Nos animais tratados com a associação de cocaína com imipramina, a imipramina conseguiu reverter as ações promovidas pela cocaína sobre a formação de nitrito, apresentando assim um potencial neuroprotetor. Estes resultados estão de acordo com os de Kumar et al., (2007), que também demonstraram uma ação redutora do dano e do estresse oxidativo em animais tratados com imipramina. Já o topiramato não conseguiu reverter significativamente as ações da cocaína sobre a formação de nitrito, mas reduziu parcialmente este efeito da cocaína.

Foram realizados ainda estudos histológicos na tentativa de observar possíveis alterações histológicas nos animais tratados com cocaína isoladamente ou em associação com imipramina nas regiões corticais e hipocámpais do cérebro de ratos. Nossos resultados mostraram que os cérebros de ratos tratados com cocaína apresentaram dano significativo no córtex e giro denteado (DG), mas não nas regiões de Ammon (CA1 e CA3) do hipocampo, quando comparado ao grupo controle. Estes resultados estão parcialmente de acordo com os de Ismail et al.,

2007, que observaram uma redução da viabilidade celular promovida pela cocaína em todas as regiões hipocâmpais analisadas. Estudos prévios demonstraram que cocaína induz apoptose em cultura de células corticais de fetos de camundongos (Nassogne et al, 1997). Estudos mais recentes têm sugerido fortemente que a exposição materna a cocaína pode aumentar a morte celular no sistema nervoso central fetal (Mitchell et al, 2003; Novikova et al, 2008). Novikova et al. tem detectado que a exposição a cocaína induz alterações na expressão de alguns genes relacionados a apoptose no cérebro de camundongos e demonstrado que a exposição materna a cocaína pode influenciar a transcrição e expressão de múltiplos genes relacionados com apoptose no cérebro fetal. Outro mecanismo proposto para a perda neuronal está relacionado com o receptor glutamatérgico. A exposição repetida a cocaína aumenta a liberação glutamatérgica do córtex pré-frontal medial para as regiões subcorticais cerebrais. A perda do controle inibitório dos neurônios piramidais corticais pode parcialmente contribuir para o aumento glutamatérgico cortical, causando apoptose neuronal (Xie et al, 2008). No presente estudo mostramos que a imipramina reverteu o efeito promovido pela cocaína, reduzindo a lesão cerebral induzida por esta droga nas regiões cortical e DG do hipocampo. Estudos tem demonstrado que os antidepressivos aumentam promovem um aumento da neurogenese em hipocampo de ratos adultos. Em parte, esta redução na viabilidade celular pode estar relacionada com as alterações promovidas pela cocaína sobre as espécies reativas de oxigênio, conforme demonstrado neste trabalho pelo aumento da formação de nitrito e redução do fluxo sanguíneo cerebral, o que concorda com os resultados obtidos por Aksenov et al., 2006.

Nós demonstramos ainda que a imipramina conseguiu reverter a toxicidade da cocaína sobre a viabilidade celular na região DG hipocâmpal, aumentando a viabilidade celular. Estes resultados estão de acordo com Chen et al., 2008, que observaram que a imipramina promoveria um aumento no número de novas conexões sinápticas e no número de células hipocâmpais em animais

tratados durante 14 dias como imipramina. Larsen et al., 2008 demonstraram que o tratamento crônico com imipramina apresenta ações neuroplásticas no giro dentado através do aumento da expressão de RNAm o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), relacionado com a viabilidade celular.

Vários tipos diferentes de antidepressivos, incluindo antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação de serotonina e também o lítio, aumentam a proliferação neuronal no giro dentado quando administrados cronicamente (Chen et al., 2000; Malberg et al., 2000). Este efeito é pelo menos parcialmente mediado pela ativação de receptores 5-HT_{1A}, pois a depleção destes receptores bloqueia tanto a proliferação quanto os efeitos comportamentais da fluoxetina em testes realizados (Santarelli et al., 2003).

Neurotrofinas, particularmente o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), tem sido implicadas no mecanismo de ação das drogas antidepressivas (Duman et al., 1997; Altar, 1999; Nestler et al., 2002; Saarelainen et al., 2003; Castre'n, 2004). O tratamento crônico com antidepressivos, mas não o agudo, promove *upregulation* do mRNA para BDNF e seu receptor trkB no hipocampo (Nibuya et al., 1995; Russo-Neustadt et al., 2000), e os níveis de BDNF se apresentam-se incrementados em amostras de cérebros *postmortem* de pacientes depressivos tratados com antidepressivos, quando comparado com pacientes depressivos não tratados (Chen et al., 2001). Além do mais, a ativação do trkB é aumentada pelo tratamento com antidepressivos, indicando que os antidepressivos aumentam a liberação de BDNF no córtex pré-frontal e no hipocampo (Saarelainen et al., 2003).

Os antidepressivos parecem também reduzir a perda de volume hipocampal em humanos e reverter alterações atroficas induzidas pelo estresse em animais. Sairanen et al, (2007) sugerem que o tratamento com antidepressivos aumenta a plasticidade e a conectividade sinápticas em regiões cerebrais associadas com várias patologias envolvidas com alterações do humor.

Em conjunto, nossos resultados mostram que alguns, mas não todos os efeitos promovidos pela cocaína são monoamina-dependentes, e é consenso que a neurotransmissão dopaminérgica está certamente envolvida. Contudo, o papel desempenhado pela neurotransmissão serotoninérgica não está claro, sendo possível sua relação com os resultados obtidos nos testes empregados neste trabalho. Além disso, o bloqueio de alguns efeitos comportamentais, neuroquímicos e histológicos da cocaína pela imipramina, topiramato e pentoxifilina constitui um importante aspecto, especialmente no que se refere à atenuação do prejuízo cognitivo promovido pela cocaína e a morte neuronal relacionada a espécies reativas de oxigênio e isquemia cerebral. Porém, a implicação do uso de antidepressivos, anticonvulsivantes e vasodilatadores no tratamento da dependência a cocaína permanece uma questão de debate, e merece estudos futuros.

Portanto mais estudos devem ser realizados para proporcionar um maior conhecimento de como essas substâncias atuam, em diferentes níveis, no organismo humano, contando com a investigação em animais, principalmente em relação a pentoxifilina que apresentou melhores resultados na redução de alguns efeitos promovidos pela cocaína.

6. CONCLUSÕES

6 - CONCLUSÕES

O estudo das alterações neuroquímicas, comportamentais e histológicas promovidas pela cocaína isoladamente e em associação com imipramina, topiramato e pentoxifilina em ratos nos permitiu as seguintes conclusões:

1. Foi observado um aumento significativo da atividade locomotora nos animais tratados com cocaína, sendo que a imipramina conseguiu reverter estas alterações no grupo tratado com a associação, o que demonstra que a cocaína atua como um estimulante do SNC e a imipramina pode promover uma redução desta excitabilidade motora.
2. O Topiramato e a Pentoxifilina também conseguiram bloquear as alterações promovidas pela cocaína sobre a atividade locomotora nos animais tratados com a associação, mostrando assim um possível efeito benéfico destas drogas no tratamento de usuários da cocaína.
3. A cocaína prejudicou significativamente não somente a memória de curto prazo mas também a de longo prazo, indicando uma alteração no processo de aquisição e consolidação da memória. Já a imipramina reverteu completamente os efeitos da cocaína sobre a memória de curto prazo, melhorando o aspecto cognitivo dos animais. O topiramato não conseguiu reverter as alterações da cocaína sobre as funções cognitivas. A pentoxifilina conseguiu reverter as ações promovidas pela cocaína tanto sobre a memória de curto como de longo prazo, mostrando-se uma excelente opção para os prejuízos cognitivos relacionados com a cocaína.

4. A cocaína prejudicou a formação da memória espacial dos animais, sendo este efeito revertido totalmente pela imipramina e pela pentoxifilina e apenas parcialmente pelo topiramato.
5. A cocaína promoveu efeitos ansiogênicos, sendo estes efeitos revertidos parcialmente pela imipramina. O topiramato não promoveu alterações significativas.
6. A cocaína aumentou os níveis de DA e reduziu os níveis de HVA no CE dos ratos, não sendo observadas alterações nos níveis de DOPAC e 5-HT. A Cocaína promoveu ainda aumento dos níveis de NA, sendo este efeito bloqueado pelo topiramato. A imipramina e o topiramato isoladamente não alteraram os níveis de DA e seus metabólitos, porém a imipramina promoveu um aumento significativo de 5-HT. Tanto a imipramina quanto topiramato bloquearam o aumento de DA promovido pela cocaína, neurotransmissor fortemente relacionado com o vício.
7. A cocaína na concentração de 50µg/ml reduziu a morte celular induzida pela 6-OHDA (10 µM) em cultura de células mesencefálicas, quando adicionada 3h antes (modelo de neuroproteção) demonstrando não ser este um mecanismo envolvido com suas ações neurotóxicas.
8. A cocaína promoveu de maneira significativa redução no fluxo sanguíneo cerebral, avaliado por cintilografia, sendo este efeito revertido pelo topiramato.
9. A cocaína promoveu ainda um aumento significativo da formação de nitrito, sendo este efeito revertido totalmente pela imipramina e parcialmente pelo topiramato.

10. As análises histopatológicas de fatias de córtex e hipocampo evidenciaram que a cocaína promoveu um dano significativo nas regiões do giro denteado do hipocampo (16% de perda celular), e no córtex (52.2% de perda celular), sendo que a imipramina reverteu estes efeitos, reduzindo a injúria do giro denteado (1.1% perda celular) e do córtex cerebral (39.4% de perda celular).

11. Nossos experimentos evidenciaram portanto importantes efeitos protetores promovidos pela imipramina, topiramato e pentoxifilina quando associadas com cocaína, especialmente em aspectos relacionados com os níveis de monoaminas, memória, fluxo sanguíneo cerebral e viabilidade celular, suscitando a importância clínica do estudo destas associações e indicando um elevado potencial destas drogas no tratamento de usuários de cocaína.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELSON, H.I.; MILLER, J.D. A decade of trends in cocaine use in the household population. **NIDA Res Monogr.**, v. 61, p. 35-49, 1988.

ACKERMAN, J. M.; WHITE, F. J. A 10 somatodendritic dopamine autoreceptor sensitivity following withdrawal from repeated cocaine treatment. **Neurosci. Lett.**, v. 177, p. 181-187, 1990.

AGARWAL,P.; SEN, S. Cocaine. <http://www.emedicine.com/neuro/topic72.htm>, acess in October 20, 2006.

AKIMOTO, K.; HAMAMURA, T.; KAZAHAYA, Y.; AKIYAMA, K.; OTSUKI, S. Enhanced extracellular dopamine level may be the fundamental neuropharmacological basis of cross-behavioral sensitization between methamphetamine and cocaine - na in vivo dialysis study in freely moving rats. **Brain Res.**, v. 507, p. 344-346, 1990.

AKUNNE, H. C.; DE COSTA, B. R.; JACOBSON, A. E.; RICE, K. C.; ROTHMAN, R. B. (H-3) cocaine labels a *binding*-site associated with the serotonin transporter in guinea-pig brain: Allosteric modulation by paroxetine. **Neurochem. Res.**, v. 17, p. 1275-1283, 1992.

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

ALTAR, C.A. Neurotrophins and depression. **Trends Pharmacol Sci**, v. 20, p. 59-61, 1999.

AMBRE, I.; RUO, T.I.; NELSON, I.; SELKNAP, S. Urinary excretion of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in humans. **J. Anal Toxicol.**, Niles, n.12, p. 301-306, 1988.

AKSENOV, M.Y.; AKSENOVA, M.V.; NATH, A.; RAY, P.D.; MACTUTUS, C.F.; BOOZE, R.M. Cocaine-mediated enhancement of Tat toxicity in rat hippocampal cell cultures: the role of oxidative stress and D1 dopamine receptor. **Neurotoxicology**, v. 27(2), p. 217-28, 2006.

BARAR FSK, VANJANI S, AJMERA SL. The effect of methamphetamine and diazepam on short-term memory in man. **Indian J Pharmacol**, v.12, p. 149-156, 1980.

BARREIRO, E.; GEA, J.; COROMINAS, J.M.; HUSSAIN, S.N. Nitric oxide synthases and protein oxidation in the quadriceps femoris of COPD patients. **Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.**, v.29, p.771-778, 2003.

BEAR, M. F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M.A. Neurociências: desvendando o sistema nervoso. 2. ed. Porto Alegre, Artmed, p. 140-147, 2001.

BEEDELE, D. Differential diagnosis of substance abuse and dependence. In: MILLER, N.S. The principles and practice of addictions in psychiatry. Philadelphia: **W.B. Saunders Company**, p.113-118, 1997.

BERTORELLI, R.; CONSOLO, S. D1 and D2 dopaminergic regulation of acetylcholine release from striata of freely moving rats. **J. Neurochem.**, v. 54, p. 2145-2148, 1990.

BJORKLUND, A.; LINDVALL, O. Dopamine containing systems in CNS. In: BJORKLUND, A., HOKFELT, T. (Ed). **Handbook of chemical neuroanatomy.**, v.2, pt.1, p.55-122, 1984.

BLAKELY, R. D.; BERSON, H. E.; FREMEAU, JR., R. T.; CARON, M. G.; PEEK, M. M.; PRINCE, H. K.; BRADLEY, C. C. Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. **Nature.**, v. 354, p. 66-70, 1991.

BLATT, S.L.; TAKAHASHI, R.N. Memory-impairment effects of local anesthetics in an elevated plus-maze test in mice. **Braz J Med Biol Res**, v. 31, p. 555-559, 1998.

BLUTHÉ, R.M.; FRENOIS, F.; KELLEY, K.W.; DANTZER, R. Pentoxifylline and insulin-like growth factor-I (IGF-I) abrogate kainic acid-induced cognitive impairment in mice. **J Neuroimmunol.** v.169(1-2), p. 50-8, 2005.

BOLLA, K.I.; ROTHMAN, R.; CADET, J.L. Dose-related neurobehavioral effects of chronic cocaine use. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci.** v. 11(3), p. 361-9, 1999.

BOURGEOIS, B.F. New antiepileptic drugs. **Curr Opin Pediatr**; v. 8, p.543-8, 1996.

BOZARTH, M. A.; WISE, R. A. Involvement of the ventral tegmental dopamine system in opioid and psychomotor reinforcement. In: HARRIS, L. S. (Ed.). **Problems of drug dependence**. Washington, D. C.: NIDA, (NIDA Research Monograph, n° 67), p. 190-196, 1986.

BRADBERRY, C. W.; ROTH, R. H. Cocaine increases extracellular dopamine in rat nucleus accumbens and ventral tegmental area as shown by *in vivo* microdialysis. **Neurosci. Lett.**, v. 103, p. 97-102, 1989.

BRADBERRY, C.W., NOBILETTI, J., ELSWORTH, J.D., MURPHY, B., JATLOW, P. AND ROTH, R.H.; Cocaine and cocaethylene: Microdialysis comparison of brain drug levels and effects on dopamine and serotonin. **J. Neurochem.** v. 60, p. 1429-1435, 1993.

BRODERICK, P.A.; HOPE, O.; OKONJI, C.; RAHNI, D.N.; ZHOU, Y. Clozapine and cocaine effects on dopamine and serotonin release in nucleus accumbens during psychostimulant behavior and withdrawal. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28(1), p. 157-171, 2004.

BROWN, R. M. Pharmacology of cocaine abuse. In: REDDA, K. K.; WALKER, C. A.; BARNETT, G. (Eds.). Cocaine, marijuana, designer drugs: chemistry, pharmacology and behavior. **Boca Raton, Fla.:** CRC Press, p. 39-52, 1989.

BUBAR, M.J.; CUNNINGHAM, K.A. Serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} Receptors as Potential Targets for Modulation of Psychostimulant Use and Dependence. **Bentham Science Publishers Ltd**, v. 6, 1971-1985, 2006

BURKE, R. E.; GREENBAUN, D. Effect of post-mortem factors on muscarinic receptor subtypes in rat brain. **J. Neurochem.**, v. 49, p. 592-596, 1987.

BURT, D.B.; ZEMBAR, M.J.; NIEDEREHE, G. Depression and memory impairment: a meta-analysis of the association, its pattern, and specificity. **Psychol Bull.** v.117, p. 285-305, 1995.

CAGETTI, E.; BAICY, K.J.; OLSEN, R.W. Topiramate attenuates withdrawal signs after chronic intermittent ethanol in rats. **Neuroreport.** v.15(1), p. 207-10, 2004.

CAMI, J.; DE LA TORRE, R.; FARRÉ, M.; ORTUNO, J.; SEGURA, J. Cocaine-alcohol interaction in healthy volunteers: Plasma metabolic profile including cocaethylene. **CPDD Annual Scientific Meeting Abstracts**. 1991.

CARBONI, E.; IMPERATO, A.; PEREZZANI, L.; DI CHIARA, G. Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular

dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. **Neuroscience**, v. 28, p. 653-661, 1989.

CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E.; SHANAHAN, A.; MULLER, C.P.; HUSTON, J.P. Evidence that the 5-HT_{1A} autoreceptor is an important pharmacological target for the modulation of cocaine behavioral stimulant effects. **Brain Res**, v. 1034(1-2), p. 162-171, 2005.

CARROLL, F. I.; LEWIN, A.H.; BOJA, J. W.; KUHAR, M. J. Cocaine receptor: biochemical characterization and structure-activity relationships of cocaine analogues as the dopamine transporter. **J. Med. Chem.**, v. 35, p. 969-981, 1992.

CASTRE'N, E. Neurotrophic effects of antidepressant drugs. **Curr Opin Pharmacol**, v. 4, p. 58-64, 2004.

CHAIT, L. D.; UHLENHUTH, E. H.; JOHANSON, C. E. Reinforcing and subjective effects of several anorectics in normal human volunteers. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 242, p. 777-783, 1987.

CHENGAPPA, K.N.; TOHEN, M.; LEVINE, J.; JACOBS, T.; THASE, M.E.; SANGER, T.M.; KUPFER, D.J. Response to placebo among bipolar I disorder patients experiencing their first manic episode. **Bipolar Disord.** Dec;2(4):332-5, 2000.

CHEN, B.; DOWLATSHAHI, D.; MACQUEEN, G.M.; WANG, J.F.; YOUNG, L.T. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. **Biol Psychiatry**, v. 50, p. 260-265, 2001.

CHEN, G.; RAJKOWSKA, G.; DU, F.; SERAJI-BOZORGZAD, N.; MANJI, H.K. Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium. **J Neurochem.** v. 75, p. 1729-1734, 2000.

CHEN, F.; MADSEN, T.M.; WEGENER, G.; NYENGAARD, J.R. Changes in rat hippocampal CA1 synapses following imipramine treatment. **Hippocampus**; v. 18(7), p. 631-9, 2008.

CHOI, J.J.; HUANG, G.J.; SHAFIK, E.; WU, W.H.; MCARDLE, J.J. Imipramine's selective suppression of an L-type calcium channel in neurons of murine dorsal root ganglia involves G proteins. **J Pharmacol Exp Ther.** Oct;263(1):49-53, 1992.

CHOI, J.W.; KIM, W.K. Is topiramate a potential therapeutic agent for cerebral hypoxic/ischemic injury? **Exp Neurol.** v.203, p. 5-7, 2007.

CHURCH, W. H.; JUSTICE, J. B.; BYRD, L. D. Extracellular dopamine in rat striatum following uptake inhibition by cocaine, nomifensine and bntropine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 39, p. 345-348, 1987.

CIVELLI, O.; BUNZOW, J. R.; GRANDY, D. K. Molecular diversity of dopamine receptors. **Ann. Ver. Pharmacol. Toxicol.**, v.32, p. 281-307, 1993.

CLEMENTI, E.; BROWN, G. C.; FEELISCH, M.; MONCADA, S. Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v.95, p.7631-7636, 1998.

COLLINS, K. A.; DAVIS, G. J.; LANTZ, P. E. An unusual case of maternal-fetal death due to vaginal insufflation of cocaine. **Am. J. Forensic Med. Pathol.**, v. 15, p. 335-339, 1994.

COMMISSARIS, R. L. Cocaine pharmacology and toxicology. In: REDDA, K. K.; WALKER, C. A.; BARNETT, G. (Ed.). Cocaine, marijuana, designer drugs, chemistry, pharmacology and behavior. **Boca Raton, Fla.**: CRC Press, p. 71-82, 1989.

CONSOLO, S.; LARDINSKY, H.; BIANCHI, S. Decreased in rat striatal acetylcholine levels by some direct- and indirect-acting dopaminergic antagonist. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 33, p. 345-351, 1975.

CONSOLO, S.; WU, C.F.; FUSI, R. D1-receptor-linked mechanism modulates cholinergic neurotransmission in rat striatum. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 242, p. 300-305, 1987.

CORNISH, J.L.; KALIVAS, P.W. Glutamate transmission in the nucleus accumbens mediates relapse in cocaine addiction. **J Neurosci**; 20 (15): RC89, 2000.

COSTA, E.; CHUANG, D.M.; BARBACCIA, M.L.; GANDOLFI, O.; Molecular mechanisms in the action of imipramine. **Experientia**. Aug 15;39(8):855-8, 1983.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; COLLINS, T.; Robbins Pathologic of disease. 6^a edição, p. 369-371, 1999.

COX, T.; JACOBS, M.; LEBLANC, A.; MARSHMAN, J. (Ed.). **Drugs and drug abuse: a reference text**. Toronto: Addiction Research Foundation Press, 1983.

CUELLAR-QUINTERO, J.L.; GARCÍA, D.E.; CRUZBLANCA, H. The antidepressant imipramine inhibits the M-type K⁺ current in rat sympathetic neurons. **Neuroreport**. Jul 20;12(10):2195-8, 2001.

CUNHA-OLIVEIRA, T.; REGO, A.C.; OLIVEIRA, C.R. Cellular and molecular mechanisms involved in the neurotoxicity of opioid and psychostimulant drugs **Brain Res Rev.**, v. 58(1), p. 192-208, 2008.

DACKIS, C. A.; GOLD, M. S.; SWEENEY, D. R.; BYRON, J. P. Jr.; CLIMKO, R. Single-dose bromocriptine reverses cocaine craving. **Psychiatr. Res.**, v. 20, p. 261-264, 1987.

DAHLSTROM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. Demonstration of monoamine-containing neurons in the cell bodies of brainstem neurons, **Acta Physiol. Scand.** 62 (Suppl. 232) (1964) 231 / U. UNGERSTEDT, Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain, **Acta Physiol. Scand.** Suppl 367, p. 1-48, 1971.

DAHLSTROM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. **Acta Physiol. Scand.**, v. 62, p. 1-55, 1964.

DALLEY, J.W.; LÄÄNE, K.; PENA, Y.; THEOBALD, D.E.; EVERITT, B.J.; ROBBINS, T.W. Attentional and motivational deficits in rats withdrawn from intravenous self-administration of cocaine or heroin. **Psychopharmacology**, v. 182(4), p. 579-87, 2005.

DAMSMA, G.; DEBOER, P.; WESTERINK, B.H.C.; FIBIGER, H.C. Dopaminergic regulation of striatal cholinergic interneurons: a *in vivo* microdialysis study. **Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.**, v. 342, p. 523-527, 1990a.

D'AQUILA, P.S.; PEANA, A.T.; PANIN, F.; GRIXONI, C.; COSSU, M.; SERRA, G. Reversal of antidepressant-induced dopaminergic behavioural supersensitivity after long-term chronic imipramine withdrawal. **Eur J Pharmacol.** V. 458(1-2), p. 129-34, 2003.

DAVIS, K.L.; HOLLISTER, L.E.; BERGER, P.A.; BARCHAS, J.D. Cholinergic imbalance hypotheses of psychoses and movement disorders: strategies for evaluation. **Psychopharmacol. Commun.**, v. 1, p.533-543, 1975.

DELORENZO, R.J.; SOMBATI, S.; COULTER, D.A. Effects of topiramate on sustained repetitive firing and spontaneous recurrent seizure discharges in cultured hippocampal neurons. **Epilepsia**; v. 41(suppl 1), p. 40–4, 2000.

DI CHIARA, G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. **Drug Alcohol Depend.**, v. 38, p. 95-137, 1995.

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

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

DODGSON, S.J.; SHANK, R.P.; MARYANOFF, B.E. Topiramate as an inhibitor of carbonic anhydrase isoenzymes. **Epilepsia**; v. 41(suppl 1), p. 35–9, 2000.

DOMBROWSKI, A. M.; JERKINS, A. A.; KAUFFMAN, F. C. Muscarinic receptor *binding* and oxidative activities in the adult rat superior cervical ganglion: effects of 6-hydroxydopamine and nerve growth factor. **J. Neurosci.**, v. 3, p. 1963-1970, 1983.

DRACHMAN, D.A.; LEAVITT, J. Human memory and cholinergic system. A relationship to aging? **Arch. Neurol.**, v.30, p.113-121, 1974.

DREIXLER, J.C.; BIAN, J.; CAO, Y.; ROBERTS, M.T.; ROIZEN, J.D.; HOUAMED, K.M. Block of rat brain recombinant SK channels by tricyclic antidepressants and related compounds. **Eur J Pharmacol.** Jul 28;401(1):1-7, 2000.

DUMAN, R.S.; HENINGER, G.R.; NESTLER, E.J. A molecular and cellular theory of depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 54, p. 597– 606, 1997.

DUPONT, R. Psychotherapy in addictive disorders. In: MILLER, N.S. The principles and practice of addictions in psychiatry. **Philadelphia: W.B. Saunders**, 1997.

EHLERT, F.J.; ROESKE, W.R.; YAMAMURA, H.I.; Molecular biology and brain distribution of subtypes of the muscarinic receptor. In BLOOM, F.E.;

KUPFER, D.J.; **Psychopharmacol.** New York: Raven Press, cap. 10, p. 111-124, 1995.

ELLIOTT, J.C.; JAMES, S.G.; LYSLE, D.T. Cocaine increases inducible nitric oxide synthase expression in rats: effects of acute and binge administration. **Int Immunopharmacol.** v. 3(7), p. 1011-8, 2003.

ESCOHOTADO, A. A história das drogas. 3. ed. Madrid: Alianza Editorial, p. 94-135, 1996.

FELDMAN, D. J.; FRANK, R. A.; KEHNE, J. H.; FLANNERY, R.; BROWN, D.; SONI, S.; BYRD, G.; SHAH, S. Mixed D₂/5-HT₂ antagonism differentially affects apomorphine- and amphetamine-induced stereotyped behavior. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 58, p. 565-572, 1997.

FIELDER, E. P.; MARKS, M. J.; COLLINS, A. C. Postnatal development of cholinergic enzymes and receptors in mouse brain. **J. Neurochem.**, v. 49, p. 983-990, 1987.

FLETCHER, P.J.; SINYARD, J.; SALSALI, M.; BAKER, G.B. Fluoxetine, but not sertraline or citalopram, potentiates the locomotor stimulant effect of cocaine: possible pharmacokinetic effects. **Psychopharmacol.** v. 174(3), p. 406-413, 2004.

GARBUTT, J.C. The state of pharmacotherapy for the treatment of alcohol dependence. **J Subst Abuse Treat.** v. 36(1), S15-23, 2008.

GAWIN, F. H. Cocaine addiction: psychology and neurophysiology, **Science**, v. 251, p. 1580-1586, 1991.

GIANNINI, A. J; MALONE, D. A.; GIANNINI, J. C.; PRICE, W. A.; LOISELLE, R. H. Treatment of depression in chronic cocaine and phencyclidine abuse with desipramine. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 26, p. 211-214, 1986.

GOEDERS, N. E.; SMITH, J. E. Cortical dopaminergic involvement in cocaine reinforcement. **Science**, v. 221, p. 773-775, 1983.

GOLDSTEIN, R.Z.; LESKOVIAN, A.C.; HOFF, A.L.; HITZEMANN, R.; BASHAN, F.; KHALSA, S.S.; WANG, G.J.; FOWLER, J.S.; VOLKOW, N.D. Severity of neuropsychological impairment in cocaine and alcohol addiction in association with metabolism in the prefrontal cortex. **Neuropsychologia**, v. 42(11), p. 1447-1458, 2004.

GOLTFRIED, M.R.; KLOSS, M.W.; GRAHAM, D.; RAUKMAN, E.J. and ROSEN, G.M. Ultrastructure of experimental cocaine hepatotoxicity. **Hepatology** v. 6, p. 299-304, 1986.

GOOSENS, K.A.; MAREN, S. NMDA receptors are essential for the acquisition, but not expression, of conditional fear and associative spike firing in the lateral amygdala. **Eur. J. Neurosci.** V. 20, p. 537–548, 2004.

GRANT, B.F.; HARDFORD, T.C. Current and simultaneous use of alcohol with cocaine: results of a national survey. **Drug Alcohol Depend** v. 25, p. 97-104, 1990.

GAVRILOVA-RUCH, O.; SCHÖNHERR, K.; GESSNER, G.; SCHÖNHERR, R.; KLAPPERSTÜCK, T.; WOHLRAB, W.; HEINEMANN, S.H. Effects of imipramine on ion channels and proliferation of IGR1 melanoma cells. **J Membr Biol.** Jul 15;188(2):137-49, 2002.

GRILLI, M.; WRIGHT, A. G.; HANBAUER, I. Characterization of (3H)-dopamine uptake sites and (3H)-cocaine recognition sites in primary cultures of mesencephalic neurons during in vivo development. **J. Neurochem.**, v. 56, p. 2108-2115, 1991.

GUANGJUN, N.; CHAOFANG, J.; YUANLIN, C.; SHENGRONG, S.; BAOLU, Z. Distinct Effects of Tea Catechins on 6-Hydroxydopamine-Induced Apoptosis in PC12 Cells. **Arch. Biochem. Biophys.**, v.397, p.84-90, 2002.

GUYENET, P.G.; AGID, Y.; JAVOY, F.; BEAUJOUAN, J.C.; ROSSIER, J; GLOWINSKI, J. Effects of dopamine receptor agonist and antagonist on the activity of the neo-striatal cholinergic system. **Brain Res.**, v. 84, p. 227-244, 1975.

HALL, W. C.; TALBERT, R. L.; ERESHEFSKY, L. Cocaine abuse and its treatment. **Pharmacotherapy**, v. 10, p. 47-65, 1990.

HARGREAVES, G.H.A.; MCGREGOR, I.S. Topiramate Moderately Reduces the Motivation to Consume Alcohol and Has a Marked Antidepressant Effect in Rats. **Alcohol Clin Exp Res**, v.. 31, (11), p. 1900–1907, 2007.

HEARN, W.L.; ROSE, S.; WAGNER, J.; CIARLEGLIO, A. AND MASH, D.C. Cocaethylene is more potent than cocaine in mediating lethality. **Pharmacology, Biochemistry and behavioral**, v. 39, p. 531-533, 1991.

HEARN, W.L.; FLYNN, D.D.; HIME, G.W.; ROSE, S.; COFINO, J.C.; MANTERO-ATIENZA, E.; WETLI, C.; MASH, D.C. Cocaethylene: a unique cocaine metabolite displays high affinity for the dopamine transporter. **J Neurochem** v. 56, p. 698-701, 1991.

HEIDBREDER, C.A.; HAGAN, J.J. Novel pharmacotherapeutic approaches for the treatment of drug addiction and craving. **Curr Opin Pharmacol**; 5 (1): 107-18, 2005.

HENRY, D. J.; GREENE, M. A.; WHITE, F. J. J. Electrophysiologic effects of cocaine in the mesopaccumbens dopamine system: repeated administration. **J. Exp. Ther.**, v. 251, p. 833-839, 1989.

HENRY, D. J.; WHITE, F. J. Repeated cocaine administration causes persistent enhancement of D₁ dopamine receptor sensitivity within the rat nucleus accumbens. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 258, p. 882-890, 1991.

HERNANDEZ, L.; GUZMAN, N. A.; HOEBEL, B. G. Bidirectional microdialysis in vivo shows differential dopaminergic potency of cocaine, procaine and lidocaine in the nucleus accumbens using capillary eletrophoresis for calibration of drug outward diffusion. **Psychopharmacology**, v. 105, p. 264-268, 1991.

HERNANDEZ, L.; HOEBEL, B. G. Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. **Life Sci.**, v. 42, p. 1705-1712, 1988.

HERNANDEZ, L.; LEE, F.; HOEBEL., B. G. Microdialysis in the nucleus accumbens during feeding or drugs of abuse: amphetamine, cocaine, phencyclidine. **Ann. N. Y. Acad. Sci. USA**, v. 537, p. 508-511, 1988.

HIGASHI, H.; INANAGA, K.; NISHI, S.; UCHIMURA, N. E. Enhancement of dopamine actions on rat nucleus accumbens neurones in vitro after methamphetamine pretreatment. **J. Physiol.**, v. 408, p. 587-603, 1989.

HIGGINS, S. T.; BICKEL, W. K.; HUGHES, J. R.; LYNN M.; CAPELESS, M. A.; FENWICK J. W. Effects of intranasal cocaine on humans learning, performance and physiology. **Psychopharmacology**, v. 102, n. 4, p. 451- 458, 1990.

HOEBERT, M.; HOUBEN, M.P.; JANSEN, B.P.; DE KORT, P.L. Cerebral infarction after cocaine use. **Ned Tijdschr Geneeskd.** v.150(51), p. 2789-93, 2006.

HOFFMAN, B. J.; MEZEY, E.; BROWNSTEIN, M. J. Cloning of a serotonin transporter affected by antidepressants. **Science**, v. 254, p. 579-580, 1991.

HOPLIGHT, B.J.; VINCOW, E.S.; NEUMAIER, J.F. The effects of SB 224289 on anxiety and cocaine-related behaviors in a novel object task. **Physiol Behav**, v. 84(5), p. 707-714, 2005.

HORN, H.J. [Endogenous depression and sexual behavior]. **Fortschr Neurol Psychiatr Grenzgeb**. Dec;39(12):668-98, 1971.

HOROWITZ, J.M.; KRISTAL, M.B.; TORRES, G. Differential behavioral responses to cocaethylene of Long–Evans and Sprague–Dawley rats: role of serotonin, **Synapse** v. 26, p. 11–21, 1997.

HORVATH, B.; VEKASI, J.; KESMARKY, G.; TOTH, K. In vitro antioxidant properties of pentoxifylline and vinpocetine in a rheological model. **Clin Hemorheol Microcirc.**; v. 40(2), p. 165-6, 2008.

HU, R.; YUAN, B.X.; SU, L.Z.; WEI, X.Z.; ZHAO, L.M.; KANG, J.; CHEN, D. Pentoxifylline promotes learning and memory function of aging rats and mice with induced memory impairment. **Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao**. v.27(11), p. 1734-7, 2007.

HURD, Y. L.; UNGESTEDT, U. Cocaine: An in vivo microdialysis evaluation of its acute action on dopaminergic transmission in rat striatum. **Synapse**, v. 3, p. 48-54, 1989.

IMPERATO, A.; OBINU, M.C.; CASU, M.A.; MASCIA, M.S.; DAZZI, L.; GESSA, G.L. Evidence that neuroleptics increase striatal acetylcholine release through stimulation of dopamine D1 receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 266, p. 557-562, 1993.

ISMAIL, Z.I.; BEDI, K.S. Rats exposed to cocaine during late gestation and early postnatal life show deficits in hippocampal pyramidal and granule cells in later life. **J Anat**. v. 210(6), p. 749-60, 2007.

JATLOW, P. Cocaethylene: Pharmacologic activity and clinical significance. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 15, p. 533-536, 1993.

JENTSCH, J.D.; OLAUSSON, P.; DE LA GARZA, R.; TAYLOR, J.R. Impairments of reversal learning and response perseveration after repeated, intermittent cocaine administrations to monkeys. **Neuropsychopharmacology**, v. 26(2), p. 183-90, 2002.

JEKABSONE, A.; IVANOVIENE, L.; BROWN, G.C.; BORUTAITE, V. Nitric oxide and calcium together inactivate mitochondrial complex I and induce cytochrome c release. **J. Mol. Cell Cardiol.**, v.35, p.803-809, 2003.

JOHANSON, C. E.; FISCHMAN, M. W. The pharmacology of cocaine related to its abuse. **Pharmacol. Rev.**, v. 41, n. 1, p. 3-52, 1989.

JOHNSON, D. N.; VOCCI, F. J. Medications development at the National Institute on Drug Abuse: Focus on cocaine. In: TIMS, F. M.; LEUKEFELD, C. G. (Eds.) Cocaine treatment: research and clinical perspectives Rockville, Md.: **NIDA**, p. 57-70, 1993.

JOHNSON, B.A.; AIT-DAOUD, N.; BOWDEN, C.L.; Oral topiramate for treatment of alcohol dependence: a randomised controlled trial. **Lancet**, v.361, p. 1677-85, 2003.

JOHNSON, B.A. Recent advances in the development of treatments for alcohol and cocaine dependence. **CNS Drugs**; 19 (10): 873-96, 2005.

JONES, R. T. Psychopharmacology of cocaine. In: WASHTON, A. M.; GOLD, M. S. (Ed.) Cocaine: a clinician's handbook. **New York: Guilford**, p. 55-72, 1987.

JOVANOVSKI, D.; ERB, S.; ZAKZANIS, K.K. Neurocognitive deficits in cocaine users: a quantitative review of the evidence. **J Clin Exp Neuropsychol**, v. 27(2), p. 189-204, 2005.

KALIVAS, P. W.; DUFFY, P. D1 receptors modulate glutamate transmission in the ventral tegmental area. **J Neurosci.**, v. 15, n. 7 pt 2, p. 5379-5388, 1995.

KALIVAS, P. W.; BARNES, C. D. (Ed.) **Sensitization in the nervous system.** Caldwell, N. J.: Telford , p. 175-205, 1988.

KALIVAS, P. W.; DUFFY, P. Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. **Synapse**, v. 5, p. 48-58, 1990.

KALIVAS, P. W.; SORG, B. A.; HOOKS, M. S. The pharmacology and neural circuitry of sensitization to psychostimulants. **Behav. Pharmacol.**, v. 4, p. 315-334, 1993.

KALIVAS, P. W.; STEWART, J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Res. Rev.**, v. 16, p. 223-244, 1991.

KALIVAS, P. W.; STRIPLIN, C. D.; STEKETEE, J. D.; KLITENICK, M. A.; DUFFY, P. Cellular mechanisms of behavioral sensitization to drugs of abuse. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 654, p. 128-135, 1992.

KALIVAS, P.W.; VOLKOW, N.D. The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. **Am J Psychiatry**; 162 (8): 1403-13 34, 2005.

KANEL, G.C.; CASSIDY, W.; SHUSTER, L.; REYNOLDS, T.B. Cocaine-induced liver cells injury: comparison of morphological features in man and in experimental models. **Hepatology** v. 11, p. 646-651, 1990.

KARSON, C.N.; GARCIA-RILL, E.; BIEDERMANN, J. The brain stem reticular formation in schizophrenia. **Psychiatry Res. Neuroimaging**, v. 40, p. 31-48, 1991.

KAZAHAYA, Y.; AKIMOTO, K.; SABURO, O. Subchronic methamphetamine treatment enhances methamphetamine or cocaine-induced dopamine efflux in vivo. **Biol. Psychiatry**, v. 25, p. 903-912, 1989.

KEBABIAN, J. W.; CALNE, D. B. Multiple receptors for dopamine. **Nature**, v. 277, p. 93-96, 1979.

KENDALL, S. Cocaine. Austin, Texas: **Steck-Vaughan Library**, 1991.

KESSLER, R. M.; ANSARI, M. S.; SCHMIDT, D. E.; DE PAULIS, T.; CLANTON, J. A.; INNIS, R.; AL TIKRITI, M.; MANNING, R. G.; GILLESPIE, D. High affinity dopamine D₂ receptors. **Life Sci.**, v. 49, n. 8, p. 617-628, 1991.

KHAN, S.H.; WRIGHL, S.L.; BANIGESH, A.. Antiischemic effects of topiramate in a transient global forebrain ischemia model: a neurochemical, histological, and behavioral evaluation. **Neurochem Res**; v. 28, p. 1235-9, 2003.

KHANTZIAN, E. J.; KHANTZIAN, N. J. Cocaine addiction: is there a psychological predisposition? **Psychiat. Ann.**, v. 14, n. 10, p. 753-759, 1984.

KILTY, J. E.; LORANG, D.; AMARA, S. G. Cloning and expression of a cocaine-sensitive rat dopamine transporter. **Science**, v. 254, p. 578-579, 1991.

KITAMAYA, S.; SHIMADA, S.; XU, H.; MARKHAM, L.; DONOVAN, D. M.; UHL, G. R. Dopamine transporter site-directed mutations differentially alter

substrate transport and cocaine *binding*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 9, p. 7782-7785, 1992.

KIYATKIN, E.A.; REBEC, G.V. Dopamine-independent action of cocaine on striatal and accumbal neurons. **Eur J Neurosci**, v. 12(5), p. 1789-, 2000.

KOGAN, M.J., VEREBEY, K.G., DEPACE, A.C., RESNICK, R.B., AND MULÉ, S.J. Quantitative determination of benzoylecgonine and cocaine in human biofluids by gas-liquid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 49(13), p. 1965-1968, 1997.

KOOB, G. F.; BLOOM, F. E. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. **Science**, v. 242, p. 715-723, 1988.

KOOB, G. F.; LE H. T.; CREESE, I. The dopamine receptor antagonist SCH 23390 increases cocaine self-administration in the rat. **Neurosci. Lett.**, v. 79, p. 315-320, 1997.

KOSTEN, T. R. Neurobiology of abused drugs: Opioids and stimulants. **J. Nerv. Ment. Dis.**, v. 178, n. 4, p. 217-227, 1990.

KREEK, M.J.; LAFORGE, K.S.; BUTELMAN, E. Pharmacotherapy of addictions. **Nat Rev Drug Discov**; 1 (9): 710-26, 2002.

KUCZENSKI, R.; SEGAL, D. S. Concomitant characterization of behavioral and striatal neurotransmitter response to amphetamine using in vivo microdialysis. **J. Neurosci.**, v. 9, p. 2051-2065, 1989.

KUHAR, M. J.; PLATT, J. J. **Cocaine** addiction: theory, research, and treatment: Cambridge: Harvard University Press, 1996

KUHAR, M. J.; RITZ, M. C.; BOJA, J. W. The dopamine hypothesis of the reinforcing properties of cocaine. **Trends Neurosci.**, v. 14, n. 7, p. 299-302, 1991.

KUHN, R. The treatment of depressive states with G 22355 (imipramine hydrochloride). **Am J Psychiatry**. Nov;115(5):459-64,1958.

KUMAR, A.; SINGH, A. Protective effect of St. John's wort (*Hypericum perforatum*) extract on 72-hour sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and oxidative damage in mice. **Planta Med.** v. 73(13), p.1358-64, 2007.

KUO, C.C. Imipramine inhibition of transient K⁺ current: an external open channel blocker preventing fast inactivation. **Biophys J.** Dec;75(6):2845-57, 1998.

LAROCHE, S.M.; HELMERS, S.L. The new antiepileptic drugs: Scientific review. **Journal of the American Medical Association**, v.291, p. 605–614, 2004.

LARSEN, M.H.; HAY-SCHMIDT, A.; RØNN, L.C.; MIKKELSEN, J.D. Temporal expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA in the rat hippocampus after treatment with selective and mixed monoaminergic antidepressants. **Eur J Pharmacol.** v.578, p. 114-22, 2008.

LEE, S.R.; KIM, S.P.; KIM, J.E. Protective effect of topiramate against hippocampal neuronal damage after global ischemia in the gerbils. **Neurosci Lett**; v. 281, p. 183–6, 2000.

LEITE, M. C. Cocaína e crack: dos fundamentos ao tratamento. Porto Alegre, Editora Artes Médicas Sul Ltda, 1999.

LEWIS, D.D.; WOODS, S.E.; Fetal alcohol syndrome. **Am Fam Physician** 50, p.1025, 1994.

LIEBER, C.S. Hepatic, metabolic, and nutritional disorders of alcoholism: from pathogenesis to therapy. **Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.**, v. 37, p.551-584, 2000.

LIEBER, C.S., Medical disorders of alcoholism. **N. England J. Med.** 333, p.1058, 1995.

LIMA, M.S.; REISSER, A.P.P.; SOARES, B.G.O.; FARREL, M. Antidepressants for cocaine dependence. **The Cochrane Database of Systematic Reviews**, Issue 2. Art. No. CD002950.DOI: 10.1002/14651858.CD002950, 2003.

LISTER, R.G., The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, 92: 180-185, 1987.

LITTLE, K. Y.; KIRKMAN, J. A.; CARROLL, F. I.; CLARK, T. B.; DUNCAN, G. E. Cocaine use increases (3H)WIN 35428 *binding* sites in human striatum. **Brain Res.**, v. 628, n. 1-2, p. 17-25, 1993.

LIU, Q.S.; PU, L.; POO, M.M. Repeated cocaine exposure in vivo facilitates LTP induction in midbrain dopamine neurons. **Nature**, v. 437(7061), p. 1027-1031, 2005.

LOPES, L.S.; PEREIRA, S.S.; SILVA, L.L.; FIGUEIREDO, K.A.; MOURA, B.A.; ALMEIDA, F.R.; SOUSA, F.C. Antinociceptive effect of topiramate in models of acute pain and diabetic neuropathy in rodents. **Life Sci.**, 2008.

MACEDO, D.S.; SANTOS, R.S.; BELCHIOR, L.D.; NETO, M.A.; VASCONCELOS, S.M.; LIMA, V.T.; FONTELES, M.M.; VIANA, G.S.; SOUSA, F.C. Effect of anxiolytic, antidepressant and antipsychotic drugs on cocaine-induced seizures and mortality. **Epilepsy Behav**, v. 5(6), p. 852-856, 2004.

MAURICE, T.; ROMIEU, P.; PHAN, V.L.; MARTIN-FARDON, R. Involvement of the sigma(1) receptor in cocaine-induced conditioned place preference: possible dependence on dopamine uptake blockade. **Neuropsychopharmacology**, v. 26(4), p. 444-55, 2002.

MALBERG, J.E.; EISCH, A.J.; NESTLER, E.J.; DUMAN, R.S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. **J Neurosci**, v. 20, p. 9104–9110, 2000.

MCDOWELL, D.; NUNES, E.V.; SERACINI, A.M.; ROTHENBERG, J.; VOSBURG, S.K.; MA, G.J.; PETKOVA, E. Desipramine treatment of cocaine-dependent patients with depression: a placebo-controlled trial. **Drug Alcohol Depend**, v. 80(2), p. 209-221, 2005.

MINOZZI, S.; AMATO, L.; DAVOLI, M.; FARRELL, M.; LIMA REISSER, A.A.; PANI, P.P.; SILVA DE LIMA, M.; SOARES, B.; VECCHI, S. Anticonvulsants for cocaine dependence. **Cochrane Database Syst Rev**, v.16(2):CD006754, 2008.

MITCHELL, E.S.; SNYDER-KELLER, A. c-fos and cleaved caspase-3 expression after perinatal exposure to ethanol, cocaine, or the combination of both drugs. **Brain Res Dev Brain Res.**, v. 147, p. 107-117, 2003.

MOGHADDAM, B.; BUNNEY, B. S. Differential effect of cocaine on extracellular dopamine levels in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens: Comparison to amphetamine. **Synapse**, v. 4, p. 156-161, 1989.

MOGHADDAM, B.; ROTH, R. H.; BUNNEY, B. S. Characterization of dopamine release in the rat medial prefrontal cortex as assessed by in vivo

microdialysis: comparison to the striatum. **Neuroscience**, v. 36, p. 669-676, 1990.

MUSTO, D.F. Cocaine's history, especially the American experience. In: CIBA FOUNDATION SYMPOSIUM. Cocaine: scientific and social dimensions. **Chichester: John & Sons**, p.7-19, 1992.

MUSTO, D.F. Opium, cocaine and marijuana in american history. **Scient. Am.**, v.27, p. 40-47, 1991.

NASSOGNE, M.C.; LOUAHED, J.; EVRARD, P.; COURTY, P.J. Cocaine induces apoptosis in cortical neurons of fetal mice. **J. Neurochem.** v. 68, p. 2442-2450, 1997.

NAKAMURA, S.; AGO, Y.; HAYASHI, A.; ITOH, S.; KAKUDA, M.; HASHIMOTO, H.; BABA, A.; MATSUDA, T. Modification of cocaine-induced behavioral and neurochemical effects by serotonin1A receptor agonist/antagonist in mice. **Synapse**. v. 1;60(7), p. 479-84, 2006.

NEGRETE, J.C. Cocaine problems in the coca-growing countries of South America. Cocaine: scientific and social dimension. **Chichester: John Wiley & Sons**, 1992.

NESTLER, E.J.; BARROT, M.; DILEONE, R.J.; EISCH, A.J.; GOLD, S.J.; MONTEGGIA, L.M. Neurobiology of depression. **Neuron**, v. 34, p. 13–25, 2002.

NEVO, I.; HAMON, M. Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. **Neurochem. Int.**, v. 26, p. 337-342, 1995.

NIBUYA, M.; MORINOBU, S.; DUMAN, R.S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. **J Neurosci**, v. 15, p. 7539–7547, 1995.

NICHOLSON, G.M.; BLANCHE, T.; MANSFIELD, K.; TRAN, Y. Differential blockade of neuronal voltage-gated Na(+) and K(+) channels by antidepressant drugs. **Eur J Pharmacol.** Sep 27;452(1):35-48, 2002.

NOH, M.R.; KIM, S.K.; SUN, W.; PARK, S.K.; CHOI, H.C.; LIM, J.H.; KIM, I.H.; KIM, H.J.; KIM, H. Neuroprotective effect of topiramate on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. **Eun BL. Exp Neurol.** v. 203(1), p. 5-7, 2007.

NOH, M.R.; KIM, S.K.; SUN, W.; PARK, S.K.; CHOI, H.C.; LIM, J.H.; KIM, I.H.; KIM, H.J.; KIM, H.; EUN, B.L. Neuroprotective effect of topiramate on hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. **Exp Neurol.** v. 201(2), p. 470-8, 2006.

NOVIKOVA, S.I.; HE, F.; BAI, J.; BADAN, I.; LIDOW, I.A.; LIDOW, M.S. Cocaine-induced changes in the expression of apoptosis-related genes in the fetal mouse cerebral wall. **Neurotoxicol Teratol.** V. 27, p. 3-14, 2005.

NOVIKOVA, S.I.; HE, F.; BAI, J.; CUTRUFELLO, N.J.; LIDOW, M.S.; UNDIH, A.S. Maternal cocaine administration in mice alters DNA methylation and gene expression in hippocampal neurons of neonatal and prepubertal offspring. **PLoS ONE.**, v. 3, e1919, 2008.

NUMA, R.; KOHEN, R.; POLTYREV, T.; YAKA, R. Tempol diminishes cocaine-induced oxidative damage and attenuates the development and expression of behavioral sensitization. **Neuroscience.** v. 26;155(3), p. 649-58, 2008.

O'BRIEN, C. P. Dependência e uso abusivo de drogas. In Hardman, J.G.; Limbird, L.E.; Molinoff, P.B.; Ruddon, R.W.; Gilman, A.G. **Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da terapêutica.** 11 edição. Ed McGraw Hill, 2006.

O'BRIEN, C. P.; ECKARDT, M. J.; LINNOILA, V. M. I. Pharmacotherapy of alcoholism. In F. E. Bloom & D. J. Kupfer (Eds.), **Psychopharmacology: The fourth generation of progress** New York: Raven Press. p.1745-1755, 1995.

OADES, R.D.; HALLIDAY, G.M. Ventral tegmental (A10) system: Neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. **Brain Res Rev**, v. 12, p.117-165, 1987.

OGATA, N.; NARAHASHI, T. Block of sodium channels by psychotropic drugs in single guinea-pig cardiac myocytes. **Br J Pharmacol.** Jul;97(3):905-13, 1989.

OHNO, M.; YAMAMOTO, T.; WATANABE, S. Blockade of hippocampal nicotinic receptors impairs working memory but not reference memory in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 45, p. 89-93, 1993.

OLMSTED, C.L.; KOCKLER, D.R. Topiramate for alcohol dependence. **Ann Pharmacother.** v.42(10), p. 1475-80, 2008.

PAINE, T.A.; JACKMAN, S.L.; OLMSTEAD, M.C. Cocaine-induced anxiety: alleviation by diazepam, but not buspirone, dimenhydrinate or diphenhydramine. **Behav Pharmacol.** v. 13(7), p. 511-23, 2002.

PARSONS, L. H.; JUSTICE, J. B., JR. Serotonin and dopamine sensitization in the nucleus accumbens, ventral tegmental area and dorsal raphe nucleus following repeated cocaine administration. **J. Neurochem.**, v. 61, p. 1611-1619, 1993.

PATRICK, S. L.; THOMPSON, T. L.; WALKER, J. M.; PATRICK, R. L. Concomitant sensitization of amphetamine-induced behavioral stimulation and in vivo dopamine release from rat caudate nucleus. **Brain Res.**, v. 538, p. 343-346, 1991.

PEARLSON, G. D.; JEFFERY, P. J.; HARRIS, G. J.; ROSS, C. A.; FISCHMAN, M. W.; CAMARGO, E. E. Correlation of acute cocaine-induced changes in local cerebral blood flow with subjective effects. **Am. J. Psychiatry**, v. 150, n. 3, p. 495-497, 1993.

PERINO, L.E., WARREN, G.H., LEVINE, J.S. Cocaine-induced hepatotoxicity in humans. **Gastroenterology** 93, p. 176-180, 1987.

PETRI et al, New developments in the pharmacotherapy of cocaine abuse. **Addict Biol.** v. 12(2), p. 133-51, 2007.

PETTY, F. GABA and mood disorders: A brief review and hypothesis. **Journal of Affective Disorders.** v. 34, p. 275–281, 1995.

PETTIT, H. O.; PAN, H-T.; PARSONS, L. H.; JUSTICE, J. B. Extracellular concentrations of cocaine and dopamine are enhanced during chronic cocaine administration. **J. Neurochem.**, v. 55, p. 798-804, 1990.

PHILLIPS, A. G.; BROEKKAMP, C. L. E.; FIBIGER, H. C. Strategies for studying the neurochemical substrates of drug reinforcement in rodents. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 7, p. 585-590, 1983.

PIERCE, R. C.; DUFFY, P.; KALIVAS, P. W. Sensitization to cocaine and dopamine autoreceptor subsensitivity in the nucleus accumbens. **Synapse**, v. 20, p. 33-36, 1995.

PORTER, J.T.; CAULI, B.; STAIGER, J.F.; LAMBOLEZ, B.; ROSSIER, J.; Properties of bipolar VIPergic interneurons and their excitation by pyramidal neurons in the rat neocortex. **Eur J Neurosci.** Dec;10(12):3617-28, 1998.

POST, R. M.; ROSE, H. Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. **Nature**, v. 260, p. 731-732, 1976.

POST, R. M.; WEISS, S. R. B. Sensitization and kindling: implications for the evolution of psychiatric symptomatology. In: KALIVAS, P. W.; BARNES, C. D. (Ed.). **Sensitization in the nervous system**. Caldwell, N.J.: Telford, p. 257-292, 1988.

QUIRK, P.L.; RICHARDS, R.W.; AVERY, D.D. Subchronic cocaine produces training paradigm-dependent learning deficits in laboratory rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 68(3), p. 545-553, 2001.

RAFLA FK, EPSTEIN RL Identification of cocaine and its metabolites in human urine of ethyl alcohol. **J Anal Toxicol** 3, p.59-63, 1979.

RAFLA, F.K.; EPSTEIN, R.L. Identification of cocaine and its metabolites in human urine in the presence of ethyl alcohol, **J. Anal. Toxicol.** 3 p. 59–63, 1979.

RAMAMOORTHY, S.; BAUMAN, A. L.; MOORE, K. R.; HAN, H.; YANG-FENG, T.; CHANG, A. S.; GANAPATHY, V.; BLAKELY, R. D. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: Molecular cloning, expression and chromosomal localization. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 90, p. 2542-2546, 1993.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4 ed. Ed. Guanabara Koogan, p.515-528, 2001.

RENKE, M.; RUTKOWSKI, P.; TYLICKI, L.; ZIETKIEWICZ, M.; LARCZYŃSKI, W.; RUTKOWSKI, B. Pentoxifylline old drug or new hope for nephrology? **Przegl Lek.**; v. 65(7-8), p. 358-61, 2008.

REITH, M. E. A.; DE COSTA, B.; RICE, K. C.; JACOBSON, A. E. Evidence for mutually exclusive *binding* of cocaine, BTCP, GBR 12935, and dopamine to the dopamine transporter. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 227, p. 417-425, 1992.

RICHARD, D.; FERLAND, J.; LALONDE, J. Influence of topiramate in the regulation of energy balance. **Nutrition**; v. 16, p. 961–6, 2000.

RICHELSON, E. Cholinergic transduction. In: BLOOM, F.E.; KUPFER, D.J. **Psychopharmacol**. New York: Raven Press, cap. 11, p. 125-134, 1995.

RIFFEE, W. H.; WANEK, E.; WILCOX, R. E. Apomorphine fails to inhibit cocaine-induced behavioral hypersensitivity. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 29, p. 239-242, 1988.

RITCHIE, J. M.; GREENE, N. M. Local anesthetics. In: GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, E. P. (Ed.). **Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 8th ed. Elmsford, N. Y.: Pergamon, p. 311-313, 1990.

RITZ, M.C.; LAMB, R.J.; GOLDBERG, S.R.; KUHAR, M.J. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. **Science** (Wash DC) v. 237, p.1219-1223, 1987.

RITZ, M. C.; CONE, E. J.; KUHAR, M. J. Cocaine inhibition of ligand *binding* at dopamine, norepinephrine and serotonin transporters: a structure-activity study. **Life Sci.**, v. 46, P. 635-645, 1990.

RITZ, M. C.; LAMB, R. J.; GOLDBERG, S. R.; KUHAR, M. J. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. **Science**, v. 237, p. 1219-1223, 1987.

ROBBINS, T. W.; CADOR, M.; TAYLOR, J. R.; EVERITT, B. J. Limbic striatal interactions in reward-related processes. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 13, p. 155-162, 1989.

ROBERTS, D. C. S.; CORCORAN, M. E.; FIBIGER, H. C. On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 6, p. 615-620, 1977.

ROBERTS, S.M.; POUNDS, L.G.; JAMES, R.C. Cocaine toxicity in culture rat hepatocytes. **Toxicology Letters.**, 50, 283-288, 1990.

ROBERTSON, G. S.; THAM, C.S.; WILSON, C.; JAKUBOVIC, A.; FIBIGER, H.C. In vivo comparison of the effects of quinpirole and the putative presynaptic dopaminergic agonists B-TH 920 and SND 919 on striatal dopamine and acetylcholine release. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 264 , p. 1344-1351, 1993.

ROBINSON, T. E. Stimulant drugs and stress: factors influencing individual differences in the susceptibility to sensitization. In: KALIVAS, P. W.; BARNES, C. D. (Ed.). **Sensitization in the nervous systems**. Caldwell, N. J: Telford, p.145-173, 1988.

ROESCH, M.R.; TAKAHASHI, Y.; STALNAKER, T.A.; SCHOENBAUM, G. Cocaine exposure shifts the balance of associative encoding from ventral to dorsolateral striatum. **Front Integr Neurosci.** v. 1(11), p. 1-10, 2007.

ROUNSAVILLE, B.J.; ANTON, S.F.; CARROL, K.; BUDDE, D.; PRUSOFF, B.A.; GAWIN, F. Psychiatric diagnoses of treatment-seeking cocaine abusers. **Arch Gen Psychiatry**, v. 48, p. 43-51, 1991.

ROUNSAVILLE, B.J. Treatment of cocaine dependence and depression. **Biol Psychiatry**, v. 56(10), p. 803-809, 2004.

ROWBOTHAM, M .C.; LOWENSTEIN, D. H. Neurologic consequences of cocaine use. **Ann. Rev. Med.**, v. 41, p. 417-422, 1990.

RUBIO, G.; PONCE, G.; JIMENEZ-ARRIERO, M.A. Effects of topiramate in the treatment of alcohol dependence. **Pharmacopsychiatry**; v. 37, p. 37-40, 2004.

RUDNICK, G.; WALL, S. C. *Binding* of the cocaine analog 2-beta-(3H) carboxymethoxy-3-beta-(4-fluorophenyl)tropane to the serotonin transporter. **Mol. Pharmacol.**, v. 40, p. 421-426, 1991.

RUSSO-NEUSTADT, A.A.; BEARD, R.C.; HUANG, Y.M.; COTMAN, C.W. Physical activity and antidepressant treatment potentiate the expression of specific brain-derived neurotrophic factor transcripts in the rat hippocampus. **Neuroscience**, v. 101, p. 305–312, 2000.

SAFER, D.J.; ALLEN, R.P. The central effects of scopolamine in man. **Biol. Psychiatr.**, v.3, p. 347-355, 1971.

SAIRANEN, M.; O'LEARY, O.F.; KNUUTTILA, J.E.; CASTRÉN, E. Chronic antidepressant treatment selectively increases expression of plasticity-related proteins in the hippocampus and medial prefrontal cortex of the rat. **Neuroscience**. v. 144(1), p. 368-74, 2007.

SANTARELLI, L.; SAXE, M.; GROSS, C.; SURGET, A.; BATTAGLIA, F.; DULAWA, S.; WEISSTAUB, N.; LEE, J.; DUMAN, R.; ARANCIO, O.; BELZUNG, C.; HEN, R. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. **Science**. v. 301, p. 805– 809, 2003.

SAVAS, S.; DELIBAS, N.; SAVAS, Ç.; SUTÇU, R.; CINDAS, A. Pentoxifylline reduces biochemical markers of ischemia-reperfusion induced spinal cord in rabbits. **Spinal Cord**, v. 40, p. 224-229, 2002.

SCATTON, B. Effects of dopamine agonists and neuroleptic agents on striatal acetylcholine transmission in the rat: evidence against dopamine receptor multiplicity. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 220, p. 197-202, 1982a.

SCATTON, B. Further evidence for the involvement of D2 but not D1 dopamine receptors in dopaminergic control of striatal cholinergic transmission. **Life Sci.** v. 31, p. 2883-2890, 1982b.

SCHIFFER, W.K.; GERASIMOV, M.R.; MARSTELLER, D.A.; GEIGER, J.; BARNETT, C.; ALEXOFF, D.L.; DEWEY, S.L. Topiramate selectively attenuates nicotine-induced increases in monoamine release. **Synapse**, v. 42(3), p. 196-8, 2001.

SCHOENBAUM, G.; SADDORIS, M.P.; RAMUS, S.J.; SHAHAM, Y.; SETLOW, B. Cocaine-experienced rats exhibit learning deficits in a task sensitive to orbitofrontal cortex lesions. **Eur J Neurosci**, v. 19(7), p. 1997-2002, 2004.

SCHRANK, K. S. Cocaine-related emergency department presentations. In: SORER, H. (Ed.). Acute cocaine intoxication: current methods of treatment. Rockville, Md.: NIDA, p. 110-128, 1993. (**NIDA Research Monograph n° 123**).

SEGAL, M.; WEINSTOCK, M. Differential effects of 5-hydroxytryptamine antagonists on behaviors resulting from activation of different pathways arising from the raphe nuclei. **Psychopharmacology**, v. 79, n. 1, p. 72-78, 1983.

SERSHEN, H.; HASHIM, A.; LAJTHA, A. Serotonin-mediated striatal dopamine release involves the dopamine uptake site and the serotonin receptor. **Brain Res. Bull.**, v. 53, p. 353-357, 2000.

SETHY, V.H.; VAN WOERT, M.H. Regulation of striatal acetylcholine concentration by dopamine receptors. **Nature**, v. 251, p. 529-530, 1974.

SHANK, R.P.; GARDOCKI, J.F.; VAUGHT, J.L. et al. Topiramate: preclinical evaluation of structurally novel anticonvulsant. **Epilepsia**; v. 35, p. 450-60, 1994.

SHEPHERD, G. M. **Neurobiology**. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1988.

SHERER, M. A.; KUMOR, K.; JAFFE, J. H. Effects of intravenous cocaine are partially attenuated by haloperidol. **Psychiatry Res.**, v. 27, p. 117-125, 1989.

SHIMADA, A.; YAMAGUCHI, K.; YANAGITA, T. Neurochemical analysis of the psychotoxicity of methamphetamine and cocaine by microdialysis in the rat brain. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 801, p. 361-370, 1997.

SHIMADA, S.; KITAYAMA, S.; LIN, C.L. Cloning and expression of a cocaine-sensitive dopamine transporter complementary DNA. **Science**, v. 254, p. 576-577, 1991.

SILVA, M.O.; ROTH, D.; REDDY, K.R.; FERNANDEZ, J.A.; ALBORES-SAAVEDRA, J.; SCHIFF, E.R. Hepatic dysfunction accompanying acute cocaine intoxications. **J. Hepatol.** v.12, p. 312-315, 1991.

SITARAM, N.; NURBERGER, J.I.; GERSHON, E.S.; GILLIN, J.C. Faster cholinergic REM sleep induction in euthymic patients with primary affective illness. **Science**, v. 208, p. 200-202, 1980.

SKRADSKI, S.; WHITE, H.S. Topiramate blocks kainate-evoked cobalt influx into cultured neurons. **Epilepsia**; v. 41(suppl 1), p. 45-7, 2000.

SODERPALM, B.; ERICSON, M.; OLAUSSON, P., et al. Nicotinic mechanisms involved in the dopamine activating and reinforcing properties of ethanol. **Behav Brain Res**; 113 (1-2): 85-96, 2000.

SOFUOGLU, M.; KOSTEN, T.R.. Novel approaches to the treatment of cocaine addiction. **CNS DRUGS**, V. 19(1), P. 13-25, 2005.

SOFUOGLU, M.; POLING, J.; GONZALEZ, G.; GONSAI. K.; KOSTEN, T. Cocaine withdrawal symptoms predict medication response in cocaine users. **Am J Drug Alcohol Abuse**, v. 32(4), p. 617-627, 2006.

STADLER, H.; LLOYD, K. D.; GADEA-CIRIA , M.; BARTHOLINI, G. Enhanced striatal acetylcholine release by chlorpromazine and its reversal by apomorphine. **Brain Res.**, v. 55, p. 476-480, 1973.

STOOF, J. C.; DRUKARCH, B.; DE BOER, P.; WESTERINK, B. H. C.; GROENEWEGEN, H. J. Regulation of the activity of striatal cholinergic neurons by dopamine. **Neuroscience**, v.47, p. 755-770, 1992.

Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA). National survey on drug use and health, 2004 [online]. Available from URL:

<http://www.drugabusestatistics.samhsa.gov/products.htm> [Accessed 2005 Oct 3]

SYVALAHTI, E.K.; HIETALA, J.; ROYTTA, M.; GRONROOS, J. Decrease in the number of rat brain dopamine and muscarinic receptors after chronic alcohol intake. **Pharmacol. Toxicol.**, v. 62, p. 210-216, 1988.

TANDO, R.; DEQUARDO, J.R.; GOODSON, J.; MANN, N.A.; GREDEN, J.F. Effects of anticholinergics on positive and negative symptoms in schizophrenia. **Psychopharmacol. Bull.**, v.28, p. 297-302, 1992.

TANDO, R.; SHIPLEY, J.E.; GREDEN, J.F.; MANN, N.A.; EISNER, W.H.; GOODSON, J. Muscarinic cholinergic hyperactivity in schizophrenia – relationship to positive and negative symptoms. **Schizophrenia Res.**, v.4, p. 23-30, 1991.

TANNENBAUM, S.R.; YOUNG, V.; GREEN, L.; RUIZ DE LUZURIAGA, K. Intestinal formation of nitrite and N-nitroso compounds. **IARC Sci Publ.**;(31):2819, 1980.

TARCY, D. Dopamine-acetylcholine interaction in the basal ganglia. In: **FIELDS, W.S.** Neurotransmitter function: basic and clinical aspect. New York, 1977.

TAYLOR, W.A.; GOLD, M.S. Pharmacologic approaches to the treatment of cocaine dependence. **West J Med.** v. 152(5), p. 573-7, 1990.

TERAI, M.; HIOAKA, K.; NAKAMURA, Y. Comparison of 3H-YM-09151-2 with 3H-sipiperone and 3H-raclopride for dopamine receptor *binding* to rat striatum. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 173, n. 2, p. 177-182, 1989.

TESCHEMACHER, A.G.; SEWARD, E.P.; HANCOX, J.C.; WITCHEL, H.J. Inhibition of the current of heterologously expressed HERG potassium channels by imipramine and amitriptyline. **Br J Pharmacol.** Sep;128(2):479-85, 1999.

TORRENS, M.; FONSECA, F.; MATEU, G.; FARRE, M. Efficacy of antidepressants in substance use disorders with and without comorbid depression: a systematic review and meta-analysis. **Drug Alcohol Depend.** v. 78(1), p. 1-22, 2005.

TRABUCCHI, M.; CHENEY, D.; RACAGNI, G.; COSTA, E. Involvement of brain cholinergic mechanisms in the action of chlorpromazine. **Nature**, v. 249, p. 664-666, 1974.

TUCEK, S. Short-term control of the synthesis of acetylcholine. **Prog. Biophys. Molec. Biol.**, v. 60, p.59-69, 1993

United States Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Office of Applied Studies. National household survey on drug abuse, Rockville, MD: U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service (DHHS). viii, 127, A-27, (SMA) 96-3079. 2001.

VAN DYKE, C. AND BYCK, R. Cocaine. **ScientificAmerican**, v. 246, p. 128-141, 1982.

VAN LAAR, M.W.; VOLKERTS, E.R.; VERBATEN, M.N.; TROOSTER, S.; VAN MEGEN, H.J.; KENEMANS, J.L. Differential effects of amitriptyline, nefazodone and paroxetine on performance and brain indices of visual selective attention and working memory. **Psychopharmacology (Berl)** v. 162, p. 351–363, 2002.

VOLKOW, N. D.; FOWLER, J. S.; WOLF, A. P.; SCHLYER, D.; SHIUE, C. Y.; ALPERT, R.; DEWEY, S. L.; LOGAN, J.; BENDRIEM, B.; CHRISTMAN, D.; HITZEMANN, R.; HENN, F. Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. **Am. J. Psychiatry**, v. 147, n. 6, p. 719-724, 1990.

VUKANIĆ, Z.S.; COLIĆ, M.; DIMITRIJEVIĆ, M. Effect of pentoxifylline on differentiation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells in vitro. **Int Immunopharmacol.** v. 7(2), p. 167-74, 2007.

WANLESS, I.R.; DORE, S.; GOPINATH, N.; TAN, N.; CAMERON, R.; HEATHCOTE, E.J.; BLENDIS, L.M.; LEVY, G. Histopathology of cocaine hepatotoxicity. **Gastroenterology** v. 98, p. 497-501, 1990.

WASTERLAIN, C.G.; CHEN, J.W. Mechanistic and pharmacologic aspects of status epilepticus and its treatment with new antiepileptic drugs. **Epilepsia.** v. 9, p. 63-73, 2008.

WAUQUIER, A.; ZHOU, S. Topiramate: a potent anticonvulsant in the amygdala-kindled rat. **Epilepsy Res;** v. 24, p.73–7, 1996.

WEISS, R.D.; MIRIN, S.M.; GRIFFIN, M.L.; MICHAEL, J.L. Psychopathology in cocaine abusers – changing trends. **J Nerv Ment Dis** v. 176, p. 386-394, 1988.

WEISS, R.D.; MIRIN, S.M; BARTEL, R.L. Cocaine, 2. ed. Washington, D.C.; **American Psychiatric Press**, p. 1-14, 1994.

WEISS, S. R. B.; POST, R. M.; WOODWARD, R.; MURMAN, D. Context-dependent cocaine sensitization: Differential effect of haloperidol on development versus expression. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 34, p. 655-661, 1989.

WHEATLEY, M.; HULME, E. C.; BIRDSALL, N. J. M.; CURTIS, C. A. M.; EVELEIGH, P.; PEDDER, E. K.; POYNER, D. Peptide mapping studies on muscarinic receptors: receptor structure and location of the ligand *binding* site. **Trends Pharmacol. Sci. Suppl.**, p. 19-24, 1988.

WHITE, H.S.; BROWN, S.D.; WOODHEAD, J.H. et al. Topiramate enhances GABA-mediated chloride flux and GABA-evoked chloride currents in murine brain neurons and increases seizure threshold. **Epilepsy Res**; v. 28, p. 167-79, 1997.

WHITE, H.S.; BROWN, S.D.; WOODHEAD, J.H., et al. Topiramate modulates GABA-evoked currents in murine cortical neurons by nonbenzodiazepine mechanism. **Epilepsia**; 41 Suppl. 1: S25-9, 2000.

WILKINSON, P.; VAN DYKE, C.; JATLOW, P.; BARASH, P.; AND BYCK, R.. Intranasal and oral cocaine kinetics. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 27(3), p. 386-394, 1980.

WISE, R.A. The role of reward pathways in the development of drug dependence. **Pharmacol. Ther**, v. 35, p. 227-263, 1987.

WISE, R. A. Neural mechanisms of the reinforcing action of cocaine. In: GRABOSKI, J. (Ed.). Cocaine: effects and treatment of abuse. **Washington, D. C.: NIDA**, p. 15-33, 1984.

WISE, R. A.; BOZARTH, M. A. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychol. Rev.**, v. 94, p. 469-492, 1987.

WONG, D.T; BYMASTER, F.P.; REID, L.R; FULLER, R.W.; PERRY, K.W. KORNELD, E.C. Effects of stereospecific D2 dopamine agonist on acetylcholine concentration in corpus striatum on rat brain. **J. Neural. Transm.**, v. 58, p.55-67, 1983.

WOOLTORTON, J.R.; MATHIE, A. Block of potassium currents in rat isolated sympathetic neurones by tricyclic antidepressants and structurally related compounds. **Br J Pharmacol.** Nov;110(3):1126-32, 1993.

WREE, A.; KULIG, G.; GUTMANN, P.; ZILLES, K. Modification of callosal afferents of the primary visual cortex ipsilateral to the remaining eye in rats monocularly enucleated at different stages of ontogeny. *Cell Tissue Res.*242(2):433-6, 1985.

XIE, X.; STEKETEE, J.D. Repeated exposure to cocaine alters the modulation of mesocorticolimbic glutamate transmission by medial prefrontal cortex Group II metabotropic glutamate receptors. **J Neurochem.** v. 107(1), p. 186-96, 2008.

YANG, Y.; SHUAIB, A.; LI, Q. et al. Neuroprotection by delayed administration of topiramate in a rat model of middle cerebral artery embolization. **Brain Res;** v. 804, p. 169–76, 1998.

YANG, Y.; LI, Q.; SHUAIB, A. Enhanced neuroprotection and reduced hemorrhagic incidence in focal cerebral ischemia of rat by low dose combination therapy of urokinase and topiramate. **Neuropharmacology;** v. 39, p. 881–8, 2000.

YAU, J.L.W.; NOBLE, J.; HIBBERD, C.; ROWE, W.B.; MEANEY, M.J.; MORRIS, R.G.M.; SECKL, R. Chronic treatment with the antidepressant amitriptyline prevents impairments in water maze learning in aging rats. **J Neurosci,** v. 22(4):1436-1442, 2002.

YEH, S.Y.; DE SOUSA, E. B. Lack of neurochemical evidence for neurotoxic effects of repeated cocaine administration in rats on brain monoamine neurons. **Drug Alcohol Depend.,** v. 27, p. 51-61, 1991.

YOKEL, R. A.; WISE, R. A. increased lever pressing for amphetamine after pimozide in rats: Implications for a dopamine theory of reward. **Science,** v. 187, p. 547-549, 1975.

YOON, S.H.; ZUCCARELLO, M.; RAPOPORT, R.M. Acute cocaine induces endothelin-1-dependent constriction of rabbit basilar artery. **Endothelium.** v.14(3), p. 137-9, 2007.

ZANDIO AMORENA, B.; ERRO AGUIRRE, M.E.; CABADA, T.; AYUSO, B.T. Cocaine-induced brain stem stroke associated to cranial midline destructive lesions. **Neurologia.** v. 23(1), p. 55-8, 2008.

ZARGARI O. Pentoxifylline: A drug with wide spectrum applications in dermatology. **Dermatol Online J.,** v. 14(11), 2008.

ZARINDAST, M.R. Adrenoceptor mechanisms underlying imipramine-induced memory deficits in rats. **J Psychopharmacol**, v. 17(1), p. 83-88, 2003.

ZHANG, X.; VELUMIAN, A.A.; JONES, O.T., et al. Modulation of highvoltage-activated calcium channels in dentate granule cells by topiramate. **Epilepsia**; 41 Suppl. 1: S52-60. 2000.

ZHU, D.J.; XIA, B; BI, Q.; ZHANG, S.J.; QIU, B.S.; ZHAO, C. Functional protection of pentoxifylline against spinal cord ischemia/reperfusion injury in rabbits: necrosis and apoptosis effects. **Chin Med J (Engl)**. v. 121(23), p. 2444-9, 2008.

ZONA, C.; CIOTTI, M.T.; AVOLI, M.; Topiramate attenuates voltage-gated sodium currents in rat cerebellar granule cells. **Neurosci Lett**; v. 231, p.123-6, 1997.

ZULLINO. D.F.; KRENZ, S.; ZIMMERMAN, G. et al. Topiramate in opiate withdrawal: comparison with clonidine and with carbamazepine/mianserin. **Subst. Abus.** v. 25, p. 27-33, 2005.