

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS – ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCAR/UNESP**

**SENSIBILIZAÇÃO CRUZADA ENTRE ANFETAMINA E NICOTINA: AVALIAÇÃO  
NEUROQUÍMICA DO NÚCLEO ACUMBENS E CÓRTEX PRÉ-FRONTAL EM  
RATOS ADOLESCENTES E ADULTOS**

**PAULO EDUARDO CARNEIRO DE OLIVEIRA**

**SÃO CARLOS – SP**

**2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
PROGRAMA INTERINSTITUCIONAL DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS – ASSOCIAÇÃO AMPLA UFSCAR/UNESP**

**SENSIBILIZAÇÃO CRUZADA ENTRE ANFETAMINA E NICOTINA: AVALIAÇÃO  
NEUROQUÍMICA DO NÚCLEO ACUMBENS E CÓRTEX PRÉ-FRONTAL EM  
RATOS ADOLESCENTES E ADULTOS**

**PAULO EDUARDO CARNEIRO DE OLIVEIRA**

Dissertação apresentada ao Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas – Associação Ampla UFSCar/UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências Fisiológicas.

***Orientadora:* Profa. Dra. Cleopatra da Silva Planeta**

**SÃO CARLOS – SP**

**2009**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C289sc

Carneiro-de-Oliveira, Paulo Eduardo.

Sensibilização cruzada entre anfetamina e nicotina :  
avaliação neuroquímica do núcleo acumbens e córtex pré-  
frontal em ratos adolescentes e adultos / Paulo Eduardo  
Carneiro de Oliveira. -- São Carlos : UFSCar, 2009.  
84 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São  
Carlos, 2009.

1. Sensibilização comportamental. 2. Nicotina. 3.  
Anfetamina. 4. Neuroquímica. 5. Adolescentes. I. Título.

CDD: 612.82 (20ª)


Universidade Federal de São Carlos  
Programa Interinstitucional de Pós-Graduação em Ciências  
Fisiológicas  
Associação Ampla UFSCar/UNESP

Defesa de Dissertação de Paulo Eduardo Carneiro de Oliveira

Profa. Dra. Cleopatra da Silva Planeta.....



Prof. Dr. Moacyr Luiz Aizenstein.....



Profa. Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza.....



***Dedico essa dissertação a todos os  
companheiros de trabalho que fazem  
do laboratório um lugar agradável e  
divertido.***

## AGRADECIMENTOS

Os agradecimentos serão breves, pois não tenho facilidade com as palavras. Entretanto, tudo que está escrito veio do fundo do coração.

Agradeço minha orientadora **Profa Dra Cleopatra da Silva Planeta** pela amizade, dedicação, ensinamentos e paciência. Minha admiração pelo seu trabalho é imensa, pois sei que todo seu trabalho é feito com muito amor. O importante não é formar apenas mestres e doutores, mas também críticos e pensadores.

Agradeço imensamente à minha família **José Eduardo** e **Maria José** pelo apoio, sabedoria e amor, dados ao longo de toda minha vida e principalmente nesse momento tão importante para mim, e **Maria Sílvia** e **Luís André** que muitas vezes não entendem o que faço, mas sempre acreditam e se orgulham das minhas conquistas.

Agradeço minha namorada **Marília** pelo amor, companhia e momentos felizes. Obrigado por me apoiar em tudo o que faço.

Um agradecimento especial ao **Fábio** e **Rodrigo** que me acolheram como um irmão e me ajudaram em todos os momentos e ao **Marcelo** que sempre me atendia quando tinha alguma dúvida.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Neuropsicofarmacologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP: **Ana Paula, Roberta, Tarciso, Egberto, Joyce, Karina, Yara, Vanessa, Alianda, Ana Cláudia, Thiago, Diego, Liany, Bruna, Renata.**

Agradeço à **Rosana, Elisabete** e **Tirene** pela constante ajuda.

Agradeço os outros professores do departamento **Ricardo Luiz Nunes de Souza, Paulo José de Campos Nogueira, José Francisco Fracasso** e **Maria do Carmo Longo** pelas novas amizades.

Agradeço a todos os amigos. A amizade de vocês é fundamental para mim.

Agradeço ao **Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas** e à **CAPES** pelo suporte financeiro.

E por fim, agradeço à **Universidade Estadual Paulista** e à **Universidade Federal de São Carlos** por disponibilizarem ótimas instalações para o desenvolvimento desse trabalho.

## SUMÁRIO

<b>Resumo</b> .....	9
<b>Abstract</b> .....	10
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1.1 Dependência de substâncias psicoativas de abuso</b> .....	11
<b>1.2 Anfetamina e psicoestimulantes</b> .....	13
<b>1.3 Nicotina</b> .....	15
<b>1.4 Nicotina, Anfetamina e Adolescência</b> .....	17
<b>1.5 Sensibilização comportamental cruzada entre nicotina e psicoestimulantes</b> .....	19
<b>1.6 Neurotransmissão e sensibilização</b> .....	21
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	24
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	25
<b>3.1 Animais</b> .....	25



<b>3.2 Dissecção do núcleo acumbens e córtex pré-frontal .....</b>	<b>25</b>
<b>3.3 Quantificação das concentrações de dopamina e seus metabólitos por Cromatografia Líquida de Alta Resolução (HPLC) acoplada a detector eletroquímico .....</b>	<b>26</b>
<b>4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1 Pré-tratamentos .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adolescentes pré-tratados com anfetamina durante a adolescência .....</b>	<b>27</b>
<b>4.3 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adultos pré-tratados com anfetamina durante a adolescência .....</b>	<b>28</b>
<b>4.4 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção de aguda de anfetamina, em animais adolescentes pré-tratados com nicotina durante a adolescência .....</b>	<b>28</b>
<b>4.5 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção de anfetamina, em animais adultos pré-tratados com nicotina durante a adolescência .....</b>	<b>29</b>
<b>4.6 Análise estatística dos dados .....</b>	<b>29</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
<b>5.1 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adolescentes pré-tratados com anfetamina durante a adolescência .....</b>	<b>30</b>

5.1.1	Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens .....	30
5.1.2	Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens .....	31
5.1.3	Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no córtex pré-frontal .....	32
5.1.4	Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal .....	34
<b>5.2</b>	<b>Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adultos pré-tratados com anfetamina durante a adolescência .....</b>	<b>35</b>
5.2.1	Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens .....	35
5.2.2	Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens .....	36
5.2.3	Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no córtex pré-frontal .....	37
5.2.4	Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal .....	38
<b>5.3</b>	<b>Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção de aguda de anfetamina, em animais adolescentes pré-tratados com nicotina durante a adolescência .....</b>	<b>39</b>
5.3.1	Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens .....	39
5.3.2	Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens .....	41
5.3.3	Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no córtex pré-frontal .....	42
5.3.4	Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal .....	44

<b>5.4 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção de anfetamina, em animais adultos pré-tratados com nicotina durante a adolescência</b> .....	45
5.4.1 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens .....	45
5.4.2 Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens .....	46
5.4.3 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no córtex pré-frontal .....	47
5.4.4 Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal .....	49
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	51
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	58
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	59

## Resumo

Uma característica comum das substâncias que causam dependência é o aumento gradual e progressivo da atividade locomotora observado após a administração repetida, esse fenômeno é denominado sensibilização comportamental. A sensibilização comportamental resulta de adaptações neuroquímicas e moleculares do sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Foi demonstrado anteriormente a sensibilização cruzada entre nicotina e anfetamina em animais adolescentes e que esse fenômeno permanece até a idade adulta. Nesse trabalho investigamos se a administração repetida com nicotina ou anfetamina, durante a adolescência, pode alterar o efeito agudo dessas substâncias e se essas neuroadaptações persistem até a idade adulta. Para tanto, administramos, por sete dias, nicotina (0,4 mg/Kg), anfetamina (5,0 mg/Kg) ou salina a ratos adolescentes. Três ou trinta dias após a última injeção os animais receberam injeção aguda de nicotina (0,4 mg/Kg), anfetamina (5,0 mg/Kg para adolescentes e 1,0 mg/Kg para adultos) ou salina. Trinta minutos após as injeções os ratos foram sacrificados, decapitados e seus encéfalos removidos. O núcleo acumbens (NAc) e o córtex pré-frontal (CPF) foram retirados e preparados para determinação de dopamina, serotonina e seus metabólitos por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Os resultados encontrados mostram que: 1) o pré-tratamento com nicotina atenuou o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração tecidual de dopamina no Nac de ratos adolescentes; 2) o pré-tratamento com nicotina aumentou o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração tecidual de dopamina no CPF de ratos adolescentes; 3) o pré-tratamento com nicotina na adolescência aumentou o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração tecidual de dopamina no CPF de ratos adultos. Estes resultados não se relacionam à sensibilização cruzada observada anteriormente, mas o tratamento repetido com nicotina promoveu alterações em animais adolescentes que podem ser observadas também na vida adulta.

**Palavras-chave:** Nicotina. Anfetamina. Sensibilização cruzada. Dopamina. Serotonina. HPLC. Núcleo acumbens. Córtex Pré-Frontal. Adolescentes.

## Abstract

Nicotine and psychostimulants are often abused in combination. Drug abuse often begins during adolescence. Exposure to drugs of abuse during adolescence can have long-term consequences. We have previously demonstrated that adolescent rats pretreated with amphetamine displayed behavioral sensitization to nicotine, which persisted until adulthood. Moreover, the pretreatment with nicotine during adolescence sensitized adolescent and adult animals to amphetamine-induced locomotor activation. In the present study we investigated whether the behavioral cross-sensitization between nicotine and amphetamine is related to changes in dopamine or serotonin neurotransmission. To this end adolescent rats (post-natal day 28) were treated with nicotine (0.4 mg/Kg), amphetamine (5.0 mg/Kg) or saline during seven days. Three or thirty days after the last injection animals received an acute injection of nicotine (0.4 mg/Kg), amphetamine (5.0 mg/Kg for adolescents or 1.0 mg/Kg for adults) or saline. Thirty minutes after challenge rats were sacrificed, decapitated and brains removed. Nucleus accumbens (NAcc) and prefrontal cortex (PFC) were dissected and prepared for HPLC (high performance liquid chromatography) analysis. Dopamine, DOPAC, HVA, serotonin and 5-HIAA were measured in these brain regions. Our results showed that: 1) repeated administration of nicotine attenuated the acute effect of amphetamine on NAcc dopamine levels of adolescent rats; 2) repeated administration of nicotine increased the acute effect of amphetamine on PFC dopamine levels of adolescent rats; 3) repeated administration of nicotine, during adolescence, increased the acute effect of amphetamine on PFC dopamine of adult rats. The behavioral cross-sensitization shown previously is not related to alterations in NAcc and PFC concentrations of neurotransmitters and its metabolites. However, neuroadaptations induced by repeated nicotine during adolescence endures until adulthood.

**Keywords:** Nicotine. Amphetamine. Cross-sensitization. Dopamine. Serotonin. HPLC. Nucleus Accumbens. Prefrontal Cortex. Adolescents.

## 1 INTRODUÇÃO

### *1.1 Dependência de substâncias psicoativas de abuso*

Segundo o Manual de Diagnóstico e Estatística de Doenças Mentais (DSM-IV), publicado pela Associação Psiquiátrica Americana (AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION, 1994), dependência é um conjunto de sinais e sintomas cognitivos, comportamentais e fisiológicos que indicam que o indivíduo continua fazendo uso da substância apesar da presença de efeitos adversos. Existe um padrão de auto-administração repetida, que geralmente resulta em tolerância, abstinência e comportamento compulsivo de consumo da droga.

As primeiras teorias que propunham explicar a dependência se concentravam nas consequências adversas decorrentes da interrupção do uso das substâncias psicoativas de abuso, fenômeno fisiológico conhecido como síndrome de abstinência (ROBINSON; BERRIDGE, 1993).

A síndrome de abstinência é caracterizada por um intenso desconforto causado pela retirada da substância. Os sinais e sintomas normalmente são opostos aos efeitos agudos que as substâncias psicoativas promovem. Desse modo, foi proposto que os indivíduos que desenvolviam a dependência manteriam o uso da substância para evitar o desconforto da retirada e dessa forma a substância atuaria como um reforçador negativo (O'BRIEN, 2001).

Embora todas as substâncias produzam síndrome de abstinência, os sinais e sintomas são específicos para cada tipo de substância psicoativa, com exceção da fissura. Além disso, a teoria do reforço negativo não explicava o início do uso das substâncias de abuso. Portanto, as pesquisas passaram a investigar os efeitos comuns dessas substâncias (ROBINSON; BERRIDGE, 1993).

Uma característica de todas as substâncias psicoativas de abuso é a propriedade de causar efeitos euforizantes e prazerosos, atuando como reforçadores positivos (WISE; BOZARTH, 1987). Reforço positivo é um estímulo ou evento que aumenta a ocorrência de uma resposta (WISE; BOZARTH, 1987; BERGMAN; PARONIS, 2006). 7x

Wise; Bozarth (1987) sugeriram também que o efeito reforçador positivo dessas substâncias é decorrente da ativação de um substrato neurobiológico comum, o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Muitas evidências comprovam esta hipótese. Assim, vários estudos demonstraram que a administração de nicotina (IMPERATO; MULAS; DI CHIARA, 1986; SCHILSTROM et al., 1998; CADONI; DI CHIARA, 2000), cocaína, anfetamina, morfina (DI CHIARA; IMPERATO, 1988; PONTIERI et al., 1996), etanol (KILIANMAA et al., 1995) ou  $\Delta^9$ -THC (TANDA; PONTIERI; DI CHIARA, 1997) aumentam a liberação de dopamina no núcleo acumbens.

O sistema dopaminérgico mesocorticolímbico é formado pela área tegmental ventral (ATV), local onde estão localizados os corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos, e suas projeções axonais para o núcleo acumbens (NAc) e córtex pré-frontal (CPF). A ativação desse circuito é responsável pelo efeito reforçador das substâncias de abuso (KOOB, 1992; KOOB; LE MOAL, 2001).

A sensação de bem-estar, ou seja, o reforço positivo causado pela substância explica o padrão de uso ocasional, mas não responde por que ocorre a perda do controle do uso a despeito de consequências adversas. Sendo assim, com base nos dados da literatura, Robinson; Berridge (1993) propuseram que a dependência é consequência de neuroadaptações do sistema dopaminérgico mesocorticolímbico.

Os dados da literatura mostravam que além de promover prazer, as substâncias de abuso, quando administradas repetidamente, causavam o aumento progressivo da atividade locomotora. Esse fenômeno foi denominado sensibilização comportamental e reflete as neuroadaptações no sistema mesocorticolímbico (POST; CONTEL, 1983; ROBINSON; BECKER, 1986; NESTLER, 2001). A sensibilização comportamental foi descrita para a cocaína (MISERENDINO; NESTLER, 1995; PLANETA; MARIN, 2002), fencanfamina (PLANETA; DELUCIA; AIZENSTEIN, 1995), anfetamina (ROBINSON; BECKER, 1986; AIZENSTEIN; SEGAL KUCZENSKY, 1990; VEZINA; QUEEN, 2000), morfina (KALIVAS; DUFFY, 1987; POWEL; HOLTZMAN, 2001), etanol (PHILLIPS; ROBERBS; LESSOV, 1997), nicotina (DOMINO, 2001; SHIM et al., 2001; CRUZ; DELUCIA; PLANETA; 2005) e  $\Delta^9$ -THC (CADONI et al., 2001).

Já é bem conhecido o fato de que os efeitos das substâncias psicoativas se modificam no decorrer do uso prolongado. Essas alterações

expressam-se como tolerância e sensibilização comportamental. Entretanto, segundo Robinson; Berridge (1993) a sensibilização não resultaria no aumento do efeito reforçador das substâncias, mas sim da relevância motivacional do estímulo. Desse modo, ao invés de mediar apenas a sensação de prazer, a dopamina regularia o impulso motivacional e a atenção a estímulos salientes, incluindo os estímulos reforçadores (ROBINSON; BERRIDGE, 1993, 2000, 2001, 2003).

Isso significa que ao induzirem alterações no sistema dopaminérgico, observadas pela sensibilização comportamental, as substâncias de abuso tornariam estímulos (uso da substância e comportamentos relacionados) altamente relevantes, atrativos e desejados. O que no início era caracterizado como uma ação prazerosa (“gostar”), com o uso prolongado torna-se uma compulsão (“querer”). O uso repetido faz com que o “querer” evolua para um desejo compulsivo capaz de controlar o comportamento (BERRIDGE; ROBINSON, 1998, 2003; BERRIDGE; ROBINSON; ALDRIDGE, 2009).

## ***1.2 Anfetamina e outros psicoestimulantes***

A anfetamina (fenilisopropilamina) foi sintetizada pela primeira vez em 1887 pelo romeno Lazăr Edeleanu na Alemanha. Nenhum uso farmacológico havia sido descrito até 1927 quando o pesquisador Gordon Alles, procurando um descongestionante nasal mais potente que a efedrina, sintetizou novamente a anfetamina. Alles percebeu que quando inalada ou administrada por via oral, a nova substância reduzia drasticamente a fadiga, aumentava o alerta e causava sensação de euforia (RASMUSSEN, 2006; OBSERVATÓRIO BRASILEIRO DE INFORMAÇÕES SOBRE DROGAS).

A partir de 1933 a indústria farmacêutica Smith, Kline and French passou a comercializar um produto inalável, a base de anfetamina, sem necessidade de prescrição médica cujo nome comercial era Benzedrina® (RASMUSSEN, 2006). Porém, logo foram descritos relatos do uso abusivo dessa substância devido as suas propriedades estimulantes (HANSON; RAU; FLECKENSTEIN, 2004).

Devido à ausência de restrições, os produtos anfetamínicos eram vendidos para o tratamento de várias doenças como obesidade, alcoolismo,



depressão e esquizofrenia. A anfetamina era usada abusivamente por motoristas e militares para mascarar a sonolência e a fadiga (HANSON; RAU; FLECKENSTEIN, 2004). Após várias décadas de uso abusivo a FDA (Food and Drugs Administration) proibiu a venda de Benzedrina® e a partir de 1965 passou a limitar a venda de anfetamínicos. Porém, o uso não médico continuou a crescer e em 1970 a legislação começou a regular a fabricação e distribuição de anfetamínicos e outras substâncias (LUNA, 2001; U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION).

A anfetamina é um fármaco psicoestimulante classificado como agente dopaminérgico de ação indireta. O mecanismo crítico pelos quais os psicoestimulantes exercem seus efeitos é o aumento da transmissão dopaminérgica. A anfetamina tem ações complexas no terminal dopaminérgico pré-sináptico, mas sua ação mais significativa é a ligação à proteína transportadora e a indução do transporte reverso de dopamina (HYMAN, 1996).

Outros psicoestimulantes utilizados na terapêutica, como o metilfenidato, femproporex e dietilpropiona, também produzem euforia e apresentam potencial de abuso e dependência. Estudos pré-clínicos demonstram que, de forma semelhante à anfetamina, metilfenidato, dietilpropiona e femproporex induzem preferência condicionada por lugar, auto-administração e sensibilização comportamental (SHUSTER et al., 1982; GAYTAN et al., 1997; PLANETA; DELUCIA, 1998; MERIRINNE; KANKAANPAA; SEPPALA, 2001; ALCANTARA; PLANETA; DELUCIA, 2002).

Apesar dos psicoestimulantes serem classificados como agentes dopaminérgicos de ação indireta há evidências de que o sistema serotoninérgico também participe na mediação dos efeitos e desenvolvimento da dependência a essas substâncias. Assim, Auclair et al (2004) observaram que a transmissão serotoninérgica tem papel fundamental no aumento da atividade locomotora induzido pela anfetamina. Além disso, vários autores mostram a participação do sistema serotoninérgico na liberação de dopamina induzida por psicostimulantes em áreas mesolímbicas. A anfetamina aumenta as concentrações de serotonina no núcleo acumbens sendo que esse efeito é bloqueado por antagonistas do receptor 5-HT<sub>2A</sub> (KANKAAMPAA et al, 1998; PORRAS et al, 2002). Foi demonstrado ainda que a administração repetida de metanfetamina em roedores aumentou a liberação de serotonina no córtex pré-frontal e área tegmental ventral (JONES; KAUER, 1999; AGO et al, 2006). Alterações nas concentrações de serotonina foram observadas

também após a suspensão do tratamento prolongado com psicoestimulantes. Contudo, os resultados são contraditórios e parecem depender da forma de exposição ao psicostimulante. Assim, observou-se redução da concentração de serotonina no núcleo acumbens após suspensão da auto-administração de cocaína (DWORKIN; CO; SMITH, 1995; PARSONS; JUSTICE, 1993). Por outro lado, Parsons; Koob; Weiss (1996) observaram aumento das concentrações de serotonina e dopamina no núcleo acumbens e area tegmental ventral 24 horas após a suspensão da administração repetida (10 dias, via intra-peritoneal) de cocaína, sugerindo que a sensibilização da neurotransmissão dopaminérgica e serotoninérgica na via mesolímbica estão envolvidas na sensibilização comportamental induzida por psicoestimulantes.

### **1.3 Nicotina**

Apesar de o cigarro conter mais de 4.000 substâncias químicas, os estudos pré-clínicos e clínicos demonstram que a nicotina é o principal agente responsável pelo desenvolvimento da dependência do tabaco (STOLERMAN; JARVIS, 1995). A nicotina é um alcalóide incolor extraído da planta cientificamente chamada de *Nicotiana tabacum* que se torna marrom e adquire odor de tabaco com a exposição ao ar. Os primeiros pesquisadores a isolarem a nicotina foram Posselt e Reiman em 1928. Já os primeiros estudos farmacológicos dos extratos do alcalóide se iniciaram em 1843, conduzidos pelo espanhol radicado na França Mathieu J B Orfila (ROSEMBERG, 2005; CUNHA et al, 2007).

Por vários séculos o tabaco era cultivado por sociedades nativas da América com o intuito de fumar as folhas em rituais mágicos-religiosos. A partir do século XVI, o seu uso disseminou-se pela Europa, introduzido por Jean Nicot, diplomata francês vindo de Portugal. No início, utilizado com fins curativos, por meio do cachimbo, difundiu-se rapidamente, atingindo Ásia e África no século XVII. No século seguinte, surgiu a moda de aspirar rapé, ao qual foram atribuídas qualidades medicinais, pois a rainha da França, Catarina de Médicis, o utilizava para aliviar suas enxaquecas (ROSEMBERG, 2005; CUNHA et al, 2007).

No final do século XIX, iniciou-se a industrialização do tabaco sob a forma de cigarro. A partir de meados do século XX, com o desenvolvimento de técnicas avançadas de publicidade e marketing, o uso do tabaco disseminou-se por todo o mundo. A partir da década de 1960, surgiram os primeiros relatórios médicos que relacionavam o cigarro ao adoecimento do fumante e, a seguir, ao do não-fumante (fumante passivo) (ROSEMBERG, 2005; CUNHA et al, 2007).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) o tabagismo é a principal causa de morte evitável e mata aproximadamente cinco milhões de pessoas todo ano. Quase 90% dos casos de câncer de pulmão são decorrentes do uso do cigarro. Estima-se que um bilhão e duzentos milhões de pessoas sejam fumantes e no Brasil um terço da população adulta faz uso abusivo do cigarro (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008).

A nicotina exerce suas propriedades reforçadoras através da ligação com receptores colinérgicos nicotínicos (nAChR) pré-sinápticos localizados no corpo celular ou terminais dos axônios de neurônios dopaminérgicos (PICCIOTTO, 1998; PICCIOTTO et al., 2000). Foi demonstrado ainda que a nicotina estimula a liberação de dopamina no núcleo acumbens tanto *in vitro* como *in vivo* (PONTIERI et al, 1996).

Os receptores nicotínicos são combinações polipeptídicas pentaméricas compostas por subunidades denominadas  $\alpha$  e  $\beta$  (PICCIOTTO, 1998; PICCIOTTO et al., 2000). As cinco subunidades estão dispostas na membrana celular de tal forma a circundar um canal iônico. A ligação da nicotina a esses receptores provoca alterações conformacionais e conseqüente abertura do canal iônico permitindo o influxo de cátions ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ), resultando geralmente, em despolarização do neurônio (TORRÃO; BRITTO, 2002; WONNACOTT; SIDHPURA; BALFOUR, 2005).

No sistema nervoso central, doze subunidades distintas foram clonadas e identificadas como  $\alpha$  ( $\alpha_2$ - $\alpha_{10}$ ) e  $\beta$  ( $\beta_2$ - $\beta_4$ ) (TORRÃO; BRITTO, 2002; WONNACOTT, SIDHPURA; BALFOUR, 2005). Estudos utilizando auto-radiografia ou hibridização *in situ* indicam a presença das subunidades  $\alpha$  e  $\beta$  dos receptores nicotínicos localizados nos corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos da área tegmental ventral e nos terminais no núcleo acumbens (MARKS et al, 1992; MCGEHEE; ROLE, 1995). A administração intermitente de nicotina, ou agonistas nicotínicos

aumenta a taxa de disparos dos neurônios da área tegmental ventral (CALABRESI; LACEY; NORTH, 1989).

Os efeitos da nicotina na transmissão serotoninérgica ainda são pouco conhecidos. Olausson; Engel; Soderpalm (2002) propuseram que a administração repetida dessa substância causaria neuroadaptações nas transmissões serotoninérgicas em regiões envolvidas no controle de impulsos motivacionais e comportamentos associados ao uso da substância. Essas adaptações resultariam num aumento da motivação na busca pela nicotina. Essa teoria foi demonstrada experimentalmente por outros autores. Kirsh et al (1987) e Olausson et al (2001b) mostraram que o tratamento repetido com a nicotina diminui os níveis de 5-HT nas regiões mesolímbicas. Essa queda da transmissão serotoninérgica na região mesocorticolímbica poderia ser responsável pelo aumento motivacional que leva à procura pela nicotina.

Existem também evidências da participação da serotonina, particularmente do receptor 5-HT<sub>1A</sub>, na mediação da síndrome de abstinência pela nicotina (BENWELL; BALFOUR, 1982; KENNY; MARKOU, 2001). Por exemplo, Hilleman et al (1992) mostraram que a bupirona, um agonista parcial dos receptores 5-HT<sub>1A</sub>, é eficaz no alívio de alguns sintomas da síndrome de abstinência em humanos e é útil no tratamento do tabagismo.

#### ***1.4 Nicotina, Anfetamina e Adolescência***

O primeiro contato com as substâncias psicoativas de abuso ocorre durante a adolescência. Esta fase da vida caracteriza-se pela presença de características comportamentais específicas como, por exemplo, busca por novidades e comportamento de risco. O uso precoce pode predispor ao abuso dessas substâncias (SPEAR, 2000). Segundo levantamento do Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), realizado nas 27 capitais brasileiras, numa amostra de 48.155 estudantes do ensino fundamental e médio, 3,8% dos entrevistados fazia uso freqüente de tabaco, enquanto 9,9% dos estudantes relataram uso de tabaco no mês. O tabaco é a segunda droga mais

utilizada pelos estudantes, o álcool aparece em primeiro lugar na pesquisa (GALDURÓZ et al., 2005).

Ainda segundo dados do CEBRID, o uso na vida de psicostimulantes, como cocaína e anfetamina, atingiu 5,7 % dos estudantes. Vale ressaltar ainda que dos 22,6% que utilizaram drogas, 65% encontravam-se na faixa etária entre 10-18 anos (GALDURÓZ et al., 2005).

Em ratos, o período da adolescência ocorre entre os dias pós-natal (DPN) 28 a 42. Nesse período ocorrem mudanças neurais consideráveis no sistema nervoso central do rato. Há aumento acentuado da expressão de receptores dopaminérgicos estriatais (BOLAÑOS; GLATT; JACKSON, 1998; TEICHER; ANDERSEN; HOSTETTER, 1995) e um aumento na liberação de dopamina no córtex pré-frontal (ROSENBERG; LEWIS, 1995). Além disso, a quantidade de transportadores de dopamina (COULTER; HAPPE; MURRIN, 1996), receptores de dopamina (SCHAMBRA et al., 1994), transportadores de serotonina (MOLL et al., 2000) e receptores de nicotina (FIEDLER; MARKS; COLLINS, 1990) nesse período vão se aproximando daquelas encontradas em animais adultos. Essas mudanças neurais podem levar a respostas comportamentais únicas em animais periadolescentes em comparação a animais adultos.

Apesar de haver poucos estudos em modelos animais de adolescência avaliando os efeitos da nicotina nesse período, há evidências que eles respondem à nicotina diferentemente de adultos. Por exemplo, ratos adolescentes parecem ser mais sensíveis aos efeitos reforçadores da nicotina como evidenciado por preferência condicionada por lugar (VASTOLA et al., 2002). Avaliando-se a atividade locomotora em resposta à nicotina, foi verificado que ratos adolescentes, comparados a adultos, foram mais sensíveis aos efeitos iniciais da nicotina (FARADAY; ELLIOT; GRUNBERG, 2001; COLLINS; IZENWASSER, 2004), mas não desenvolveram sensibilização comportamental durante sete dias de tratamento com a droga (COLLINS; IZENWASSER, 2004). Resultados semelhantes foram encontrados em estudos em nosso laboratório (CRUZ; DELUCIA; PLANETA, 2005). Além das diferenças comportamentais, ratos adolescentes também apresentam adaptações neuroquímicas em resposta à nicotina diferentes dos animais adultos (COLLINS et al., 2004).

Ratos adolescentes e adultos também mostram diferenças em resposta a psicostimulantes. Por exemplo, demonstrou-se que ratos adolescentes são menos

sensíveis aos efeitos agudos da cocaína na atividade locomotora (ADRIANI; LAVIOLA, 2000; BOLAÑOS; GLATT; JACKSON, 1998; LAVIOLA et al., 1999). Mas, apesar da pequena ativação locomotora após exposição aguda, ratos adolescentes tratados repetidamente com cocaína apresentaram sensibilização comportamental a essa substância (LAVIOLA et al., 1995; PLANETA; MARIN, 2002).

Semelhante ao que ocorre com a cocaína, ratos periadolescentes e adultos tem respostas comportamentais diferentes à anfetamina. Por exemplo, há um aumento na atividade tanto em ratos adolescentes como em adultos agudamente tratados com anfetamina, mas em menor extensão em ratos periadolescentes (BOLAÑOS; GLATT; JACKSON, 1998).

### ***1.5 Sensibilização comportamental cruzada entre nicotina e psicoestimulantes***

A exposição repetida a dose fixa de substâncias de abuso aumenta gradativamente a atividade locomotora, caracterizando a sensibilização comportamental. Considerando que a sensibilização comportamental reflete a sensibilização do sistema mesocorticolímbico, e que seu mecanismo seria comum para todas as substâncias, podemos supor que o uso repetido de uma substância poderia aumentar os efeitos locomotores de outra, caracterizando assim a sensibilização cruzada. De fato, Santos et al (2009) demonstraram sensibilização comportamental cruzada entre anfetamina e nicotina. Em termos práticos pode-se dizer que o abuso de uma substância pode facilitar o uso de outra (ROLL et al., 1996).

Alguns trabalhos mostraram que nicotina e psicoestimulantes são substâncias frequentemente utilizadas em combinação (VOLKOW, 1997) e que o uso de cigarros está associado com maior probabilidade de abuso de psicoestimulantes (SCHORLING et al., 1994; WEINBERGER; SOFUOGLO, 2009). Foi demonstrado também que o uso de anfetamina aumenta o ato de fumar (TIDEY; O'NEILL; HIGGINS, 2000; COUSINS; STAMAT; WIT, 2001; SIGMON et al., 2003). Além disso, Roll; Higgins; Tidey (1997) observaram alta concentração de cotinina (um metabólito da nicotina) na urina de usuários de psicoestimulantes.

Algumas evidências também sugerem que efeitos relacionados ao abuso de psicostimulantes e nicotina podem ser mediados por um substrato neural comum, especificamente o sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (PICH et al., 1997). Por exemplo, Gerasimov et al (2000) mostraram que a co-administração de nicotina e psicoestimulantes aumenta ainda mais a liberação de dopamina no NAc se comparadas com as substâncias administradas separadamente.

Desse modo, sabendo que o uso da nicotina pode levar ao aumento no abuso de drogas ilícitas como cocaína e anfetamina (HENNINGFIELD; CLAYTON; POLLIN, 1990; LINDSAY; RAINEY, 1997), é importante o entendimento de se e como a exposição repetida a nicotina pode alterar a resposta comportamental subsequente a psicostimulantes e vice-versa.

Para isso, muitos pesquisadores têm estudado a sensibilização cruzada em laboratório. Por exemplo, Santos et al (2005) demonstraram que a administração crônica de femproporex aumenta a locomoção induzida por nicotina e Wooters; Bardo (2009) relatam que a exposição repetida à nicotina aumenta a locomoção induzida por metilfenidato. Collins; Izenwasser (2004) e Collins; Montano; Izenwasser (2004) demonstraram que o pré-tratamento com nicotina (0,4 mg/Kg) durante a adolescência aumenta a locomoção induzida por cocaína e anfetamina.

Resultados semelhantes aos descritos acima foram também obtidos em nosso laboratório, contudo nosso estudo estendeu as observações de Collins; Izenwasser (2004) e Collins; Montano; Izenwasser, (2004) na medida em que investigamos também se a administração repetida de anfetamina na adolescência causa sensibilização comportamental cruzada à nicotina durante a adolescência e na idade adulta.

Nossos resultados demonstraram que o pré-tratamento com anfetamina na adolescência aumenta significativamente a locomoção induzida por administração subsequente de nicotina em ratos adolescentes e adultos, evidenciando que ocorre a sensibilização cruzada entre anfetamina e nicotina na adolescência e que ela é duradoura. De forma semelhante, o pré-tratamento com nicotina na adolescência aumenta significativamente a locomoção induzida por administração subsequente de anfetamina na dose de 5,0 mg/Kg em ratos adolescentes e na dose de 1,0 mg/Kg em ratos adultos, evidenciando que ocorre a sensibilização cruzada entre nicotina e anfetamina na adolescência e que ela é duradoura, dependendo da dose de anfetamina utilizada (SANTOS et al., 2009).

Contudo, as adaptações neuroquímicas subjacentes à sensibilização cruzada entre anfetamina e nicotina ainda não foram elucidadas.

### **1.6 Neurotransmissão e sensibilização**

Pesquisas têm mostrado que a sensibilização comportamental envolve a via dopaminérgica mesocorticolímbica (VANDERSCHUREN; KALIVAS, 2000). Por exemplo, a sensibilização induzida por cocaína, heroína e anfetamina é inibida com a administração concomitante de antagonistas de dopamina (KUCZENSKI; LEITH, 1981; VEZINA; STEWART, 1984, 1989; WEISS et al, 1989; HAMAMURA et al, 1991; KALIVAS; STEWART, 1991). A microinjeção de anfetamina no NAc evoca a sensibilização comportamental induzida pela administração sistêmica de anfetamina (KOLTA et al, 1989; PAULSON; ROBINSON, 1991).

Após verificarem o papel da dopamina na sensibilização as pesquisas passaram a investigar quais sistemas estão relacionados com a hipersensibilidade dos neurônios dopaminérgicos.

Algumas alterações pós-sinápticas foram demonstradas. O tratamento repetido com morfina, cocaína e álcool aumentou a atividade da cascata intracelular do segundo mensageiro adenosina 3',5'-monofosfato (AMPC) (TERWILLIGER et al, 1991; UNTERWALD et al, 1993; NESTLER; AGHAJANIAN, 1997; CHAO; NESTLER, 2004). O AMPC ativa a PKA (proteína kinase dependente de AMPC) que fosforila fatores de transcrição, como o CREB, responsáveis pela expressão de genes. A administração repetida de opióides e psicestimulantes também aumenta a atividade de CREB (COLE et al, 1995; TURGEON; POLLACK; FINK, 1997; SHAW-LUTCHMAN et al, 2002, 2003; CARLEZON; DUMAN; NESTLER, 2005).

Alterações pré-sinápticas também foram observadas após a administração repetida de algumas substâncias psicoativas de abuso. O tratamento crônico com morfina e cocaína aumentou a quantidade de tirosina hidroxilase (enzima da etapa limitante da síntese de dopamina) na ATV (BEITNER-JOHNSON; NESTLER, 1991; SORG; CHEN; KALIVAS, 1993; VRANA et al, 1993). A administração crônica de anfetamina aumentou a expressão dos genes de



transportadores de dopamina (DAT) e transportadores vesiculares de monoaminas (VMAT) (LU; WOLF, 1997; SHILLING; KELSOE; SEGAL, 1997).

Além de alterações de quantidade de proteínas e expressão de genes, muitos pesquisadores observaram que a administração repetida de substâncias de abuso aumentavam gradualmente a liberação de dopamina no NAc. O aumento da liberação de dopamina foi demonstrado para a cocaína, anfetamina, etanol, nicotina, morfina e  $\Delta^9$ -THC (KALIVAS; DUFFY, 1987; ROBINSON et al, 1988; AKIMOTO; HAMAMURA; OTSUKI, 1989; KAZAHAYA; AKIMOTO; OTSUKI, 1989; FUNG, 1989; KALIVAS; DUFFY, 1990; PATRICK et al, 1991; BENJAMIN et al, 1992; BENWELL; BALFOUR, 1992; HARSING; SERSHEN; LAJTHA, 1992; KELLER et al, 1992; KALIVAS; DUFFY, 1993; SPANAGEL; ALMEIDA; SHIPPENBERG, 1993; SPANAGEL; SHIPPENBERG, 1993; WOLF et al, 1993; PAULSON; ROBINSON, 1995; CADONI; VALENTINI; DI CHIARA, 2008).

Embora a maioria dos trabalhos investigue as alterações no sistema dopaminérgico para explicar a dependência a substâncias psicoativas, existem evidências de que outros sistemas, como o sistema serotoninérgico também seja importante na mediação desse fenômeno. Já foi demonstrado que a administração de anfetamina e cocaína promove a liberação de serotonina no NAc (HERNANDEZ; LEE; HOEBEL, 1987; LI et al, 1996; REITH; LI; YAN, 1997). Além disso, recentemente, Rothman; Baumann (2006) enfatizaram a importância do balanço entre as transmissões dopaminérgica e serotoninérgica na via mesolímbica no desenvolvimento da farmacodependência. Por exemplo, foi demonstrado que roedores com baixas concentrações de serotonina (5-HT) apresentam maior resposta na busca de etanol ou cocaína no modelo de auto-administração (ENGEL et al., 1992; LEMARQUAND; PIHL; BENKELFAT, 1994; ROBERTS et al., 1994) e que a administração crônica de cocaína aumentou a quantidade da triptofano hidroxilase (enzima da etapa limitante da síntese de serotonina) nos núcleos da rafe (VRANA et al, 1993). Além disso, vários estudos demonstraram que a transmissão serotoninérgica medeia a sensibilização comportamental induzida por psicostimulantes (YAN; YAN, 2001; O'DELL; PARSONS, 2004).

A serotonina modula a atividade dopaminérgica através de projeções dos corpos celulares serotoninérgicos, localizados nos núcleos da rafe, que chegam até a ATV, NAc e CPF (FINK; GOTHERT, 2007).

Manipulações farmacológicas dos receptores serotoninérgicos alteram os efeitos de algumas substâncias de abuso (ALEX; PEHEK, 2007). Por exemplo, a administração concomitante de 8-OH-DPAT (agonista 5-HT<sub>1A</sub>) ou DOI (agonista 5-HT<sub>2</sub>) inibe a sensibilização locomotora e aumento da liberação de dopamina no NAc induzidas pela nicotina (OLAUSSEON et al, 2001a). A ativação de receptores 5-HT<sub>1B</sub> na ATV aumentam a liberação de dopamina no NAc induzida por cocaína e etanol (O'DELL; PARSONS, 2004; YAN et al, 2005). A administração de p-MPPF, um antagonista do receptor 5-HT<sub>1A</sub>, aumenta a liberação de dopamina no NAc induzida por cocaína (ANDREWS; KUNG; LUCKI, 2005). Agonistas do receptor 5-HT<sub>2C</sub> bloqueiam a liberação de dopamina induzida pelo  $\Delta^9$ -THC e a preferência condicionada por lugar induzida pelo  $\Delta^9$ -THC e nicotina (JI et al., 2006). A microinjeção de antagonista de 5-HT<sub>2C</sub> no CPF potencializa o aumento da locomoção induzida por cocaína (FILIP; CUNNINGHAM, 2003). A administração de MDL72222 ou zacopride, antagonistas do receptor 5-HT<sub>3</sub>, atenua a liberação de dopamina no NAc induzida pela cocaína (MCNEISH et al, 1993; KANKAANPAA; MERIRINNE; SEPPALA, 2002) e morfina (DE DEURWAERDERE et al., 2005).

Uma das maneiras de avaliar quais neuroadaptações ocorrem com a administração repetida de substâncias psicoativas é a análise neuroquímica. Esse método avalia as concentrações extracelulares de neurotransmissores (microdiálise) ou a quantidade total de neurotransmissores em uma determinada região encefálica (*post mortem*).

As concentrações de dopamina, serotonina e seus metabólitos são indicadores da atividade desses sistemas neurotransmissores. As principais enzimas responsáveis pelo catabolismo da dopamina são a monoaminoxidase (MAO) e a catecol-O-metiltransferase (COMT). A dopamina sofre ação da MAO e subsequente oxidação pela enzima aldeído desidrogenase originando como produto o ácido diidroxifenilacético (DOPAC) que é então convertido a ácido homovanílico (HVA) pela COMT. Quanto a serotonina, a primeira etapa do seu catabolismo envolve a desaminação oxidativa pela MAO, o produto dessa reação é imediatamente oxidado pela aldeído desidrogenase formando o ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (COOPER et al, 2002).

Dessa maneira, as alterações comportamentais induzidas pelo uso de substâncias psicoativas de abuso podem ser reflexo de alterações nas neurotransmissões dopaminérgica e serotoninérgica.

## **2 OBJETIVOS**

Os objetivos do presente estudo foram investigar se as administrações repetidas de anfetamina e nicotina promovem alterações neuroquímicas em regiões encefálicas envolvidas no desenvolvimento da sensibilização comportamental.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar machos, periadolescentes [dia pós-natal (DPN) 28-42], provenientes do biotério central da Universidade Estadual Paulista - UNESP. Os animais foram transferidos para o biotério do laboratório de Farmacologia do Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia do Campus de Araraquara - UNESP e grupos de 3 a 4 animais foram mantidos em caixas plásticas de 32 x 40 x 16 cm (largura x comprimento x altura) em condições controladas de temperatura ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e umidade ( $55 \pm 5\%$ ) e luz (ciclo 12/12 horas, luzes acesas às 07h) com livre acesso a alimento e água.

#### **3.2 Dissecação do núcleo acumbens e córtex pré-frontal**

Os animais foram decapitados em guilhotina e seus encéfalos removidos depois da retirada dos ossos superiores do crânio. O encéfalo foi congelado por imersão em isopentano a  $-80^\circ\text{C}$  e armazenado em freezer a  $-80^\circ\text{C}$  para posterior análise das concentrações de DA, 5-HT e seus metabólitos.

Os encéfalos foram alocados em um criostato e a região de interesse dissecada com agulha de 15 Gauge para núcleo acumbens e 14 Gauge para o córtex pré-frontal. Os tecidos do NAc e CPF retirados foram, de 1mm de profundidade a partir da coordenada Bregma +2,16mm e +3,72mm, respectivamente (PAXINOS; WATSON, 2006).

Todo esse procedimento foi realizado em ambiente refrigerado. Os tecidos retirados foram transferidos para tubos de polipropileno e mantidos em gelo seco até seu armazenamento a  $-80^\circ\text{C}$ .

### ***3.3 Quantificação das concentrações de dopamina e seus metabólitos por Cromatografia Líquida de Alta Resolução acoplada a detector eletroquímico***

A técnica para determinação destas substâncias foi recentemente padronizada em nosso laboratório e baseia-se naquelas descritas por Cannazza et al. (2005) e Patel et al. (2005). Em resumo, as estruturas encefálicas foram retiradas e congeladas (-80°C). Para a determinação das concentrações de dopamina (DA), ácido monovanílico (HVA), ácido diidrofenilacético (DOPAC), serotonina (5-HT) e ácido 5-hidróxiindolacético (5-HIAA), as amostras foram homogeneizadas em ácido perclórico 0,1M, centrifugadas a 13.248 g, 20 min, 4°C; 30µL de sobrenadante foram injetados automaticamente no sistema de cromatografia para a quantificação dos neurotransmissores e metabólitos por detecção eletroquímica em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). O cromatógrafo (Waters® Alliance) consiste de uma coluna de separação Symmetry® C18, 5 mm (250 mm X 4,6 mm). A fase móvel, em fluxo de 0,8 mL/min, tinha a seguinte constituição: ácido cítrico (0,05 M), heptano-sulfônico (1,2 mM), pH 3,2, após o ajuste do pH adicionou-se metanol (17%). A fase móvel foi filtrada a vácuo e degaseificada por ultra-som. As concentrações de dopamina, serotonina e seus metabólitos foram expressas em ng/mg de tecido.

## 4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

### 4.1 *Pré-tratamentos*

Ratos periadolescentes foram reunidos em dois grupos. Um grupo recebeu injeção intraperitoneal (ip) de anfetamina (5 mg/kg) e o outro injeção subcutânea (sc) de nicotina (0,4 mg/kg), os respectivos grupos controles receberam injeção ip ou sc de salina. As injeções foram administradas uma vez ao dia, entre 9:00 e 17:00, durante sete dias (DPN 28-34).

Dados do nosso laboratório mostraram que a dose de 0,4 mg/Kg de nicotina promove a sensibilização comportamental (CRUZ; DELUCIA; PLANETA, 2005). A dose de 5,0 mg/Kg de anfetamina foi utilizada em adolescentes, pois esses são hiporresponsivos a psicoestimulantes (ADRIANI; LAVIOLA, 2000; SPEAR, 2000).

### ***4.2 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adolescentes pré-tratados com anfetamina durante a adolescência***

No DPN 37, ou seja, três dias após a retirada, os grupos pré-tratados com salina (SALip) ou anfetamina (ANF), como descrito no item 4.1, foram subdivididos em dois grupos e receberam injeções subcutâneas de nicotina (NIC) (0,4 mg/kg) ou salina (SALsc). Dessa forma, no dia do teste tivemos os seguintes grupos: SALip-SALsc (n=8), SALip-NIC (n=8), ANF-SALsc (n=8) e ANF-NIC (n=9).

Trinta minutos após as injeções os animais foram decapitados. O núcleo acumbens e o CPF foram dissecados como descrito no item 3.2 e a quantificação de DA, 5-HT e seus metabólitos foi realizada como descrito no item 3.3.

### ***4.3 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adultos pré-tratados com anfetamina durante a adolescência***

No DPN64, ou seja, trinta dias após a retirada, os grupos pré-tratados com salina (SALip) ou anfetamina (ANF), como descrito no item 4.1, foram subdivididos em dois grupos e receberam injeções subcutâneas de nicotina (NIC) (0,4 mg/kg) ou salina (SALsc). Dessa forma, no dia do teste tivemos os seguintes grupos: SALip-SALsc (n=7), SALip-NIC (n=8), ANF-SALsc (n=8) e ANF-NIC (n=8).

Trinta minutos após as injeções os animais foram decapitados. O núcleo acumbens e o CPF foram dissecados como descrito no item 3.2 e a quantificação de DA, 5-HT e seus metabólitos foi realizada como descrito no item 3.3.

### ***4.4 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de anfetamina, em animais adolescentes pré-tratados com nicotina durante a adolescência***

No DPN 37, ou seja, três dias após a retirada, os grupos pré-tratados com salina (SALsc) ou nicotina (NIC), como descrito no item 4.1, foram subdivididos em dois grupos e receberam injeções intra-peritoneais de ANF (5 mg/kg) ou salina (SALip). Dessa forma, no dia do teste tivemos os seguintes grupos: SALsc-SALip (n=8), SALsc-ANF (n=8), NIC-SALip (n=8) e NIC-ANF (n=9).

Trinta minutos após as injeções os animais foram decapitados. O núcleo acumbens e o CPF foram dissecados como descrito no item 3.2 e a quantificação de DA, 5-HT e seus metabólitos foi realizada como descrito no item 3.3.

#### ***4.5 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de anfetamina, em animais adultos pré-tratados com nicotina durante a adolescência***

No DPN64, ou seja, trinta dias após a retirada, os grupos pré-tratados com salina (SALsc) ou nicotina (NIC), como descrito no item 4.1, foram subdivididos em dois grupos e receberam injeções intra-peritoneais de anfetamina (ANF) (1 mg/kg) ou salina (SALip). Dessa forma, no dia do teste teremos os seguintes grupos: SALsc-SALip (n=7), SALsc-ANF (n=8), NIC-SALip (n=8) e NIC-ANF (n=8).

Trinta minutos após as injeções os animais foram decapitados. O núcleo acumbens e o CPF foram dissecados como descrito no item 3.2 e a quantificação de DA, 5-HT seus e metabólitos foi realizada como descrito no item 3.3.

#### ***4.6 Análise estatística dos dados***

Os resultados foram analisados por ANOVA bifatorial considerando os fatores pré-tratamento e teste (injeção aguda de ANF ou NIC). Quando ANOVA revelou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) a comparação múltipla das médias foi realizada pelo teste de Newman-Keuls.



## 5 RESULTADOS

### 5.1 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adolescentes pré-tratados com anfetamina durante a adolescência

#### 5.1.1 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens

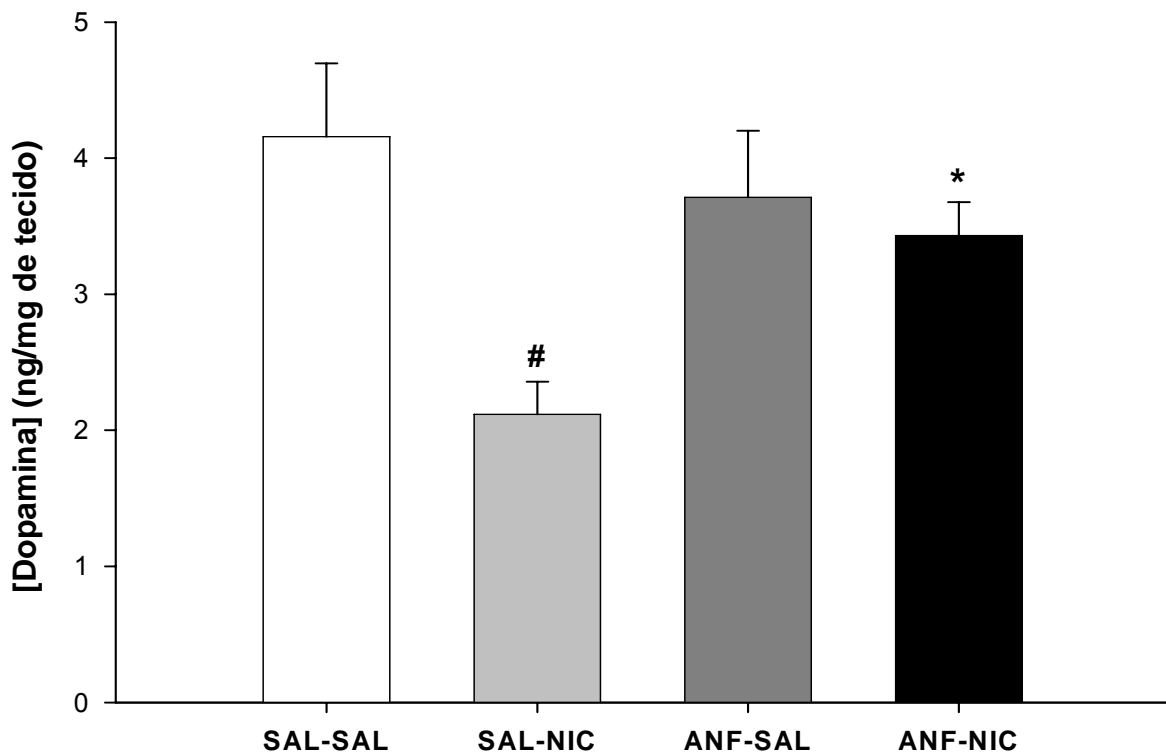
A figura 1 e a tabela 1 apresentam os resultados desse experimento. ANOVA revelou que o pré-tratamento com anfetamina não alterou as quantidades de dopamina [F(1,31)=1,2; p=0,293], DOPAC [F(1,31)=0,1; p=0,763] e HVA [F(1,30)=0,001; p=0,968]. A injeção aguda de nicotina (teste) alterou a concentração de dopamina [F(1,31)=8,2; p=0,008], mas não alterou as concentrações de DOPAC [F(1,31)=2,0; p=0,173] e HVA [F(1,30)=0,6; p=0,458]. Houve, ainda, interação dos fatores pré-tratamento e teste sobre a quantidade de dopamina [F(1,31)=4,7; p=0,039], mas não de DOPAC [F(1,31)=0,2; p=0,629] e HVA [F(1,30)=0,7; p=0,407].

**Tabela 1** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA encontradas no NAc de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam uma injeção aguda de salina ou nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	4,158 ± 0,540	1,923 ± 0,168	0,392 ± 0,025
SAL-NIC	2,117 ± 0,240#	2,244 ± 0,121	0,434 ± 0,026
ANF-SAL	3,713 ± 0,489	2,058 ± 0,138	0,413 ± 0,031
ANF-NIC	3,431 ± 0,245*	2,213 ± 0,212	0,411 ± 0,023

# diferente do grupo SAL-SAL; \* diferente do grupo SAL-NIC

O teste de Newman-Keuls mostrou que o pré-tratamento com anfetamina modificou o efeito agudo da nicotina sobre a concentração de dopamina ( $p=0,03$ ) (SAL-NIC vs ANF-NIC).



**Figura 1** - Concentrações de dopamina no NAc de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou nicotina (0,4 mg/Kg). As barras representam as médias dos valores  $\pm$  EPM ( $n=8$  animais por grupo). #  $p<0,05$  comparado com o grupo SAL-SAL; \*  $p<0,05$  comparado com o grupo SAL-NIC.

### 5.1.2 Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens

ANOVA revelou que o pré-tratamento com anfetamina não alterou as concentrações de 5-HT [ $F(1,32)=0,1$ ;  $p=0,727$ ] e 5-HIAA [ $F(1,32)=0,5$ ;  $p=0,468$ ] no

NAC (Tabela 2). A injeção aguda de nicotina não mostrou efeito sobre as quantidades de 5-HT [F(1,32)=1,1; p=0,294] e 5-HIAA [F(1,32)=0,6; p=0,430]. Além disso, não houve interação entre os fatores sobre as concentrações de 5-HT [F(1,32)=0,6; p=0,436] e 5-HIAA [F(1,32)=0,4; p=0,556].

**Tabela 2** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no NAC de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,447 ± 0,125	0,741 ± 0,039
SAL-NIC	0,264 ± 0,085	0,752 ± 0,051
ANF-SAL	0,335 ± 0,114	0,670 ± 0,040
ANF-NIC	0,307 ± 0,065	0,745 ± 0,071

### 5.1.3 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no córtex pré-frontal

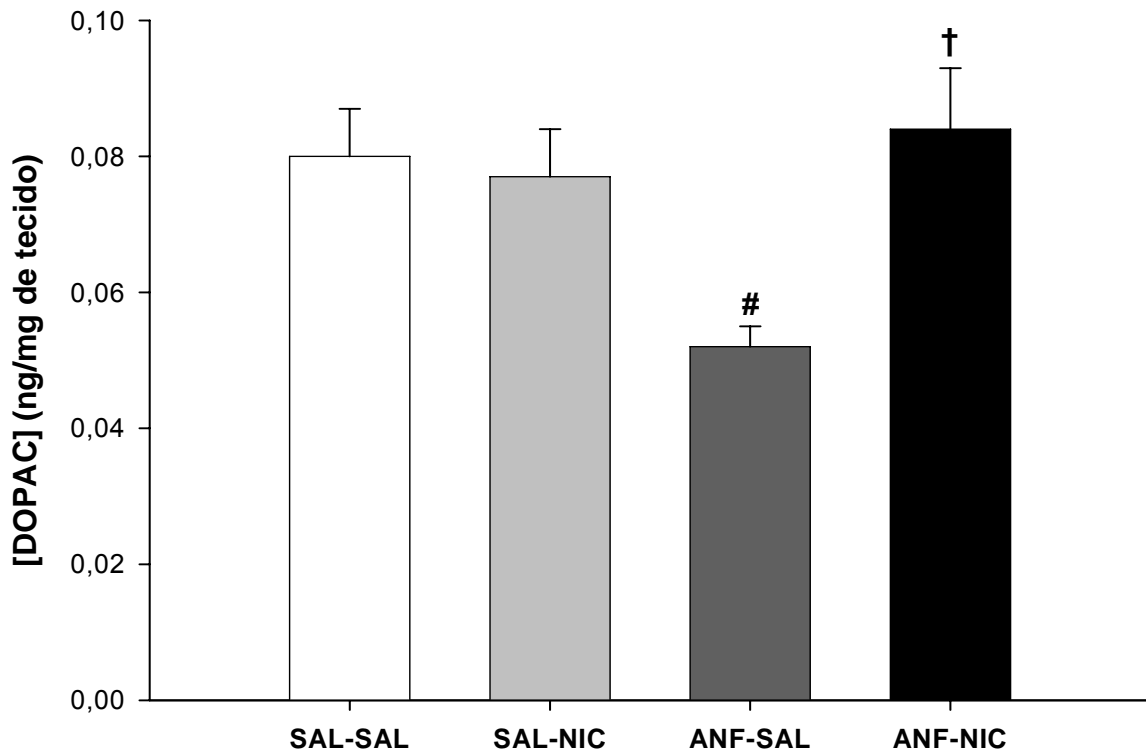
A figura 2 mostra os resultados da avaliação do pré-tratamento com anfetamina sobre o efeito da nicotina nas concentrações teciduais de dopamina e seus metabólitos no CPF. ANOVA revelou que o tratamento crônico com anfetamina não altera as concentrações de dopamina [F(1,29)=0,6; p=0,446], DOPAC [F(1,30)=0,2; p=0,146] e HVA [F(1,31)=0,02; p=0,902]. O desafio com nicotina não altera as quantidades de dopamina [F(1,29)=3,4; p=0,077] e HVA [F(1,31)=3,5; p=0,072], mas mostra tendência de efeito sobre a concentração de DOPAC [F(1,30)=4,0; p=0,055]. Houve interação entre os fatores sobre a concentração de DOPAC [F(1,30)=5,9; p=0,022], mas não de dopamina [F(1,29)=3,4; p=0,086] e HVA [F(1,31)=2,3; p=0,142].

**Tabela 3** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA no CPF de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	0,104 ± 0,006	0,080 ± 0,007	0,027 ± 0,002
SAL-NIC	0,105 ± 0,006	0,077 ± 0,007	0,028 ± 0,004
ANF-SAL	0,091 ± 0,006	0,052 ± 0,003#	0,019 ± 0,006
ANF-NIC	0,110 ± 0,002	0,084 ± 0,009†	0,035 ± 0,005

# diferente do grupo SAL-SAL; † diferente do grupo ANF-SAL

O teste de Newman-Keuls mostrou que o pré-tratamento com anfetamina altera a concentração basal de DOPAC ( $p=0,011$ ) (SAL-SAL vs ANF-SAL) e que a administração aguda de nicotina reverte esse efeito ( $p=0,005$ ) (ANF-SAL vs ANF-NIC).



**Figura 2** - O gráfico representa as concentrações de DOPAC no CPF de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou 5,0 mg/Kg de anfetamina e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou nicotina (0,4 mg/Kg). As barras representam as médias dos valores  $\pm$  EPM ( $n=7-8$  animais por grupo). #  $p<0,05$  comparado com o grupo SAL-SAL; †  $p<0,05$  comparado com o grupo ANF-SAL.

#### 5.1.4 Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal

A análise estatística revela que o pré-tratamento com anfetamina não alterou a concentração de 5-HT [ $F(1,31)=0,8$ ;  $p=0,377$ ], mas sim a concentração de 5-HIAA [ $F(1,29)=4,3$ ;  $p=0,048$ ]. A injeção aguda de nicotina não mostrou efeito sobre as quantidades de 5-HT [ $F(1,31)=0,0003$ ;  $p=0,985$ ] e 5-HIAA [ $F(1,29)=1,4$ ;  $p=0,243$ ]. Não houve interação entre os fatores pré-tratamento e teste sobre as concentrações de 5-HT [ $F(1,31)=0,3$ ;  $p=0,595$ ] e 5-HIAA [ $F(1,29)=1,0$ ;  $p=0,338$ ].

**Tabela 4** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no CPF de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,202 ± 0,053	0,600 ± 0,036
SAL-NIC	0,176 ± 0,044	0,706 ± 0,057
ANF-SAL	0,135 ± 0,050	0,547 ± 0,027
ANF-NIC	0,159 ± 0,039	0,557 ± 0,065*

\* diferente do grupo SAL-NIC

## **5.2 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção aguda de nicotina, em animais adultos pré-tratados com anfetamina durante a adolescência**

### **5.2.1 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens**

ANOVA bifatorial mostrou que pré-tratamento com anfetamina não alterou as concentrações de dopamina [F(1,29)=0,5; p=0,491], DOPAC [F(1,30)=0,09; p=0,766] e HVA [F(1,30)=0,2; p=0,702] no NAc (Tabela 9). O teste com nicotina modificou a quantidade de dopamina [F(1,29)=5,2; p=0,031], mas não de DOPAC [F(1,30)=0,4; p=0,535] e HVA [F(1,30)=3,1; p=0,088]. Não houve interação entre os fatores sobre as concentrações de dopamina [F(1,29)=0,04; p=0,846], DOPAC [F(1,30)=0,2; p=0,648] e HVA [F(1,30)=0,8; p=0,386].

**Tabela 5** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA no NAc de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	3,216 ± 0,118	1,809 ± 0,210	0,357 ± 0,033
SAL-NIC	2,731 ± 0,257	1,783 ± 0,135	0,478 ± 0,064
ANF-SAL	3,099 ± 0,297	1,930 ± 0,171	0,415 ± 0,022
ANF-NIC	2,523 ± 0,151	1,757 ± 0,117	0,455 ± 0,049

### 5.2.2 Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens

A tabela 6 apresenta os resultados desse experimento. ANOVA bifatorial revelou que o pré-tratamento com anfetamina alterou a concentração tecidual de 5-HIAA [ $F(1,30)=5,1$ ;  $p=0,033$ ], mas não de 5-HT [ $F(1,30)=0,2$ ;  $p=0,680$ ]. A injeção aguda de nicotina não alterou as quantidades de 5-HT [ $F(1,30)=0,3$ ;  $p=0,571$ ] e 5-HIAA [ $F(1,30)=0,7$ ;  $p=0,427$ ]. Não houve interação entre os fatores pré-tratamento e desafio sobre as concentrações de 5-HT [ $F(1,30)=0,3$ ;  $p=0,616$ ] e 5-HIAA [ $F(1,30)=0,2$ ;  $p=0,673$ ].

**Tabela 6** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no NAc de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,462 ± 0,068	0,741 ± 0,030
SAL-NIC	0,379 ± 0,082	0,725 ± 0,026
ANF-SAL	0,391 ± 0,070	0,666 ± 0,026
ANF-NIC	0,386 ± 0,083	0,616 ± 0,064

### 5.2.3 Concentração de dopamina e DOPAC no córtex pré-frontal

A tabela 7 apresenta os resultados desse experimento. ANOVA bifatorial revelou que o pré-tratamento com anfetamina não modificou as concentrações de dopamina [ $F(1,28)=0,09$ ;  $p=0,768$ ] e DOPAC [ $F(1,28)=0$ ;  $p=0,995$ ]. A injeção aguda não alterou a concentração de dopamina [ $F(1,28)=1,3$ ;  $p=0,263$ ] e DOPAC [ $F(1,28)=3,6$ ;  $p=0,069$ ]. Não houve interação entre os fatores sobre as quantidades de dopamina [ $F(1,28)=0,4$ ;  $p=0,514$ ] e DOPAC [ $F(1,28)=0,2$ ;  $p=0,666$ ].



**Tabela 7** - Concentrações de dopamina e DOPAC no CPF de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	0,043 ± 0,007	0,069 ± 0,014	<i>nd</i>
SAL-NIC	0,057 ± 0,009	0,099 ± 0,015	<i>nd</i>
ANF-SAL	0,050 ± 0,007	0,075 ± 0,010	<i>nd</i>
ANF-NIC	0,054 ± 0,007	0,093 ± 0,009	<i>nd</i>

*nd* não determinada

A concentração tecidual de HVA não foi determinada no CPF de ratos adultos, pois a mesma estava abaixo dos limites de detecção (1,9 ng/mL) e quantificação (6,4 ng/mL) do HPLC.

#### 5.2.4 Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal

ANOVA bifatorial mostrou que o pré-tratamento com anfetamina não alterou as concentrações teciduais de 5-HT [F(1,29)=0,01; p=0,929] e 5-HIAA [F(1,28)=1,6; p=0,218]. A injeção aguda nicotina modificou a quantidade de 5-HIAA [F(1,28)=6,2; p=0,019], mas não de 5-HT [F(1,29)=0,002; p=0,967]. Não houve interação do pré-tratamento e desafio sobre as concentrações de 5-HT [F(1,29)=0,03; p=0,863] e 5-HIAA [F(1,28)=0,08; p=0,781].

**Tabela 8** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no CPF de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de nicotina (0,4 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,247 ± 0,019	0,718 ± 0,047
SAL-NIC	0,304 ± 0,014	0,837 ± 0,039
ANF-SAL	0,261 ± 0,025	0,676 ± 0,049
ANF-NIC	0,261 ± 0,015	0,770 ± 0,015

### ***5.3 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção de aguda de anfetamina, em animais adolescentes pré-tratados com nicotina durante a adolescência***

#### *5.3.1 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens*

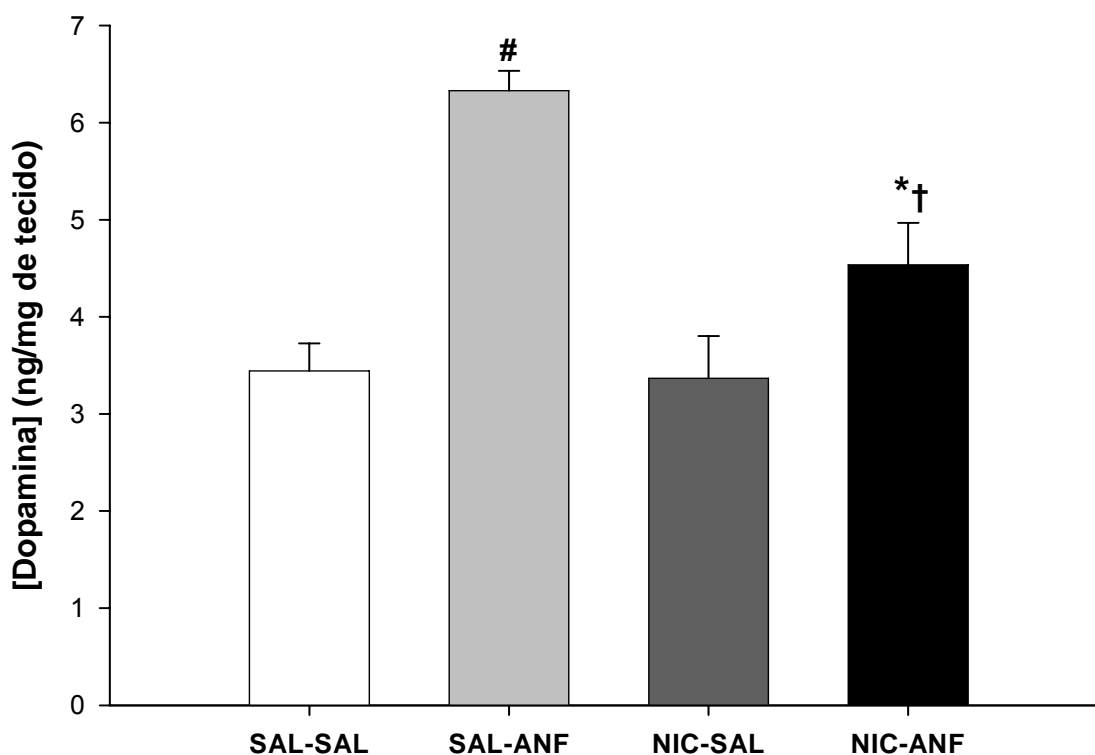
A figura 3 mostra os resultados desse experimento. ANOVA bifatorial revelou que o pré-tratamento com nicotina alterou as quantidades de dopamina [F(1,31)=7,0; p=0,013], DOPAC [F(1,32)=15,9; p<0,001] e HVA [F(1,31)=4,8; p=0,037]. A injeção aguda de anfetamina (teste) aumentou a concentração de dopamina [F(1,31)=33,0; p<0,001], mas não de DOPAC [F(1,32)=0,9; p=0,342] e HVA [F(1,31)=2,1; p=0,158]. Houve também interação entre os fatores na quantidade de dopamina [F(1,31)=5,9; p=0,022], mas não de DOPAC [F(1,32)=3,0; p=0,092] e HVA [F(1,31)=0,4; p=0,536].

**Tabela 9** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA no NAc de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	3,443 ± 0,285	2,116 ± 0,225	0,371 ± 0,047
SAL-ANF	6,330 ± 0,203#	2,270 ± 0,231	0,340 ± 0,041
NIC-SAL	3,367 ± 0,436	1,672 ± 0,145	0,313 ± 0,025
NIC-ANF	4,535 ± 0,432*†	1,137 ± 0,179*	0,235 ± 0,031*

# diferente do grupo SAL-SAL; \* diferente do grupo SAL-ANF; † diferente do grupo NIC-SAL

O teste de Newman-Keuls mostrou que o pré-tratamento com nicotina diminui o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração de dopamina ( $p=0,001$ ) (SAL-ANF vs NIC-ANF).



**Figura 3** - Concentrações de dopamina no NAc de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg). As barras representam as médias dos valores  $\pm$  EPM (n=8-9 animais por grupo). #  $p < 0,05$  comparado com o grupo SAL-SAL; \*  $p < 0,05$  comparado com o grupo SAL-ANF; †  $p < 0,05$  comparado com o grupo NIC-SAL.

### 5.3.2 Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens.

A análise estatística revelou que o pré-tratamento com nicotina não alterou as concentrações de 5-HT [ $F(1,32)=0,0$ ;  $p=0,994$ ] e 5-HIAA [ $F(1,32)=0,1$ ;  $p=0,764$ ]. A injeção aguda de anfetamina também não alterou as concentrações de 5-HT [ $F(1,32)=2,8$ ;  $p=0,105$ ] e 5-HIAA [ $F(1,32)=2,0$ ;  $p=0,166$ ]. Não houve interação entre os fatores pré-tratamento e desafio sobre as quantidades de 5-HT [ $F(1,32)=0,003$ ;  $p=0,956$ ] e 5-HIAA [ $F(1,32)=1,7$ ;  $p=0,203$ ].

**Tabela 10** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no NAc de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,393 ± 0,118	0,753 ± 0,034
SAL-ANF	0,577 ± 0,117	0,869 ± 0,048
NIC-SAL	0,386 ± 0,106	0,795 ± 0,038
NIC-ANF	0,582 ± 0,113	0,800 ± 0,046

### 5.3.3 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no córtex pré-frontal.

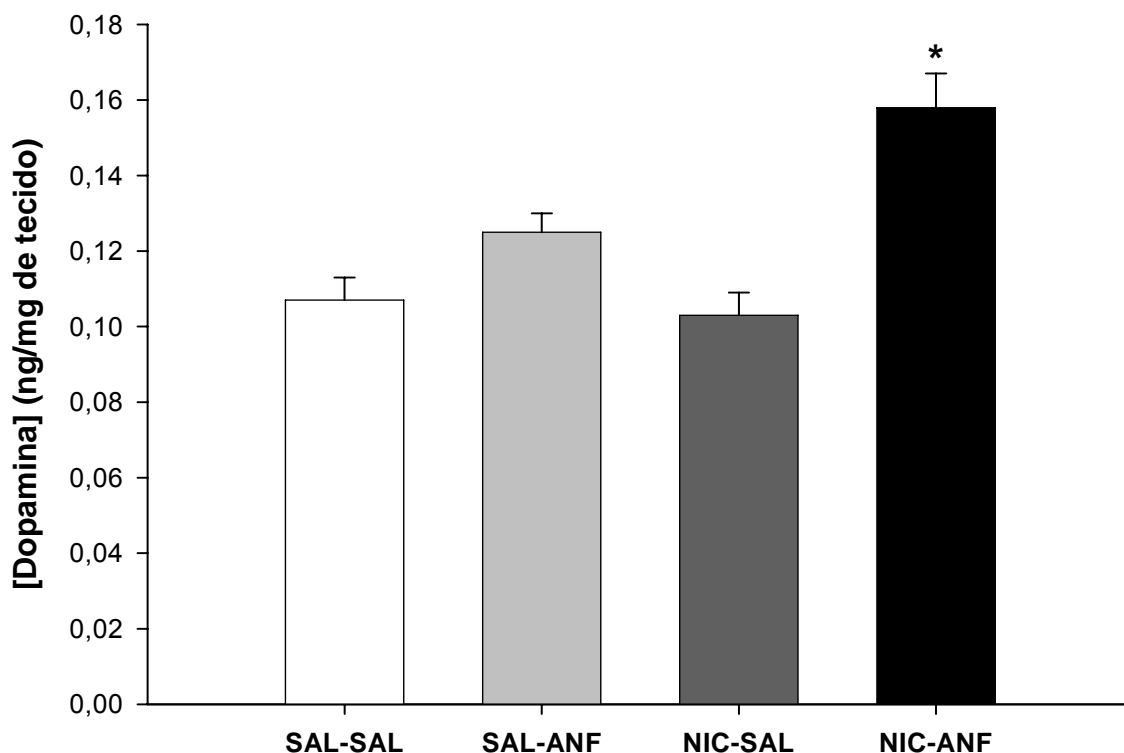
A figura 4 mostra os resultados desse experimento. ANOVA bifatorial revelou que o pré-tratamento com nicotina alterou a concentração de dopamina [F(1,30)=4,8; p=0,037], mas não de DOPAC [F(1,30)=0,8; p=0,378] e HVA [F(1,25)=0,9; p=0,350]. A injeção aguda (teste) de anfetamina mostra efeito sobre a concentração de dopamina [F(1,30)=30,1; p<0,001], DOPAC [F(1,30)=41,0; p<0,001] e HVA [F(1,25)=4,3; p=0,050]. Além disso, houve interação entre o pré-tratamento e teste sobre a quantidade de dopamina [F(1,30)=7,6; p=0,010], mas não de DOPAC [F(1,30)=0,3; p=0,600] e HVA [F(1,25)=0,6; p=0,449].

**Tabela 11** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA no CPF de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	0,107 ± 0,006	0,071 ± 0,008	0,035 ± 0,003
SAL-ANF	0,125 ± 0,005	0,033 ± 0,003	0,023 ± 0,004
NIC-SAL	0,103 ± 0,006	0,063 ± 0,006	0,036 ± 0,005
NIC-ANF	0,158 ± 0,009*	0,031 ± 0,003	0,030 ± 0,005

\* diferente dos grupos SAL-ANF e NIC-SAL

O teste de Newman-Keuls mostrou que o pré-tratamento com nicotina aumenta o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração de dopamina ( $p=0,002$ ).



**Figura 4** - Concentrações de dopamina no CPF de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg). As barras representam as médias dos valores  $\pm$  EPM (n=7-8 animais por grupo). \*  $p < 0,05$  comparado com os grupos SAL-ANF e NIC-SAL.

#### 5.3.4 Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal.

ANOVA mostrou que o pré-tratamento com nicotina não modificou as quantidades de 5-HT [ $F(1,31)=0,5$ ;  $p=0,501$ ] e 5-HIAA [ $F(1,31)=0,02$ ;  $p=0,893$ ]. A injeção aguda (teste) de anfetamina alterou as concentrações de 5-HT [ $F(1,31)=7,0$ ;  $p=0,013$ ] e 5-HIAA [ $F(1,31)=14,8$ ;  $p < 0,001$ ]. Não houve interação entre os fatores sobre as quantidades de 5-HT [ $F(1,31)=1,3$ ;  $p=0,265$ ] e 5-HIAA [ $F(1,31)=0,3$ ;  $p=0,577$ ].

**Tabela 12** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no CPF de ratos adolescentes que foram tratados, durante sete dias, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após três dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (5,0 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,257 ± 0,057	0,719 ± 0,046
SAL-ANF	0,349 ± 0,072	0,539 ± 0,054
NIC-SAL	0,230 ± 0,046	0,742 ± 0,072
NIC-ANF	0,459 ± 0,066	0,501 ± 0,042

#### **5.4 Concentração de neurotransmissores e seus metabólitos após a injeção de anfetamina, em animais adultos pré-tratados com nicotina durante a adolescência**

##### *5.4.1 Concentração de dopamina, DOPAC e HVA no núcleo acumbens*

Os resultados estão resumidos na tabela 13. ANOVA bifatorial revelou que o pré-tratamento com nicotina não alterou as concentrações de dopamina [F(1,29)=1,3; p=0,269], DOPAC [F(1,30)=0,3; p=0,613] e HVA [F(1,30)=0,3; p=0,600] no NAc. A injeção aguda de anfetamina modificou a concentração de dopamina [F(1,29)=5,9; p=0,023], mas não de DOPAC [F(1,30)=0,2; p=0,691] e HVA [F(1,30)=0,6; p=0,457]. Não houve interação entre os fatores pré-tratamento e teste sobre as quantidades de dopamina [F(1,29)=0,05; p=0,826], DOPAC [F(1,30)=0,2; p=0,704] e HVA [F(1,30)=0,09; p=0,771].



**Tabela 13** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA no NAc de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	0,646 ± 0,034	1,863 ± 0,218	0,403 ± 0,034
SAL-ANF	0,714 ± 0,025	1,725 ± 0,211	0,367 ± 0,035
NIC-SAL	0,787 ± 0,032	1,706 ± 0,106	0,374 ± 0,027
NIC-ANF	0,797 ± 0,058	1,702 ± 0,155	0,359 ± 0,040

#### 5.4.2 Concentração de serotonina e 5-HIAA no núcleo acumbens

Os resultados estão resumidos na tabela 14. A análise estatística mostrou que pré-tratamento com nicotina modificou a concentração de 5-HIAA [F(1,30)=7,9; p=0,009], mas não de 5-HT [F(1,30)=1,2; p=0,281]. A injeção aguda (teste) de anfetamina não alterou as quantidades de 5-HT [F(1,30)=0,07; p=0,789] e 5-HIAA [F(1,30)=0,9; p=0,343]. Não houve interação entre o pré-tratamento e o desafio sobre as concentrações de 5-HT [F(1,30)=0,7; p=0,428] e 5-HIAA [F(1,30)=0,5; p=0,478].

**Tabela 14** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no NAc de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,489 ± 0,078	0,646 ± 0,034
SAL-ANF	0,533 ± 0,077	0,714 ± 0,025
NIC-SAL	0,464 ± 0,097	0,787 ± 0,032
NIC-ANF	0,374 ± 0,078	0,797 ± 0,058

#### 5.4.3 Concentração de dopamina e DOPAC no córtex pré-frontal

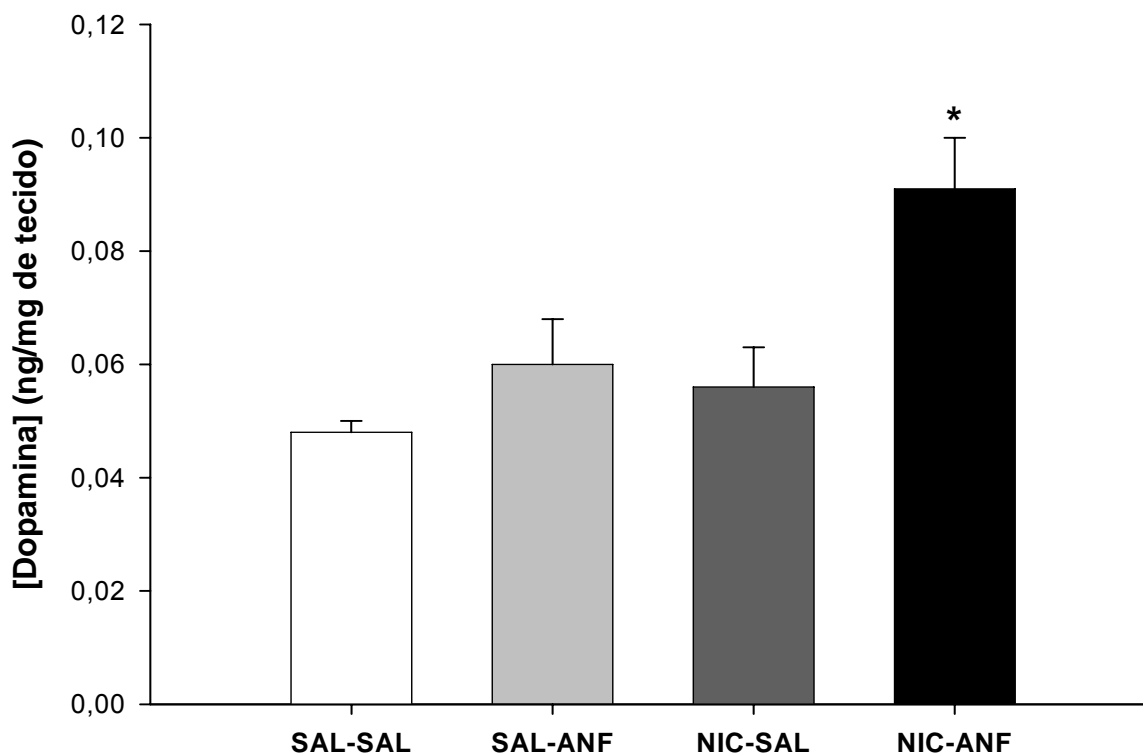
A figura 6 mostra os resultados desse experimento. ANOVA bifatorial revelou que o pré-tratamento com nicotina alterou a concentração de dopamina [F(1,29)=8,3; p=0,008] e DOPAC [F(1,30)=6,2; p=0,020]. A injeção aguda (teste) de anfetamina, trinta dias após a última administração de nicotina alterou as concentrações de dopamina [F(1,29)=11,9; p=0,002] e DOPAC [F(1,30)=4,2; p=0,050]. Não houve interação entre o pré-tratamento e o teste sobre as quantidades de dopamina [F(1,29)=3,1; p=0,090] e DOPAC [F(1,30)=0,1; p=0,739].

**Tabela 15** - Concentrações de dopamina, DOPAC e HVA no CPF de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg).

Grupos	Dopamina	DOPAC	HVA
SAL-SAL	0,048 ± 0,002	0,041 ± 0,005	0,015 ± 0,005
SAL-ANF	0,060 ± 0,008	0,035 ± 0,007	0,017 ± 0,008
NIC-SAL	0,056 ± 0,007	0,064 ± 0,009	0,026 ± 0,007
NIC-ANF	0,091 ± 0,009*	0,064 ± 0,010	0,027 ± 0,002

\* diferente dos grupos SAL-ANF e NIC-SAL

O teste de Newman-Keuls mostrou que o pré-tratamento com nicotina altera o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração de dopamina ( $p=0,002$ ) (SAL-ANF vs NIC-ANF).



**Figura 6** - Concentrações de dopamina no CPF de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg). As barras representam as médias dos valores  $\pm$  EPM (n=7-8 animais por grupo). \*  $p < 0,05$  comparado com os grupos SAL-ANF e NIC-SAL.

#### 5.4.4 Concentração de serotonina e 5-HIAA no córtex pré-frontal

ANOVA revelou que o pré-tratamento com nicotina não alterou as concentrações de 5-HT [ $F(1,30)=0,5$ ;  $p=0,498$ ] e 5-HIAA [ $F(1,29)=1,7$ ;  $p=0,205$ ]. A injeção aguda de anfetamina (teste) não modificou as quantidades de 5-HT [ $F(1,30)=0,2$ ;  $p=0,650$ ] e 5-HIAA [ $F(1,29)=1,2$ ;  $p=0,290$ ]. Não houve interação entre os fatores pré-tratamento e teste sobre as concentrações de 5-HT [ $F(1,30)=0,03$ ;  $p=0,875$ ] e 5-HIAA [ $F(1,29)=2,4$ ;  $p=0,131$ ].

**Tabela 16** - Concentrações de 5-HT e 5-HIAA no CPF de ratos adultos que foram tratados, por sete dias durante a adolescência, com salina ou nicotina (0,4 mg/Kg) e, após trinta dias de retirada, receberam injeção aguda de salina ou anfetamina (1,0 mg/Kg).

Grupos	5-HT	5-HIAA
SAL-SAL	0,220 + 0,026	0,475 + 0,074
SAL-ANF	0,247 + 0,049	0,506 + 0,080
NIC-SAL	0,257 + 0,065	0,661 + 0,064
NIC-ANF	0,271 + 0,015	0,489 + 0,015

## 6 DISCUSSÃO

O presente trabalho investigou se a sensibilização comportamental cruzada entre anfetamina e nicotina, observada por Santos et al (2009), está relacionada com alterações neuroquímicas no NAc e CPF. Utilizamos a determinação das concentrações teciduais dos neurotransmissores e seus metabólitos para avaliar as possíveis alterações neuroquímicas induzidas por anfetamina ou nicotina. A análise e expressão dos resultados quando se utilizam as concentrações teciduais são bastante variáveis. Assim, alguns autores analisam apenas as concentrações isoladas da dopamina ou dos metabólitos, principalmente DOPAC para a interpretação dos resultados (PIETILA et al., 1996; OLAZÁBAL et al., 2004; SHIEH; YANG, 2008). Enquanto outros autores calculam a razão entre os metabólitos e o neurotransmissor (*turnover*) (FESTA et al., 2004; DAVIS et al., 2008; THIEMANN et al., 2008; DUCHESNE; DUFRESNE; SULLIVAN, 2009).

Neste trabalho observamos que a injeção aguda de nicotina diminuiu a concentração de dopamina no NAc de ratos adolescentes e que esse efeito é bloqueado quando os animais foram tratados repetidamente com anfetamina. Demonstramos também que o tratamento crônico com anfetamina diminuiu a concentração de DOPAC no CPF de ratos adolescentes e que a administração aguda de nicotina, após o pré-tratamento, inibiu esse efeito.

Observamos também que a injeção aguda de anfetamina aumentou a quantidade tecidual de dopamina no NAc de ratos adolescentes e que esse efeito foi atenuado pelo tratamento crônico com nicotina. Além disso, demonstramos que animais tratados repetidamente com nicotina tinham concentrações teciduais de dopamina aumentadas no CPF, após a administração aguda de anfetamina, e que esse efeito ainda aparece quando a anfetamina é administrada trinta dias após a última administração de nicotina.

Os resultados encontrados parecem não demonstrar relação entre a sensibilização comportamental cruzada induzida por nicotina e anfetamina e alterações nas concentrações teciduais de dopamina, DOPAC, HVA, serotonina e 5-HIAA. Resultados semelhantes foram observados por Vihavainen et al. (2006). Esses autores demonstraram que o tratamento crônico com nicotina aumenta o

efeito agudo locomotor da morfina, mas a exposição crônica a nicotina não altera síntese e liberação de dopamina em resposta à injeção aguda de morfina.

No mesmo sentido, Birrell; Balfour (1998), utilizando um protocolo de experimento semelhante ao nosso, demonstraram que o tratamento com nicotina (0,4 mg/Kg) subcutânea por cinco dias não alterou o efeito agudo de anfetamina na liberação de dopamina no centro do núcleo acumbens. Apesar de não haver diferença na neurotransmissão dopaminérgica dessa região, avaliada através da microdiálise, a sensibilização comportamental pela administração repetida de nicotina foi observada após a administração aguda de anfetamina.

É importante ressaltar que alguns estudos de microdiálise sugerem que a expressão da sensibilização locomotora independe do aumento de dopamina no núcleo acumbens após a administração repetida de cocaína (SEGAL; KUCZENSKI, 1992a), anfetamina (SEGAL; KUCZENSKI, 1992b) e nicotina (DAMSMA; DAY; FIBIGER, 1989; NISELL et al., 1996).

Contudo, outros laboratórios, também usando a técnica de microdiálise, observaram diferenças no efeito de substâncias psicotrópicas nas sub-regiões (centro e borda) do NAc (PONTIERI; TANDA; DI CHIARA, 1995; LECCA et al., 2006). Além disso, alguns pesquisadores demonstraram aumento e diminuição da transmissão de dopamina no centro e borda, respectivamente, induzidos pela administração de psicoestimulantes (CADONI; SOLINAS; DI CHIARA, 2000), nicotina (CADONI; DI CHIARA, 2000), morfina (CADONI; DI CHIARA, 1999) e  $\Delta$ -9-THC (CADONI; VALENTINI; DI CHIARA, 2008). A técnica de quantificação em tecido não permite explorar a diferença entre o centro e borda do NAc. Desse modo, ao utilizar essa técnica podemos não observar alterações devido a diminuição da borda e aumento do centro.

Resultados conflitantes também foram relatados quando se avaliou a transmissão serotoninérgica após a administração repetida de substâncias psicoativas de abuso. Estudos *post mortem* mostraram que administrações repetidas de psicoestimulantes não alteram as concentrações teciduais de serotonina e 5-HIAA, no NAc e CPF de roedores, após injeções agudas de anfetamina ou metanfetamina (ROBINSON; CAMP, 1987; KITANAKA; KITANAKA; TAKEMURA, 2003; SCHOLL et al, 2009). Nesse mesmo sentido, estudos de microdiálise demonstraram que tratamentos crônicos com cocaína ou morfina não alteraram a

liberação de serotonina e 5-HIAA no NAc de ratos, após a administração aguda dessas substâncias (PARSONS; JUSTICE, 1993; MIKKOLA et al, 2001).

Entretanto, foi demonstrado que o tratamento com anfetamina, cocaína, morfina ou etanol durante quatro dias aumentou o efeito agudo da *p*-cloroanfetamina na atividade locomotora e liberação de serotonina no CPF de camundongos (SALOMON et al, 2006; LANTERI et al, 2008). Além disso, a administração concomitante de SR46349B (antagonista do receptor 5-HT<sub>2A</sub>) inibiu o aumento da locomoção e da liberação de serotonina (SALOMON et al, 2006; LANTERI et al, 2008). Uma possível explicação para esses achados controversos pode estar relacionada à droga utilizada. A substância utilizada para promover a liberação de serotonina foi a *p*-cloroanfetamina, pois esses autores argumentam que a administração de anfetamina, nas condições estudadas por eles, não promove liberação de serotonina (SALOMON et al, 2006; LANTERI et al, 2008).

Scholl et al (2009) sugerem que mudanças nas concentrações de dopamina e serotonina, bem como seus metabólitos, em amostras teciduais resultam de alterações na síntese e armazenamento vesicular e não propriamente de alterações nas atividades dopaminérgica e serotoninérgicas. Vihavainen et al (2006) mostram que alterações no metabolismo da dopamina e serotonina são indicativas de modificações observadas no comportamento. Vihavainen et al (2008) sugere o uso da microdiálise e determinação tecidual de neurotransmissores como métodos complementares de estudo da atividade pré-sináptica.

Entretanto, apesar de não podermos relacionar a sensibilização comportamental cruzada (SANTOS et al., 2009) com as concentrações teciduais encontradas, destacam-se alguns resultados importantes.

A injeção aguda de anfetamina aumenta a concentração tecidual de dopamina no NAc e esse efeito é revertido com a administração crônica de nicotina por sete dias (Figura 3). O pré-tratamento com a nicotina também diminuiu as concentrações de DOPAC e HVA no NAc. Além disso, o tratamento crônico com nicotina aumentou o efeito agudo da anfetamina sobre a concentração de dopamina no CPF (Figura 4).

A modulação da liberação de dopamina no sistema nervoso central é bastante complexa. Muitos trabalhos mostram que a dopamina modula a neurotransmissão cortical e que esse papel influenciaria a própria atividade da via mesocorticolímbica (DEL ARCO; MORA, 2008). Foi demonstrado também que o



aumento de dopamina no CPF, induzido pela microinjeção de anfetamina, aumentou a concentração de DOPAC no NAc (LOUILOT; LE MOAL; SIMON, 1989), aboliu a sensibilização locomotora induzida pela cocaína (PRASAD; HOCHSTATTER; SORG, 1999) e diminuiu o efeito locomotor da própria anfetamina (VEZINA et al., 1991).

Neurônios dopaminérgicos, provenientes da ATV, fazem sinapses com as células piramidais glutamatérgicas e os inter-neurônios GABAérgicos, localizados no CPF (GOLDMAN-RAKIC et al., 1989; COWAN et al., 1994; SESACK; SNYDER; LEWIS, 1995). No sentido oposto, há projeções glutamatérgicas que modulam a atividade da ATV e NAc (COWAN et al., 1994). A ativação de neurônios glutamatérgicos (TABER; FIBIGER, 1995) ou a inibição de inter-neurônios GABAérgicos (KARREMAN; MOGHADDAM, 1996) promovem a liberação de dopamina no NAc, principalmente através da ação sobre a ATV (KARREMAN; MOGHADDAM, 1996). A atividade das células piramidais pode, ainda, ser controlada pelos inter-neurônios GABAérgicos presentes no CPF (COWAN et al., 1994). Desse modo, Tseng et al (2006) observaram que a estimulação da ATV, através da microinjeção de NMDA, ativa o neurônio GABAérgico, que por sua vez inibe as células piramidais.

Vincent; Khan; Benes (1993; 1995) mostraram a presença de receptores de dopamina no CPF. Os neurônios GABAérgicos apresentam receptores dopaminérgicos do subtipo 1 ( $D_1$ ) enquanto que as células glutamatérgicas apresentam receptores dopaminérgicos do subtipo 1 e 2 ( $D_2$ ) (BERGSON et al., 1995; STEKETEE, 2003). Os receptores da família  $D_1$  ( $D_1$  e  $D_5$ ) são acoplados à proteína Gs e promovem ativação da adenilato ciclase (AC) aumentando a função da proteína quinase dependente de AMPc (PKA), que desencadeia uma série de efeitos intracelulares. Já a família dos receptores  $D_2$  ( $D_2$ ,  $D_3$  e  $D_4$ ) estão ligados à proteína  $G_i$ , que quando ativada inibe a AC (LACHOWICZ; SIBLEY, 1997; NICOLA; SURMEIER; MALENKA, 2000).

Manipulações dos receptores dopaminérgicos  $D_2$  no CPF confirmam o papel modulador da dopamina sobre as ações corticais. Por exemplo, a microinjeção bilateral de quinpirole (agonista  $D_2$ ) no CPF de ratos diminuiu os níveis basais de dopamina, DOPAC e HVA no NAc, como também a atividade locomotora (DEL ARCO; MORA, 2005). O quinpirole também inibiu o aumento da atividade locomotora e a liberação de dopamina no NAc induzidos pela cocaína (BEYER;

STEKETEE, 2000) e pela fenciclidina (DEL ARCO et al., 2007). Em um estudo eletrofisiológico Sesack; Bunney (1989) demonstraram que a administração de dopamina no CPF diminui a corrente elétrica das células piramidais, e que um antagonista D<sub>2</sub> reverte esse efeito. A estimulação elétrica da ATV ou a administração local de dopamina e um agonista D<sub>2</sub> no CPF inibem as células piramidais. Esse efeito é revertido na presença de um antagonista D<sub>2</sub> (GODBOUT et al., 1991). A dopamina diminui a excitabilidade de células piramidais e esse efeito é mimetizado pelo quinpirole (GULLEDGE; JAFFE, 1998). Esses resultados indicam que a dopamina inibe a ação dos neurônios glutamatérgicos através de receptores do tipo D<sub>2</sub>.

A influência dos receptores D<sub>1</sub> sobre a atividade das células corticais também foi investigada. Vezina et al (1991) mostraram que a microinjeção de um antagonista D<sub>1</sub> no CPF foi capaz de aumentar o efeito locomotor da anfetamina administrada diretamente no NAc. Olsen; Duvauchelle (2001) observaram que um antagonista D<sub>1</sub> promoveu aumento de dopamina no NAc. Doherty; Gratton (1996) demonstraram que a administração local de agonista D<sub>1</sub> diminui a atividade do NAc em resposta ao estresse e o antagonista D<sub>1</sub> aumenta essa atividade.

Há, ainda, estudos que demonstram papel fundamental do GABA no controle da neurotransmissão cortical. Bandyopadhyay; Hablitz (2007) observaram que a dopamina inibe as células piramidais através dos receptores D<sub>1</sub>. Entretanto, esse efeito parece ser indireto, já que, a dopamina promove liberação de GABA no CPF (PENIT-SORIA; AUDINAT; CREPEL, 1987; GORELOVA; SEAMANS; YANG, 2002). Zhou; Hablitz (1999) mostraram que a dopamina inibe as células glutamatérgicas e estimula as células GABAérgicas do CPF. O efeito inibitório da dopamina sobre as células piramidais é revertido na presença de bicuculina (antagonista GABA) (GULLEDGE; JAFFE, 2001).

Entretanto, existem evidências que indicam um papel excitatório da dopamina no CPF. Por exemplo, Yang; Seamans (1996) mostraram, *in vitro*, que a dopamina aumenta a excitabilidade de células piramidais através do receptor D<sub>1</sub>. A ativação do receptor D<sub>1</sub> no CPF aumenta a expressão de receptores AMPA na superfície celular (WOLF; MANGIAVACCHI; SUN, 2003).

Desse modo, podemos supor que o aumento da dopamina no CPF de ratos tratados cronicamente com nicotina e que receberam injeção aguda de

anfetamina estaria causando a diminuição da dopamina observada no NAc através da inibição das células piramidais e ativação dos inter-neurônios GABAérgicos.

Observamos também que animais adultos pré-tratados com nicotina durante a adolescência e tratados com anfetamina trinta dias após a retirada tiveram aumento de dopamina no CPF quando comparados ao grupo pré-tratado com salina e que recebeu injeção aguda de anfetamina (Figura 5).

Desse modo notamos que as alterações corticais que ocorreram durante a adolescência (Figura 4) foram preservadas até a vida adulta. Alguns trabalhos mostram que a exposição a drogas durante a adolescência pode causar modificações que duram até a vida adulta. Por exemplo, dados do nosso laboratório demonstraram que a administração repetida de cocaína por cinco dias durante a adolescência promove sensibilização comportamental duradoura, que pode ser observada até trinta dias após a retirada (MARIN; CRUZ; PLANETA, 2008). Além disso, resultados do nosso laboratório demonstraram também que o tratamento crônico com nicotina ou anfetamina promove sensibilização comportamental cruzada duradoura (SANTOS et al., 2009).

Os resultados indicam que a sensibilização cruzada duradoura não está relacionada a alterações pré-sinápticas. Dessa forma, podemos sugerir que alterações pós-sinápticas contribuam para esse fenômeno. De fato, resultados anteriores mostraram que a exposição crônica à anfetamina durante a adolescência causa adaptações persistentes nos receptores glutamatérgicos (CRUZ; MARIN; PLANETA, 2008).

Contudo, algumas alterações parecem ser transitórias. Marin (2009) mostrou que o estresse repetido durante a adolescência aumenta o efeito locomotor da cocaína administrada três dias após a última sessão de estresse, mas esse efeito não aparece quando a injeção de cocaína foi dada trinta dias depois.

Outros estudos indicam que alterações na expressão e atividade de PKA, ERK e CREB desempenham papel importante na sensibilização comportamental (PIERCE; KALIVAS, 1997; MATTSON et al., 2005; LU et al., 2006). Por exemplo, estudos têm demonstrado aumento na atividade da PKA na via dopaminérgica mesocorticolímbica após administração repetida de psicoestimulantes (NESTLER; AGHAJANIAN, 1997). Da mesma forma, estudos mostram aumento de ERK e CREB fosforilados na VTA, NAc e CPF depois de administrações repetidas

dessas substâncias (BERHOW; HIROI; NESTLER, 1996; LU et al., 2005; MATTSON et al., 2005).

Além de ERK fosforilado (um marcador da atividade de ERK), aumento na atividade CREB também parece estar relacionado ao desenvolvimento da sensibilização comportamental (CARLEZON; DUMAN; NESTLER, 2005; COLE et al., 1995; MATTSON et al., 2005). Nesse sentido, Mattson et al. (2005), demonstrou aumento em CREB fosforilado (um marcador da atividade dessa proteína) em ratos sensibilizados a cocaína. O mesmo resultado foi encontrado para anfetamina por Simpson; Morris (1995). A importância de CREB no desenvolvimento da dependência pode estar relacionada à sua capacidade de promover neuroadaptações, pois, a ativação de CREB aumenta a transcrição de inúmeros genes que podem alterar a função neural e regular a plasticidade neural (CARLEZON; DUMAN; NESTLER, 2005; FRANK; GREENBERG, 1994), o que pode explicar a sensibilização duradoura.

Assim, investigação desses parâmetros em animais adultos expostos a anfetamina na adolescência poderá contribuir para a elucidação da sensibilização cruzada entre anfetamina e nicotina observada anteriormente (SANTOS et al., 2009).

## 7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados neste trabalho podemos concluir que:

- As alterações neuroquímicas promovidas pelo tratamento crônico com anfetamina e nicotina parecem não estar relacionadas com a sensibilização comportamental cruzada descrita por Santos et al (2009);

- A administração de nicotina (0,4 mg/Kg) por sete dias atenuou o efeito agudo da anfetamina (5,0 mg/Kg) sobre a concentração tecidual de dopamina no NAc de ratos adolescentes;

- A administração de nicotina (0,4 mg/Kg) por sete dias aumentou o efeito agudo da anfetamina (5,0 mg/Kg) sobre a concentração tecidual de dopamina no CPF de ratos adolescentes;

- A administração de nicotina (0,4 mg/Kg) por sete dias, durante a adolescência, aumentou o efeito agudo da anfetamina (1,0 mg/Kg) sobre a concentração tecidual de dopamina no CPF de ratos adultos.

- Estudos futuros para a investigação de mecanismos pós-sinápticos podem ajudar a compreender quais neuroadaptações estão relacionadas à sensibilização comportamental cruzada entre a nicotina e anfetamina.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANI, W.; LAVIOLA, G. A unique hormonal and behavioral hyporesponsivity to both forced novelty and d-amphetamine in periadolescent mice. **Neuropharmacology**, v.39, p.334-346, 2000.

AGO, Y. et al. Attenuation by the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist osetozotan of the behavioral effects of single and repeated methamphetamine in mice. **Neuropharmacology**, v.51, p.914-922, 2006.

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

AKIMOTO, K.; HAMAMURA, T.; OTSUKI, S. Subchronic cocaine treatment enhances cocaine-induced dopamine efflux, studied by in vivo intracerebral dialysis. **Brain Res**, v.490, p.339-344, 1989.

ALCANTARA, L.M.A.; PLANETA, C.S.; DELUCIA, R. Envolvimento do sistema dopaminérgico na sensibilização comportamental ao femproporex. **Ver Ciênc Farm**, v.23, p.59-70, 2002.

ALEX, K.D.; PEHEK, E.A. Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. **Pharmacol Ther**, v.113, p.296-320, 2007.

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders**. Washington, 1994.

ANDREWS, C.M.; KUNG, H.F.; LUCKI, I. The 5-HT<sub>1A</sub> receptor modulates the effects of cocaine on extracellular serotonin and dopamine levels in the nucleus accumbens. **Eur J Pharmacol**, v.508, p.123-130, 2005.

AUCLAIR, A. et al. 5-HT<sub>2A</sub> and alpha<sub>1b</sub>-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioral sensitization to opiates and psychostimulants. **Eur J Neurosci**, v.20, p.3073-3084, 2004.

BANDYOPADHYAY, S.; HABLITZ, J.J. Dopaminergic modulation of local network activity in rat prefrontal cortex. **J Neurophysiol**, v.97, p.4120-4128, 2007.

BEITNER-JOHNSON, D.; NESTLER, E.J. Morphine and cocaine exert common chronic actions on tyrosine hydroxylase in dopaminergic brain reward regions. **J Neurochem**, v.57, p.344-347, 1991.

BENJAMIN, D. et al. Sensitization to the dopamine release-enhancing effects of ethanol demonstrated in male long-evans rats. **Soc Neurosci Abstr**, v.18, p.1431, 1992.

BENWELL, M.E.; BALFOUR, D.J. The effects of nicotine administration on 5-HT uptake and biosynthesis in rat brain. **Eur J Pharmacol**, v.84, p.71-77, 1982.

BENWELL, M.E.; BALFOUR, D.J. The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. **Br J Pharmacol**, v.105, p.849-856, 1992.

BERGMAN, J.; PARONIS, C.A. Measuring the reinforcing strength of abused drugs. **Mol Interv**, v.5, p.273-283, 2006.

BERGSON, C. et al. Regional, cellular, and subcellular variations in the distribution of D<sub>1</sub> and D<sub>5</sub> dopamine receptors in primate brain. **J Neurosci**, v.15, p.7821-7836, 1995.

BERHOW, M.T.; HIROI, N.; NESTLER, E.J. Regulation of ERK (extracellular signal regulated kinase), part of the neurotrophin signal transduction cascade, in the rat mesolimbic dopamine system by chronic exposure to morphine or cocaine. **J Neurosci**, v.16, p.4707-4715, 1996.

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

BERRIDGE, K.C.; ROBINSON, T.E. Parsing reward. **Trends Neurosci**, v.26, p.507-513, 2003.

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

BEYER, C.E.; STEKETEE, J.D. Intra-medial prefrontal cortex injection of quinpirole, but not SKF 38393, blocks the acute motor-stimulant response to cocaine in the rat. **Psychopharmacology (Berl)**, v.151, p.211-218, 2000.

BIRRELL, C.E.; BALFOUR, D.J.K. The influence of nicotine pretreatment on mesoaccumbens dopamine overflow and locomotor response to D-amphetamine. **Psychopharmacology (Berl)**, v.140, p.142-149, 1998.

BOLAÑOS, C.A.; GLATT, S.J.; JACKSON, D. Subsensitivity to dopaminergic drugs in periadolescent rats: a behavioral and neurochemical analysis. **Brain Res Dev Brain Res**, v.111, p.25-33, 1998.

CADONI, C.; DI CHIARA, G. Reciprocal changes in dopamine responsiveness in the nucleus accumbens shell and core and in the dorsal caudate-putamen in rats sensitized to morphine. **Neuroscience**, v.90, p.447-455, 1999.

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

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



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

CADONI, C.; VALENTINI, V.; DI CHIARA, G. Behavioral sensitization to delta-9-tetrahydrocannabinol and cross-sensitization with morphine: differential changes in accumbal shell and core dopamine transmission. **J Neurochem**, v.106, p.1586-1593, 2008.

CALABRESI, P.; LACEY, M.G.; NORTH, R.A. Nicotinic excitation of rat ventral tegmental neurones in vitro studied by intracellular recording. **Br J Pharmacol**, v. 98, p. 135-140, 1989.

CARLEZON, W.A.JR.; DUMAN, R.S.; NESTLER, E.J. The many faces of CREB. **Trends Neurosci.** v.28, p.436-445, 2005.

CHAO, J.; NESTLER, E.J. Molecular neurobiology of drug addiction. **Annu Rev Med**, v.55, p.113-132, 2004.

COLE, R.L. et al. Neuronal adaptation to amphetamine and dopamine: molecular mechanisms of prodynorphin gene regulation in rat striatum. **Neuron**, v.14, p.813-823, 1995.

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

COLLINS, S.L.; MONTANO, R.; IZENWASSER, S. Nicotine treatment produces persistent increases in amphetamine-stimulated locomotor activity in periadolescent male but not female or adult male rats. **Brain Res Dev Brain Res**, v.153, p.175-187, 2004.

COLLINS, S.L. et al. Neurochemical alterations produced by daily nicotine exposure in periadolescent vs. adult male rats. **Eur J Pharmacol**, v.502, p.75-85, 2004.

COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. **The biochemical basis of neuropharmacology**. New York, Oxford University Press, 2002, 416p.

COULTER, C.L.; HAPPE, H.K.; MURRIN, L.C. Postnatal development of the dopamine transporter: a quantitative autoradiographic study. **Brain Res Dev Brain Res**, v.92, p.172-181, 1996.

COUSINS, M.S.; STAMAT, H.M.; WIT, H. Acute doses of d-amphetamine and bupropion increase cigarette smoking. **Psychopharmacology (Berl)**, v.157, p.243-253, 2001.

COWAN, R.L. et al. Analysis of synaptic inputs and targets of physiologically characterized neurons in rat frontal cortex: combined in vivo intracellular recording and immunolabeling. **Synapse**, v.17, p.101-114, 1994.

CRUZ, F.C.; DELUCIA, R.; PLANETA, C.S. Differential behavioral and neuroendocrine effects of repeated nicotine in adolescent and adult rats. **Pharmacol Biochem Behav**, v.80, p.411-417, 2005.

CRUZ, F.C.; MARIN, M.T.; PLANETA, C.S. The reinstatement of amphetamine-induced place preference is long-lasting and related to decreased expression of AMPA receptors in the nucleus accumbens. **Neuroscience**, v.151, p.313-319, 2008.

CUNHA, G.H. et al. Nicotina e tabagismo. **REPM**, v.1, p.1-10, 2007.

DAMSMA, G.; DAY, J.; FIBIGER, H.C. Lack of tolerance to nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. **Eur J Pharmacol**, v.168, p.363-368, 1989.

DAVIS, J.F. et al. Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. **Behav Neurosci**, v.122, p.1257-1263, 2008.

DE DEURWAERDÈRE, P. et al. Regionally and functionally distinct serotonin<sub>3</sub> receptors control in vivo dopamine outflow in the rat nucleus accumbens. **J Neurochem**, v.94, p.140-149, 2005.

DEL ARCO, A. et al. Stimulation of D2 receptors in the prefrontal cortex reduces PCP-induced hyperactivity, acetylcholine release and dopamine metabolism in the nucleus accumbens. **J Neural Transm**, v.114, p.185-193, 2007.

DEL ARCO, A.; MORA, F. Glutamate-dopamine in vivo interaction in the prefrontal cortex modulates the release of dopamine and acetylcholine in the nucleus accumbens of the awake rat. **J Neural Transm**, v.112, p.97-109, 2005.

DEL ARCO, A.; MORA, F. Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. **Pharmacol Biochem Behav**, v.90, p.226-235, 2008.

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 U S A**, v.85, p.5274-5278, 1988.

DOHERTY, M.D.; GRATTON, A. Medial prefrontal cortical D1 receptor modulation of the meso-accumbens dopamine response to stress: an electrochemical study in freely-behaving rats. **Brain Res**, v.715, p.86-97, 1996.

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

DUCHESNE, A.; DUFRESNE, M.M.; SULLIVAN, R.M. Sex differences in corticolimbic dopamine and serotonin systems in the rat and the effect of postnatal handling. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v.33, p.251-261, 2009.

DWORKIN, S.I.; CO, C.; SMITH, J.E. Rat brain neurotransmitter turnover rates altered during withdrawal from chronic cocaine administration. **Brain Res**, v.682, p.116-126, 1995.

ENGEL, J.A. et al. Serotonergic and dopaminergic involvement in ethanol intake. In: NARANJO, C.A.; SELLERS, E.M. **Novel pharmacological interventions for alcoholism**. New York: Springer Verlag, 1992, p.68-82.

FARADAY, M.M.; ELLIOT, B.M.; GRUNBERG, N.E. Adult vs adolescent rats differ in biobehavior responses to chronic nicotine administration. **Pharmacol Biochem Behav**, v.70, p.475-489, 2001.

FESTA, E.D. et al. Sex differences in cocaine-induced behavioral responses, pharmacokinetics, and monoamine levels. **Neuropharmacology**, v.46, p.672-687, 2004.

FIEDLER E.P., MARKS M.J., COLLINS A.C. Postnatal development of two nicotinic cholinergic receptor in seven mouse brain regions. **Int J Dev Neurosci**, v.8, p.533-540, 1990.

FILIP, M.; CUNNINGHAM, K.A. Hyperlocomotive and discriminative stimulus effects of cocaine are under the control of serotonin<sub>2C</sub> (5-HT<sub>2C</sub>) receptors in rat prefrontal cortex. **J Pharmacol Exp Ther**, v.306, p.734-743, 2003.

FINK, K.B.; GOTHERT, M. 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. **Pharmacol Rev**, v.59, p.360-417, 2007.

FRANK, D.A.; GREENBERG, M.E. CREB: a mediator of long-term memory from mollusks to mammals. **Cell**, v.79, p.5-8, 1994.

FUNG, Y.K. Effects of chronic nicotine pretreatment on (+)-amphetamine and nicotine-induced synthesis and release of [3H]dopamine from [3H]tyrosine in rat nucleus accumbens. **J Pharm Pharmacol**, v.41, p.66-68, 1989.

GALDURÓZ, J.E. et al. **V Levantamento domiciliar sobre consumo de drogas Psicotrópicas entre estudantes do ensino médio da rede pública de ensino nas 27 capitais Brasileiras**. São Paulo: Cromosste, 2004, 398p.

GAYTAN, O. et al. Sensitization to locomotor effects of methylphenidate in the rat. **Life Sci**, v.61, p.101-107, 1997.

GERASIMOV, M.R. et al. Synergistic interactions between nicotine and cocaine or methylphenidate depend on the dose of dopamine transporter inhibitor. **Synapse**, v.38, p.432-437, 2000.

GODBOUT, R. et al. Inhibitory influence of the mesocortical dopaminergic neurons on their target cells: electrophysiological and pharmacological characterization. **J Pharmacol Exp Ther**, v.258, p.728-738, 1991.

GOLDMAN-RAKIC, P.S. et al. Dopamine synaptic complex with pyramidal neurons in primate cerebral cortex. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.86, p.9015-9019, 1989.

GORELOVA, N.; SEAMANS, J.K.; YANG, C.R. Mechanisms of dopamine activation of fast-spiking interneurons that exert inhibition in rat prefrontal cortex. **J Neurophysiol**, v.88, p.3150-3166, 2002.

GULLEDGE, A.T.; JAFFE, D.B. Dopamine decreases the excitability of layer V pyramidal cells in the rat prefrontal cortex. **J Neurosci**, v.18, p.9139-9151, 1998.

GULLEDGE, A.T.; JAFFE, D.B. Multiple effects of dopamine on layer V pyramidal cell excitability in rat prefrontal cortex. **J Neurophysiol**, v.86, p.586-595, 2001.

HAMAMURA, T. et al. Co-administration of either a selective D1 or D2 dopamine antagonist with methamphetamine prevents methamphetamine-induced behavioral sensitization and neurochemical change, studied by in vivo intracerebral dialysis. **Brain Res**, v.546, p.40-46, 1991.

HANSON, G.R.; RAU, K.S.; FLECKENSTEIN, A.E. The methamphetamine experience: a NIDA partnership. **Neuropharmacology**, v. 47, p. 92-100, 2004.

HARSING, L.G.JR.; SERSHEN, H.; LAJTHA, A. Dopamine efflux from striatum after chronic nicotine: evidence for autoreceptor desensitization. **J Neurochem**, v.59, p.48-54, 1992.

HENNINGFIELD, J.E.; CLAYTON, R.; POLLIN, W. Involvement of tobacco in alcoholism and illicit drug use. **Br J Addict**, v.85, p.279-291, 1990.

HERNANDEZ, L.; LEE, F.; HOEBEL, B.G. Simultaneous microdialysis and amphetamine infusion in the nucleus accumbens and striatum of freely moving rats: increase in extracellular dopamine and serotonin. **Brain Res Bull**, v.19, p.623-628, 1987.

HILLEMANN, D.E. et al. Effect of buspirone on withdrawal symptoms associated with smoking cessation. **Arch Intern Med**, v.152, p.350-352, 1992.

HYMAN, S.E. Addiction to cocaine and amphetamine. **Neuron**, v.16, p. 901-904, 1996.

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

JI, S.P. Disruption of PTEN coupling with 5-HT<sub>2C</sub> receptors suppresses behavioral responses induced by drugs of abuse. **Nat Med**, v.12, p.324-329, 2006.

JONES, S.; KAUER, J.A. Amphetamine depresses excitatory synaptic transmission via serotonin receptors in the ventral tegmental area. **J Neurosci**, v.19, p.9780-9787, 1999.

KALIVAS, P.W.; DUFFY, P. Sensitization to repeated morphine injection in the rat: possible involvement of A10 dopamine neurons. **J Pharmacol Exp Ther**, v.241, p.204-212, 1987.

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.; DUFFY, P. Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine. I. Dopamine axon terminals. **J Neurosci**, v.13, p.266-275, 1993.

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

KANKAANPAA, A. et al. The acute effects of amphetamine derivatives on extracellular serotonin and dopamine levels in rats nucleus accumbens. **Pharmacol Biochem Behav**, v.59, p.1003-1009, 1998.

KANKAANPAA, A.; MERIRINNE, E.; SEPPALA, T. 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist MDL 72222 attenuates cocaine- and mazindol-, but not methylphenidate-induced neurochemical and behavioral effects in the rat. **Psychopharmacology (Berl)**, v.159, p.341-350, 2002.

KARREMAN, M.; MOGHADDAM, B. The prefrontal cortex regulates the basal release of dopamine in the limbic striatum: an effect mediated by ventral tegmental area. **J Neurochem**, v.66, p.589-598, 1996.

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

KELLER, R.W.JR. et al. Within-subject sensitization of striatal dopamine release after a single injection of cocaine: an in vivo microdialysis study. **Synapse**, v.11, p.28-34, 1992.

KENNY, P.J.; MARKOU, A. Neurobiology of the nicotine withdrawal syndrome. **Pharmacol Biochem Behav**, v.70, p.531-549, 2001.

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

KIRCH, D.G. et al. Effects of chronic nicotine administration on monoamine and monoamine metabolite concentrations in rat brain. **Clin Neuropharmacol**, v.10, p.376-383, 1987.

KITANAKA, N.; KITANAKA, J.; TAKEMURA, M. Behavioral sensitization and alteration in monoamine metabolism in mice after single versus repeated methamphetamine administration. **Eur J Pharmacol**, v.474, p.63-70, 2003.

KOLTA, M.G.; SHREVE, P.; URETSKY, N.J. Effect of pretreatment with amphetamine on the interaction between amphetamine and dopamine neurons in the nucleus accumbens. **Neuropharmacology**, v.28, p.9-14, 1989.

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

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

KUCZENSKI, R.; LEITH, N.J. Chronic amphetamine: is dopamine a link in or a mediator of the development of tolerance and reverse tolerance? **Pharmacol Biochem Behav**, v.15, p.405-413, 1981.

LACHOWICZ, J.E.; SIBLEY, D.R. Molecular characteristics of mammalian dopamine receptors. **Pharmacol Toxicol**, v.81, p.105-113, 1997.

LANTERI, C. et al. Drugs of abuse specifically sensitize noradrenergic and serotonergic neurons via a non-dopaminergic mechanism. **Neuropsychopharmacology**, v.33, p.1724-1734, 2008.



LAVIOLA, G. et al. Cocaine sensitization in periadolescent and adult rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v.275, p.345-357, 1995.

LAVIOLA, G. et al. Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animals models. **Neurosci Biobehav Rev**, v.23, p.993-1010, 1999.

LECCA, D. et al. Preferential increase of extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell as compared to that in the core during acquisition and maintenance of intravenous nicotine self-administration. **Psychopharmacology (Berl)**, v.184, p.435-446, 2006.

LEMARQUAND, D.G.; PIHL, R.O.; BENKELFAT, C. Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: findings of animal studies. **Biol Psychiatry**, v.36, p.395-421, 1994.

LI, M.Y. et al. Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin in the nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis with cocaine and other monoamine uptake blockers. **J Neurochem**, v.66, p.559-568, 1996.

LINDSAY, G.B.; RAINEY, J. Psychosocial and pharmacologic explanations of nicotine's "gateway drug" function. **J Sch Health**, v.67, p.123-126, 1997.

LOUILOT, A.; LE MOAL, M.; SIMON, H. Opposite influences of dopaminergic pathways to the prefrontal cortex or the septum on the dopaminergic transmission in the nucleus accumbens. An in vivo voltammetric study. **Neuroscience**, v.29, p.45-56, 1989.

LU, L. et al. Central amygdala ERK signaling pathway is critical to incubation of cocaine craving. **Nat Neurosci**, v.8, p.212-219, 2005.

LU, L. et al. Role of ERK in cocaine addiction. **Trends Neurosci**, v.29, p.695-703, 2006.

LU, W.; WOLF, M.E. Expression of dopamine transporter and vesicular monoamine transporter 2 mRNAs in rat midbrain after repeated amphetamine administration. **Brain Res Mol Brain Res**, v.49, p.137-148, 1997.

LUNA, G.C. Use and abuse of amphetamine-type stimulants in the United States of America. **Rev Panam Salud Publica**, v.9, p.114-122, 2001.

MARIN, M.T. **Sensibilização comportamental à cocaína e neuroadaptações na via mesocorticolímbica: interação com ontogênese, estresse e ambiente.** 05/03/2009. Tese (Doutorado em Ciências Fisiológicas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

MARIN, M.T.; CRUZ, F.C.; PLANETA, C.S. Cocaine-induced behavioral sensitization in adolescent rats endures until adulthood: Lack of association with GluR1 and NR1 glutamate receptor subunits and tyrosine hydroxylase. **Pharmacol Biochem Behav**, v.91, p.109-114, 2008.

MARKS, M.J. et al. Nicotine binding and nicotinic receptor subunit mRNA after chronic nicotine treatment. **J Neurosci**, v.12, p.2765-2784, 1992.

MATTSON, B.J. et al. Cocaine-induced CREB phosphorylation in nucleus accumbens of cocaine-sensitized rats is enabled by enhanced activation of extracellular signal-related kinase, but not protein kinase A. **J Neurochem**, v.95, p.1481-1494, 2005.

MCGEHEE, D.S.; ROLE, L.W. Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. **Annu Rev Physiol**, v.57, p.521-546, 1995.

MCNEISH, C.S. et al. The 5-HT<sub>3</sub> antagonist zacopride attenuates cocaine-induced increases in extracellular dopamine in rat nucleus accumbens. **Pharmacol Biochem Behav**, v.45, p.759-763, 1993.

MERIRINNE, E.; KANKAANPAA, A.; SEPPALA, T. Rewarding properties of methylphenidate: sensitization by prior exposure to the drug and effects of dopamine D1- and D2-receptor antagonists. **J Pharmacol Exp Ther**, v.298, p.539-550, 2001.

MIKKOLA, J.A. et al. Effects of repeated morphine treatment on metabolism of cerebral dopamine and serotonin in alcohol-preferring AA and alcohol-avoiding ANA rats. **Alcohol Alcohol**, v.36, p.286-291, 2001.

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

MOLL, G.H. et al. Age-associated changes in the densities of presynaptic monoamine transporter in different regions of the rat brain from early juvenile life to late adulthood. **Brain Res Dev Brain Res**, v.119, p.251-257, 2000.

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

NESTLER, E.J.; AGHAJANIAN, G.K. Molecular and cellular basis of addiction. **Science**, v.278, p.58-63, 1997.

NICOLA, S.M.; SURMEIER, J.; MALENKA, R.C. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. **Annu Rev Neurosci**, v.23, p.185-215, 2000.

NISELL, M. et al. Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat. **Synapse**, v.22, p.369-381, 1996.

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

OBSERVATÓRIO BRASILEIRO DE INFORMAÇÕES SOBRE DROGAS. **Informações sobre drogas: tipos de drogas: Anfetaminas**. Disponível em: <http://www.obid.senad.gov.br/portais/OBID/index.php>. Acesso em: 25 de julho de 2009.

O'DELL, L.E.; PARSONS, L.H. Serotonin1B receptors in the ventral tegmental area modulate cocaine-induced increases in nucleus accumbens dopamine levels. **J Pharmacol Exp Ther**, v.311, p.711-719, 2004.

OLAUSSON, P. et al. The effect of 5-HT1A and 5-HT2 receptor agonists on the behavioral and neurochemical consequences of repeated nicotine treatment. **Eur J Pharmacol**, v.420, p.45-54, 2001a.

OLAUSSON, P. et al. Behavioral and neurochemical consequences of repeated nicotine treatment in the serotonin-depleted rat. **Psychopharmacology (Berl)**, v.155, p.348-361, 2001b.

OLAUSSON, P.; ENGEL, J.A.; SODERPALM, B. Involvement of serotonin in nicotine dependence: processes relevant to positive and negative regulation of drug intake. **Pharmacol Biochem Behav**, v.71, p.757-771, 2002.

OLAZÁBAL, D.E. et al. The content of dopamine, serotonin, and their metabolites in the neural circuit that mediates maternal behavior in juvenile and adult rats. **Brain Res Bull**, v.63, p.259-268, 2004.

OLSEN, C.M.; DUVAUCHELLE, C.L. Intra-prefrontal cortex injections of SCH 23390 influence nucleus accumbens dopamine levels 24h post-infusion. **Brain Res Dev Brain Res**, v.922, p.80-86, 2001.

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.

PARSONS, L.H.; KOOB, G.F.; WEISS, F. Extracellular serotonin is decreased in the nucleus accumbens during withdrawal from cocaine self-administration. **Behav Brain Res**, v.73, p.225-228, 1996.

PATRICK, S.L. et al. Concomitant sensitization of amphetamine-induced behavioral stimulation and in vivo dopamine release from rat caudate nucleus. **Brain Res**, v.538, p.343-346, 1991.

PAULSON, P.E.; ROBINSON, T.E. Sensitization to systemic amphetamine produces an enhanced locomotor response to a subsequent intra-accumbens amphetamine challenge in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, v.104, p.140-141, 1991.

PAULSON, P.E.; ROBINSON, T.E. Amphetamine-induced time-dependent sensitization of dopamine neurotransmission in the dorsal and ventral striatum: a microdialysis study in behaving rats. **Synapse**, v.19, p.56-65, 1995.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Forebrain in stereotaxic coordinates**. USA: Academic Press, 2006.

PENIT-SORIA, J.; AUDINAT, E.; CREPEL, F. Excitation of rat prefrontal cortical neurons by dopamine: an in vitro electrophysiological study. **Brain Res**, v.425, p.263-274, 1987.

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

PIETILA, K. et al. Tolerance to nicotine's effects on striatal dopamine metabolism in nicotine-withdrawn mice. **Eur J Pharmacol**, v.318, p.17-22, 1996.

PICCIOTTO, M.R. Common aspects of the action of nicotine and other drugs of abuse. **Drug Alcohol Depend**, v.51, p.165-172, 1998.

PICCIOTTO, M.R. et al. Nicotine receptors in brain: Links between molecular biology and behavior. **Neuropsychopharmacology**, v.22, p.451-464, 2000.

PICH, E.M. et al. Common neural substrates for the addictive properties of nicotine and cocaine. **Science**, v.275, p.83-86, 1997.

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

PLANETA, C.S.; DELUCIA, R. Involvement of dopamine receptors in diethylpropion-induced conditioning place preference. **Braz J Med Biol Res**, v.31, p.561-564, 1998.

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

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

PONTIERI, F.E.; TANDA, G.; DI CHIARA, G. Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with "core" of the rat nucleus accumbens. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.92, p.12304-12308, 1995.

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

PORRAS, G. et al. 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C/2B</sub> receptor subtypes modulate dopamine release induced in vivo by amphetamine and morphine in both the rat nucleus accumbens and striatum. **Neuropsychopharmacology**, v.26, p.311-324, 2002.

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

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

PRASAD, B.M.; HOCHSTATTER, T.; SORG, B.A. Expression of cocaine sensitization: regulation by the medial prefrontal cortex. **Neuroscience**, v.88, p.765-774, 1999.

RASMUSSEN, N. Making the First Anti-Depressant: Amphetamine in American Medicine, 1929–1950. **J Hist Med Allied Sci**, v.61, p.288-323, 2006.

REITH, M.E.; LI, M.Y.; YAN, Q.S. Extracellular dopamine, norepinephrine, and serotonin in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of freely moving rats during intracerebral dialysis following systemic administration of cocaine and other uptake blockers. **Psychopharmacology (Berl)**, v.134, p.309-317, 1997.

ROBERTS, D.C. et al. Lesions of central serotonin systems affect responding on a progressive ratio schedule reinforced either by intravenous cocaine or by food. **Pharmacol Biochem Behav**, v.49, p.177-182, 1994.

ROBINSON, T.E.; BECKER, J.B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res Rev**, v.396, p.157-198, 1986.

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

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

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

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

ROBINSON, T.E.; CAMP, D.M. Long-lasting effects of escalating doses of d-amphetamine on brain monoamines, amphetamine-induced stereotyped behavior and spontaneous nocturnal locomotion. **Pharmacol Biochem Behav**, v.26, p.821-827, 1987.

ROBINSON, T.E. et al. Persistent sensitization of dopamine neurotransmission in ventral striatum (nucleus accumbens) produced by prior experience with (+)-amphetamine: a microdialysis study in freely moving rats. **Brain Res**, v.462, p.211-222, 1988.

ROLL, J.M. et al. A comparison of cocaine-dependent cigarette smokers and non-smokers on demographics, drug use and other characteristics. **Drug Alcohol Depend**, v.40, p.195-201, 1996.

ROLL, J.M.; HIGGINS, S.T.; TIDEY, J. Cocaine use can increase cigarette smoking: evidence from laboratory and naturalistic settings. **Exp Clin Psychopharmacol**, v.5, p.263-268, 1997.

ROSEMBERG, J. **Nicotina: droga universal**. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/tabagismo/publicacoes/nicotina.pdf>>. Acesso em: 25 de julho de 2009.

ROSENBERG, D.R.; LEWIS, D.A. Postnatal maturation of the dopaminergic innervation of monkey prefrontal and motor cortices: a tyrosine hydroxylase immunohistochemical analysis. **J Comp Neurol**, v.358, p.383-400, 1995.



ROTHMAN, R.B.; BAUMANN, M.H. Balance between dopamine and serotonin release modulates behavioral effects of amphetamine-type drugs. **Ann N Y Acad Sci**, v.1074, p.245-260, 2006.

SALOMON, L. et al. Behavioral sensitization to amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.103, p.7476-7481, 2006.

SANTOS, G.C. et al. Sensibilização cruzada entre femproporex e nicotina em ratos adolescentes e adultos. In: XX reunião anual da Federação das sociedades de biologia experimental, 2005, Águas de Lindóia. (painel aceito para apresentação).

SANTOS, G.C. et al. Amphetamine- and nicotine-induced cross-sensitization in adolescent rats persists until adulthood. **Addict Biol**, v.14, p.270-275, 2009.

SCHAMBRA, U.B. et al. Ontogeny of D1 and D2 dopamine receptor subtypes in rat brain using in situ hybridization and receptor binding. **Neuroscience**, v.62, p.65-85, 1994.

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

SCHOLL, J.L. et al. Individual differences in amphetamine sensitization, behavior and central monoamines. **Physiol Behav**, v.96, p.493-504, 2009.

SCHORLING, J.B. et al. Tobacco, alcohol and other drug use among college students. **J Subst Abuse**, v.6, p.105-111, 1994.

SEGAL, D.; KUCZENSKI, R. In vivo microdialysis reveals a diminished amphetamine-induced DA response corresponding to behavioral sensitization produced by repeated amphetamine pretreatment. **Brain Res**, v.571, p.330-337, 1992a.

SEGAL, D.; KUCZENSKI, R. Repeated cocaine administration induces behavioral sensitization and corresponding decreased extracellular dopamine responses in caudate and accumbens. **Brain Res**, v.577, p.351-355, 1992b.

SESACK, S.R.; BUNNEY, B.S. Pharmacological characterization of the receptor mediating electrophysiological responses to dopamine in the rat medial prefrontal cortex: a microiontophoretic study. **J Pharmacol Exp Ther**, v.248, p.1323-1333, 1989.

SESACK, S.R.; SNYDER, C.L.; LEWIS, D.A. Axon terminals immunolabeled for dopamine or tyrosine hydroxylase synapse on GABA-immunoreactive dendrites in rat and monkey cortex. **J Comp Neurol**, v.363, p.264-280, 1995.

SHAW-LUTCHMAN, T.Z. et al. Regional and cellular mapping of cAMP response element-mediated transcription during naltrexone-precipitated morphine withdrawal. **J Neurosci**, v.22, p.3663-3672, 2002.

SHAW-LUTCHMAN, T.Z. et al. Regulation of CRE-mediated transcription in mouse brain by amphetamine. **Synapse**, v.48, p.10-17, 2003.

SHIEH, K.R.; YANG, S.C. Effects of estradiol on the stimulation of dopamine turnover in mesolimbic and nigrostriatal systems by cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide in female rats. **Neuroscience**, v.154, p.1589-1597, 2008.

SHILLING, P.D.; KELSOE, J.R.; SEGAL, D.S. Dopamine transporter mRNA is up-regulated in the substantia nigra and the ventral tegmental area of amphetamine-sensitized rats. **Neurosci Lett**, v.236, p.131-134, 1997.

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

SHUSTER, L. et al. Sensitization of mice to methylphenidate. **Psychopharmacology (Berl)**, v.77, p.31-36, 1982.

SIGMON, S.C. et al. Acute effects of D-amphetamine on progressive-ratio performance maintained by cigarette smoking and money. **Psychopharmacology (Berl)**, v.167, p.393-402, 2003.

SIMPSON, C.S.; MORRIS, B.J. Induction of c-fos and zif/268 gene expression in rat striatal neurons, following stimulation of D1-like dopamine receptors, involves protein kinase A and protein kinase C. **Neuroscience**, v.68, p.97-106, 1995.

SORG, B.A.; CHEN, S.Y.; KALIVAS, P.W. Time course of tyrosine hydroxylase expression after behavioral sensitization to cocaine. **J Pharmacol Exp Ther**, v.266, p.424-430, 1993.

SPANAGEL, R.; ALMEIDA, O.F.; SHIPPENBERG, T.S. Long lasting changes in morphine-induced mesolimbic dopamine release after chronic morphine exposure. **Synapse**, v.14, p.243-245, 1993.

SPANAGEL, R.; SHIPPENBERG, T.S. Modulation of morphine-induced sensitization by endogenous kappa opioid systems in the rat. **Neurosci Lett**, v.153, p.232-236, 1993.

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

STEKETEE, J.D. Neurotransmitter systems of the medial prefrontal cortex: potential role in sensitization to psychostimulants. **Brain Res Brain Res Rev**, v.41, p.203-228, 2003.

STOLERMAN, I.P.; JARVIS, M.J. The Scientific Case that Nicotine Is Addictive. **Psychopharmacology (Berl)**, v.117, p.2-10, 1995.

TABER, M.T.; FIBIGER, H.C. Electrical stimulation of the prefrontal cortex increases dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: modulation by metabotropic glutamate receptors. **J Neurosci**, v.15, p.3896-3904, 1995.

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

TEICHER, M.H.; ANDERSEN, S.L.; HOSTETTER, J.C.JR. Evidence for dopamine receptor pruning between adolescence and adulthood in striatum but not accumbens. **Brain Res Dev Brain Res**, v.89, p.167-172, 1995.

TERWILLIGER, R.Z. et al. A general role for adaptations in G-proteins and the cyclic AMP system in mediating the chronic actions of morphine and cocaine on neuronal function. **Brain Res**, v.548, p.100-110, 1991.

THIEMANN, G. et al. The CB(1) cannabinoid receptor antagonist AM251 attenuates amphetamine-induced behavioural sensitization while causing monoamine changes in nucleus accumbens and hippocampus. **Pharmacol Biochem Behav**, v.89, p.384-391, 2008.

TIDEY, J.W.; O'NEILL, S.C.; HIGGINS, S.T. D-amphetamine increases choice of cigarette smoking over monetary reinforcement. **Psychopharmacology (Berl)**, v.153, p.85-92, 2000.

TORRÃO, A.S.; BRITTO, L.R.G. Neurotransmitter regulation of neural development: acetylcholine and nicotinic receptors. **An Acad Bras Cienc**, v.74, p.453-461, 2002.

TSENG, K.Y. et al. Excitatory response of prefrontal cortical fast-spiking interneurons to ventral tegmental area stimulation in vivo. **Synapse**, v.59, p.412-417, 2006.

TURGEON, S.M.; POLLACK, A.E.; FINK, J.S. Enhanced CREB phosphorylation and changes in c-Fos and FRA expression in striatum accompany amphetamine sensitization. **Brain Res**, v.749, p.120-126, 1997.

UNTERWALD, E.M. et al. Chronic repeated cocaine administration alters basal and opioid-regulated adenylyl cyclase activity. **Synapse**, v.15, p.33-38, 1993.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **About fda: History**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/AboutFDA/WhatWeDo/History/Milestones/ucm128305.htm>>.

Acesso em: 25 de julho de 2009.

VANDERSCHUREN, L.J.; KALIVAS, P.W. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. **Psychopharmacology (Berl)**, v.151, p.99-120, 2000.

VASTOLA, B.J. et al. Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent and adult rats. **Physiol Behav**, v.77, p.107-114, 2002.

VEZINA, P. et al. Opposed behavioural outputs of increased dopamine transmission in prefrontocortical and subcortical areas: a role for the cortical D1 dopamine receptor. **Eur J Neurosci**, v.3, p.1001-1007, 1991.

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

VEZINA, P.; STEWART, J. Conditioning and place-specific sensitization of increases in activity induced by morphine in the VTA. **Pharmacol Biochem Behav**, v.20, p.925-934, 1984.

VEZINA, P.; STEWART, J. The effect of dopamine receptor blockade on the development of sensitization to the locomotor activating effects of amphetamine and morphine. **Brain Res**, v.499, p.108-120, 1989.

VIHAVAINEN, T. et al. Effect of morphine on locomotor activity and striatal monoamine metabolism in nicotine-withdrawn mice. **Behav Brain Res**, v.173, p.85-93, 2006.

VIHAVAINEN, T. et al. Chronic nicotine modifies the effects of morphine on extracellular striatal dopamine and ventral tegmental GABA. **J Neurochem**, v.107, p.844-854, 2008.

VINCENT, S.L.; KHAN, Y.; BENES, F.M. Cellular distribution of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. **J Neurosci**, v.13, p.2551-2564, 1993.

VINCENT, S.L.; KHAN, Y.; BENES, F.M. Cellular colocalization of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. **Synapse**, v.19, p.112-120, 1995.

VOLKOW, N.D. The role of dopamine system in addiction. In: **New understanding of drug addiction - a special report**. McGraw-Hill: New York, 1997, p.22-26.

VRANA, S.L. et al. Chronic cocaine administration increases CNS tyrosine hydroxylase enzyme activity and mRNA levels and tryptophan hydroxylase enzyme activity levels. **J Neurochem**, v.61, p.2262-2268, 1993.

WEINBERGER, A.H.; SOFUOGLU, M. The impact of cigarette smoking on stimulant addiction. **Am J Drug Alcohol Abuse**, v.35, p.12-17, 2009.

WEISS, S.R. et al. Context-dependent cocaine sensitization: differential effect of haloperidol on development versus expression. **Pharmacol Biochem Behav**, v.34, p.655-661, 1989.

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

WOLF, M.E.; MANGIAVACCHI, S.; SUN, X. Mechanisms by which dopamine receptors may influence synaptic plasticity. **Ann N Y Acad Sci**, v.1003, p.241-249, 2003.

WOLF, M.E. et al. Differential development of autoreceptor subsensitivity and enhanced dopamine release during amphetamine sensitization. **J Pharmacol Exp Ther**, v.264, p.249-255, 1993.

WONNACOTT, S.; SIDHPURA, N.; BALFOUR, D.J.K. Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. **Curr Opin Pharmacol**, v.5, p.53-59, 2005.

WOOTERS, T.E.; BARDO, M.T. Nicotinic receptors differentially modulate the induction and expression of behavioral sensitization to methylphenidate in rats. **Psychopharmacology (Berl)**, v.204, p.551-562, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO report on the global tobacco epidemic**. São Paulo: Pancrom Gráfica e Fitolito, 2008, p.329.

YAN, Q.; YAN, S. Activation of 5-HT<sub>1B/1D</sub> receptors in the mesolimbic dopamine system increases dopamine release from the nucleus accumbens: a microdialysis study. **Eur J Pharmacol**, v.418, p. 55-64, 2001.

YAN, Q.S. et al. Involvement of 5-HT<sub>1B</sub> receptors within the ventral tegmental area in ethanol-induced increases in mesolimbic dopaminergic transmission. **Brain Res**, v.1060, p.126-137, 2005.

ZHOU, F.M.; HABLITZ, J.J. Dopamine modulation of membrane and synaptic properties of interneurons in rat cerebral cortex. **J Neurophysiol**, v.81, p.967-976, 1999.