

comportamentais promovidas pela cocaína no Sistema Nervoso Central (ver Carey *et al.*, 2004, 2005). Em conjunto com os receptores 5HT<sub>1A</sub>, os receptores pertencentes à sub-população 5HT<sub>1B</sub> também parecem participar do controle das alterações comportamentais promovidas pela cocaína no Sistema Nervoso Central (Miller & Huston, 2006). Uma importante característica desses receptores é a facilitação da liberação da dopamina em regiões associadas ao desenvolvimento de dependência (Miller & Huston, 2006).

Em resumo, o aumento da serotonina extracelular promovido pela inibição de sua recaptação pela cocaína produz alterações comportamentais devido à estimulação direta dos diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos ou pela ativação indireta de outros sistemas de neurotransmissão como o dopaminérgico (Miller & Huston, 2006).

O último e mais importante sistema de neurotransmissão afetado pela cocaína é o sistema dopaminérgico (Alcantara *et al.*, 2010). O aumento de dopamina na via mesocorticolímbica promovido pela cocaína tem sido proposto como o principal mecanismo relacionado com o desenvolvimento de dependência dessa droga (Prakash & Das, 1993; Anderson & Pierce, 2005; Filip *et al.*, 2006).

A dopamina pode atuar em dois grupos diferentes de receptores dopaminérgicos, os receptores da família D<sub>1</sub> e aqueles da família D<sub>2</sub>, que exercem efeitos intracelulares opostos via proteína G (Sibley *et al.*, 1993). Os efeitos da exposição repetida à cocaína na densidade dos receptores D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> parece depender de diversos fatores, como a dose administrada, a rotina de administração, a duração do tratamento e o período de abstinência. Nesse contexto, há relatos de que a densidade dos receptores D<sub>2</sub> pode aumentar (Kleven *et al.*, 1990; Sousa *et al.*, 1999), diminuir (Goeders & Kuhar 1987; Moore *et al.*,

1998), ou permanecer inalterada (Laurier *et al.*, 1994; Kunko *et al.*, 1998; Stanwood *et al.*, 2000) após infusões sistêmicas e contínuas de cocaína. A plasticidade desses receptores dopaminérgicos assim como mudanças na sinalização intracelular que ocorrem após o uso repetido de cocaína têm sido sugeridas como neuroadaptações que contribuem para o desejo compulsivo por essa droga na dependência (Robinson & Berridge, 1993; Kalivas *et al.*, 1998).

#### **1.4. Etanol**

O etanol (ou álcool etílico) é produzido pela fermentação que ocorre naturalmente quando leveduras microscópicas contidas no ar entram em contato com produtos que contenham açúcar, como frutas, mel, melado de cana-de-açúcar ou grãos, como por exemplo, o milho (Meyer & Quenzer, 2005).

No que se refere a sua farmacocinética, a absorção do etanol depende de difusão passiva, e é governada pelo gradiente de concentração e pela área de superfície da mucosa. Quando o etanol alcança a circulação sistêmica, ele é distribuído a todos os compartimentos do organismo em uma taxa proporcional ao fluxo de sangue local naquele tecido. Dessa forma, como o cérebro recebe um alto fluxo sanguíneo, altas concentrações de etanol são atingidas rapidamente nesse órgão (Meyer & Quenzer, 2005).

Os efeitos do etanol sobre o Sistema Nervoso Central abrangem tanto componentes estimulantes como depressores. De um modo geral, doses baixas são estimulantes e doses altas depressoras. No homem, por exemplo, a fase estimulatória consiste em desinibição comportamental, diminuição de autocrítica e

da tensão e aumento da afetividade, seguida por uma fase depressora, caracterizada por cansaço e prostração (Ekman et al., 1963,1964).

A exposição prolongada aos efeitos depressores do etanol resulta em tolerância a esses efeitos. Já a ação estimulante do etanol está relacionada ao fenômeno de sensibilização, ou seja, a administração prolongada de doses baixas resulta em um aumento da resposta comportamental. Embora tenham efeitos farmacologicamente opostos, tanto a sensibilização quanto a tolerância são fenômenos importantes para o desenvolvimento da dependência, sendo que a sensibilização aos efeitos psicoestimulantes do etanol está intimamente envolvida com a compulsão (“*craving*”) dos dependentes pela droga (Camarini, 1997; Heinz et al., 2003).

A retirada abrupta do uso de etanol em dependentes leva a uma síndrome de abstinência bem característica, com sintomas como ansiedade, tremores, hiperatividade autonômica (sudorese, taquicardia), insônia, náusea, desorientação, alucinações, compulsão (“*craving*”), anedonia e, em casos mais graves, convulsões e *delirium tremens* (caracterizado por um estado severo hiperadrenérgico, desorientação, déficit de atenção e alucinações visuais e auditivas) (American Psychiatry Association, 2000; Mckee et al., 2008). Modificações na atividade dopaminérgica e na atividade glutamatérgica parecem estar envolvidas com os sintomas observados na síndrome de abstinência ao álcool. Mais especificamente, alterações funcionais em receptores glutamatérgicos NMDA parecem estar associadas ao desejo compulsivo durante a abstinência ao álcool (Davis & Wu, 2001). Além disso, Morikawa & Morrisett (2010) demonstraram um aumento na quantidade de receptores do tipo AMPA durante a síndrome de abstinência ao álcool. No que diz respeito à transmissão dopaminérgica, uma acentuada

diminuição na liberação tônica de dopamina no núcleo accumbens de roedores tem sido observada após a retirada da exposição crônica ao etanol (Diana *et al.*, 1993; Weiss *et al.*, 1996). De forma similar, estudos de imagem em humanos também demonstraram redução da liberação de dopamina no estriado de indivíduos alcoólicos (Martinez *et al.*, 2005; Volkow *et al.*, 2007).

Evidências farmacológicas e bioquímicas demonstraram que o etanol poderia promover seus efeitos por uma ampla variedade de mecanismos, envolvendo modificações nas neurotransmissões dopaminérgica, opióide, glutamatérgica, serotoninérgica, GABAérgica e colinérgica (Peoples *et al.*, 1996). Ainda, o etanol poderia atuar também sobre o agente neuromodulador adenosina, o neuropeptídeo neurotensina, o hormônio arginina-vasopressina, a enzima adenilato ciclase, os canais de cálcio e as membranas plasmáticas (para revisão ver Lacerda, 1996; Camarini, 1997). Nesse aspecto, os efeitos do etanol sobre a neurotransmissão dopaminérgica parecem ser de especial importância tanto para o efeito estimulante quanto para as propriedades reforçadoras dessa substância (Lacerda, 1996, para revisão).

Por atuar em diversos sistemas de neurotransmissão, tem sido demonstrado que o etanol pode aumentar a transmissão dopaminérgica mesolímbica direta ou indiretamente por vários mecanismos. Assim, o etanol pode estimular os disparos de neurônios dopaminérgicos da área ventral do tegmento mesencefálico indiretamente via liberação de  $\beta$ -endorfinas, modulação de receptores glutamatérgicos NMDA, de receptores 5HT<sub>3</sub> ou ainda de receptores colinérgicos nicotínicos (Vengeliene *et al.*, 2008). Além disso, o etanol parece promover também um aumento direto nos disparos desses neurônios ao modificar correntes de K<sup>+</sup> sensíveis à quinidina (Appel *et al.*, 2003) (Figura 8).

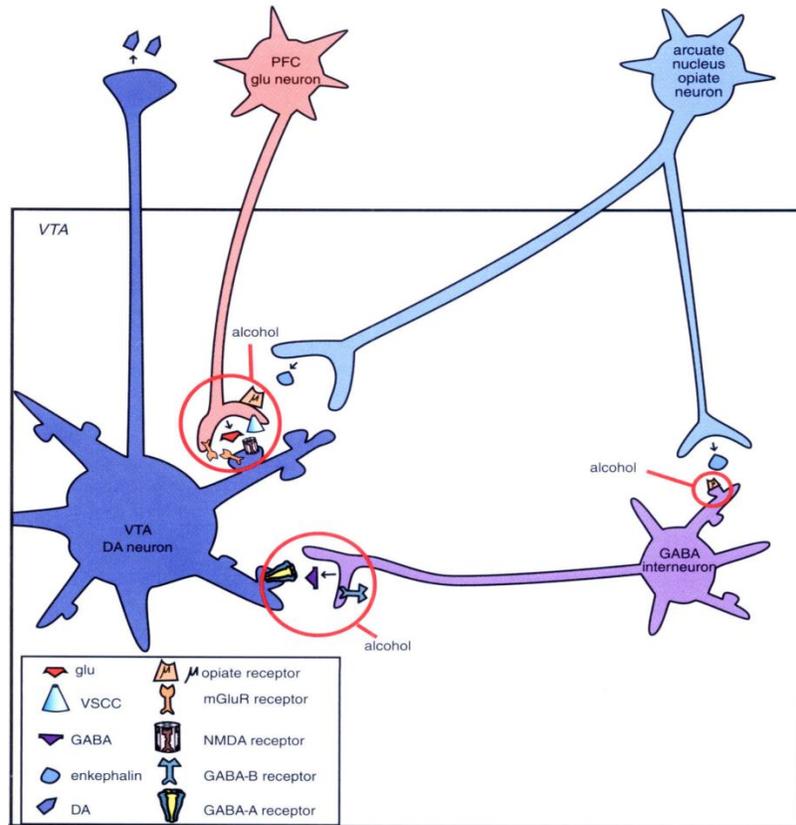
Conforme revisado por Valezulela & Harris (1997), os estudos bioquímicos iniciais relacionados aos efeitos do etanol sobre a transmissão dopaminérgica basearam-se em medidas das taxas de acúmulo do precursor dopaminérgico DOPA (di-hidroxifenilalanina) após a inibição da DOPA descarboxilase, ou na quantificação de metabólitos da dopamina, como o DOPAC (ácido di-hidroxifenilacético), como indicadores da taxa de liberação desse neurotransmissor. Assumia-se que a síntese e a liberação de dopamina estivessem positivamente vinculadas à atividade eletrofisiológica do neurônio dopaminérgico. Esses estudos, em sua grande maioria, demonstram que o etanol promove um aumento na síntese e liberação (ou seja, do “turnover”) de dopamina (ver Hoffman & Tabakoff, 1985, para revisão). Técnicas mais sofisticadas permitiram medidas mais diretas dos efeitos do etanol sobre a neurotransmissão dopaminérgica em regiões específicas. Assim, utilizando a técnica de microdiálise, Imperato & Di Chiara (1986) verificaram que a administração sistêmica de etanol produziu um aumento da liberação de dopamina no núcleo accumbens e que essa estrutura era mais sensível ao efeito do etanol do que o estriado. Paralelamente, medidas eletrofisiológicas da atividade de neurônios dopaminérgicos na área ventral do tegmento mesencefálico e na substância negra após administração aguda sistêmica ou *in vitro* de etanol, também revelaram um aumento da taxa de disparos desses neurônios (Mereu et al., 1984; Gessa et al., 1985). Ainda, a administração direta de etanol no núcleo accumbens ou no estriado, seguida do registro da liberação de dopamina por meio de microdiálise também comprovou as propriedades do etanol em liberar dopamina (Wozniak et al., 1990). Nesse cenário, em estudo clássico, Weiss e colaboradores (1993) demonstraram que a auto-

administração de etanol é capaz de aumentar a liberação de dopamina no núcleo accumbens.

Comportamentalmente, diferentes estudos demonstram, como mencionado acima, a participação da neurotransmissão dopaminérgica no efeito estimulante do etanol. Assim, a administração de  $\alpha$ -metil-p-tirosina bloqueia a ação estimulante e euforizante do etanol tanto em animais quanto em humanos (Carlsson et al., 1972; Ahlenius, 1973). Paralelamente, estudos com antagonistas dopaminérgicos, como espiroperidol ou haloperidol, mostram que essas drogas inibem a atividade locomotora induzida pelo etanol (Risinger et al., 1992; Broadbent et al., 1995).

Por outro lado, os efeitos depressores observados após o consumo de altas doses de álcool parece decorrer de sua ação estimulatória sobre a neurotransmissão GABAérgica e de uma ação inibitória sobre receptores glutamatérgicos (Stahl, 2008). Mais especificamente, o etanol atua aumentando a liberação de GABA pelo bloqueio pré-sináptico de receptores GABA-B e pela ação agonista direta em receptores GABA-A, levando à hiperpolarização de neurônios dopaminérgicos da VTA. Além disso, o etanol atua em receptores pré-sinápticos glutamatérgicos metabotrópicos (mGluRs) e canais de cálcio voltagem dependentes que inibem a liberação de glutamato, e a conseqüente estimulação

dos neurônios dopaminérgicos da VTA por esse neurotransmissor (Stahl, 2008 – Figura 8).



**Figura 8** – PFC glu neuron – neurônios glutamatérgicos originados do córtex pré-frontal; VTA – área tegmentar Ventral; Arcuate Nucleus opiate neuron – Neurônios opióides originados no núcleo arqueado; VSCC – Canais de sódio dependentes de voltagem; Glu – Glutamato; DA – dopamina; mGluR – Receptor glutamatérgico metabtrópico. Mecanismos de ação do etanol no sistema dopaminérgico mesolímbico. Adaptado de Stahl (2008).

## **1.5. Sensibilização comportamental como modelo animal para estudo da dependência química**

Indubitavelmente grande parte das informações atuais sobre os mecanismos neurobiológicos envolvidos no fenômeno de dependência química advém de estudos que envolvem a utilização de animais como sujeitos experimentais. Dentre os modelos animais existentes para o estudo da dependência química, destaca-se a sensibilização comportamental (Braga *et al.*, 2009; Vezina & Leyton, 2009; Emmanuel *et al.*, 2010; Valjent, Bertran-Gonzalez *et al.* 2010).

Robinson & Becker (1986) e Hoffman & Wise (1992) definem esse fenômeno como a intensificação de algumas respostas comportamentais exibidas por animais de laboratório a drogas com propriedades psicoestimulantes após a sua administração repetida e intermitente. A plasticidade neuronal subjacente ao fenômeno de sensibilização vem sendo sugerida como modelo de adaptações neurofisiológicas que contribuem para o desejo compulsivo pelas drogas com potencial de abuso (Robinson & Berridge, 1993; Kalivas *et al.*, 1998, Emmanuel *et al.*, 2010).

Conforme revisado por Phillips (1997), a maioria senão todas as substâncias com potencial de abuso são capazes de estimular a atividade locomotora em roedores. Esse fato tem levado à investigação experimental detalhada da estimulação psicomotora induzida por drogas. Assim, tem sido postulado que modelos animais de estimulação locomotora induzida por drogas poderiam corresponder à ação euforizante dessas drogas em humanos, sendo que o estudo da locomoção traria importantes subsídios aos mecanismos neuroquímicos

relacionados aos efeitos euforizantes e reforçadores das drogas de abuso (Robinson & Becker, 1986; Kalivas & Stewart, 1991; Robinson & Berridge, 1993; Di Chiara, 1995; Kalivas, 2002).

Indubitavelmente, a hiperatividade locomotora vem a ser a resposta comportamental mais dramaticamente afetada pela administração repetida de drogas capazes de aumentar a função dopaminérgica. Constitui-se, portanto, o parâmetro quantificado na grande maioria dos estudos relacionados ao fenômeno de sensibilização comportamental induzido por agentes psicoestimulantes (Robinson & Becker, 1986; Broadbent *et al.*, 1995; Tzschentke & Schmidt, 1998; Anagnostaras *et al.*, 2002, Häggkvist *et al.*, 2011) e praticamente o único parâmetro quantificado nos estudos de sensibilização com outras drogas de abuso, como por exemplo o etanol (Masur *et al.* 1986, Cunningham & Noble, 1992; Broadbent, 1995; Lessov *et al.*, 2001; Araujo *et al.*, 2006, 2009).

Diferentes observações experimentais indicam que o sistema dopaminérgico mesolímbico vem a ser o principal substrato neuronal subjacente ao fenômeno de sensibilização à hiperatividade locomotora induzida por diferentes drogas de abuso. Segal *et al.* (1979) verificaram que lesões promovidas pela neurotoxina 6-OHDA no núcleo accumbens atenuaram o desenvolvimento da sensibilização comportamental à anfetamina. Ainda nesse sentido, Paulson & Robinson (1990) constataram que, após a administração sistêmica repetida de anfetamina, uma injeção desafio da droga no núcleo accumbens (realizada 21 dias após o tratamento repetido) promoveu um aumento da locomoção significativamente maior do que aquele observado em animais pré-tratados com salina. Paralelamente, injeções repetidas de anfetamina na VTA, mas não no núcleo accumbens, produzem sensibilização à resposta locomotora induzida por uma injeção periférica

subsequente (desafio) de anfetamina (Kalivas & Weber, 1988). Esses resultados sugerem que enquanto a *indução* da sensibilização comportamental à resposta locomotora promovida pela anfetamina depende da ação dessa droga na VTA, a *expressão* do fenômeno está relacionada às suas ações nas terminações dopaminérgicas localizadas no núcleo accumbens.

Corroborando esses resultados, Kalivas & Duffy, em 1995, sugeriram que a indução do fenômeno de sensibilização comportamental se deva a uma ação dessa droga nos corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos localizados na VTA, enquanto que a expressão desse fenômeno seja conseqüente de um aumento da liberação de dopamina e um aumento da responsividade pós-sináptica à dopamina no núcleo accumbens.

Os mecanismos celulares específicos inerentes ao processo de sensibilização comportamental ainda são, entretanto, objeto de controvérsia e parecem ser mediados por diferentes mecanismos pré e pós-sinápticos no sistema mesolímbico.

De acordo com Wolf *et al.* (1993), os diferentes estágios do processo de sensibilização comportamental provavelmente envolvem diferentes tipos de alterações neuronais. Dessa forma, a indução desse processo parece envolver uma subsensibilidade de auto-receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>2</sub>, enquanto a expressão da sensibilização comportamental parece ocorrer devido a um aumento da liberação de dopamina. Com efeito, utilizando-se de técnicas eletrofisiológicas e cromatográficas, esses autores verificaram, 3 a 4 dias após o término do tratamento repetido com anfetamina, uma diminuição do efeito inibitório produzido pela administração de quimpirole (agonista dopaminérgico seletivo D<sub>2</sub>) sobre a atividade dos auto-receptores dos neurônios dopaminérgicos da VTA. Nesse

mesmo período (3 a 4 dias após a retirada do tratamento), não foi verificada nenhuma alteração nos níveis extracelulares de dopamina no núcleo accumbens dos ratos pré-tratados com anfetamina em relação aos animais controle. Entretanto, 10 a 14 dias após o término do tratamento repetido, a diminuição do efeito inibitório do quimpirole sobre a atividade dos neurônios dopaminérgicos localizados na VTA não mais foi observada, enquanto que um aumento nos níveis extracelulares de dopamina no núcleo accumbens pôde ser verificado.

Por outro lado, um aumento da sensibilidade dos receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> no núcleo accumbens tem sido proposto como um dos mecanismos envolvidos no fenômeno de sensibilização comportamental. Nesse sentido, Henry *et al.* (1991) verificaram, por meio de técnicas eletrofisiológicas, um aumento significativo da responsividade dos neurônios dopaminérgicos localizados no núcleo accumbens ao SKF 38393 (agonista seletivo de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>), após a administração repetida, por 14 dias, de 10 mg/Kg de cocaína. Nenhum efeito, entretanto, foi verificado com a administração de quimpirole. Esse dado corrobora os resultados obtidos por Vezina & Stewart (1989), que contestam ser a subsensibilidade de auto-receptores dopaminérgicos (do tipo D<sub>2</sub>) a mais provável causa para a indução da sensibilização comportamental, uma vez que, em seus experimentos, a administração de antagonistas seletivos D<sub>2</sub> foi incapaz de prevenir o aparecimento de sensibilização comportamental.

Ainda na tentativa de esclarecer quais receptores dopaminérgicos estariam envolvidos no fenômeno de sensibilização comportamental, estudos eletrofisiológicos realizados por Henry e colaboradores (1998) trouxeram importantes contribuições para a elucidação das adaptações de receptores

dopaminérgicos  $D_1$  e  $D_2$  no sistema dopaminérgico mesolímbico em consequência de sua estimulação repetida, bem como da relação dessas adaptações com a resposta comportamental associada ao fenômeno de sensibilização. Assim, esses autores verificam que a administração sistêmica repetida do agonista de dopaminoceptores  $D_2$  quimpirrole produziu uma subsensibilidade de auto-receptores  $D_2$  nos neurônios dopaminérgicos da VTA que se projetam para o núcleo accumbens (isto é, atenuou os efeitos inibitórios da apomorfina na taxa de disparos dos neurônios dessa região), enquanto o tratamento sistêmico repetido com o agonista  $D_1$  SKF 38393 promoveu uma supersensibilidade de dopaminoceptores  $D_1$  no núcleo accumbens. Ambos os fenômenos duraram apenas 1 semana. Quando agonistas  $D_1$  e  $D_2$  foram combinados, observou-se subsensibilidade de auto-receptores  $D_2$  na VTA, semelhante àquela produzida pelo agonista  $D_2$  isoladamente. Todavia, tal combinação aumentou e prolongou a supersensibilidade  $D_1$  no núcleo accumbens. Os autores interpretaram esses últimos resultados como sugestivos de que a indução de subsensibilidade de auto-receptores  $D_2$  na VTA é condição necessária para alterações persistentes tanto da supersensibilidade  $D_1$  no núcleo accumbens como da manifestação comportamental da sensibilização. Mais especificamente, Henry *et al.* (1998) preconizam que a subsensibilidade de auto-receptores  $D_2$  (induzida pela administração repetida do agonista  $D_2$ ) com o consequente aumento da atividade dos neurônios da VTA mantém aumentado o nível de estimulação dos receptores dopaminérgicos pós-sinápticos. Quando a administração do agonista  $D_2$  é combinada com a do agonista  $D_1$ , a estimulação adicional dos receptores dopaminérgicos  $D_1$  (pós-sinápticos) promoveria as adaptações necessárias para o aumento persistente da função receptora  $D_1$ .

Ainda nesse sentido, as indicações de que alterações funcionais de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> podem modificar o desenvolvimento do fenômeno de sensibilização comportamental foram fortalecidas pela extensa constatação de que a administração concomitante de neurolépticos (bloqueadores seletivos ou preferenciais de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>) é capaz de inibir a sensibilização aos efeitos comportamentais induzidos pela administração repetida de psicoestimulantes (Kuribara & Tadokoro, 1990; Kuribara e Uchihashi, 1993, 1994).

Nesse contexto, é interessante notar que, drogas bloqueadoras de receptores dopaminérgicos centrais têm, muitas vezes, se mostrado efetivas em antagonizar tanto a sensibilização comportamental (Kuczenski *et al.*, 1981; Mattingly & Rowlett, 1989; Ujike *et al.*, 1989; Mattingly *et al.*, 1994) como a auto-administração (Johanson & Fischman, 1989) promovida pela anfetamina e outros psicoestimulantes. Curiosamente, algumas das substâncias não dopaminérgicas (como antagonistas de aminoácidos excitatórios e antagonistas opióides) que são efetivas em inibir a sensibilização comportamental (Karler *et al.*, 1989; Kuribara, 1995b), também têm se mostrado capazes de antagonizar as propriedades reforçadoras de psicofármacos (Mello *et al.*, 1989; Schenk *et al.*, 1993), evidenciando as semelhanças entre os mecanismos inerentes à sensibilização comportamental e o desejo compulsivo do uso de drogas de abuso. Entretanto, talvez a mais marcante indicação experimental dessas semelhanças decorra de experimentos que relacionaram o fenômeno de sensibilização comportamental ao processo de auto-administração. Assim, Piazza e colaboradores (1989) verificaram que os ratos mais predispostos a desenvolver sensibilização à hiperatividade locomotora induzida pela anfetamina também eram aqueles a apresentar maior predisposição à auto-administração dessa droga. Dados semelhantes têm sido

obtidos para o etanol. Camarini et al. (2004) verificaram uma correlação positiva entre a sensibilização à hiperatividade locomotora induzida pelo etanol e o consumo dessa substância em duas linhagens de camundongos. Grahame *et al.* (2000) demonstraram que camundongos geneticamente selecionados para alta preferência ao etanol desenvolveram sensibilização ao efeito estimulante locomotor da droga, ao passo que tal sensibilização não ocorreu para camundongos geneticamente selecionados para baixa preferência ao etanol. Esses resultados sugerem uma associação genética positiva entre o fenômeno de sensibilização comportamental e as propriedades reforçadoras do etanol. Ainda mais recentemente, Lessov e colaboradores (2001) verificaram, em camundongos de uma linhagem com alta preferência ao etanol, que o desenvolvimento de sensibilização à hiperatividade locomotora induzida pelo etanol apresentou-se associado a um posterior aumento do consumo voluntário da droga. Paralelamente, esses autores verificaram que o consumo voluntário prévio de etanol foi capaz de promover um aumento (sensibilização) do efeito estimulante induzido por uma injeção intraperitoneal da droga.

#### **1.6. Influência do condicionamento ambiental no processo de sensibilização comportamental**

Tem sido progressivamente aceito que, em adição às propriedades reforçadoras das drogas de abuso, a regulação ambiental das alterações neurobiológicas por elas induzidas é um fator crítico no desenvolvimento e expressão da dependência química (Kalivas, 2002). Estudos em modelos animais quantificando por microdiálise a liberação *in vivo* de dopamina no núcleo

accumbens revelaram que tal liberação é aumentada pela apresentação de estímulos ambientais novos e motivacionalmente relevantes (Berridge & Robinson, 1998). Sendo assim, o fator ambiental parece contribuir de forma importante para o desenvolvimento e a expressão do processo de sensibilização tanto em animais de laboratório quanto em humanos ([Vezina & Leyton, 2009](#)).

Neuropsicologicamente, uma nova linha de pensamento que tem adquirido crescente interesse tanto na dependência química como no fenômeno de sensibilização comportamental baseia suas hipóteses em processos de aprendizagem e memória. Nesse contexto, algumas influências externas poderiam ser associadas ao abuso de drogas sob a forma de condicionamento pavloviano (para revisão ver Everitt & Wolf, 2002).

Pavlov (1927) foi o primeiro a sugerir que certas respostas comportamentais poderiam ser eliciadas não só pelo estímulo incondicionado (EI), mas também por um estímulo condicionado (EC) a ele. Nesse condicionamento pavloviano, um EC (i.e. som, ambiente) inicialmente neutro é apresentado em associação com o EI (i.e. choque nas patas, administração de droga). A associação entre eles é estabelecida pela exposição repetida EC+EI, até que o próprio EC passe a gerar a resposta observada outrora apenas como resultado da apresentação do EI. Essa resposta denomina-se resposta condicionada (RC). Em outras palavras, quando os animais são tratados repetidamente com drogas estimulantes (EI) e, expostos sempre ao mesmo ambiente (EC) sob o efeito destas, os animais associam os efeitos estimulantes promovidos pela droga (i.e., cocaína e anfetamina) com o ambiente. Dessa forma, após alguns pareamentos entre a droga e o ambiente, este *per se* é capaz produzir a resposta condicionada. Vários autores têm

demonstrado esse fenômeno (Damianopoulos & Carey, 1998; Franklin *et al.*, 2000a, b; Crombag *et al.*, 2001; Adams *et al.*, 2001; Carey *et al.*, 2005a, b).

Nesse sentido, a hiperatividade locomotora e o comportamento estereotipado induzidos por anfetamina têm se mostrado passíveis de condicionamento ambiental em roedores (Damianopoulos & Carey, 1992; Ahmed *et al.*, 1995; Carey & Gui, 1998, Alvarez *et al.*, 2006; Chinen *et al.*, 2006). No que concerne ao efeito estimulante locomotor da cocaína, existem também evidências de que esse efeito pode ser condicionado ou associado a pistas contextuais (Druhan & Wilent, 1999; Franklin & Deihan, 2000 a, b).

O modelo animal desse tipo de associação que resulta na evocação da atividade locomotora na ausência da droga com a apresentação apenas do estímulo condicionado (ambiente) é denominado locomoção condicionada (Ahmed *et al.*, 1998). Em humanos, várias respostas condicionadas têm sido reportadas após exposição a pistas ambientais que lembrem o uso da droga, incluindo “craving”, euforia, aumento da energia, aumento dos batimentos cardíacos e da taxa de pressão sistólica (Foltin and Haney, 2000; Panlilio *et al.*, 2005; Leyton *et al.*, 2005). Assim, a locomoção condicionada em roedores correlacionar-se-ia ao desejo compulsivo pela droga observado em humanos frente a uma pista ambiental previamente associada ao uso dessa droga (Newlin, 1992; O’Brien *et al.*, 1992; Childress *et al.*, 1999, Vezina & Leyton, 2009). De importância, durante a abstinência, essa lembrança poderia ser considerada como um “gatilho” para promover recaída nesses usuários (Ludwig *et al.*, 1974; Childress *et al.*, 1986; Kosten *et al.*, 1986; Jaffe *et al.*, 1989, Foltin & Haney, 2000).

Childress e colaboradores (1992), trabalhando com usuários de cocaína, observaram que estímulos outrora neutros poderiam ser associados aos efeitos

estimulantes da cocaína por meio do condicionamento pavloviano. Exposições subsequentes a esses estímulos eliciavam grande desejo pela droga e precipitavam recaídas mesmo depois de longos períodos de abstinência. Curiosamente, estruturas como a amígdala, o córtex pré-frontal e o estriado (em menor intensidade) estavam ativados durante esses estudos (Grant *et al.*, 1996; Childress *et al.*, 1999), estruturas essas também implicadas na atenção e no aprendizado por condicionamento pavloviano (Christakou *et al.*, 2004).

Várias evidências, entretanto, sugerem que o núcleo accumbens deve ser o principal regulador da expressão da resposta condicionada para estímulos associados à cocaína ou anfetamina. Por exemplo, lesões no núcleo accumbens podem interferir com a hiperatividade condicionada produzida pelo pareamento repetido de um ambiente específico com anfetamina (Gold *et al.*, 1988). Além disso, estímulos previamente associados à administração de cocaína ou anfetamina aumentam a liberação de dopamina no núcleo accumbens de roedores (Fontana *et al.*, 1993; Graton & Wise, 1994; Di Ciano *et al.*, 1998 a,b) e de humanos (Volkow *et al.*, 2006; Boileau *et al.*, 2006), além de aumentar a expressão de proteína c-Fos no núcleo accumbens de roedores (Franklin & Druham, 2000; Neisewander *et al.*, 2000).

O desenvolvimento dessa atividade condicionada consiste em uma das bases explicativas para o fenômeno de sensibilização comportamental (Pert *et al.*, 1990; Crombag *et al.*, 2001; Anagnostaras *et al.*, 2002). De fato, em alguns protocolos experimentais, a sensibilização comportamental induzida pela administração repetida de psicoestimulantes ou outras drogas de abuso depende criticamente do pareamento do efeito hiperlocomotor da droga com o ambiente de observação (Jackson & Nutt, 1993; Carey & Gui, 1998a,b; Frussa-Filho *et al.*, 2004;

Anagnostaras & Robinson, 1996; Oliveira-Lima, 2006). Nos casos em que a sensibilização comportamental é observada mesmo quando as injeções de droga não são pareadas com o ambiente de observação (Bellot et al. 1996, 1997; Costa et al., 2001; Araujo et al., 2005; Chinen et al., 2006), o condicionamento ambiental é capaz de aumentar sua magnitude (Alvarez et al., 2006; Chinen et al., 2006).

Tomadas as considerações acima, estratégias que busquem modular o componente condicionado da sensibilização, tanto em roedores quanto em humanos, poderiam fornecer importantes subsídios para um tratamento efetivo da dependência química (Vezina & Leyton, 2009).

### **1.7. Extinção como tratamento da dependência química**

A necessidade de elaborar estratégias que busquem desvincular a associação entre pistas ambientais e o uso de drogas torna-se evidente quando estudos clínicos (nos quais os pacientes são expostos às pistas que lembram o uso da droga) e pré-clínicos (modelos animais de recaída) relatam a dificuldade em abolir os sinais e sintomas da dependência durante a fase de abstinência (Vanderschuren and Kalivas, 2000; Conklin & Tiffany, 2002). Nesse contexto, uma primeira possibilidade para desvincular essas associações seria manter o ex-usuário longe de estímulos ambientais que lembrem o uso da droga. Atualmente esse tipo de estratégia vem sendo aplicada por meio da internação de pacientes em clínicas de desintoxicação; todavia, o grande problema desse tipo de intervenção é que quando esses indivíduos saem da clínica e retomam suas vidas, eles podem se expor novamente às pistas que lembrem o uso da droga (local, amigos, objetos, etc.) e apresentar uma recaída.

Esse tipo de tratamento foi relatado, em um dos primeiros estudos nessa área, por O'Brien (1976), ao analisar a experiência de soldados americanos que foram à guerra do Vietnã. O uso de heroína era frequente entre esses soldados, o que levou à expectativa de um enorme problema social quando estes retornassem aos Estados Unidos. Muitas medidas foram tomadas para que os usuários de heroína passassem por tratamentos de desintoxicação, uma vez que a expectativa de recaída era de 80% a 90% quando retornassem a seus lares (índice esperado em dependentes de drogas opióides, segundo estatísticas americanas). O índice de recaída, contudo, foi de apenas 7%. O número surpreendente é coerente com o papel do condicionamento ambiental na dependência química: a recaída foi baixa porque, de volta aos Estados Unidos, os antigos soldados mantinham-se afastados dos estímulos ambientais diante dos quais havia se dado o consumo de heroína. A resposta condicionada não era eliciada porque não havia o estímulo condicionado. Talvez por essa razão, as clínicas de tratamento ainda utilizem essa estratégia de afastar o ex-usuário do ambiente associado ao uso da droga como tratamento para a dependência química. No entanto, manter o dependente afastado do ambiente em que utilizou drogas nem sempre é possível, principalmente quando estes retornam ao seu ambiente natural e são expostos às pistas ambientais que lembram o uso da droga.

Outra estratégia de prevenção de recaídas seria extinguir a função eliciadora de comportamentos promovida pelo estímulo condicionado. Tal abordagem poderia ser realizada ao “quebrar” a contingência entre estímulo condicionado (EC - pistas ambientais) e estímulo incondicionado (EI - droga), que faz com que após a associação entre os estímulos (EC-EI), uma resposta condicionada seja eliciada após apresentação apenas do EC. Essa resposta

condicionada pode ser subjetiva (por exemplo, “craving” ou desejo compulsivo), psicofisiológica (como a taquicardia) ou comportamental (por exemplo, o comportamento de busca pela droga) e é responsável por motivar o uso da droga (Havermans & Jansen, 2003). De fato, ao se apresentar o EC sem que seja apresentado, logo em seguida, o EI, poder-se ia levar à extinção da resposta condicionada e/ou à aquisição de um novo aprendizado desvinculando o EC do EI. Diante dessa perspectiva, surge como possibilidade promissora o chamado tratamento de dessensibilização aos estímulos ambientais. Nesse tipo de tratamento, o dependente químico é exposto repetidamente aos estímulos vinculados ao uso de drogas de forma a eliminar a associação existente entre as pistas ambientais (EC) e o uso da droga (EI), levando assim à extinção da resposta condicionada (Havermans; Jansen, 2003). Quando a resposta condicionada é extinta, a motivação primária para a continuidade do uso da droga é eliminada, tornando baixa a probabilidade de recaídas (Drummond et al., 1995; Jansen, 1998).

Estudos clínicos e pré-clínicos, entretanto, não têm encontrado um efeito substancialmente benéfico da extinção da resposta condicionada sobre a recaída. Dawe et al. (1993) estudaram a eficácia do tratamento de exposição a pistas em dependentes de opiáceos e mostraram que esse procedimento não apresentou efeitos adicionais sobre as taxas de recaída quando esses pacientes foram comparados com um grupo controle de pacientes que recebeu o tratamento padrão de clínicas de desintoxicação. No entanto, Drummond & Glautier (1994) demonstraram que o tratamento de exposição a pistas aumentou a latência para recaídas em alcoólicos, embora a taxa de recaída desses pacientes não tenha diferido daquela de um grupo controle que recebeu treino de relaxamento (controle

positivo). Niaura et al. (1999) investigaram a eficácia do tratamento de exposição a pistas em fumantes e mostraram que tal estratégia não afetou a recaída. Por fim, O'Brien et al. (1990) mostraram que a recaída ocorreu mesmo em pacientes que apresentaram completa extinção de respostas condicionadas durante o tratamento.

A recaída pode ser estudada em animais utilizando modelos de extinção e reinstalação (de Wit & Stewart, 1981; Epstein et al., 2006). Nesse sentido, a extinção consiste na exposição repetida dos animais, em estado livre de droga, ao ambiente previamente associado aos efeitos de uma determinada droga. Dessa forma, a associação realizada entre os efeitos da droga e as pistas ambientais poderia ser progressivamente enfraquecida. Assim, a partir do perfil de respostas exibidas durante a extinção, tem-se uma quantificação do comportamento de busca pela droga (veja Thiel et al., 2009). Esses mesmos animais podem ser testados posteriormente quanto ao processo de recaída por meio do modelo de reinstalação. Este pode ser facilmente induzido em roedores de 3 maneiras: pela apresentação de pistas ambientais associadas previamente à droga, pela aplicação de um estresse ou pela administração da própria droga de abuso (de Wit & Stewart, 1981; Epstein et al., 2006). Diversos estudos, entretanto, demonstram que o procedimento de extinção por si só não é eficaz em prevenir completamente a reinstalação do comportamento aditivo em animais (Di Ciano & Everitt, 2002; Kelamangalath & Wagner, 2009).

### **1.8. Utilização de neurolépticos para o tratamento da dependência química**

Os neurolépticos, também chamados de tranquilizantes maiores ou antipsicóticos, foram originalmente caracterizados como um grupo de drogas que

apresentava propriedades terapêuticas e farmacológicas comuns das quais se destacavam a eficácia desejada de tratar as psicoses e o efeito indesejado de produzir manifestações motoras consequentes às modificações no funcionamento do sistema extrapiramidal.

Os primeiros neurolépticos desenvolvidos, também chamados de neurolépticos típicos ou de 1ª geração, compartilham o antagonismo de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> como mecanismo de ação principal. Sete classes deles chegaram a alcançar uso clínico: a das fenotiazinas (como a clorpromazina); a das butirofenonas (como o haloperidol); a dos tioxantenos (como o tiotixeno); a dos fenilbutilpiperidínicos (como o pimozide); a dos dibenzoxazepínicos (como a loxapina); a das benzaminas substituídas (como o sulpiride) e as das di-hidroindolonas, como a molindona (Hollister, 1984).

Mais recentemente, surgiu uma nova classe de neurolépticos, denominados atípicos ou de 2ª geração (ver Waddington, 2000). Dentre os principais neurolépticos atípicos em uso destacam-se a ziprasidona, a risperidona, a olanzapina, a quetiapina, a amisulprida e o sertindol. A ziprasidona em especial é uma nova droga antipsicótica sendo diferenciada quimicamente de outros neurolépticos por apresentar uma única combinação de atividades farmacológicas. Ela possui uma alta afinidade pelos receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> e afinidade substancialmente maior pelos receptores de serotonina dos tipos 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2C</sub>, 5HT<sub>1A</sub> e 5HT<sub>1A/1D</sub> (sendo considerada antagonista serotoninérgico/dopaminérgico), além de moderada afinidade por receptores H<sub>1</sub> histamínicos, α<sub>1</sub>-adrenérgicos, baixa afinidade por receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> e nenhuma afinidade por receptores muscarínicos M<sub>1</sub> (Schmidt *et al.*, 2001).

Mais recentemente, foram introduzidos os neurolépticos de 3ª geração, como o aripiprazol. Assim como muitos neurolépticos de 2ª geração, o aripiprazol tem atividade em receptores serotoninérgicos (agonista em receptores 5HT<sub>1A</sub> e antagonista em receptores 5HT<sub>2A</sub> – Burris et al., 2002). Possui também afinidade por receptores serotoninérgicos 5HT<sub>2C</sub>, por receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos e histamínicos H<sub>1</sub> e moderada afinidade pelos sítios de recaptação de serotonina (Felterstein, 2007; Martinotti, 2009). Não obstante, sua ação como estabilizador da transmissão dopaminérgica (Burris et al., 2002) é o que levou diversos autores a preconizá-lo como o primeiro fármaco de uma 3ª geração de antipsicóticos (ver OhseIn & Pilowsky, 2005 e Bardin et al., 2006). Nesse sentido, a ação do aripiprazol sobre os receptores dopaminérgicos da família D<sub>2</sub> pode variar entre agonismo, agonismo parcial e antagonismo, dependendo do local de ação (Zocchi, 2005).

Conforme já comentado, as diferentes drogas de abuso atuam direta ou indiretamente aumentando a transmissão dopaminérgica no sistema mesolímbico e esse efeito parece estar intimamente relacionado com o desenvolvimento da dependência química. Assim, principalmente ao longo da década de 1990, inúmeros estudos demonstraram efeitos benéficos de neurolépticos sobre comportamentos relacionados à dependência de drogas, devido à ação antagonista dopaminérgica desses agentes. Foi demonstrado nesses estudos que a administração de diferentes neurolépticos concomitantemente ao tratamento com cocaína, morfina ou etanol foi capaz de impedir o efeito estimulante locomotor agudo dessas drogas e o desenvolvimento e/ou expressão da sensibilização comportamental em roedores (Vezina e Stewart, 1989; Weiss et al., 1989; Risinger et al., 1992; Reimer e Martin-Iverson, 1994; Tella, 1994; Mattingly et al., 1996;

Thrasher et al., 1999; Filip et al., 2003). O pré-tratamento com neurolépticos também foi eficaz na inibição da aquisição e/ou da expressão da preferência condicionada por lugar (outro modelo animal de dependência química) induzida por cocaína ou morfina em roedores (Kosten e Nestler, 1994; Meil e Schechter, 1997; Adams et al., 2001; Rezayof et al., 2002). Muitos estudos também demonstraram que a administração de neurolépticos antes de sessões de auto-administração de cocaína, morfina ou etanol preveniu sua aquisição ou diminuiu a quantidade de droga consumida/infundida por ratos ou macacos (Fuchs et al., 1984; Richardson et al., 1994; Meil e Schechter, 1997; Files et al., 1998; Ingman et al., 2003; Howell et al., 2006). Ainda, a administração de neurolépticos antes do teste de reinstalação (induzida por pistas ambientais ou por droga) de comportamentos relacionados à dependência de cocaína ou morfina promoveu uma atenuação desse fenômeno, revelando o potencial terapêutico dos neurolépticos na prevenção de recaídas ao comportamento de busca pela droga (Li et al., 2009).

No entanto, os estudos que buscaram verificar a efetividade de bloqueadores de receptores dopaminérgicos sobre comportamentos relacionados à dependência ainda são sinônimos de controvérsia. Isso porque, dependendo do protocolo de administração utilizado, os antagonistas dopaminérgicos podem potencializar os efeitos de drogas de abuso, ao invés de atenuá-los ou impedi-los. Tal contradição deve-se ao fato de que tratamentos crônicos com neurolépticos típicos como o haloperidol promovem supersensibilidade de receptores dopaminérgicos, caracterizada por um aumento pós-sináptico desses receptores que, por sua vez, pode potencializar os efeitos de drogas de abuso (Fukushiro et al., 2007, 2008; Carvalho et al., 2009). Nesse sentido, a possibilidade de utilização de neurolépticos típicos restringe-se a protocolos que não promovam tal fenômeno,

otimizando a capacidade dessa classe de drogas na prevenção ou inibição da dependência química. Nesse sentido, o fenômeno da supersensibilidade dopaminérgica parece não ser induzido pelos neurolépticos atípicos antidopaminérgicos/anti-serotonérgicos, como a ziprasidona (Rupniak et al., 1984, 1985; Wilmot e Szczepanik, 1989; Tarazi et al., 2001; Fukushiro et al., 2007, 2008) e pelo neuroléptico de 3ª geração aripiprazol (Inoue et al., 1997), tornando tais agentes mais adequados para a realização de experimentos que envolvam tratamentos crônicos.

Assim, resultados promissores têm sido encontrados especialmente ao utilizar o aripiprazol no tratamento da dependência química. Estudos em seres humanos mostraram que o tratamento com aripiprazol preveniu efeitos relacionados ao abuso de anfetamina (Lile et al., 2005; Stoops et al., 2006), aumentou o período em que pacientes dependentes permaneceram abstinentes de álcool (Martinotti et al., 2009) e reduziu o uso de álcool, o “craving” e a severidade de sintomas psicopatológicos em pacientes dependentes de álcool (Martinotti et al., 2007). Dados pré-clínicos mostraram que a administração de várias doses de aripiprazol foi capaz de bloquear comportamentos de busca por cocaína em ratos em um modelo de recaída induzida por droga ou por pistas ambientais (Feltenstein et al., 2007). Um pré-tratamento oral com aripiprazol também foi eficaz em diminuir de forma dependente de dose a auto-administração de cocaína em camundongos (Sorensen et al., 2008). Por fim, Ingman e colaboradores (2006) demonstraram que a administração de aripiprazol reduziu o consumo de etanol por acesso limitado em ratos selecionados para alta preferência por etanol.

Entretanto, embora esses estudos tenham fornecido subsídios importantes para o melhor entendimento das alterações que ocorrem durante o abuso de

drogas, sob o aspecto translacional, tais abordagens são pouco úteis no tratamento da dependência química. Com efeito, um dependente químico não faria uso de um agente terapêutico durante a aquisição da doença (ou seja, no momento em que estiver experimentando ou abusando da droga) ou somente no momento de uma recaída. Nesse contexto, o delineamento experimental que mais se aproximaria da realidade seria administrar uma possível medicação no período de abstinência da droga, quando a dependência química já tiver se instalado.

Nos últimos anos, tal estratégia mais próxima da realidade clínica tem sido finalmente abordada em alguns estudos. Nesses estudos, ratos ou camundongos foram inicialmente tratados com uma droga de abuso até apresentarem comportamentos relacionados à dependência, para só então serem tratados com o neuroléptico. Assim, Park et al. (2010) verificaram que em camundongos sensibilizados para cocaína, o tratamento com o neuroléptico atípico clozapina nas gaiolas moradia por 5 dias durante o período de abstinência promoveu reversão da sensibilização em resposta a um novo desafio com o psicoestimulante e ainda a atenuação de algumas alterações bioquímicas relacionadas com o processo de sensibilização comportamental. Utilizando o modelo de auto-administração em ratos, Feltenstein et al. (2009) demonstraram que o tratamento repetido com aripiprazol durante períodos de abstinência da auto-administração de cocaína e imediatamente antes de testes de recaída foi capaz de atenuar a reinstalação do comportamento de busca pela droga induzida por pistas ambientais ou por cocaína. Recentemente, Futamura e colaboradores (2010) demonstraram a eficácia de um tratamento repetido com diferentes doses de aripiprazol em atenuar a sensibilização comportamental à metanfetamina em camundongos quando realizado durante o período de abstinência da droga.

Cabe salientar, entretanto, que a fisiopatologia da dependência química não envolve apenas fatores farmacológicos, mas também fatores extrínsecos ao uso da droga, que, se não abordados simultaneamente em uma estratégia terapêutica, podem contribuir para o seu insucesso.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo Geral**

A presente tese teve por finalidade verificar os efeitos de um tratamento repetido com o neuroléptico de segunda geração ziprasidona bem como com neuroléptico de terceira geração aripiprazol sobre a sensibilização comportamental previamente desenvolvida à cocaína e ao etanol. Para verificar a participação do contexto ambiental sobre os efeitos dos neurolépticos, esses agentes foram administrados de forma pareada ou não pareada ao ambiente previamente pareado à droga de abuso em questão.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- 1 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com cocaína;
- 2 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com cocaína;
- 3 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização

- locomotora induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com etanol;
- 4 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com etanol;
  - 5 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com cocaína;
  - 6 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com cocaína;
  - 7 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com etanol;
  - 8 Verificar os efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com etanol.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Sujeitos experimentais

Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas EPM-M2, com 3 meses de idade, originários do Biotério Central da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP. Os animais foram alojados em número de 6-7, em gaiolas plásticas medindo 41 × 34 × 16,5 cm, desde seu desmame até serem colocados nas diferentes situações experimentais. Essas gaiolas foram mantidas em salas do biotério, com ventilação e temperatura (20-23°C) controladas por meio de ar condicionado central, em um ciclo claro/escuro de 12/12 horas, iniciando-se a fase clara às 6:30h. Água e comida foram fornecidas *ad libitum*. Quando da realização dos experimentos, os animais foram retirados do biotério em suas gaiolas moradia e levados para uma sala de observação, também com temperatura controlada por aparelho de ar condicionado e apresentando vedação sonora (nível máximo de ruído de 40 dB), sendo deixados para habituação por pelo menos uma hora antes do início dos experimentos.

Os experimentos foram realizados de acordo com o National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications Nº 80-23), revisado em 1996 e com a lei brasileira Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008 entre 13:00 e 16:00. A presente tese foi aprovada pelo comitê de ética em pesquisa da UNIFESP (número CEP - 0345/07).

Camundongos fêmeas foram utilizados na presente tese porque tem-se verificado um aumento significativo no uso de drogas lícitas e ilícitas em mulheres nas últimas décadas (Chen & Kandel et al., 2002; Hedges et al., 2010). Além disso, estudos em outros primatas ou roedores indicam uma maior sensibilidade do

gênero feminino aos efeitos de diversas drogas de abuso e, conseqüentemente, maior vulnerabilidade ao abuso destas (Kuhn et al., 2010; Evans e Foltin, 2010).

### 3.2 Drogas

- Cocaína (Sigma®)
- Etanol (Merck®)
- Ziprasidona (Pfizer®)
- Aripiprazol (Bristol–Myers Squibb®)

O Etanol (1.8 g/kg) e a cocaína (10 mg/kg) foram diluídos em salina (NaCl 0,9%). A ziprasidona (5 mg/kg) e o aripiprazol (0,1 mg/kg) foram dissolvidos em tween 80 e depois diluídos para a concentração correta em água destilada. A via de administração intraperitoneal (i.p.) foi utilizada para todas as drogas, em volume de 10 mL/kg de peso corporal. Os animais dos grupos controle receberam o mesmo volume dos respectivos veículos.

### 3.3 Registro da atividade geral em campo aberto

**O campo aberto utilizado consiste em uma arena de polietileno branco opaco com formato cilíndrico. O corpo do cilindro tem 50 cm de altura e sua base é um cilindro de madeira com 40 cm de diâmetro e 2 cm de altura. Desse modo, o corpo do cilindro (paredes da arena) apresenta um encaixe justo a sua base (chão da arena), podendo, corpo e base, serem separados para a efetuação da limpeza. O chão da arena é subdividido em 19 regiões aproximadamente iguais demarcadas por circunferências concêntricas de raios diferentes (4, 12 e 20 cm), intersectadas por segmentos de retas radiais.**

Cada animal foi observado individualmente no campo aberto durante 10 minutos. Nesse período foi quantificada a frequência de locomoção, isto é, a quantidade de vezes em que o animal adentrou com as 4 patas quaisquer quadrantes do aparelho (Chinen *et al.*, 2006). Dados obtidos em nosso laboratório sugerem que a frequência de locomoção é o principal parâmetro da atividade geral de camundongos indicador da sensibilização comportamental (Araujo *et al.*, 2005). A observação da atividade motora dos animais por 10 minutos é considerada eficaz para avaliar os efeitos de drogas sobre o sistema dopaminérgico (Frussa-Filho and Palermo-Neto, 1990, Queiroz & Frussa-Filho, 1997) particularmente os efeitos estimulantes e a sua sensibilização produzidos pelo etanol e pela cocaína (Fukushiro *et al.*, 2007, 2008, 2010).

Após cada observação no campo aberto, o aparelho foi limpo com uma solução de álcool-água 5%. As observações dos animais de cada grupo foram alternadas e realizadas sempre em um horário específico.

### 3.4 Análise Estatística

Todos os parâmetros foram avaliados pela análise de variância (ANOVA) de uma, duas ou três vias. Quando a ANOVA de duas vias foi utilizada, duas variáveis foram analisadas: Tratamento 1, que corresponde ao tratamento com salina ou cocaína (experimentos 1, 2, 5 e 6) ou com salina ou etanol (experimentos 3, 4, 7 e 8), e Tratamento 2, que corresponde ao tratamento com veículo de ziprasidona ou ziprasidona (experimentos 1, 2, 3 e 4) ou com veículo de aripiprazol ou aripiprazol (experimentos 5, 6, 7 e 8). Quando a ANOVA de três vias foi utilizada, os fatores analisados foram: Tratamento 1, Tratamento 2 e Tempo. Quando necessário, foi realizado em seguida o teste *post-hoc* de Duncan para

múltiplas comparações entre os grupos. O teste *t* para amostras pareadas foi utilizado para comparações dentro de um mesmo grupo experimental em diferentes momentos. Em todas as comparações realizadas, o valor de  $P < 0,05$  foi considerado como referência para indicar diferenças significativas.

#### 4. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E RESULTADOS

Experimento 1 - *Efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com cocaína.*

Cinquenta e dois camundongos fêmeas foram habituados no campo aberto por 10 minutos durante 3 dias consecutivos, sendo sua locomoção quantificada no 3º dia. De acordo com as frequências de locomoção obtidas nesse 3º dia de habituação, os camundongos foram distribuídos em 4 grupos com 13 animais cada, apresentando valores basais semelhantes: Sal-Vei, Sal-Zip, Coc-Vei e Coc-Zip. Para induzir a sensibilização por cocaína, os animais receberam injeções intraperitoneais de 10 mg/kg de cocaína (Coc-) ou (i.p.) de salina (Sal-) em dias alternados por 15 dias (dias 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15) e, 5 minutos após cada injeção, os animais foram individualmente colocados no campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 15º dias dessa fase, denominada fase de tratamento com cocaína. Quarenta e oito horas após a última injeção da fase de tratamento com cocaína iniciou-se a fase de tratamento com ziprasidona. Durante esta fase, os camundongos receberam injeções i.p. de veículo de ziprasidona (-Vei-) ou de 5 mg/kg de ziprasidona (-Zip-) em dias alternados durante 7 dias (dias 1, 3, 5 e 7) e, 30 minutos após cada injeção, eles

foram individualmente expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 7º dias da fase de tratamento com ziprasidona. Cinco dias após a última injeção, todos os animais foram agudamente desafiados com uma injeção i.p. de salina e colocados no campo aberto por 10 minutos para o teste da resposta condicionada. Quarenta e oito horas após o desafio com salina, os animais foram desafiados com cocaína para testar a reinstalação da sensibilização comportamental. Assim, todos os animais receberam uma injeção i.p. de 10 mg/kg de cocaína (-Coc) e foram individualmente colocados no campo aberto, onde a frequência de locomoção foi quantificada por 10 minutos.

Os detalhes do protocolo do Experimento 1 estão descritos na Tabela 1:

<i>Linha do tempo</i>	<i>1º ao 3º Dia</i>	<i>4º ao 18º Dia</i>	<i>20º ao 26º Dia</i>	<i>31º Dia</i>	<i>33º Dia</i>
<b>Grupos N=13</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 15º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 7º dias de tratamento</b>		
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias</b> <b>3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
Sal-Zip		Sal – CA	Zip – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Vei		Coc – CA	Vei – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Zip		Coc – CA	Zip – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
		<b>1º e 15º dias: QCA</b>	<b>1º e 7º dias: QCA</b>		
		<b>Tratamento com Cocaína</b>	<b>Tratamento com Ziprasidona</b>	<b>Desafio Salina</b>	<b>Desafio Cocaína</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Coc = injeção i.p. de 10 mg/kg de cocaína; Vei = injeção i.p. de veículo de ziprasidona; Zip = injeção i.p. de 5 mg/kg de ziprasidona; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou cocaína e 30 min após a injeção de veículo ou ziprasidona).

## **RESULTADOS:**

O primeiro experimento foi desenvolvido para simultaneamente investigar 5 diferentes questões: 1) se o tratamento repetido com cocaína, sob nossas condições experimentais, poderia promover o desenvolvimento de sensibilização comportamental e de reposta condicionada e se essa sensibilização poderia ser reinstalada após abstinência da droga; 2) se o tratamento com ziprasidona em um determinado ambiente poderia promover o desenvolvimento de uma hipolocomoção condicionada; 3) se o tratamento com ziprasidona durante a fase de abstinência de cocaína e no mesmo ambiente previamente pareado com cocaína poderia modificar a resposta condicionada a essa droga de abuso; 4) se o tratamento com ziprasidona durante a fase de abstinência de cocaína e no mesmo ambiente previamente pareado com cocaína poderia impedir a reinstalação da sensibilização comportamental a essa droga de abuso e 5) se o tratamento repetido com ziprasidona poderia promover supersensibilidade dopaminérgica central, potencializando os efeitos de uma injeção aguda de cocaína.

Os dados das frequências de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 1. Todos os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

Durante a fase de tratamento com cocaína, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos significativos do fator tempo (dia 1 x dia 15) [ $F(1,50) = 79.75$ ;  $P < 0.001$ ], do fator tratamento (cocaína x salina) [ $F(1,50) = 142.66$ ,  $P < 0.001$ ] e interação entre tempo x tratamento [ $F(1,50) = 66.61$ ,  $P < 0.001$ ]. A primeira injeção

de cocaína (1<sup>o</sup> dia da fase de tratamento com cocaína) induziu um aumento significativo da atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com cocaína > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.05$ ), demonstrando o efeito estimulante locomotor da dose de cocaína usada no presente estudo. Após 8 injeções de cocaína (15<sup>o</sup> dia da fase de tratamento com cocaína), ocorreu um aumento significativo da locomoção nos grupos tratados com cocaína (15<sup>o</sup> dia > 1<sup>o</sup> dia) [teste *t* pareado 1<sup>o</sup> x 15<sup>o</sup> dia: grupo Coc-Vei:  $t(12) = 9.22$ ,  $P < 0.001$  e grupo Coc-Zip:  $t(12) = 5.0$   $P < 0.001$ ]. Este aumento da atividade locomotora da cocaína no 15<sup>o</sup> dia comparado ao 1<sup>o</sup> dia na fase de tratamento com cocaína demonstrou que sob nossas condições experimentais ocorreu o desenvolvimento da sensibilização locomotora à cocaína.

No que se refere à fase de tratamento com ziprasidona, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos significativos do fator tempo (dia 1 x dia 7) [ $F(1,48) = 31.10$ ,  $P < 0.001$ ], do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,48) = 50.84$ ,  $P < 0.001$ ], do fator tratamento 2 (ziprasidona x veículo de ziprasidona) [ $F(1,48) = 107.05$ ,  $P < 0.001$ ], bem como interações significativas entre tratamento 1 x tratamento 2 [ $F(1,48) = 8.33$ ,  $P < 0.01$ ] e tempo x tratamento 1 [ $F(1,48) = 19.53$ ,  $P < 0.001$ ].

O tratamento prévio com cocaína produziu locomoção condicionada quando uma injeção de veículo foi subsequentemente administrada (1<sup>o</sup> dia da fase de tratamento com ziprasidona). Assim, o grupo Coc-Vei apresentou um aumento significativo da locomoção após recebimento da injeção veículo quando comparado ao grupo controle pré-tratado com salina (grupo Coc-Vei > grupo Sal-Vei) [teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ]. Essa locomoção condicionada exibida pelo grupo Coc-Vei foi atenuada após 3 injeções adicionais de veículo, uma vez que uma

significante redução na locomoção do grupo Coc-Vei foi observada quando as locomoções entre o 7º e o 1º dia foram comparadas na fase de tratamento com ziprasidona [teste *t* pareado 1º x 7º dia: grupo Coc-Vei:  $t(12) = 4.33$ ,  $P < 0.005$ ]. Entretanto, embora a locomoção condicionada à cocaína tenha sido atenuada, ela não foi completamente extinta durante a fase de tratamento com ziprasidona ou seu veículo, uma vez que no dia 7, o grupo Coc-Vei ainda apresentou um aumento significativo na frequência de locomoção quando comparado ao grupo Sal-Vei [teste *post hoc de* Duncan,  $P < 0.001$ ].

Ainda na fase de tratamento com ziprasidona, a primeira injeção de ziprasidona induziu uma diminuição significativa na locomoção nos camundongos (grupo Sal-Zip < grupo Sal-Vei) [teste *post hoc de* Duncan,  $P < 0.001$ ], demonstrando o efeito hipolocomotor agudo da dose de ziprasidona utilizada no presente experimento. Esse efeito hipolocomotor da ziprasidona persistiu durante toda a fase de tratamento com ziprasidona, uma vez que ainda no dia 7 o grupo Sal-Zip apresentou uma diminuição significativa na locomoção em relação ao grupo Sal-Vei [teste *post hoc de* Duncan,  $P < 0.001$ ].

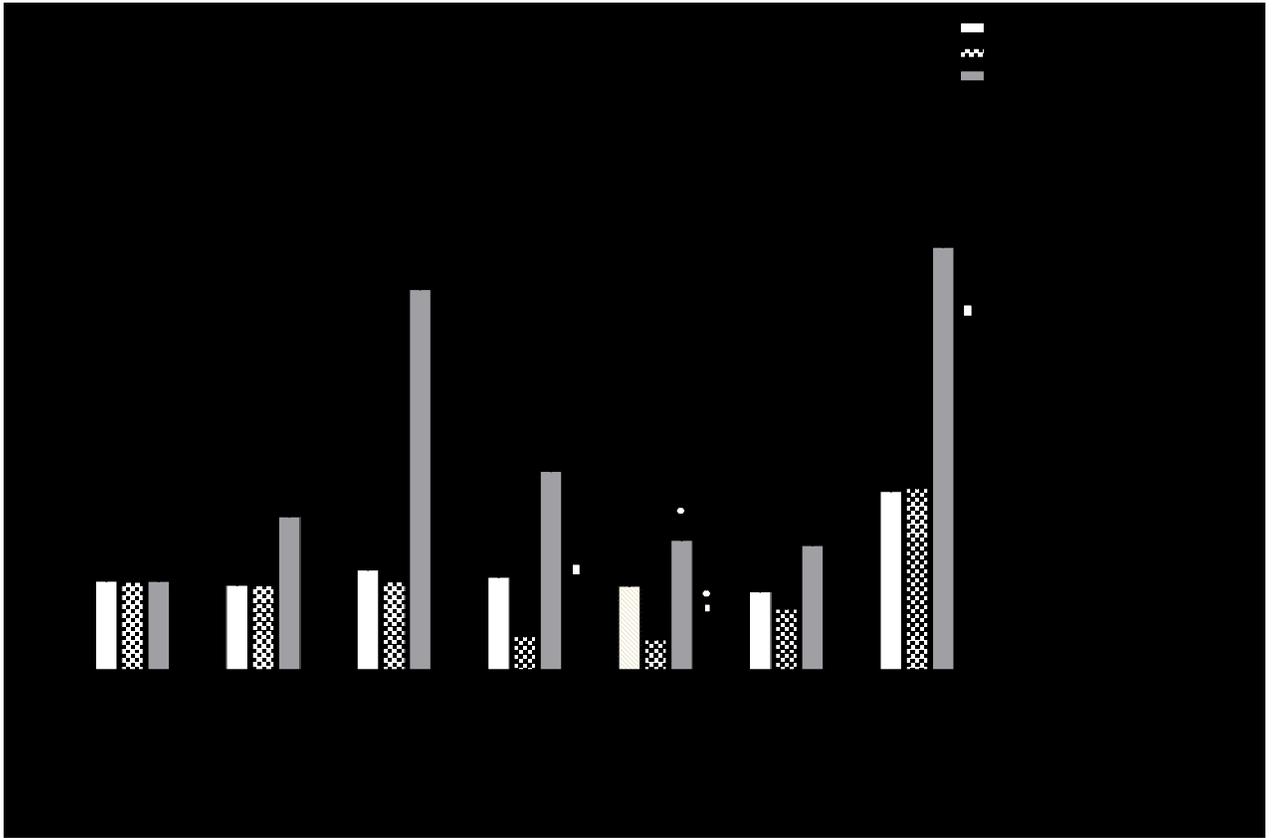
A administração de ziprasidona a animais pré-tratados com cocaína impediu a resposta condicionada a essa droga, uma vez que o grupo Coc-Zip apresentou uma redução na locomoção em relação ao grupo Coc-Vei e não apresentou diferenças significativas com relação ao grupo controle Sal-Vei no 1º dia da fase de tratamento com ziprasidona [teste *post hoc de* Duncan,  $P < 0.001$ ]. Por outro lado, o condicionamento ambiental atenuou o efeito depressor motor da ziprasidona, uma vez que o grupo Coc-Zip apresentou locomoção significativamente aumentada em relação ao grupo Sal-Zip [teste *post hoc de* Duncan,  $P < 0.001$ ]. Após 3 injeções adicionais de ziprasidona, houve ainda uma

diminuição significativa da locomoção do grupo Coc-Zip em relação ao 1º dia de tratamento com ziprasidona [teste t pareado 1º x 7º dia: grupo Coc-Zip:  $t(12) = 4.66$ ,  $P < 0.001$ ]. No 7º dia de tratamento com ziprasidona, a locomoção do grupo Coc-Zip apresentou-se diminuída em relação aos grupos Sal-Vei e Coc-Vei mas não em relação ao grupo Sal-Zip. Esses dados sugerem a extinção da resposta locomotora condicionada nos camundongos tratados com ziprasidona.

Durante o desafio salina, a ANOVA de 2 vias revelou apenas efeitos significativos do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,48) = 14,69$ ;  $P < 0.001$ ] e do fator tratamento 2 (ziprasidona x veículo de ziprasidona), [ $F(1,48) = 3,99$ ;  $P = 0.05$ ]. Assim, todos os animais pré-tratados com cocaína apresentaram locomoção aumentada em relação aos animais pré-tratados com salina, indicando que a resposta hiperlocomotora condicionada à cocaína não foi completamente extinta no momento do desafio com salina. Além disso, todos os animais tratados com ziprasidona apresentaram locomoção diminuída em relação aos animais tratados com veículo de ziprasidona, indicando o desenvolvimento de uma hipolocomoção condicionada a esse antipsicótico. Assim, o tratamento com ziprasidona pareado ao campo aberto parece ter atenuado a locomoção condicionada à cocaína.

Durante a fase de desafio com cocaína, a ANOVA de 2 vias revelou efeito significativo do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,48) = 32.63$   $P < 0.001$ ] e do fator tratamento 2 (ziprasidona x veículo de ziprasidona) [ $F(1,48) = 4.55$ ,  $P < 0.05$ ], bem como interação entre tratamento 1 e tratamento 2 [ $F(1,48) = 4.96$ ,  $P < 0.05$ ]. O teste de Duncan revelou que o grupo Coc-Vei-Coc apresentou locomoção aumentada em relação ao grupo controle Sal-Vei-Coc, demonstrando a reinstalação da sensibilização comportamental pela administração de cocaína. O

tratamento repetido com ziprasidona pareado ao campo aberto foi capaz de atenuar a reinstalação da sensibilização locomotora à cocaína, uma vez que o grupo Coc-Zip-Coc apresentou locomoção reduzida em relação ao grupo Coc-Vei-Coc, embora aumentada em relação ao grupo controle Sal-Vei-Coc. Por fim, o tratamento repetido com ziprasidona no campo aberto não promoveu o desenvolvimento de supersensibilidade dopaminérgica central, uma vez que a atividade locomotora em resposta à administração aguda de cocaína apresentada pelo grupo Sal-Zip-Coc não foi diferente daquela exibida pelo grupo Sal-Vei-Coc.



**Figura 1.** Experimento 1: Durante a fase de tratamento com cocaína camundongos fêmeas receberam salina ou 10 mg/kg de cocaína durante 15 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e 15º dias dessa fase. Durante a fase de tratamento com ziprasidona, esses mesmos animais receberam veículo ou 5 mg/kg de ziprasidona durante 7 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e 7º dias dessa fase. Durante a fase de desafio salina e cocaína, todos os animais receberam injeções de salina ou de 10 mg/kg de cocaína, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada por 10 minutos. Dados demonstram a média  $\pm$  erro padrão.

★  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com cocaína.

#  $P < 0.05$  em relação ao mesmo grupo no 1º dia da fase de tratamento com cocaína.

●  $P < 0.05$  em relação ao grupo tratado com salina na fase de tratamento com cocaína e tratado com veículo na fase de tratamento com ziprasidona (S-V).

□  $P < 0.05$  em relação ao grupo tratado com cocaína na fase de tratamento com cocaína e tratado com veículo na fase de tratamento com ziprasidona (C-V).

@  $P < 0.05$  em relação ao grupo tratado com salina na fase de tratamento com cocaína e tratado com ziprasidona na fase de tratamento com ziprasidona (S-Z).

○  $P < 0.05$  em relação ao mesmo grupo no 1º dia da fase de tratamento com ziprasidona.

△  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com veículo na fase de tratamento com ziprasidona.

Experimento 2 - Efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com cocaína.

Cinquenta e seis camundongos fêmeas (n=14 por grupo) foram submetidos ao mesmo delineamento experimental descrito para o experimento 1 foi utilizado, com exceção de que as injeções de ziprasidona ou veículo não foram pareadas ao campo aberto (os animais retornaram às suas gaiolas moradia após cada injeção do tratamento).

Os detalhes do protocolo do Experimento 2 estão descritos na Tabela 2:

<i>Linha do tempo</i>	<i>1º ao 3º Dia</i>	<i>4º ao 18º Dia</i>	<i>20º ao 26º Dia</i>	<i>31º Dia</i>	<i>33º dia</i>
<b>Grupos N=14</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 15º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 7º dias de tratamento</b>		
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias 3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
Sal-Zip		Sal – CA	Zip – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Vei		Coc – CA	Vei – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Zip		Coc – CA	Zip – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
		<b>1º e 15º dias: QCA</b>	<b>Gaiola Moradia</b>		
		<b>Tratamento com Cocaína</b>	<b>Tratamento com Ziprasidona</b>	<b>Desafio Salina</b>	<b>Desafio Cocaína</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Coc = injeção i.p. de 10 mg/kg de cocaína; Vei = injeção i.p. de veículo de ziprasidona; Zip = injeção i.p. de 5 mg/kg de ziprasidona; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; GM = retorno à gaiola moradia; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou cocaína).

## **RESULTADOS:**

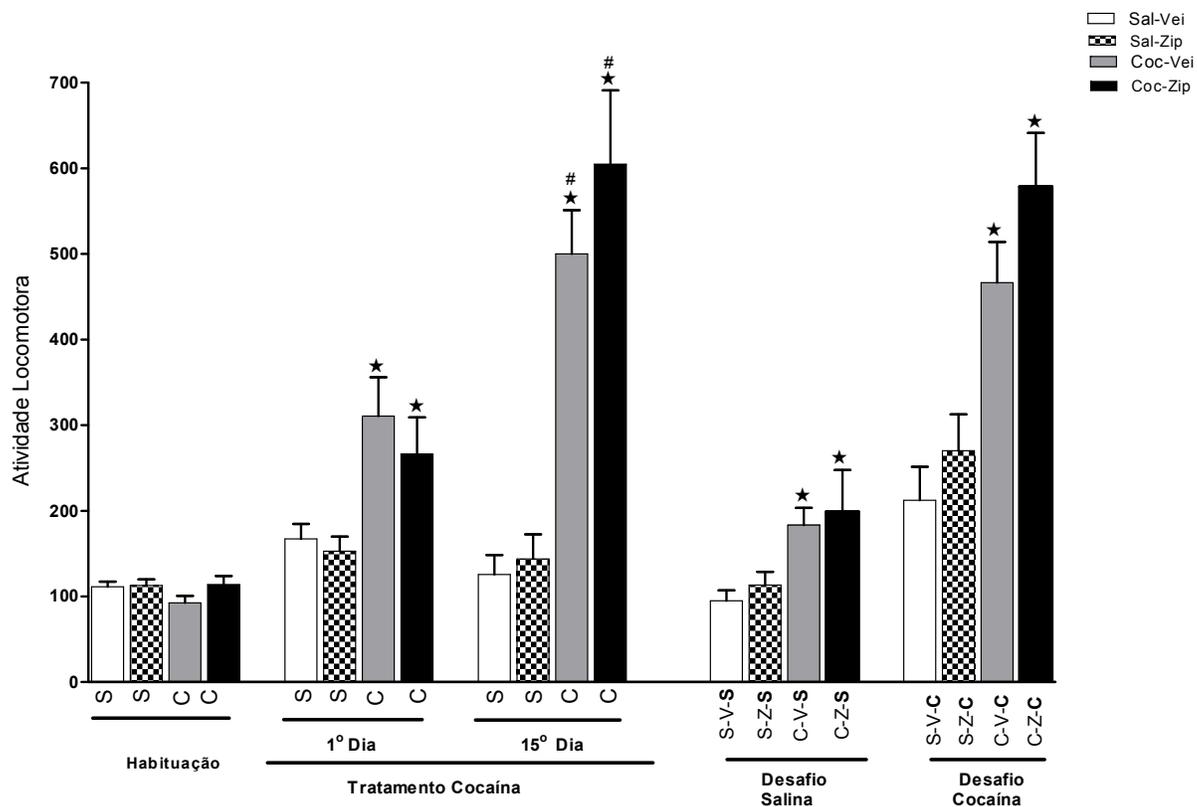
No segundo experimento procuramos investigar se o tratamento repetido com ziprasidona em local diferente (gaiola moradia) daquele em que o tratamento repetido com cocaína fora realizado (campo aberto) poderia reduzir a locomoção condicionada (desafio salina) ou a expressão da sensibilização comportamental à cocaína (desafio cocaína).

Os dados das frequências de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 2. Os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

No que se refere à fase de tratamento com cocaína, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos significativos do fator tempo (dia 1 x dia 15) [ $F(1,54) = 24.95, P < 0.001$ ], do fator tratamento (cocaína x salina) [ $F(1,54) = 53.31, P < 0.001$ ] e interação entre tempo x tratamento [ $F(1,54) = 36.65, P < 0.001$ ]. A primeira injeção de cocaína (1º dia da fase de tratamento com cocaína) induziu um aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com cocaína > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ), demonstrando, mais uma vez, o efeito estimulante locomotor da dose de cocaína utilizada no presente estudo. Após 8 injeções de cocaína (15º dia da fase de tratamento com cocaína), ocorreu um aumento significativo na locomoção dos grupos tratados com cocaína (15º dia > 1º dia) [teste *t* pareado 1º x 15º dia: grupo Coc-Vei:  $t(13) = 4.68, P < 0.001$  e grupo Coc-Zip:  $t(13) = 4.35, P < 0.001$ ], demonstrando novamente o desenvolvimento da sensibilização locomotora à cocaína em nossas condições experimentais.

Durante o desafio salina, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos somente do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,52) = 9.53$ ;  $p < 0.005$ ]. Assim, os animais pré-tratados com cocaína apresentaram um aumento na locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina. Esse resultado indica que a locomoção condicionada se desenvolveu nos animais pré-tratados com cocaína mesmo após 14 dias da última exposição ao campo aberto e que o tratamento repetido com ziprasidona na gaiola moradia não modificou tal resposta.

Finalmente, na fase de desafio com cocaína, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos somente do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,52) = 33.17$ ,  $P < 0.001$ ]. Assim, os animais pré-tratados com cocaína apresentaram um aumento na locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina em resposta ao desafio com cocaína. Esse resultado indica que houve expressão da sensibilização comportamental à cocaína após abstinência dessa droga, que entretanto não foi modificada pelo tratamento repetido prévio com ziprasidona na gaiola moradia. Além disso, verificamos que o tratamento repetido com ziprasidona não produz supersensibilidade dopaminérgica central também quando administrado na gaiola moradia, uma vez que o grupo Sal-Zip-Coc apresentou locomoção semelhante ao grupo Sal-Vei-Coc após administração aguda de cocaína.



**Figura 2.** Experimento 2: Durante a fase de tratamento com cocaína camundongos fêmeas receberam salina ou 10 mg/kg de cocaína durante 15 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 15º dias. Durante a fase de tratamento com ziprasidona, esses mesmos animais receberam veículo ou 5 mg/kg de ziprasidona durante 7 dias alternados e retornaram às gaiolas moradia. Durante as fases de desafio salina e desafio cocaína, todos os animais receberam injeções de salina ou de 10 mg/kg de cocaína, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada em campo aberto por 10 min. Os valores referem-se à média ± erro padrão.

★  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com cocaína.

#  $P < 0.05$  em relação ao mesmo grupo no 1º dia da fase de tratamento com cocaína.

Experimento 3 – Efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com etanol

Cinquenta e seis camundongos fêmeas (n=14 por grupo) foram submetidos ao mesmo delineamento experimental descrito para o experimento 1 foi utilizado, com exceção de que 1.8 g/kg de etanol foi utilizado ao invés de cocaína.

Os detalhes do protocolo do Experimento 3 são descritos na Tabela 3:

<b>Linha do tempo</b>	<b>1º ao 3º Dia</b>	<b>4º ao 18º Dia</b>	<b>20º ao 26º Dia</b>	<b>31º Dia</b>	<b>33º Dia</b>
<b>Grupos N=14</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 15º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 7º dias de tratamento</b>		
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias 3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – CA	Sal – QCA	Et – QCA
Sal-Zip		Sal – CA	Zip – CA	Sal – QCA	Et – QCA
Et-Vei		Et – CA	Vei – CA	Sal – QCA	Et – QCA
Et-Zip		Et – CA	Zip – CA	Sal – QCA	Et – QCA
		<b>1º e 15º dias: QCA</b>	<b>1º e 7º dias: QCA</b>		

**Tratamento com Etanol**

**Tratamento com Ziprasidona**

**Desafio Salina**

**Desafio Etanol**

Sal = injeção i.p. de salina; Et = injeção i.p. de 1.8 g/kg de etanol; Vei = injeção i.p. de veículo de ziprasidona; Zip = injeção i.p. de 5 mg/kg de ziprasidona; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou etanol e 30 min após a injeção de veículo ou ziprasidona).

## **RESULTADOS:**

O terceiro experimento foi desenvolvido para simultaneamente investigar 2 diferentes questões: 1) se o tratamento repetido com etanol, sob nossas condições experimentais, poderia promover o desenvolvimento de sensibilização comportamental e de resposta condicionada e se essa sensibilização poderia ser reinstalada após abstinência da droga e 2) se o tratamento com ziprasidona durante a fase de abstinência de etanol e em um ambiente previamente pareado com etanol poderia impedir a resposta condicionada e a reinstalação da sensibilização comportamental a essa droga de abuso.

Os dados da frequência de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 3. Os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

Durante a fase de tratamento com etanol, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeito significativo do fator tratamento (etanol x salina) [ $F(1,54) = 449,12$ ;  $P < 0.001$ ] e interação tempo x tratamento [ $F(1,54) = 5.75$ ;  $P < 0.05$ ]. A primeira injeção de etanol (1º dia da fase de tratamento com etanol) induziu um aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com etanol > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ), demonstrando o efeito estimulante locomotor da dose de etanol utilizada no presente estudo. Entretanto, após 8 injeções de etanol (15º dia da fase de tratamento com etanol), o teste *t* para amostras pareadas não revelou diferenças significativas na locomoção dos grupos tratados com etanol no 15º dia em relação

ao 1º dia de tratamento, indicando ausência de desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol.

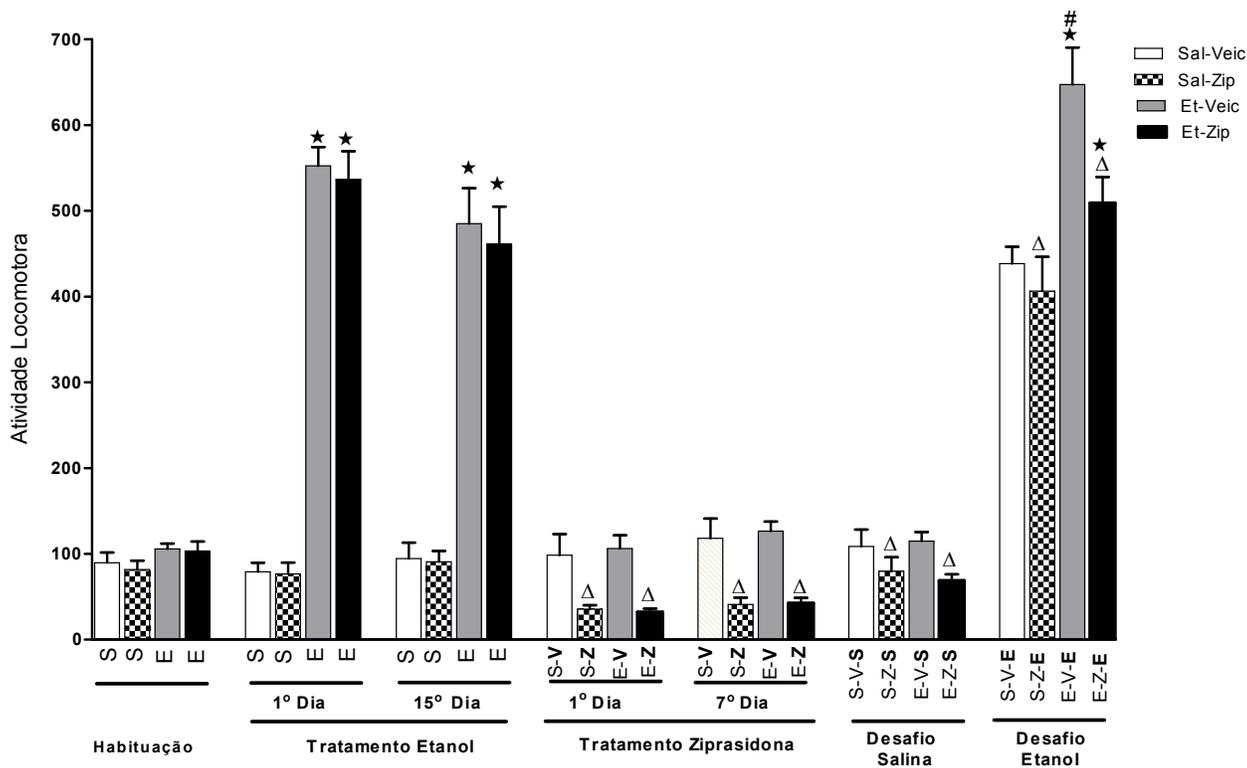
No que se refere à fase de tratamento com ziprasidona, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos significativos do fator tempo (dia 1 x dia 7) [ $F(1,52) = 7.05, P < 0.05$ ] e do fator tratamento 2 (ziprasidona x veículo de ziprasidona) [ $F(1,52) = 31.85, P < 0.001$ ].

O tratamento prévio com etanol não foi capaz de produzir locomoção condicionada, uma vez que o grupo Et-Vei apresentou locomoção similar ao grupo controle Sal-Vei tanto no 1º como no 7º dia de tratamento com veículo de ziprasidona. Além disso, a primeira injeção de ziprasidona induziu uma diminuição na atividade locomotora tanto nos animais tratados com salina como naqueles tratados com etanol (Sal-Zip e Et-Zip < Sal-Vei e Et-Vei) [teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ], demonstrando, assim como no experimento 1, a hipolocomoção promovida pela dose de ziprasidona utilizada na presente tese.

Durante o desafio salina, a ANOVA de 2 vias revelou somente efeitos significativos do tratamento 2 (ziprasidona x veículo de ziprasidona) [ $F(1,52) = 6,88; P < 0.05$ ]. Em outras palavras, os animais tratados repetidamente com ziprasidona apresentaram uma diminuição na locomoção em resposta ao desafio com salina em relação aos animais tratados repetidamente com veículo de ziprasidona, mostrando, assim como no experimento 1, que o tratamento repetido com ziprasidona no campo aberto produziu uma hipolocomoção condicionada.

Na fase de desafio etanol, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos do fator tratamento 1 (etanol x salina) [ $F(1,52) = 20.30 P < 0.001$ ] e do fator tratamento 2 (ziprasidona x veículo de ziprasidona) [ $F(1,52) = 6.08, P < 0.05$ ]. Assim, os grupos pré-tratados com etanol apresentaram um aumento da

locomoção em relação aos grupos pré-tratados com salina, evidenciando a expressão da sensibilização comportamental ao etanol no 16º dia após abstinência da droga. Além disso, o pré-tratamento com ziprasidona pareado ao campo aberto promoveu uma redução na locomoção tanto dos animais pré-tratados com salina como daqueles pré-tratados com etanol, indicando que o tratamento repetido com ziprasidona no ambiente previamente pareado com etanol atenuou não só o efeito estimulante locomotor agudo do etanol mas também a expressão da sensibilização comportamental a essa droga. Corroborando tais resultados, o teste *t* para amostras pareadas revelou que o grupo Et-Vei-Et, mas não o grupo Et-Zip-Et, apresentou um aumento na locomoção no desafio etanol em relação ao 15º dia de tratamento com etanol [teste *t* pareado desafio etanol x 15º dia do tratamento com etanol: grupo Et-Vei-Et:  $t(13) = 3.95$ ,  $P < 0.005$  e grupo Et-Zip-Et:  $t(13) = 1.16$ ,  $P = 0.27$ ].



**Figura 3.** Experimento 3: Durante a fase de tratamento com etanol, camundongos fêmeas receberam salina ou 1.8 g/kg de etanol em dias alternados durante 15 dias e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1° e no 15° dias. Durante a fase de tratamento com ziprasidona, esses mesmos animais receberam veículo ou 5 mg/kg de ziprasidona em dias alternados durante 7 dias e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1° e no 7° dias. Durante as fases de desafio salina e de desafio etanol, todos os animais receberam uma injeção de salina ou de 1.8 g/kg de etanol, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada por 10 min. Os valores referem-se à média ± erro padrão.

★  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com etanol.

#  $P < 0.05$  em relação ao mesmo grupo no 15° dia da fase de tratamento com etanol.

Δ  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com veículo na fase de tratamento com ziprasidona.

Experimento 4 – Efeitos de um tratamento subsequente com ziprasidona, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, com injeções pareadas ao ambiente de observação, com etanol.

Quarenta camundongos (n=10 por grupo) foram submetidos ao mesmo delineamento experimental descrito para o experimento 3, com exceção de que as injeções de ziprasidona ou veículo não foram pareadas ao campo aberto (os animais retornaram às suas gaiolas moradia após cada injeção do tratamento).

Os detalhes do protocolo do Experimento 4 são descritos na Tabela 4:

<i>Linha do tempo</i>	<i>1º ao 3º Dia</i>	<i>4º ao 18º Dia</i>	<i>20º ao 26º Dia</i>	<i>31º Dia</i>	<i>33º Dia</i>
<b>Grupos N=10</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 15º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 7º dias de tratamento</b>		
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias 3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – GM	Sal – QCA	Et – QCA
Sal-Zip		Sal – CA	Zip – GM	Sal – QCA	Et – QCA
Et-Vei		Et – CA	Vei – GM	Sal – QCA	Et – QCA
Et-Zip		Et – CA	Zip – GM	Sal – QCA	Et – QCA
		<b>1º e 15º dias: QCA</b>	<b>Gaiola Moradia</b>		
		<b>Tratamento com Etanol</b>	<b>Tratamento com Ziprasidona</b>	<b>Desafio Salina</b>	<b>Desafio Etanol</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Et = injeção i.p. de 1.8 g/kg de etanol; Vei = injeção i.p. de veículo de ziprasidona; Zip = injeção i.p. de 5 mg/kg de ziprasidona; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; GM = retorno à gaiola moradia; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou etanol).

## **RESULTADOS:**

No experimento 4 procuramos investigar se o tratamento repetido com ziprasidona em local diferente (gaiola moradia) daquele em que o tratamento repetido com etanol fora realizado (campo aberto) poderia reduzir a possível locomoção condicionada (desafio salina) ou a expressão da sensibilização comportamental ao etanol (desafio etanol).

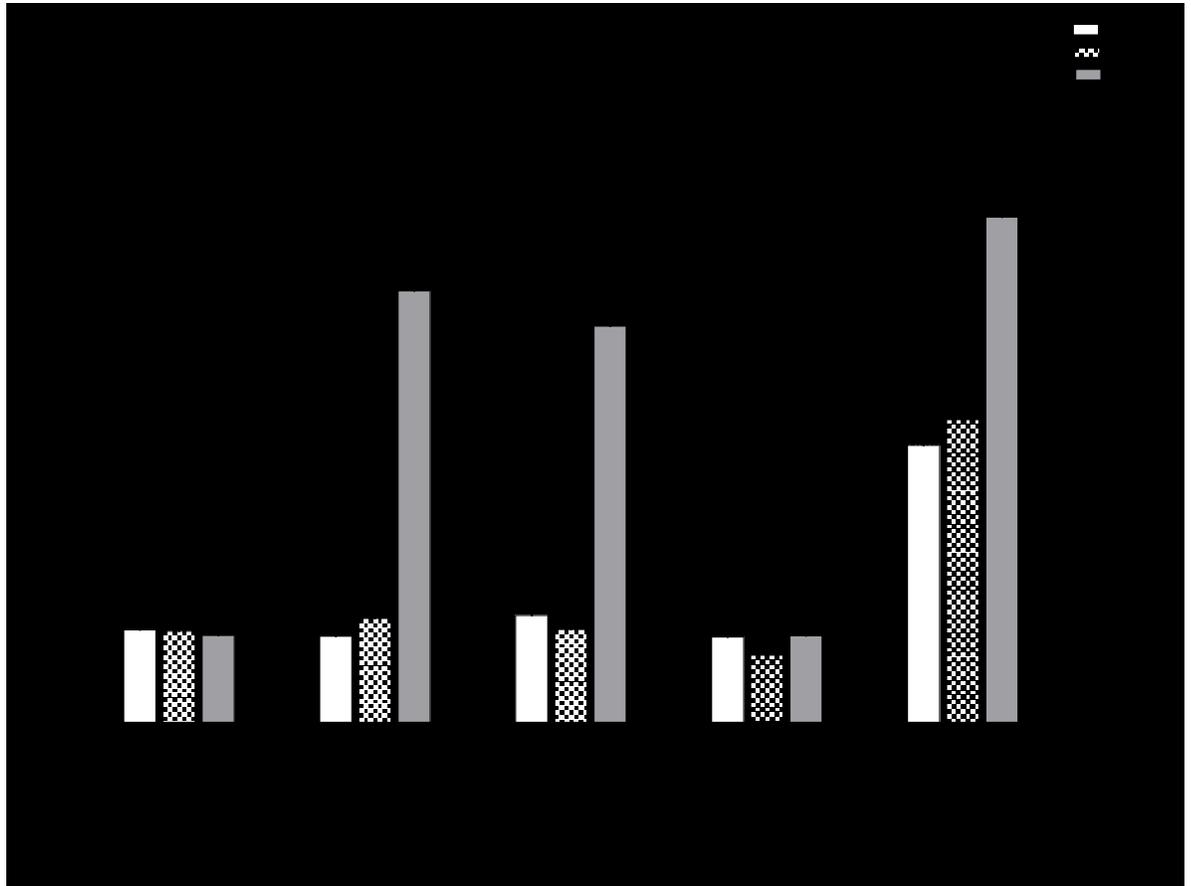
Os dados das frequências de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 4. Todos os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

Durante a fase de tratamento com etanol, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos do fator tratamento (etanol x salina) [ $F(1,38) = 493.07$ ,  $P < 0.001$ ] bem como interação significativa entre tempo x tratamento [ $F(1,38) = 5.05$ ,  $P < 0.05$ ].

A primeira injeção de etanol (1º dia da fase de tratamento com etanol) induziu um aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com etanol > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ), demonstrando, mais uma vez, o efeito estimulante locomotor da dose de etanol utilizada no presente estudo. Após 8 injeções de etanol (15º dia da fase de tratamento com etanol), o teste *t* para amostras pareadas não revelou diferenças significativas na locomoção dos grupos tratados com etanol no 15º dia em relação ao 1º dia de tratamento, indicando novamente ausência de desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol em nossas condições experimentais.

Durante o desafio salina, a ANOVA de 2 vias não revelou efeitos significativos de nenhum dos fatores analisados nem interação significativa entre os fatores. Esse resultado indica que a locomoção condicionada ao etanol não se desenvolveu mesmo após 14 dias da última exposição ao campo aberto.

Finalmente, na fase de desafio com etanol, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos somente do fator tratamento 1 (etanol x salina) [ $F(1,36) = 28.61, P < 0.001$ ]. Assim, os animais pré-tratados com etanol apresentaram um aumento na locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina em resposta ao desafio com etanol. Esse resultado indica que houve expressão da sensibilização comportamental ao etanol após abstinência dessa droga, que entretanto não foi modificada pelo tratamento repetido prévio com ziprasidona na gaiola moradia. Além disso, verificamos que o tratamento repetido com ziprasidona não produz supersensibilidade dopaminérgica central também quando administrado na gaiola moradia, uma vez que grupo Sal-Zip-Et apresentou locomoção semelhante ao grupo Sal-Vei-Et após administração aguda de etanol. Corroborando tais resultados, o teste  $t$  para amostras pareadas revelou que tanto o grupo Et-Vei-Et como o grupo Et-Zip-Et apresentaram um aumento na locomoção no desafio etanol em relação ao 15º dia de tratamento com etanol [teste  $t$  pareado desafio etanol x 15º dia do tratamento com etanol: grupo Et-Vei-Et:  $t(9) = 2.55, P < 0.05$  e grupo Et-Zip-Et:  $t(9) = 2.48, P < 0.05$ ].



**Figura 4.** Experimento 4: Durante a fase de tratamento com etanol camundongos fêmeas receberam salina ou 1.8 g/kg de etanol durante 15 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 15º dias. Durante a fase de tratamento com ziprasidona, esses mesmos animais receberam veículo ou 5 mg/kg de ziprasidona durante 7 dias alternados e retornaram às gaiolas moradia. Durante as fases de desafio salina e desafio etanol, todos os animais receberam injeções de salina ou de 1.8 g/kg de etanol, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada em campo aberto por 10 min. Os valores referem-se à média ± erro padrão.

★ P<0.05 em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com etanol.

# P<0.05 em relação ao mesmo grupo no 15º dia da fase de tratamento com etanol.

Experimento 5 - Efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização comportamental induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com cocaína.

Quarenta e oito camundongos fêmeas foram habituados no campo aberto por 10 minutos durante 3 dias consecutivos, sendo sua locomoção quantificada no 3º dia. De acordo com as frequências de locomoção obtidas nesse 3º dia de habituação, os camundongos foram distribuídos em 4 grupos com 12 animais cada, apresentando valores basais semelhantes: Sal-Vei, Sal-Arp, Coc-Vei e Coc-Arp. Para induzir a sensibilização por cocaína, os animais receberam injeções intraperitoneais (i.p.) de 10 mg/kg de cocaína (Coc-) ou de salina (Sal-) em dias alternados por 11 dias (dias 1, 3, 5, 7, 9 e 11) e, 5 minutos após cada injeção, os animais foram individualmente colocados no campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 11º dias dessa fase, denominada fase de tratamento com cocaína. O protocolo de indução de sensibilização à cocaína foi reduzido de 15 para 11 dias de tratamento nessa segunda parte da tese por questões éticas, uma vez que 6 injeções de cocaína pareadas ao campo aberto (11 dias alternados) já se mostraram eficazes em induzir sensibilização em nossas condições experimentais (veja Figura 5).

Quarenta e oito horas após a última injeção da fase de tratamento com cocaína iniciou-se a fase de tratamento com aripiprazol. Durante essa fase, os camundongos receberam injeções i.p. de veículo de aripiprazol (-Vei-) ou de 0.1 mg/kg de aripiprazol (-Arp-) em dias alternados durante 7 dias (dias 1, 3, 5 e 7) e, 30 minutos após cada injeção, foram individualmente expostos ao campo aberto

por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 7º dias da fase de tratamento com aripiprazol. Cinco dias após a última injeção, todos os animais foram agudamente desafiados com uma injeção i.p. de salina e colocados no campo aberto por 10 minutos para o teste da resposta condicionada. Quarenta e oito horas após este desafio, os animais foram desafiados com cocaína para testar a reinstalação da sensibilização comportamental. Assim, todos os animais receberam uma injeção i.p. de 10 mg/kg de Cocaína (-Coc) e foram individualmente colocados no campo aberto, onde a frequência de locomoção foi quantificada por 10 minutos.

Os detalhes do protocolo do Experimento 5 estão descritos na Tabela 5:

<i>Linha do tempo</i>	<i>1º ao 3º Dia</i>	<i>4º ao 14º Dia</i>	<i>16º ao 22º Dia</i>	<i>27º. Dia</i>	<i>29º. Dia</i>
<b>Grupos N=12</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º. e o 11º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º. E o 7º dias de tratamento</b>		
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias 3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
Sal-Arp		Sal – CA	Arp – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Vei		Coc – CA	Vei – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Arp		Coc – CA	Arp – CA	Sal – QCA	Coc – QCA
		<b>1º e 11º dias: QCA</b>	<b>1º e 7º dias: QCA</b>		
		<b>Tratamento com Cocaína</b>	<b>Tratamento com Aripiprazol</b>	<b>Desafio Salina</b>	<b>Desafio Cocaína</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Coc = injeção i.p. de 10 mg/kg de cocaína; Vei = injeção i.p. de veículo de aripiprazol; Arp = injeção i.p. de 0.1 mg/kg de aripiprazol; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou cocaína e 30 min após a injeção de veículo ou aripiprazol).

## **RESULTADOS:**

O experimento 5 foi desenvolvido para simultaneamente investigar 4 diferentes questões: 1) se o tratamento com aripiprazol em um determinado ambiente poderia promover o desenvolvimento de uma hipolocomoção condicionada; 2) se o tratamento com aripiprazol durante a fase de abstinência de cocaína e no mesmo ambiente previamente pareado com cocaína poderia modificar a resposta condicionada a essa droga de abuso; 3) se o tratamento com aripiprazol durante a fase de abstinência de cocaína e no mesmo ambiente previamente pareado com cocaína poderia impedir a reinstalação da sensibilização comportamental a essa droga de abuso e 4) se o tratamento repetido com aripiprazol poderia promover supersensibilidade dopaminérgica central, potencializando os efeitos de uma injeção aguda de cocaína.

Os dados das frequências de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 5. Todos os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

Durante a fase de tratamento com cocaína, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos significativos do fator tempo (dia 1 x dia 11) [ $F(1,46) = 11.29$ ;  $P < 0.005$ ], do fator tratamento (cocaína x salina) [ $F(1,46) = 39.43$ ,  $P < 0.001$ ] e interação entre tempo x tratamento [ $F(1,46) = 15.23$ ,  $P < 0.001$ ]. A primeira injeção de cocaína (1º dia da fase de tratamento com cocaína) induziu um significativo aumento da atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com cocaína > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.005$ ), demonstrando, mais uma vez, o efeito estimulante locomotor da dose de cocaína

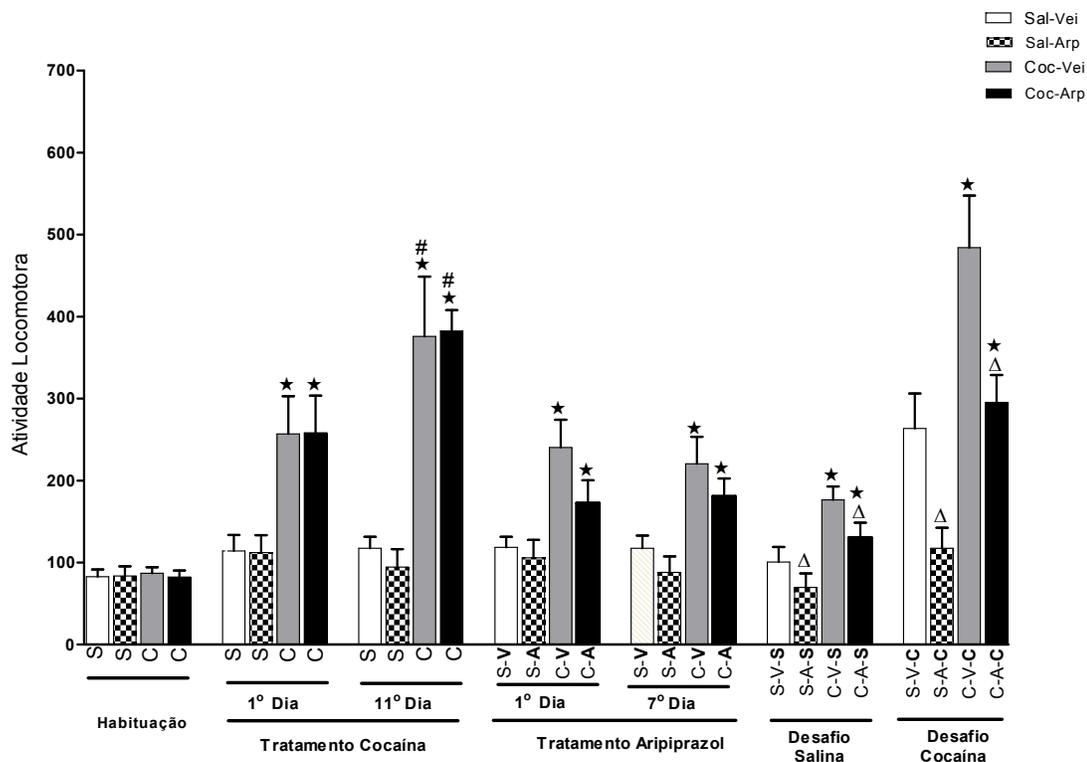
usada no presente estudo. Após 6 injeções de cocaína (15º dia da fase de tratamento com cocaína), ocorreu um aumento significativo da locomoção nos grupos tratados com cocaína (11º dia > 1º dia) [teste *t* pareado 1º x 11º dia: grupo Coc-Vei:  $t(11) = 2.31$ ,  $P < 0.05$  e grupo Coc-Arp:  $t(11) = 3.40$   $P < 0.01$ ]. Esse aumento da atividade locomotora promovida pela cocaína no 11º dia comparado ao 1º dia na fase de tratamento com cocaína demonstrou que a sensibilização locomotora se desenvolveu após 6 injeções dessa droga de abuso pareadas ao ambiente de observação.

No que se refere à fase de tratamento com aripiprazol, a ANOVA com medidas repetidas revelou somente efeitos significativos do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,44) = 18.13$ ,  $P < 0.001$ ]. Assim, tanto no 1º como no 7º dias da fase de tratamento com aripiprazol os animais pré-tratados com cocaína apresentaram um aumento na locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina. Esses resultados indicam que: 1) o tratamento com cocaína por 11 dias intermitentes pareado ao campo aberto foi eficaz em produzir locomoção condicionada (grupo Coc-Vei > grupo Sal-Vei, efeito significativo do fator tratamento 1), que entretanto não se extinguiu ao longo da fase de tratamento com aripiprazol (dia 1 = dia 7 para o grupo Coc-Vei, ausência de efeito do fator tempo e teste *t* para amostras pareadas  $P > 0.05$ ); 2) a administração de 0.1 mg/kg de aripiprazol não promoveu efeito depressor sobre a locomoção dos animais (grupo Sal-Arp = grupo Sal-Vei, ausência de efeito do fator tratamento 2) e 3) o tratamento repetido com aripiprazol não modificou a locomoção condicionada à cocaína (grupo Coc-Arp-Coc = grupo Coc-Vei, ausência de interação tratamento 1 x tratamento 2).

Durante o desafio salina, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,44) = 15.19$ ;  $P < 0.001$ ] e do fator tratamento 2 (aripirazol x veículo de aripirazol) [ $F(1,44) = 4.86$ ;  $P < 0.05$ ]. Assim, todos os animais pré-tratados com cocaína apresentaram locomoção aumentada em relação aos animais pré-tratados com salina, indicando que a resposta condicionada à cocaína não foi completamente extinta no momento do desafio com salina. Além disso, todos os animais tratados com aripirazol apresentaram locomoção diminuída em relação aos animais tratados com veículo de aripirazol, indicando o desenvolvimento de uma hipolocomoção condicionada a esse antipsicótico (mesmo na ausência de efeito depressor agudo durante a fase de tratamento com aripirazol). Assim, o tratamento com aripirazol pareado ao campo aberto parece ter atenuado a locomoção condicionada à cocaína, de forma inespecífica. De fato, uma interação entre tratamento 1 e tratamento 2 não foi detectada no desafio salina uma vez que a redução da atividade locomotora promovida pelo tratamento prévio com aripirazol ocorreu tanto em animais pré-tratados com salina como naqueles pré-tratados com cocaína.

Durante a fase de desafio com cocaína, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,44) = 23.10$ ,  $P < 0.001$ ] e do fator tratamento 2 (aripirazol x veículo de aripirazol) [ $F(1,44) = 13.97$ ,  $P < 0.005$ ]. Assim, os animais pré-tratados com cocaína apresentaram um aumento na locomoção em relação aos animais pré-tratados com salina em resposta ao desafio com cocaína, demonstrando a reinstalação da sensibilização comportamental pela administração de cocaína. A ausência de interação significativa entre tratamento 1 e tratamento 2 deve-se ao fato de a administração prévia de aripirazol pareada ao campo aberto ter promovido uma redução na

locomoção tanto dos animais pré-tratados com salina como dos animais pré-tratados com cocaína (efeito significativo do tratamento 2). Assim, ao analisarmos a figura 5, verifica-se que durante o desafio com cocaína, o tratamento prévio com aripiprazol no campo aberto diminuiu o efeito estimulante locomotor agudo da cocaína (ou seja, não produziu supersensibilidade dopaminérgica central) e atenuou a expressão da sensibilização locomotora a essa droga de abuso.



**Figura 5.** Experimento 5: Durante a fase de tratamento com cocaína camundongos fêmeas receberam salina ou 10 mg/kg de cocaína durante 11 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e 11º dias dessa fase. Durante a fase de tratamento com ziprasidona, esses mesmos animais receberam veículo ou 0.1 mg/kg de aripiprazol durante 7 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e 7º dias dessa fase. Durante a fase de desafio salina e cocaína, todos os animais receberam injeções de salina ou de 10 mg/kg de cocaína, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada por 10 minutos. Dados demonstram a média ± erro padrão.

★ P<0.05 em relação ao respectivo grupo tratado com salina durante a fase de tratamento com cocaína.

# P<0.05 em relação ao mesmo grupo no 1º dia da fase de tratamento com cocaína.

△ P<0.05 em relação ao respectivo grupo tratado com veículo na fase de tratamento com aripiprazol.

Experimento 6 – Efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com cocaína.

Sessenta camundongos fêmeas (n=15 por grupo) foram submetido ao mesmo delineamento experimental descrito para o experimento 5, com exceção de que as injeções de aripiprazol ou veículo não foram pareadas ao campo aberto (os animais retornaram às suas gaiolas moradia após cada injeção do tratamento).

Os detalhes do protocolo do Experimento 6 estão descritos na Tabela 6:

<b>Linha do tempo</b>	<b>1º ao 3º Dia</b>	<b>4º ao 14º Dia</b>	<b>16º ao 22º Dia</b>	<b>27º Dia</b>	<b>29º Dia</b>
<b>Grupos N=15</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 11º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º e o 7º dias de tratamento</b>		
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias</b> <b>3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
Sal-Arp		Sal – CA	Arp – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Vei		Coc – CA	Vei – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
Coc-Arp		Coc – CA	Arp – GM	Sal – QCA	Coc – QCA
		<b>1º e 11º dias: QCA</b>	<b>Gaiola Moradia</b>		
		<b>Tratamento com Cocaína</b>	<b>Tratamento com Aripiprazol</b>	<b>Desafio Salina</b>	<b>Desafio Cocaína</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Coc = injeção i.p. de 10 mg/kg de cocaína; Vei = injeção i.p. de veículo de aripiprazol; Arp = injeção i.p. de 0.1 mg/kg de aripiprazol; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; GM = retorno à gaiola moradia; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou cocaína).

## **RESULTADOS:**

No experimento 6 procuramos investigar se o tratamento repetido com aripiprazol em local diferente (gaiola moradia) daquele em que o tratamento repetido com cocaína fora realizado (campo aberto) poderia reduzir a locomoção condicionada (desafio salina) ou a expressão da sensibilização comportamental à cocaína (desafio cocaína).

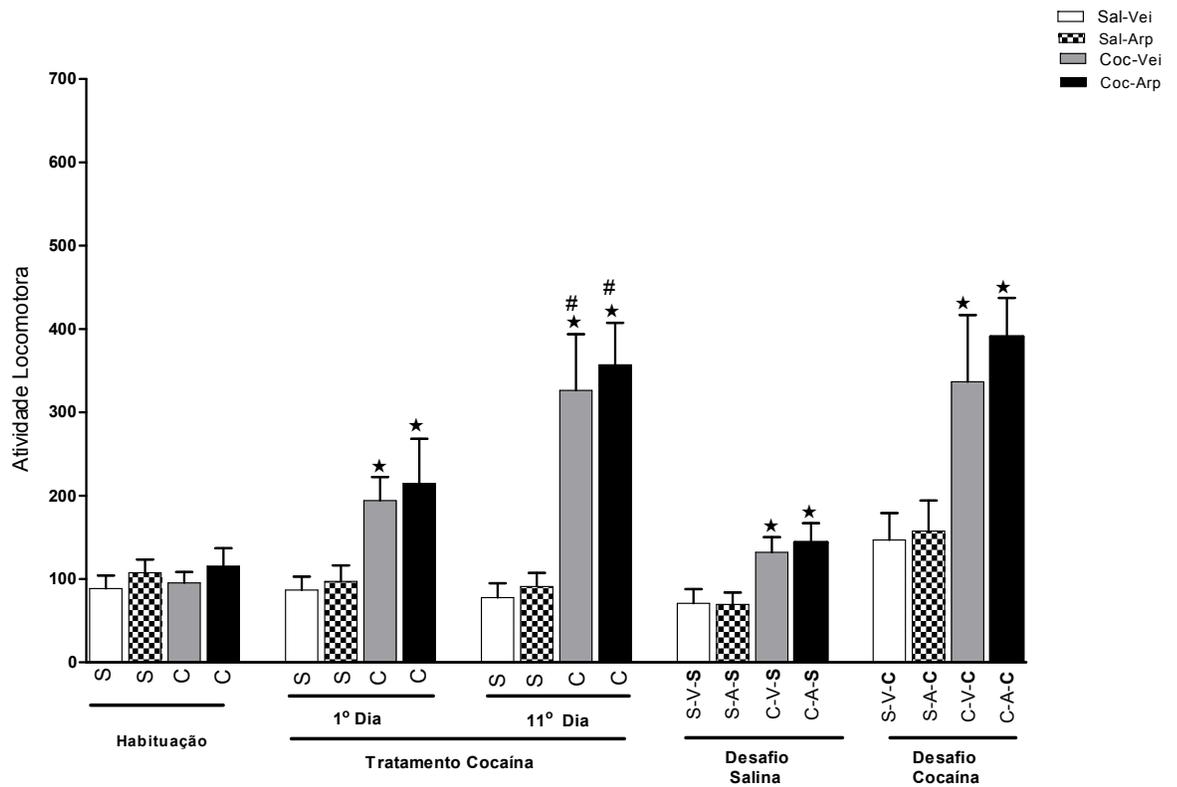
Os dados das frequências de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 6. Os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

No que se refere à fase de tratamento com cocaína, a ANOVA com medidas repetidas revelou efeitos significativos do fator tempo (dia 1 x dia 11) [ $F(1,58) = 14.78, P < 0.001$ ], do fator tratamento (cocaína x salina) [ $F(1,58) = 29.28, P < 0.001$ ] e interação entre tempo x tratamento [ $F(1,58) = 18.45, P < 0.001$ ]. A primeira injeção de cocaína (1º dia da fase de tratamento com cocaína) induziu um aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com cocaína > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.05$ ), demonstrando, mais uma vez, o efeito estimulante locomotor da dose de cocaína utilizada no presente estudo. Após 6 injeções de cocaína (11º dia da fase de tratamento com cocaína), ocorreu um aumento significativo na locomoção dos grupos tratados com cocaína (11º dia > 1º dia) [teste *t* pareado 1º x 11º dia: grupo Coc-Vei:  $t(14) = 2.33, P < 0.05$  e grupo Coc-Arp:  $t(14) = 4.05, P < 0.005$ ],

demonstrando novamente o desenvolvimento da sensibilização locomotora à cocaína em nossas condições experimentais.

Durante o desafio salina, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos somente do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,56) = 13.51$ ;  $p < 0.005$ ]. Assim, os animais pré-tratados com cocaína apresentaram um aumento na locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina. Esse resultado indica que a locomoção condicionada se desenvolveu nos animais pré-tratados com cocaína mesmo após 14 dias da última exposição ao campo aberto e que o tratamento repetido com aripiprazol na gaiola moradia não modificou tal resposta.

Finalmente, na fase de desafio com cocaína, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos somente do fator tratamento 1 (cocaína x salina) [ $F(1,56) = 16.26$ ,  $P < 0.001$ ]. Assim, os animais pré-tratados com cocaína apresentaram um aumento na locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina em resposta ao desafio com cocaína. Esse resultado indica que houve expressão da sensibilização comportamental à cocaína após abstinência dessa droga, que entretanto não foi modificada pelo tratamento repetido prévio com aripiprazol na gaiola moradia. Além disso, verificamos que o tratamento repetido com aripiprazol na gaiola moradia não produziu supersensibilidade dopaminérgica central e não reduziu o efeito estimulante locomotor agudo da cocaína (como observado no experimento 5 quando as injeções de aripiprazol foram pareadas ao campo aberto), uma vez que o grupo Sal-Arp apresentou locomoção semelhante ao grupo Sal-Vei.



**Figura 6.** Experimento 6: Durante a fase de tratamento com cocaína camundongos fêmeas receberam salina ou 10 mg/kg de cocaína durante 11 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 11º dias. Durante a fase de tratamento com aripiprazol, esses mesmos animais receberam veículo ou 0.1 mg/kg de aripiprazol durante 7 dias alternados e retornaram às gaiolas moradia. Durante as fases de desafio salina e desafio cocaína, todos os animais receberam injeções de salina ou de 10 mg/kg de cocaína, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada em campo aberto por 10 min. Os valores referem-se à média  $\pm$  erro padrão.

★  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com cocaína.

#  $P < 0.05$  em relação ao mesmo grupo no 1º dia da fase de tratamento com cocaína.

Experimento 7 - *Efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização induzida por um tratamento prévio, também pareado ao ambiente de observação, com etanol.*

Quarenta camundongos fêmeas foram habituados no campo aberto por 10 minutos durante 3 dias consecutivos, sendo sua locomoção quantificada no 3º dia. De acordo com as frequências de locomoção obtidas nesse 3º dia de habituação, os camundongos foram distribuídos em 4 grupos com 10 animais cada, apresentando valores basais semelhantes: Sal-Vei, Sal-Arp, Et-Vei e Et-Arp. Para induzir a sensibilização por etanol, os animais receberam injeções intraperitoneais (i.p.) de salina (Sal-) ou de 1.8 g/kg de etanol (Et-) em dias alternados por 15 dias (dias 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 e 15) e, 5 minutos após cada injeção, os animais foram individualmente colocados no campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 15º dias dessa fase, denominada fase de tratamento com etanol. Para os experimentos 7 e 8, o protocolo de tratamento para indução de sensibilização ao etanol foi mantido em 15 dias intermitentes, uma vez que esse fenômeno não foi detectado em nenhum período anterior a este.

Quarenta e oito horas após a última injeção da fase de tratamento com etanol iniciou-se a fase de tratamento com aripiprazol. Durante esta fase, os camundongos receberam injeções i.p. de veículo de aripiprazol (-Vei-) ou de 0.1 mg/kg de aripiprazol (-Arp-) em dias alternados durante 7 dias (dias 1, 3, 5 e 7) e, 30 minutos após cada injeção, eles foram individualmente expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 7º dias da fase de tratamento com aripiprazol. Sete dias após a última injeção, os animais foram desafiados com etanol para testar a reinstalação da sensibilização

comportamental. Assim, todos os animais receberam uma injeção i.p. de 1.8 g/kg de etanol (-Et) e foram individualmente colocados no campo aberto, onde a frequência de locomoção foi quantificada por 10 minutos. Nos experimentos 7 e 8 o desafio salina não foi realizado, uma vez que não houve qualquer indício de desenvolvimento de locomoção condicionada ao etanol tanto na situação experimental do experimento 3 como naquela do experimento 4.

Os detalhes do protocolo do Experimento 7 estão descritos na Tabela 7:

<b>Linha do tempo</b>	<b>1° ao 3° Dia</b>	<b>4° ao 18° Dia</b>	<b>20° ao 26° Dia</b>	<b>33° Dia</b>
<b>Grupos N=10</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1° e o 15° dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1° e o 7° dias de tratamento</b>	
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias</b> <b>3° Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – CA	Et – QCA
Sal-Arp		Sal – CA	Arp – CA	Et – QCA
Et-Vei		Et – CA	Vei – CA	Et – QCA
Et-Arp		Et – CA	Arp – CA	Et – QCA
		<b>Tratamento com Etanol</b>	<b>Tratamento com Aripiprazol</b>	<b>Desafio Etanol</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Coc = injeção i.p. de 10 mg/kg de cocaína; Vei = injeção i.p. de veículo de aripiprazol; Arp = injeção i.p. de 0.1 mg/kg de aripiprazol; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou cocaína e 30 min após a injeção de veículo ou aripiprazol).

## **RESULTADOS:**

O experimento 7 foi desenvolvido para simultaneamente investigar se o tratamento com aripiprazol durante a fase de abstinência de etanol e em um ambiente previamente pareado com etanol poderia impedir a reinstalação da sensibilização comportamental ao etanol.

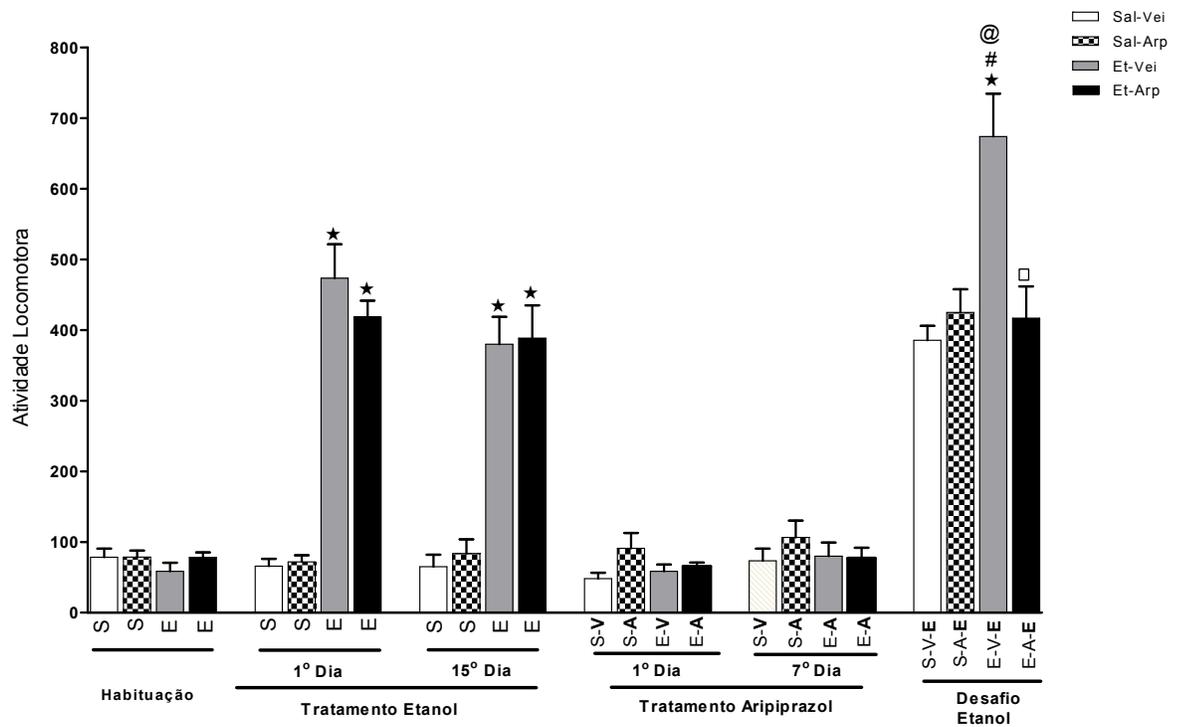
Os dados da frequência de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 7. Os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação).

Durante a fase de tratamento com etanol, a ANOVA com medidas repetidas revelou somente efeito significativo do fator tratamento (etanol x salina) [ $F(1,38) = 248.49$ ;  $P < 0.001$ ]. A primeira injeção de etanol (1º dia da fase de tratamento com etanol) induziu um aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com etanol > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ), demonstrando novamente o efeito estimulante locomotor da dose de etanol utilizada no presente estudo. Entretanto, após 8 injeções de etanol (15º dia da fase de tratamento com etanol), o teste *t* para amostras pareadas não revelou diferenças significativas na locomoção dos grupos tratados com etanol no 15º dia em relação ao 1º dia de tratamento, indicando ausência de desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol.

No que se refere à fase de tratamento com aripiprazol, a ANOVA com medidas repetidas não revelou efeitos significativos quer do fator tratamento 1 (etanol ou salina), quer do fator tratamento 2 (aripiprazol ou veículo). Dessa forma, uma vez que não houve quaisquer diferenças entre os grupos no dia 1 ou no dia 7 do tratamento com aripiprazol, concluímos que o tratamento prévio com etanol não produziu locomoção condicionada (reproduzindo os achados do experimento

3) e que a administração de aripiprazol não modificou a locomoção dos animais (reproduzindo os achados do experimento 5) .

Na fase de desafio etanol, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos do fator tratamento 1 (etanol x salina) [ $F(1,36) = 10.95, P < 0.005$ ] e do fator tratamento 2 (aripiprazol x veículo de aripiprazol) [ $F(1,36) = 6.62, P < 0.05$ ], bem como uma interação significativa entre esses dois fatores [ $F(1,36) = 12.23, P < 0.005$ ]. O teste de Duncan mostrou que o grupo Et-Vei apresentou um aumento na locomoção em relação a todos os demais grupos. Além disso, não houve diferenças significativas entre os grupos Sal-Vei, Sal-Arp e Et-Arp. Esses resultados indicam que houve a expressão da sensibilização comportamental ao etanol no 16º dia após abstinência da droga e que o pré-tratamento com aripiprazol pareado ao campo aberto impediu a expressão da sensibilização comportamental a essa droga, mas não modificou o efeito estimulante locomotor agudo do etanol (ao contrário do observado para a cocaína no experimento 5). Corroborando tais resultados, o teste *t* para amostras pareadas revelou que o grupo Et-Vei, mas não o grupo Et-Arp, apresentou um aumento na locomoção no desafio etanol em relação ao 15º dia de tratamento com etanol [teste *t* pareado desafio etanol x 15º dia do tratamento com etanol: grupo Et-Vei:  $t(9) = 4.31, P < 0.005$  e grupo Et-Arp:  $t(9) = 0.46, P = 0.65$ ].



**Figura 7.** Experimento 7: Durante a fase de tratamento com etanol, camundongos fêmeas receberam salina ou 1.8 g/kg de etanol em dias alternados durante 15 dias e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 15º dias. Durante a fase de tratamento com aripiprazol, esses mesmos animais receberam veículo ou 0.1 mg/kg de aripiprazol em dias alternados durante 7 dias e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 7º dias. Durante as fases de desafio salina e de desafio etanol, todos os animais receberam uma injeção de salina ou de 1.8 g/kg de etanol, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada por 10 min. Dados demonstram a média  $\pm$  erro padrão.

★  $P < 0.05$  em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com etanol.

#  $P < 0.05$  em relação ao mesmo grupo no 15º dia da fase de tratamento com etanol.

@  $P < 0.05$  em relação ao grupo tratado com salina na fase de tratamento com etanol e tratado com aripiprazol na fase de tratamento com aripiprazol (S-A).

□  $P < 0.05$  em relação ao grupo tratado com etanol na fase de tratamento com etanol e tratado com veículo na fase de tratamento com aripiprazol (E-V).

Experimento 8 – *Efeitos de um tratamento subsequente com aripiprazol, com injeções não pareadas ao ambiente de observação, sobre a sensibilização locomotora induzida por um tratamento prévio, pareado ao ambiente de observação, com etanol*

Quarenta camundongos fêmeas (n=10 por grupo) foram submetidos ao mesmo delineamento experimental descrito para o experimento 7 foi utilizado, com exceção de que as injeções de aripiprazol ou veículo não foram pareadas ao campo aberto (os animais retornaram às suas gaiolas moradia após cada injeção do tratamento).

Os detalhes do protocolo do Experimento 8 são descritos na Tabela 8:

<b>Linha do tempo</b>	<b>1º ao 3º dia</b>	<b>4º. ao 18º dia</b>	<b>20º ao 26º dia</b>	<b>33º Dia</b>
<b>Grupos N=10</b>		<b>Administrações alternadas entre o 1º. e o 15º dias de tratamento</b>	<b>Administrações alternadas entre o 1º. e o 7º dias de tratamento</b>	
Sal-Vei	<b>Habituação no CA por 3 dias 3º Dia: QCA</b>	Sal – CA	Vei – GM	Et – QCA
Sal-Arp		Sal – CA	Arp – GM	Et – QCA
Et-Vei		Et – CA	Vei – GM	Et – QCA
Et-Arp		Et – CA	Arp – GM	Et – QCA
		<b>1º e 15º dias: QCA</b>	<b>Gaiola Moradia</b>	
		<b>Tratamento com Etanol</b>	<b>Tratamento com Aripiprazol</b>	<b>Desafio Etanol</b>

Sal = injeção i.p. de salina; Et = injeção i.p. de 1.8 g/kg de etanol; Vei = injeção i.p. de veículo de aripiprazol; Arp = injeção i.p. de 0.1 mg/kg de aripiprazol; CA = exposição ao campo aberto por 10 minutos; GM = retorno à gaiola moradia; QCA = quantificação da atividade locomotora por 10 minutos em campo aberto (5 min após a injeção de salina ou etanol).

## **RESULTADOS:**

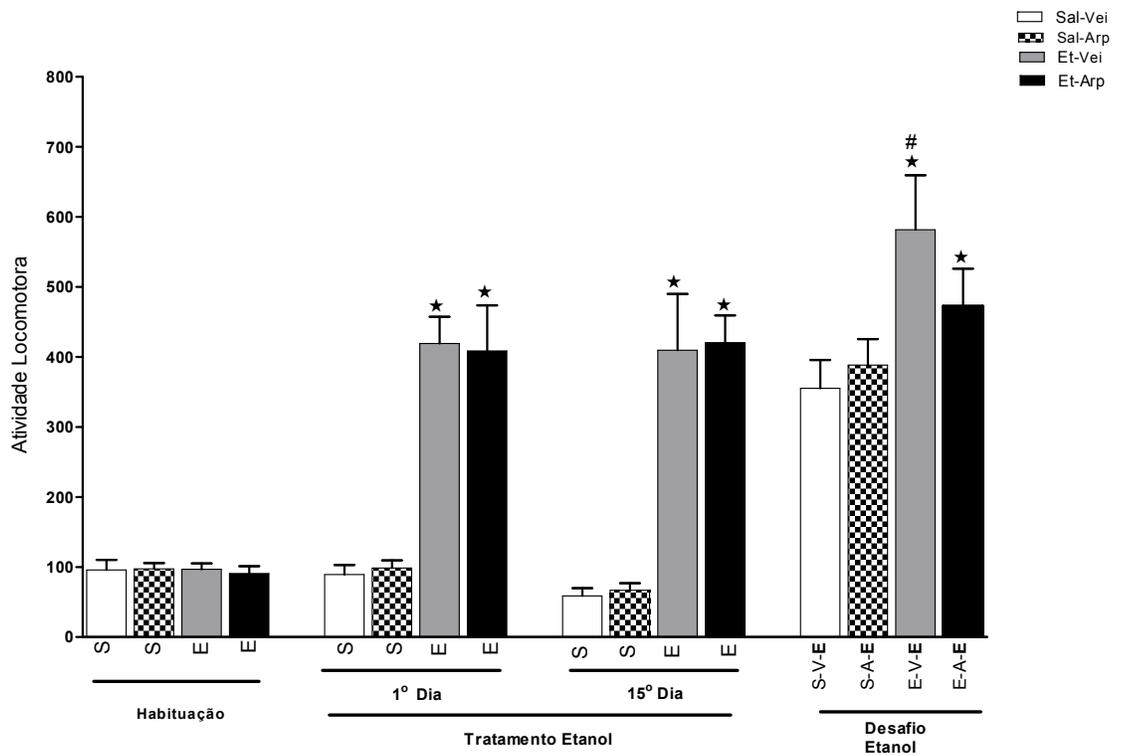
No experimento 8 procuramos investigar se o tratamento repetido com aripiprazol em local diferente (gaiola moradia) daquele em que o tratamento repetido com etanol foi realizado (campo aberto) poderia reduzir a expressão da sensibilização comportamental ao etanol (desafio etanol).

Os dados das frequências de locomoção nos diferentes dias de observação estão representados na Figura 8. Todos os animais apresentaram habituação ao campo aberto com níveis basais de atividade locomotora semelhantes (ver fase de habituação)

Durante a fase de tratamento com etanol, a ANOVA com medidas repetidas revelou somente efeitos significativos do fator tratamento (etanol x salina) [ $F(1,38) = 113.06, P < 0.001$ ]. A primeira injeção de etanol (1º dia da fase de tratamento com etanol) induziu um aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos (grupos tratados com etanol > grupos tratados com salina – teste *post hoc* de Duncan,  $P < 0.001$ ), demonstrando, mais uma vez, o efeito estimulante locomotor da dose de etanol utilizada no presente estudo. Após 8 injeções de etanol (15º dia da fase de tratamento com etanol), o teste *t* para amostras pareadas não revelou diferenças significativas na locomoção dos grupos tratados com etanol no 15º dia em relação ao 1º dia de tratamento, indicando novamente ausência de desenvolvimento de sensibilização comportamental ao etanol em nossas condições experimentais.

Finalmente, na fase de desafio com etanol, a ANOVA de 2 vias revelou efeitos significativos somente do fator tratamento 1 (etanol x salina) [ $F(1,36) = 8.06, P < 0.01$ ]. Assim, os animais pré-tratados com etanol apresentaram um aumento na

locomoção quando comparados aos animais pré-tratados com salina em resposta ao desafio com etanol. Esse resultado indica que houve expressão da sensibilização comportamental ao etanol após abstinência dessa droga. Além disso, verificamos que o tratamento repetido com aripiprazol não produziu supersensibilidade dopaminérgica central e não modificou o efeito estimulante locomotor agudo do etanol (como no experimento anterior e como no experimento 6 para a cocaína) quando administrado na gaiola moradia, uma vez que o grupo Sal-Arp apresentou locomoção semelhante ao grupo Sal-Vei. A expressão da sensibilização locomotora ao etanol parece não ter sido modificada pelo tratamento prévio com aripiprazol na gaiola moradia (ausência de interação entre tratamento 1 e tratamento 2 ou efeito do tratamento 2), embora haja uma tendência de atenuação desse fenômeno no grupo Et-Arp. O teste  $t$  para amostras pareadas revelou que o grupo Et-Vei, mas não o grupo Et-Arp-Et, apresentou um aumento na locomoção no desafio etanol em relação ao 15º dia de tratamento com etanol [teste  $t$  pareado desafio etanol x 15º dia do tratamento com etanol: grupo Et-Vei-Et:  $t(9) = 2.99$ ,  $P < 0.05$  e grupo Et-Arp-Et:  $t(9) = 0.71$ ,  $P = 0.49$ ].



**Figura 8.** Experimento 8: Durante a fase de tratamento com etanol camundongos fêmeas receberam salina ou 1.8 g/kg de etanol durante 15 dias alternados e foram expostos ao campo aberto por 10 minutos. A atividade locomotora foi quantificada no 1º e no 15º dias. Durante a fase de tratamento com aripiprazol, esses mesmos animais receberam veículo ou 0.1 mg/kg de aripiprazol durante 7 dias alternados e retornaram às gaiolas moradia. Durante as fases de desafio salina e desafio etanol, todos os animais receberam injeções de salina ou de 1.8 g/kg de etanol, respectivamente, e a atividade locomotora foi quantificada em campo aberto por 10 min. Dados demonstram a média ± erro padrão.

★ P<0.05 em relação aos grupos tratados com salina durante a fase de tratamento com etanol.

# P<0.05 em relação ao mesmo grupo no 15º dia da fase de tratamento com etanol.

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Sensibilização comportamental à cocaína e ao etanol

Com relação à cocaína, em todos os experimentos (1, 2, 5 e 6), a administração aguda dessa droga de abuso promoveu efeito estimulante locomotor (grupos Coc > grupos Sal no 1º dia da fase de tratamento com cocaína) e sua administração repetida promoveu o desenvolvimento de sensibilização comportamental após 8 (experimentos 1 e 2) ou até mesmo 6 (experimentos 5 e 6) pareamentos droga-ambiente (grupos Coc no 15º ou no 11º dia > grupos Coc no 1º dia). Enquanto o efeito estimulante locomotor agudo da cocaína parece ocorrer devido à capacidade de essa droga aumentar as concentrações de dopamina na via mesolímbica (Di Chiara & Imperato, 1988), a sensibilização que se desenvolve com o tratamento repetido parece ser decorrente de alterações neuronais como uma subsensibilidade de auto-receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> na VTA e uma supersensibilidade funcional de receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> no núcleo accumbens (Henry et al., 1998). É provável que essa supersensibilidade funcional dos receptores D<sub>1</sub> sugerida por Henry e colaboradores (1998), se deva, em parte, a mudanças na sinalização intracelular que ocorrem a partir desses receptores após o uso repetido de cocaína. Nesse contexto, Nestler (2008), sugere que a administração crônica de cocaína e outras drogas de abuso medeiam a indução de fatores de transcrição gênica, (i.e.,  $\Delta$ FosB) no núcleo accumbens, no estriado dorsal e na VTA. Além disso, Konradi *et al.* (1996) demonstraram que a ativação de receptores D<sub>1</sub> e subsequentemente da via dependente de AMPc é o mecanismo responsável pelo aumento da expressão da  $\Delta$ FosB nessas regiões e esse acúmulo de  $\Delta$ FosB no núcleo accumbens e no estriado dorsal contribui para a plasticidade

neuronal que ocorre durante o consumo crônico de drogas de abuso. Tais alterações moleculares levam a alterações neuroplásticas que persistem por pelo menos um mês após a última exposição à droga. Essas alterações persistentes, por sua vez, poderiam contribuir para que a sensibilização comportamental seja expressa em camundongos mesmo após um longo período de abstinência da droga (veja desafio cocaína nos experimentos 1, 2, 5 e 6), uma situação semelhante às recaídas frequentes observadas em dependentes químicos. De importância, as alterações neuronais sugeridas parecem ser facilitadas quando os animais são expostos ao ambiente de observação sob efeito da droga, uma vez que dados de nosso laboratório indicam que quando o tratamento com cocaína não é pareado ao ambiente de observação, a sensibilização comportamental não se desenvolve (Oliveira-Lima, 2006).

Ainda analisando os experimentos 1, 2, 5 e 6 com relação aos resultados obtidos com o tratamento repetido com cocaína, verificamos que 8 ou até mesmo 6 injeções de cocaína pareadas ao campo aberto foram efetivas em produzir locomoção condicionada em resposta a uma injeção de veículo 48h (1º dia da fase de tratamento com ziprasidona ou aripiprazol) ou a uma injeção de salina 13 dias (desafio salina) após o término do tratamento com cocaína. Assim, o grupo Coc-Vei apresentou locomoção aumentada em relação ao grupo Sal-Vei tanto no 1º dia da fase de tratamento com ziprasidona ou aripiprazol (experimentos 1 e 5) como durante a fase de desafio salina (experimentos 1, 2, 5 e 6). Conforme discutido anteriormente, essa locomoção condicionada se desenvolveu devido a uma associação realizada entre o EI (efeitos farmacológicos da cocaína) e ECs (campo aberto, procedimento de injeção, sala de experimentação, experimentador, entre outros), de forma que após repetidos pareamentos entre esses estímulos, apenas

a exposição aos ECs já foi suficiente para desencadear uma resposta (i.e., locomoção condicionada). Preconiza-se que os ECs atuem como sinalizadores para a expectativa do uso da droga, o que resulta na liberação de dopamina no núcleo accumbens (Shultz, 2004). Varias evidências sugerem que o núcleo accumbens deve regular a expressão da resposta condicionada para estímulos associados a psicoestimulantes. Nesse sentido, lesões no núcleo accumbens podem interferir com a hiperatividade condicionada produzida pelo pareamento repetido de um ambiente específico com anfetamina (Gold *et al.*, 1988). Além disso, estímulos associados à administração de cocaína ou anfetamina aumentam a liberação de dopamina (Fontana *et al.*, 1993; Gratoon & Wise, 1994; Di Ciano *et al.*, 1998 a,b) e a expressão de proteína c-Fos (Franklin & Druham, 2000; Neisewader *et al.*, 2000) no núcleo accumbens. De importância, tal comportamento nos animais, segundo alguns autores, equivale àqueles que ocorrem em humanos quando estes são expostos a pistas que lembram o uso de drogas e que são responsáveis por desencadear a recaída nesses indivíduos (Vezina & Leyton, 2009).

Embora a locomoção condicionada à cocaína tenha sido atenuada no experimento 1 (mas não no experimento 5) após repetidas exposições ao campo aberto sob efeito de veículo, ela não foi completamente extinta. Dessa forma, o grupo Coc-Vei apresentou uma redução na locomoção no 7º dia da fase de tratamento com ziprasidona em relação ao 1º dia desta fase; contudo, sua locomoção ainda apresentou-se elevada em relação ao grupo Sal-Vei tanto no 7º dia da fase de tratamento com ziprasidona como durante a fase de desafio salina (experimentos 1 e 5). Não obstante, a administração de cocaína foi capaz de reinstalar a sensibilização locomotora após abstinência dessa droga em todas as

situações experimentais (grupo Coc-Vei > grupo Sal-Vei no desafio cocaína dos experimentos 1, 2, 5 e 6).

Com relação ao etanol, em todos os experimentos (3, 4, 7 e 8), a administração aguda dessa droga promoveu efeito estimulante locomotor (grupos Et > grupos Sal no 1º dia da fase de tratamento com etanol). Contudo, a administração repetida de etanol pareada ao campo aberto por 15 dias intermitentes não promoveu o desenvolvimento de sensibilização comportamental (grupos Et no 15º = grupos Et no 1º dia da fase de tratamento com etanol). A expressão da sensibilização comportamental só pôde ser verificada quando uma injeção desafio de etanol foi administrada aos animais 15 dias após a última injeção de etanol na fase de tratamento com etanol (grupo Et-Vei > grupo Sal-Vei no desafio etanol e grupo Et-Vei no desafio etanol > 15º dia do tratamento com etanol).

O etanol interage com vários sistemas de neurotransmissão (dopaminérgico, GABAérgico, glutamatérgico, opióide e cannabinoide) (Broadbent *et al.*, 2003; Vengeliene *et al.*, 2008). No entanto, a estimulação locomotora aguda promovida por essa droga em roedores parece estar envolvida com a ativação da via dopaminérgica mesolímbica, que pode ocorrer de forma direta ou indireta pela modulação dos outros sistemas de neurotransmissão (Ron, Jurd, 2005; Stahl, 2008). Assim, o etanol parece promover um aumento direto nos disparos de neurônios dopaminérgicos ao modificar correntes de K<sup>+</sup> sensíveis à quinidina (Appel *et al.*, 2003). Indiretamente, o etanol pode estimular os disparos de neurônios dopaminérgicos da VTA via liberação de  $\beta$ -endorfinas, modulação de receptores glutamatérgicos NMDA, de receptores 5HT<sub>3</sub> ou ainda de receptores colinérgicos nicotínicos (Vengeliene *et al.*, 2008).

Mais especificamente, em altas doses o etanol possui atividade estimulatória em receptores GABA<sub>A</sub> e inibitória em receptores NMDA (Matto *et al.*, 2005). Tais efeitos classificam o etanol como droga depressora do Sistema Nervoso Central. No entanto, quando administrado em uma faixa de dose entre 0,5 e 2,0 mg/kg o etanol apresenta efeitos ansiolíticos e estimulantes em roedores (Morikawa & Morrisett, 2010). Tais efeitos também poderiam ocorrer devido à capacidade de o etanol, nestas doses, inibir a atividade GABAérgica sobre os neurônios dopaminérgicos presentes na VTA, o que levaria ao aumento das taxas de disparos desses neurônios (Morikawa & Morrisett, 2010). Morikawa e Morrisett (2010) sugeriram ainda que o etanol estimularia receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub> presentes em neurônios glutamatérgicos, levando a uma maior liberação de glutamato, que por sua vez estimularia receptores dopaminérgicos na VTA. Além disso, Xiao *et al.* (2007) reportaram que os efeitos agudos estimulantes do etanol ocorreriam também por uma ação inibitória em receptores *mu*-opióides presentes em interneurônios GABAérgicos que se projetam para a VTA, levando à desinibição da liberação de dopamina no núcleo accumbens.

Diversos mecanismos podem estar envolvidos com a ausência de sensibilização comportamental observada durante a fase de tratamento com etanol. Por exemplo, poder-se-ia especular a possibilidade do desenvolvimento de um “efeito-teto”, ou seja, a estimulação locomotora produzida pela administração aguda de etanol pode ter sido máxima, impossibilitando uma estimulação ainda maior pelo tratamento repetido com essa droga. Contudo, este não parece ter sido o caso nos presentes experimentos, uma vez que o grupo Et-Vei apresentou um aumento na locomoção durante o desafio com etanol em relação ao 15º dia de tratamento com etanol (que não diferiu da locomoção apresentada no 1º dia) em

todos os experimentos (3, 4, 7 e 8). Déficits cognitivos promovidos pelo tratamento crônico com etanol também poderiam estar envolvidos com a ausência de sensibilização durante a fase de tratamento com etanol. Nesse contexto, estudos da literatura demonstram que a hiperatividade pode prejudicar a aquisição de tarefas (Brosnan-Watters, 1999); e que o uso crônico de etanol pode prejudicar a plasticidade neuronal responsável pela consolidação de memórias (Lattal, 2007). Entretanto, essa possibilidade também parece improvável, uma vez que os animais expressaram sensibilização comportamental durante o desafio com etanol.

Dessa forma, o período de abstinência existente entre a última injeção do tratamento com etanol e o desafio com essa droga (15 dias) parece ter sido de extrema importância para a expressão da sensibilização comportamental. Nesse sentido, estudos têm demonstrado que a expressão de comportamentos relacionados à dependência de etanol pode ocorrer mesmo após longos períodos de abstinência da droga (Manley & Little, 1997; Lessov & Phillips, 1998; Fish et al., 2002; Boehm et al., 2008). Segundo Lessov & Phillips (1998), a administração repetida de etanol associada ao ambiente de observação poderia promover modificações nas vias neurais que medeiam a atividade locomotora de roedores de forma que essas vias se tornariam mais sensíveis e mais responsivas ao desafio com uma injeção de etanol. De importância, uma íntima relação entre essas modificações neurais promovidas pelo uso repetido de drogas e as recaídas que ocorrem após longos períodos de abstinência em humanos tem sido proposta (Sato et al., 1983; Sato, 1992; Robinson, 1993). Vários sistemas de neurotransmissão têm sido implicados na indução e na expressão da sensibilização locomotora induzida por etanol (Phillips & Shen, 1996), podendo ser o foco de neuroadaptações moleculares. Tem sido demonstrado, por exemplo, um

aumento no “binding” de receptores D<sub>2</sub> estriatais em camundongos sensibilizados para o etanol (Souza-Formigoni et al., 1999). Além disso, a exposição crônica ao etanol resulta em um aumento na sensibilidade de neurônios dopaminérgicos da VTA ao etanol (Brodie, 2002). Como postulado por Henry et al. (1998) para a sensibilização comportamental à cocaína, evidências indicam que esse fenômeno resulta de uma cascata de neuroadaptações dependentes de tempo, que se iniciam com um aumento na atividade dopaminérgica de neurônios da VTA e são mantidas por alterações subsequentes no núcleo accumbens. Nesse mesmo raciocínio, é possível que as neuroadaptações geradas pelo tratamento crônico com etanol e responsáveis pela indução e expressão da sensibilização comportamental também sejam distintas entre si e ocorram de forma dependente de tempo, tornando assim o período de abstinência de etanol crítico para que tais modificações ocorram e a sensibilização a essa droga possa ser expressa.

Apesar de a administração de etanol ter promovido efeito estimulante locomotor em campo aberto, não houve desenvolvimento de uma locomoção condicionada quando os animais tratados com etanol foram novamente expostos no campo aberto sob efeito de veículo (experimento 3, grupo Et-Vei = grupo Sal-Vei na fase de tratamento com ziprasidona) ou sob efeito de salina (experimentos 3 e 4, grupo Et-Vei = grupo Sal-Vei no desafio salina). Uma vez que a locomoção condicionada ao etanol não se desenvolveu na situação experimental do experimento 3 nem naquela do experimento 4, o desafio salina não foi realizado nos experimentos 7 e 8 desta tese.

Conforme comentado anteriormente, o desenvolvimento da locomoção condicionada depende criticamente de uma associação Pavloviana entre EI (droga) e ECs (ambiente, experimentador, injeção, etc) e da integridade dos circuitos

envolvidos com a formação de memórias associativas, como a amígdala, o hipocampo e o córtex pré-frontal (Hildebrandt *et al.*, 2006; Montgomery *et al.*, 2011). Nesse aspecto, dados da literatura indicam que tanto a administração aguda como o tratamento crônico com etanol são capazes de promover efeitos amnésicos e déficits de aprendizado em camundongos na tarefa de esQUIVA passiva (Ryabinin, 1998; Napiorkowska-Pawlak *et al.*, 2000) e na tarefa de esQUIVA passiva em labirinto em cruz elevado (Kameda *et al.*, 2007). Dessa forma, é possível que a administração de etanol antes da exposição ao campo aberto tenha produzido uma amnésia anterógrada nesses animais, ou seja, uma amnésia dos fatos que sucederam sua administração (como a exposição ao campo aberto).

Podemos concluir também a partir desses resultados, que a expressão da sensibilização comportamental ao etanol durante o desafio etanol ocorreu independentemente do desenvolvimento de uma resposta condicionada. De forma semelhante, Carey & Gui (1998) verificaram anteriormente que a resposta condicionada a pistas contextuais exteroceptivas não contribuiu diretamente para a sensibilização comportamental induzida por cocaína em ratos, uma vez que esse fenômeno foi demonstrado mesmo após a extinção da resposta condicionada. Contudo, a sensibilização à cocaína se mostrou contexto-dependente, uma vez que somente se desenvolveu na presença de pareamento ambiental, sugerindo que outros processos associativos possam estar envolvidos nesse fenômeno. Esses autores sugeriram, então, a existência de uma inter-relação entre os efeitos farmacológicos de uma droga, as pistas exteroceptivas (relacionadas ao contexto no qual os efeitos da droga são experienciados) e as pistas interoceptivas (relacionadas a alterações fisiológicas promovidas pela administração da droga). Dessa forma, durante o processo de condicionamento, o tratamento de um animal

com uma droga no ambiente de experimentação levaria ao desenvolvimento de uma associação não somente entre as pistas ambientais e o efeito psicoestimulante da droga, mas também entre as pistas interoceptivas eliciadas pela droga, as pistas ambientais e os efeitos psicoestimulantes da droga. Extrapolando essas considerações para o presente estudo, a expressão da sensibilização comportamental não somente ao etanol (durante o desafio etanol) como também à cocaína deve ter ocorrido devido à existência de todas essas associações.

## **5.2. Efeitos do tratamento repetido com ziprasidona sobre a sensibilização comportamental à cocaína e ao etanol**

Com relação aos experimentos 1 e 2, que avaliaram os efeitos do tratamento repetido com ziprasidona (pareado ou não ao campo aberto) sobre a sensibilização comportamental à cocaína, verificamos inicialmente que a administração de 5 mg/kg de ziprasidona promoveu uma diminuição na locomoção nos camundongos (grupos Sal-Zip e Coc-Zip < Sal-Vei e Coc-Vei na fase de tratamento com ziprasidona do experimento 1), demonstrando assim, o efeito hipolocomotor da dose de ziprasidona utilizada no presente experimento. Esse efeito depressor da dose de ziprasidona utilizada já era esperado, por se tratar de uma dose utilizada anteriormente em nosso laboratório capaz de produzir hipolocomoção semelhante à dose de 0,5 mg/kg do neuroléptico típico haloperidol, que por sua vez foi eficaz em impedir o efeito hiperlocomotor de uma injeção de cocaína em camundongos (Oliveira, 2006).

Além disso, ao analisarmos o desafio salina dos experimentos 1 e 2 verificamos que a administração repetida de 5 mg/kg de ziprasidona pareada ao

campo aberto (mas não na gaiola moradia) promoveu o desenvolvimento de uma hipolocomoção condicionada, isto é, os grupos Sal-Zip e Coc-Zip apresentaram locomoção diminuída em resposta ao desafio com salina em relação aos grupos Sal-Vei e Coc-Vei (efeito do tratamento 2 no experimento 1). Corroborando esse achado, dados obtidos previamente em nosso laboratório demonstram que os efeitos depressores motores promovidos por neurolépticos estão sujeitos ao processo de condicionamento ambiental (Chinen & Frussa-Filho, 1999; Chinen, 2004).

Em conjunto, os resultados dos experimentos 1 e 2 mostraram que a sensibilização comportamental à cocaína foi atenuada pelo tratamento repetido com ziprasidona realizado durante o período de abstinência (Coc-Zip < Coc-Vei mas Coc-Zip > Sal-Vei e Sal-Zip no desafio cocaína do experimento 1) e que tal efeito parece ser decorrente de uma atenuação da locomoção condicionada pelo tratamento com o antipsicótico no mesmo ambiente previamente associado à cocaína. Em outras palavras, a sensibilização comportamental à cocaína foi atenuada quando o tratamento com ziprasidona foi realizado no campo aberto (onde os efeitos da cocaína haviam sido experienciados – experimento 1), mas não quando este foi realizado na gaiola moradia (Coc-Zip= Coc-Vei no desafio cocaína do experimento 2). Em acordo com essas observações, verificamos que o tratamento com ziprasidona atenuou a locomoção condicionada à cocaína no experimento 1 (Coc-Zip < Coc-Vei durante a fase de tratamento com ziprasidona e durante o desafio salina). De importância, a atenuação da sensibilização comportamental à cocaína ocorreu na ausência de supersensibilidade dopaminérgica central, uma vez que o grupo Sal-Zip apresentou locomoção

semelhante ao grupo Sal-Vei durante o desafio com cocaína tanto no experimento 1 como no experimento 2.

Os resultados apresentados pelo grupo Coc-Zip-Coc sugerem que o tratamento com ziprasidona durante a abstinência de cocaína atenuou a expressão da sensibilização locomotora a esse psicoestimulante por um favorecimento do processo de extinção. Conforme revisado por Conklin & Tiffany (2002), a eficácia da extinção pode ser determinada pela probabilidade da exposição a uma pista ambiental associada à droga, mas extinta durante a abstinência, em evocar o comportamento aprendido durante a extinção ao invés daquele aprendido durante o condicionamento ambiental original (isto é, com o uso da droga). Algumas medidas que poderiam ser utilizadas a fim de aumentar a eficácia da extinção incluem extinguir a resposta condicionada no mesmo contexto ambiental em que o pareamento EC-EI ocorreu (Kasvikis, 1991; Dawe et al., 1993; Bouton, 1994) e condicionar durante a extinção algo que lembre o processo de extinção (Bouton & Brooks, 1993; Chelonis et al., 1999; Bouton, 2000). Acreditamos, portanto, que ao realizarmos a extinção do comportamento relacionado à dependência de cocaína no mesmo ambiente (campo aberto) em que o pareamento cocaína-estímulos condicionados ocorreu, associada aos efeitos da ziprasidona (“lembrete” da extinção), adotamos essas duas medidas de aumento da eficácia da extinção, facilitando esse processo. Especificamente no que concerne à ziprasidona, seus efeitos comportamentais e neuroquímicos, que são opostos àqueles promovidos pela cocaína, devem ter contribuído para a atuação desse fármaco como “lembrete” da extinção. Essa hipótese é favorecida ao observarmos o grupo Coc-Vei do experimento 1, que foi submetido apenas ao processo de extinção, na ausência de ziprasidona (“lembrete”). Verificamos no desafio com cocaína que

esse grupo apresentou completa reinstalação da sensibilização comportamental à cocaína, confirmando a ineficácia da exposição repetida na ausência da droga de abuso a pistas ambientais previamente associadas ao uso dessa droga como tratamento da dependência química. No caso do experimento 2, no qual as injeções de ziprasidona foram administradas na gaiola moradia e o processo de extinção não foi realizado, a nova associação entre o ambiente previamente pareado com a cocaína e os efeitos deprimidos da ziprasidona não ocorreu. Assim, ficou evidente que apenas o tratamento farmacológico com ziprasidona não foi eficaz em impedir a expressão da sensibilização comportamental à cocaína.

Dados da literatura sugerem que a modulação de receptores dopaminérgicos  $D_2$  parece estar envolvida na expressão de respostas condicionadas (De Vries et al., 2002). Além disso, esses autores também mostraram que a ativação de receptores dopaminérgicos  $D_2$  pelo agonista quimpirole teria uma participação fundamental no restabelecimento da auto-administração de cocaína em ratos. Ao levarmos em consideração que a ziprasidona é antagonista desses receptores, podemos hipotetizar que tal atividade pode ter contribuído para a atenuação da resposta condicionada e da reinstalação da sensibilização comportamental à cocaína nos camundongos do grupo Coc-Zip-Coc na presente tese.

Paralelamente, além de atuar como antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_2$ , a ziprasidona também atua como antagonista de receptores serotoninérgicos  $5HT_{2A}$ ,  $5HT_{2C}$  e  $5HT_{1B}$ , e como agonista de receptores serotoninérgicos inibitórios  $5HT_{1A}$ . (Seeger et al., 1995). Nesse contexto, estudos têm sugerido que esses receptores serotoninérgicos parecem modular a liberação de dopamina no núcleo accumbens (Valenzuela & Harris, 1997). Além disso, tem sido

descrito que neurônios serotoninérgicos do núcleo anterior da Rafe se projetam e fazem contatos sinápticos com neurônios dopaminérgicos da VTA (Herve *et al.*, 1987).

É importante ressaltar que o tratamento repetido com ziprasidona não promoveu o desenvolvimento de supersensibilidade dopaminérgica central quando realizado em campo aberto nem quando realizado na gaiola moradia. Esse resultado confirma dados prévios de nosso laboratório que demonstraram que tratamentos ainda mais prolongados com ziprasidona não promoveram supersensibilidade dopaminérgica mesolímbica em camundongos (Fukushiro *et al.*, 2007, 2008) e eleva o potencial terapêutico da ziprasidona no tratamento da dependência de cocaína.

Os mecanismos pelos quais a supersensibilidade dopaminérgica não ocorre com a exposição crônica ao neuroléptico atípico clozapina e a neurolépticos de segunda geração com semelhanças farmacológicas a ela como a ziprasidona, (Rupniak *et. al.*, 1984, 1985; Wilmot & Szczepanik, 1989; Tarazi *et. al.*, 1997) ainda não estão bem estabelecidos. A elevada razão de ação antagonista 5HT<sub>2A</sub>/D<sub>2</sub> tem sido proposta como um importante fator contribuinte (Saller *et. al.*, 1990; Kapur & Remington, 1996; Miyamoto *et. al.*, 2002). De acordo com essa hipótese, o antagonismo de receptores 5HT<sub>2A</sub> promovido por drogas de ação mista como a clozapina, levaria à desinibição da neurotransmissão dopaminérgica (normalmente inibida por neurônios serotoninérgicos provenientes de núcleos da rafe), promovendo o aumento da liberação de dopamina nos diversos sistemas dopaminérgicos. O aumento da liberação de dopamina poderia, por sua vez, impedir o desenvolvimento da supersensibilidade dopaminérgica compensatória promovida pelo antagonismo de dopaminoceptores D<sub>2</sub> (Kapur & Remington, 1996). Assim

como a clozapina, a ziprasidona tem maior afinidade por receptores serotoninérgicos 5HT<sub>2A</sub> do que por dopaminoceptores D<sub>2</sub> (Seeger et. al., 1995; Schmidt et. al., 2001). Dessa forma, a incapacidade de a privação da administração repetida de ziprasidona potencializar o efeito agudo hiperlocomotor da cocaína (supersensibilidade dopaminérgica) pode estar relacionada com a sua razão de ação antagonista 5HT<sub>2A</sub>/D<sub>2</sub>.

Além da seletividade por receptores 5HT<sub>2A</sub> e D<sub>2</sub>, a ziprasidona também é um potente agonista de receptores 5HT<sub>1A</sub> (Seeger et. al., 1995). Dentre os agentes antipsicóticos disponíveis na clínica, apenas a clozapina possui apreciável afinidade pelo receptor 5HT<sub>1A</sub> (Wander et. al., 1987; Mason & Reynolds, 1992). Assim, um mecanismo possivelmente associado ao fato de a privação do tratamento prolongado com ziprasidona não ter potencializado o efeito hiperlocomotor da cocaína no presente estudo poderia incluir também essa propriedade agonista 5HT<sub>1A</sub>. Nesse sentido, é bem estabelecido que a grande maioria dos receptores 5HT<sub>1A</sub> são auto-receptores inibitórios presentes no corpo celular de neurônios serotoninérgicos que, por sua vez, modulam a atividade de neurônios dopaminérgicos (Hamon et al., 1990; Kapur & Remington, 1996). Assim, preconiza-se que a estimulação desses receptores iniba o disparo dos neurônios serotoninérgicos, promovendo, conseqüentemente, a desinibição da neurotransmissão dopaminérgica (Kapur & Remington, 1996). Dessa maneira, de forma semelhante ao mecanismo citado acima para o antagonismo de receptores 5HT<sub>2A</sub>, o aumento da liberação de dopamina poderia impedir o desenvolvimento de supersensibilidade dopaminérgica promovido pelo antagonismo de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>.

Indubitavelmente esse racional é especulativo e futuros estudos são necessários para sua validação. Não obstante, deve-se notar que a buspirona (que, como a ziprasidona, tem alta afinidade por receptores 5HT<sub>1A</sub> e D<sub>2</sub> (Peroutka, 1985) é inefetiva em produzir supersensibilidade dopaminérgica, avaliada tanto por estudos de *binding* (Cimino et. al., 1983; McMillen, 1985) quanto pelo comportamento locomotor em campo aberto e o comportamento estereotipado induzido por apomorfina (Queiroz & Frussa-Filho, 1997).

Além de atuar como antagonista de dopaminoceptores D<sub>2</sub> e receptores serotoninérgicos 5HT<sub>2A</sub> e agonista de receptores serotoninérgicos 5HT<sub>1A</sub>, a ziprasidona possui ainda atividade antagonista de receptores serotoninérgicos 5HT<sub>2C</sub>. A estimulação indireta de receptores 5HT<sub>2C</sub> exercida pela cocaína promove um controle inibitório sobre a transmissão dopaminérgica no núcleo accumbens (ver Muller & Huston, 2006). Dessa forma, pode-se argumentar que o bloqueio de receptores do subtipo 5HT<sub>2C</sub> também imposto pela ziprasidona poderia promover um pequeno aumento na liberação de dopamina que poderia contribuir para a ausência de supersensibilidade dopaminérgica após tratamento crônico com esse neuroléptico, evitando o “*upregulation*” compensatório de receptores dopaminérgicos que ocorre durante o bloqueio crônico.

Alternativamente, a incapacidade de a privação do tratamento prolongado com ziprasidona potencializar os efeitos comportamentais da cocaína poderia ser explicada por sua afinidade por receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>. Dessa forma, uma menor afinidade por dopaminoceptores D<sub>2</sub> exibida pela ziprasidona poderia fazer com que o bloqueio desses dopaminoceptores fosse insuficiente para induzir uma supersensibilidade dopaminérgica compensatória. De fato, Kapur & Seeman (2001)

sugeriram que o perfil atípico de segunda geração neurolépticos caracteriza-se por uma dissociação mais rápida dos receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>.

Com relação ao tratamento repetido com ziprasidona nos experimentos de sensibilização comportamental ao etanol (experimentos 3 e 4), verificamos novamente que a administração aguda desse neuroléptico produziu efeito depressor sobre a locomoção dos animais (efeito do tratamento 2 durante o tratamento com ziprasidona do experimento 3) que foi passível de condicionamento ambiental (efeito do tratamento 2 no desafio salina do experimento 3), corroborando os achados do experimento 1.

Somente o tratamento repetido com ziprasidona no ambiente previamente pareado com o etanol (campo aberto) foi capaz de atenuar a expressão da sensibilização comportamental ao etanol (grupo Et-Zip < grupo Et-Vei no desafio etanol do experimento 3, mas grupo Et-Zip = grupo Et-Vei no desafio etanol do experimento 4). Curiosamente, embora o pareamento entre o ambiente e os efeitos da ziprasidona tenha sido necessário para a atenuação da sensibilização locomotora ao etanol (porque tal efeito não ocorreu quando o tratamento com ziprasidona foi realizado na gaiola moradia – experimento 4), os mecanismos pelos quais a ziprasidona atenuou a sensibilização ao etanol parece não envolver modificações na resposta condicionada, uma vez que o tratamento repetido com etanol não produziu tal resposta.

Embora não haja resposta condicionada ao ambiente que pudesse ser modificada pelo tratamento com ziprasidona no ambiente teste, uma possibilidade para explicar os resultados dos experimentos 3 e 4 seria que, ao administrar ziprasidona no ambiente previamente pareado com os efeitos do etanol, o triângulo de associações necessário para a expressão da sensibilização (pistas

exteroceptivas, pistas interoceptivas e efeito farmacológico da droga) teria sido perturbado devido a um novo aprendizado de que as pistas exteroceptivas não mais sinalizavam os efeitos psicoestimulantes do etanol, mas sim os efeitos depressores da ziprasidona. Nesse contexto, o fato de o tratamento repetido com ziprasidona no campo aberto ter produzido uma hipolocomoção condicionada (efeito do tratamento 2 no desafio salina do experimento 3) e de a expressão da sensibilização comportamental ao etanol ter sido atenuada apenas quando essa hipolocomoção condicionada estava presente (no experimento 3, mas não no experimento 4) corroboram a hipótese citada acima. Em outras palavras, a sensibilização comportamental decorreria, ao menos em parte, de um triângulo de associações composto pelo efeito psicoestimulante da droga de abuso, pistas exteroceptivas ambientais nos quais tais efeitos são experienciados e pistas interoceptivas por efeitos farmacológicos da droga em questão (taquicardia, como exemplo hipotético). Nossa hipótese preconiza que em alguns casos (cocaína) somente a associação do efeito psicoestimulante – pista exteroceptivas ambientais (campo aberto) já seria efetivo em promover uma hiperatividade condicionada (desafio salina), potencializada pela inclusão das pistas interoceptivas (desafio cocaína). Em outros (etanol) a hiperatividade condicionada não ocorreria na presença apenas das pistas exteroceptivas ambientais (desafio salina), mas estaria presente quando a estas fossem adicionadas as pistas interoceptivas previamente associadas ao efeito psicoestimulante (desafio etanol). Em ambas as situações, não obstante, o contra-condicionamento ambiental com ziprasidona seria efetivo em enfraquecer um dos lados do triângulo de associações, prejudicando a expressão da sensibilização.

De potencial importância clínica, é importante ressaltar que, como observado nos experimentos 1 e 2, o tratamento repetido com ziprasidona na dose de 5 mg/kg por 7 dias alternados não produziu supersensibilidade dopaminérgica mesolímbica também nos experimentos 3 e 4. Com efeito, a locomoção do grupo Sal-Zip não diferiu daquela do grupo Sal-Vei durante o desafio com etanol nesses experimentos. Esses dados aumentam a aplicabilidade clínica de um tratamento com ziprasidona para a dependência química, uma vez que o tratamento com ziprasidona não potencializaria os efeitos comportamentais de drogas de abuso como a cocaína e o etanol.

Embora a hipolocomoção promovida pela dose de ziprasidona utilizada assim como o condicionamento desse efeito possam ter contribuído para atenuar a dependência de cocaína e de etanol nos experimentos 1 a 4, seria interessante investigar se doses desse neuroléptico que não produzissem hipolocomoção também seriam eficazes em reverter a expressão da sensibilização comportamental a essas drogas de abuso. A efetividade de doses menores de neurolépticos no tratamento da dependência química também seria de grande utilidade clínica, uma vez que os efeitos sedativos promovidos pelos neurolépticos poderiam ser um obstáculo à adesão dos pacientes ao tratamento.

### **5.3. Efeitos do tratamento repetido com aripiprazol sobre a sensibilização comportamental à cocaína e ao etanol**

Ao realizarmos o segundo bloco de experimentos (experimentos 5 a 8) para investigar os efeitos do tratamento repetido com um neuroléptico de 3ª geração, o aripiprazol, sobre a sensibilização locomotora à cocaína e ao etanol, procuramos

utilizar uma dose de aripiprazol que não produzisse efeitos deprimidos sobre a locomoção de camundongos. Estudos piloto de nosso laboratório demonstraram que 0,1 mg/kg de aripiprazol não modifica a locomoção espontânea de camundongos fêmeas da mesma linhagem utilizada na presente tese (Oliveira-Lima *et al.*, 2008). Ainda, Leite e colaboradores (2008) demonstraram que a dose de 0,1 mg/kg de aripiprazol impediu os efeitos estimulantes motores agudos da anfetamina e da cocaína em camundongos Swiss machos sem prejuízos concomitantes sobre a atividade motora espontânea desses animais. Por outro lado, doses maiores de aripiprazol (1 a 10 mg/kg) podem promover efeitos catalépticos colaterais similares àqueles apresentados pela administração de haloperidol (Nakai *et al.*, 2003; Bardin *et al.* 2005; Leite *et al.*, 2008). Assim, como esperado, a administração de 0,1 mg/kg de aripiprazol em campo aberto não modificou a locomoção dos camundongos no experimento 5 tampouco no experimento 7 (grupos Sal-Arp = grupos Sal-Vei durante a fase de tratamento com aripiprazol nos experimentos 5 e 7).

Ao analisarmos como um todo os efeitos do tratamento repetido com aripiprazol, pareado ou não ao campo aberto, sobre a resposta condicionada e a expressão da sensibilização locomotora à cocaína (experimentos 5 e 6), verificamos que: 1) embora a administração de aripiprazol não tenha promovido uma redução na locomoção dos animais durante a fase de tratamento com aripiprazol (grupo Sal-Arp = grupo Sal-Vei), uma hipolocomoção foi observada durante o desafio salina em animais pré-tratados com esse neuroléptico em campo aberto (efeito do tratamento 2, experimento 5); 2) a locomoção condicionada à cocaína foi levemente atenuada pelo pré-tratamento com aripiprazol pareado ao campo aberto (mas não quando realizado na gaiola moradia) durante o desafio

salina (efeito do tratamento 2, mas ausência de interação entre tratamento 1 e tratamento 2 no experimento 5 e ausência de efeito do tratamento 2 no experimento 6); 3) a expressão da sensibilização comportamental à cocaína foi prevenida pelo tratamento com aripiprazol pareado ao campo aberto (grupo Coc-Arp < grupo Coc-Vei no desafio cocaína do experimento 5), mas não quando este foi realizado na gaiola moradia (grupo Coc-Arp = grupo Coc-Vei no desafio cocaína do experimento 6) e 4) o tratamento prévio com aripiprazol pareado ao campo aberto (mas não na gaiola moradia) impediu o efeito estimulante locomotor de uma injeção aguda de cocaína (grupo Sal-Arp < grupo Sal-Vei no desafio cocaína do experimento 5 mas não no experimento 6).

Em especial a redução da locomoção durante o desafio salina em animais controle pré-tratados com aripiprazol pareado ao campo aberto e a inibição do efeito estimulante locomotor agudo da cocaína nesses mesmos animais nos levam a crer que a eficácia do aripiprazol em prevenir a expressão da sensibilização comportamental à cocaína deva-se possivelmente a uma redução da saliência de pistas ambientais promovida por esse neuroléptico, o que levaria a um aumento na habituação ao campo aberto.

Como reportado por Carey (1987), o tratamento com o neuroléptico típico haloperidol reduz os efeitos motivacionais de ambientes novos em ratos. De forma similar, tem sido demonstrado que tanto o tratamento com haloperidol como com neurolépticos atípicos como a olanzapina e a risperidona são capazes de impedir respostas de esquiva condicionadas por atenuarem progressivamente a saliência motivacional do estímulo condicionado em ratos (Li et al., 2009; Zhang et al., 2011). Essas observações são consistentes com a ação antagonista de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> comum a todos os neurolépticos e com o papel da transmissão

dopaminérgica mesolímbica em predizer recompensas novas e promover respostas adequadas a estímulos com saliência motivacional (Kapur et al., 2006).

Diante dessas observações, poderíamos sugerir, portanto, que o tratamento repetido com aripiprazol no campo aberto atenuou a saliência motivacional da exposição a esse ambiente; saliência esta que ocorreria pela simples mudança de ambiente e de hábitos (da gaiola moradia para a sala de experimentação e para o campo aberto, por exemplo). Como resultado, observaríamos um aumento da habituação desses animais ao campo aberto, caracterizada por uma diminuição da locomoção espontânea dos animais (como verificado para o grupo Sal-Arp no desafio salina do experimento 5). Esse aumento da habituação, por sua vez, não ocorreria em animais que não foram submetidos à saliência motivacional da re-exposição ao campo aberto durante a fase de tratamento com aripiprazol, ou seja, naqueles que receberam o tratamento com neuroléptico em suas gaiolas moradia (experimento 6). Essa saliência motivacional de exposição ao campo aberto, no entanto, também seria necessária para o efeito agudo hiperlocomotor da cocaína, uma vez que animais que tiveram essa saliência possivelmente atenuada apresentaram redução na locomoção em resposta ao desafio com cocaína (grupo Sal-Arp no desafio cocaína do experimento 5). Por fim, no que concerne às interações entre o tratamento com aripiprazol, a saliência motivacional e a sensibilização à cocaína, poderíamos especular que o tratamento com aripiprazol em campo aberto atenuou a saliência motivacional desse ambiente, que se encontrava aumentada pela associação prévia entre esse ambiente e os efeitos da cocaína, fazendo com que a expressão da sensibilização, que também parece estar relacionada com um aumento da saliência motivacional do ambiente, fosse prevenida durante o desafio cocaína (grupo Coc-Arp-Coc no desafio cocaína do

experimento 5). Por outro lado, quando o tratamento com aripiprazol foi realizado na gaiola moradia, tal saliência motivacional aumentada pelos repetidos pareamentos cocaína-campo aberto não pôde ser atenuada e, como consequência, a expressão da sensibilização à cocaína não foi modificada nessa situação (grupo Coc-Arp-Coc no desafio cocaína do experimento 6).

A atenuação da saliência motivacional do ambiente proposta acima poderia estar relacionada com a ação estabilizadora da atividade dopaminérgica inerente ao aripiprazol (Martinotti *et al.*, 2009). Mais especificamente, em receptores somato-dendríticos, onde os níveis de dopamina são baixos, o aripiprazol pode exercer efeitos similares a um agonista dopaminérgico, enquanto em receptores pós-sinápticos, onde os níveis de dopamina são altos, esse neuroléptico pode ocupar esses receptores e reduzir (mas não abolir) sua ativação (Hirose *et al.*, 2004). Em outras palavras, o aripiprazol apresenta um perfil único, com habilidade de aliviar a atividade dopaminérgica excessiva sem promover redução dessa atividade, mas sim normalizando sua função (Burriss *et al.*, 2002; Carlsson *et al.*, 2001; Yokoi *et al.*, 2002). Paralelamente, Han e colaboradores (2009) demonstraram que o tratamento crônico com aripiprazol por 1 ou 12 semanas reduziu seletivamente a síntese de dopamina na VTA (diminuição da expressão de RNAm para receptores D<sub>2</sub> e para a enzima tirosina hidroxilase). Essa redução de dopamina no sistema mesolímbico promovida pelo tratamento com aripiprazol, por sua vez, pode ter também contribuído para diminuir a saliência motivacional do ambiente.

Os resultados citados nos parágrafos anteriores são congruentes com estudos em seres humanos que mostram que baixas doses de aripiprazol preveniram efeitos relacionados ao abuso de anfetamina (Lile *et al.*, 2005; Stoops

et al., 2006). Além disso, Feltenstein e colaboradores (2007) mostraram que a administração de várias doses de aripiprazol foi capaz de bloquear comportamentos de busca por cocaína em ratos em um modelo de recaída induzida por droga ou por pistas ambientais. Um pré-tratamento oral com aripiprazol também foi eficaz em diminuir de forma dependente de dose a auto-administração de cocaína em camundongos (Sorensen et al., 2008). Recentemente, Futamura e colaboradores (2010) demonstraram a eficácia de um tratamento repetido com diferentes doses de aripiprazol em atenuar a sensibilização comportamental à metanfetamina em camundongos quando realizado durante o período de abstinência da droga. Dados clínicos também mostraram que o aripiprazol foi capaz de reduzir o “craving” e os sintomas psicóticos em pacientes esquizofrênicos dependentes de cocaína (Beresford et al., 2005). Contudo, um estudo mostrou que o tratamento com aripiprazol (15 mg/dia) por 20 semanas não reduziu o consumo de anfetamina em dependentes (Thiihonen et al., 2007). Vale ressaltar, entretanto, que em nenhum dos estudos citados acima o aripiprazol foi administrado no mesmo ambiente previamente associado aos efeitos das drogas de abuso como no presente estudo.

No que diz respeito aos efeitos do tratamento repetido com aripiprazol sobre a sensibilização locomotora ao etanol, a prevenção ou redução da dependência a essa droga de abuso pelo aripiprazol não parece estar relacionada com uma redução da saliência motivacional do ambiente pelo tratamento com o neuroléptico pareado ao campo aberto. Primeiro, porque tanto o tratamento com aripiprazol pareado ao campo aberto como na gaiola moradia dos animais foram capazes de impedir a expressão da sensibilização locomotora ao etanol (grupos Et-Arp < grupos Et-Vei no desafio etanol nos experimentos 7 e 8). Segundo, porque o

tratamento prévio com aripiprazol em campo aberto não modificou o efeito estimulante locomotor de uma injeção aguda de etanol (grupo Sal-Arp = grupo Sal-Vei no desafio etanol do experimento 7). Assim, outros mecanismos parecem estar envolvidos com o potencial terapêutico do aripiprazol no tratamento da dependência de etanol, provavelmente relacionados ao mecanismo de ação desse neuroléptico.

Conforme descrito acima, evidências indicam que o aripiprazol atue como um estabilizador da atividade dopaminérgica (Martinotti *et al.*, 2009). Paralelamente, um número reduzido de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> tem sido relatado em indivíduos dependentes de álcool e alterações na função dopaminérgica estriatal têm sido relacionadas com o alto consumo de etanol em humanos (Heinz *et al.*, 2005; Martinez *et al.*, 2005). Assim, essa ação modulatória do aripiprazol sobre a atividade dopaminérgica poderia promover um efeito positivo sobre a redução de receptores D<sub>2</sub> observada na dependência de etanol, contribuindo para explicar a prevenção da expressão da sensibilização comportamental ao etanol tanto nos animais que receberam o tratamento com o neuroléptico pareado ao campo aberto como naqueles que o receberam em suas gaiolas moradia. O tratamento prévio com aripiprazol também poderia impedir a expressão da sensibilização ao etanol por modular o tônus dopaminérgico de vias neurais implicadas com a recaída, incluindo o córtex pré-frontal, o núcleo accumbens, o hipocampo e a amígdala (See *et al.*, 2001; Ledford *et al.*, 2003; Fuchs *et al.*, 2004a, b, 2005).

Deve-se ressaltar, entretanto, que vários outros neurotransmissores como a serotonina, o GABA, o glutamato, a noradrenalina e os opióides estão também envolvidos com as propriedades recompensadoras do etanol assim como com a

fisiopatologia da dependência a essa droga (Engel et al., 1992). Tem sido descrito que o aripiprazol também possui ação antagonista de receptores dopaminérgicos  $D_3$  e de receptores serotoninérgicos  $5HT_{2A}$  e ação agonista de receptores serotoninérgicos  $5HT_{1A}$  e (Kenna, 2003; Winans, 2003; Uzun et al., 2006). De interesse, tem sido relatado que o tratamento com um agonista  $5HT_{1A}$  ou com um antagonista  $5HT_{2A}$  diminui a estimulação locomotora induzida por etanol (Blomqvist et al., 1994; Le et al., 1997) assim como o consumo de etanol em ratos (Meert, 1993; Hedlund & Wahlstrom, 1999; Winans, 2003; Kenna et al., 2004). Ainda, em um estudo recente, o pré-tratamento com um antagonista específico de receptores serotoninérgicos  $5HT_{1A}$  (WAY100635) impediu a ação terapêutica do aripiprazol sobre a sensibilização comportamental à metanfetamina estabelecida em camundongos (Futamura et al., 2010). Dessa forma, não podemos descartar a hipótese de que a capacidade de o aripiprazol prevenir a sensibilização comportamental ao etanol esteja relacionada com uma ação desse neuroléptico tanto em sistemas dopaminérgicos como em sistemas serotoninérgicos.

Os resultados dos experimentos 7 e 8 corroboram alguns estudos clínicos e pré-clínicos prévios existentes. Jerlhag (2008) verificou que a administração aguda de aripiprazol (1,25 mg/kg) foi efetiva em impedir a estimulação locomotora promovida tanto pelo etanol como pela anfetamina em camundongos, na ausência de prejuízos sobre a locomoção espontânea desses animais. Ingman e colaboradores (2006) demonstraram que a administração de aripiprazol reduziu o consumo de etanol por acesso limitado em ratos selecionados para alta preferência por etanol. Pacientes dependentes de álcool tratados com aripiprazol (5-15 mg/dia) permaneceram abstinentes por um período maior que pacientes tratados com naltrexona (50 mg/dia), o medicamento comumente utilizado no tratamento da

dependência ao álcool (Martinotti et al., 2009). O aripiprazol também foi eficaz em reduzir o uso de álcool, o “craving” e a severidade de sintomas psicopatológicos em pacientes dependentes de álcool (Martinotti et al., 2007). Novamente, vale ressaltar que em nenhum dos estudos citados acima o aripiprazol foi administrado no mesmo ambiente previamente associado aos efeitos do etanol como no presente estudo.

De importância, em todas as situações experimentais, o efeito terapêutico do aripiprazol no tratamento da dependência de cocaína ou etanol ocorreu na ausência de supersensibilidade dopaminérgica central, isto é, em nenhum momento o tratamento repetido prévio com esse neuroléptico potencializou os efeitos motores agudos da cocaína ou do etanol. Esses resultados estão em acordo com a baixa incidência de efeitos colaterais extra-piramidais relatada durante o tratamento com aripiprazol em humanos (Marder et al., 2003). A ação do aripiprazol como estabilizador da atividade dopaminérgica parece contribuir também para a ausência de supersensibilidade dopaminérgica central após administração repetida. Em ratos, a capacidade de a maioria dos neurolépticos de induzir catalepsia correlaciona-se com a ocupação de receptores dopaminérgicos  $D_2$  estriatais exercida por esses fármacos. Em contrapartida, o aripiprazol não promove prejuízos motores significativos mesmo em doses que induzem 95% de ocupação de receptores dopaminérgicos, provavelmente devido a sua habilidade de manter esses receptores minimamente ativados (Natesan et al., 2006). Curiosamente, o mesmo perfil é observado em humanos. Para a maioria dos neurolépticos, a faixa terapêutica ocorre quando 60 a 80% dos receptores dopaminérgicos estriatais são ocupados. Níveis maiores de ocupação desses receptores levam ao surgimento de efeitos colaterais extra-piramidais (Kapur &

Seeman, 2001), enquanto o aripiprazol apresenta um perfil seguro mesmo ocupando mais de 90% dos receptores dopaminérgicos estriatais (Grunder et al., 2003; Mamo et al., 2007).

Por fim, a ausência de redução do efeito estimulante locomotor eliciado por uma injeção aguda de etanol (ao contrário do observado para a cocaína no experimento 5) em animais pré-tratados com aripiprazol pareado ao campo aberto (grupo Sal-Arp = grupo Sal-Vei no desafio etanol do experimento 7) sugere que a saliência motivacional do ambiente não seja tão importante para o efeito hiperlocomotor agudo do etanol como é para o da cocaína. Com efeito, em roedores, enquanto o efeito hiperlocomotor do etanol tem sido demonstrado tanto em ambientes conhecidos como em ambientes novos (Fukushiro et al., 2010), Carey et al. (2005) demonstraram que o efeito estimulante locomotor da cocaína só pôde ser observado quando esse psicoestimulante foi administrado em um ambiente completamente novo.

Estratégias terapêuticas para a dependência química utilizando agonistas ou antagonistas dopaminérgicos podem ser problemáticas porque agonistas podem atuar como pistas interoceptivas remanescentes da droga, enquanto antagonistas, ao bloquear as propriedades recompensadoras da droga, podem produzir prejuízos emocionais, disforia e efeitos colaterais extra-piramidais (Childress & O'Brien, 2000). Por outro lado, agonistas dopaminérgicos parciais como o aripiprazol seriam vantajosos uma vez que poderiam induzir a resposta terapêutica associada a baixos riscos de recaída, disforia ou efeitos colaterais extra-piramidais. Além disso, agonistas dopaminérgicos parciais têm recebido especial atenção como medicamentos em potencial para o tratamento da dependência química porque poderiam agir como antagonistas em estados de alta estimulação de receptores

dopaminérgicos D<sub>2</sub>, como quando a droga está presente, e como agonistas em estados de baixo tônus dopaminérgico, como durante a abstinência da droga (Diana et al., 1996; Rossetti et al., 1992; Vasconcelos et al., 2004).

#### **5.4. Considerações finais**

Tomados em conjunto os resultados obtidos na presente tese, tanto nos experimentos que envolveram o uso de ziprasidona, como naqueles em que o aripiprazol foi utilizado, verifica-se que a efetividade terapêutica da estratégia aqui proposta ocorreu geralmente quando os neurolépticos foram administrados no mesmo ambiente onde a dependência de cocaína ou de etanol foi desenvolvida. Apenas para a dependência de etanol o tratamento repetido com aripiprazol foi efetivo também quando administrado na gaiola moradia dos animais. Assim, intervenções realizadas durante a abstinência de cocaína ou etanol utilizando medicações que atuem antagonizando a transmissão dopaminérgica e de forma pareada a pistas ambientais que normalmente eliciem a recaída despontam como possibilidades terapêuticas promissoras para o tratamento da dependência química.

Conforme revisado por Conklin & Tiffany (2002), os métodos normalmente utilizados no tratamento da abstinência não são eficazes em aumentar a abstinência e impedir a recaída em pacientes dependentes de drogas. As tentativas de aumentar a eficácia de processos de extinção (exposição repetida a pistas ambientais associadas ao uso da droga) não têm sido bem sucedidas. Assim, após o tratamento, quando esses pacientes são confrontados com as pistas ambientais associadas anteriormente com a droga e com a oportunidade de utilizá-la de fato, eles possuem somente a associação excitatória adquirida ao longo da

história de administração da droga para guiar seus comportamentos. Quebrar essa associação entre as pistas ambientais e os efeitos reforçadores das drogas torna-se então o desafio para o tratamento da dependência química. A estratégia utilizada na presente tese procura justamente vencer esse desafio ao realizar o tratamento com neurolépticos associado às mesmas pistas ambientais anteriormente relacionadas com os efeitos da cocaína ou do etanol.

De nosso conhecimento, apenas um trabalho na literatura reporta o uso de estratégia similar para o tratamento da dependência de cocaína, utilizando como tratamento, entretanto o antagonista de receptores canabinóides rimonabanto (Gerdeman *et al.*, 2008). Esses autores demonstraram que o tratamento com rimonabanto não diminuiu a sensibilização à cocaína já estabelecida quando administrado nas gaiolas moradia de camundongos, mas somente quando o tratamento foi realizado em caixas de atividade previamente pareadas com a cocaína.

## **6- CONCLUSÕES:**

### **6.1 - Conclusões Parciais:**

- 1) O tratamento repetido com cocaína pareado ao campo aberto promoveu o desenvolvimento de sensibilização comportamental e de reposta condicionada;
- 2) Uma injeção de cocaína reinstalou a sensibilização comportamental a essa droga após período de abstinência;
- 3) O tratamento repetido com etanol pareado ao campo aberto não promoveu o desenvolvimento de sensibilização comportamental nem de reposta condicionada;
- 4) Uma injeção de etanol expressou a sensibilização comportamental a essa droga após período de abstinência;
- 5) O tratamento repetido com ziprasidona promoveu hipolocomoção passível de condicionamento ambiental;
- 6) O tratamento repetido com ziprasidona não promoveu desenvolvimento de supersensibilidade dopaminérgica central;
- 7) O tratamento repetido com ziprasidona atenuou a reinstalação da sensibilização comportamental à cocaína, mas somente quando esse tratamento foi realizado no mesmo ambiente previamente associado à cocaína (campo aberto).
- 8) O tratamento repetido com ziprasidona atenuou a expressão da sensibilização comportamental ao etanol, mas somente quando esse

tratamento foi realizado no mesmo ambiente previamente associado ao etanol (campo aberto).

- 9) O tratamento repetido com aripiprazol não promoveu desenvolvimento de supersensibilidade dopaminérgica central;
- 10) O tratamento repetido com aripiprazol atenuou a reinstalação da sensibilização comportamental à cocaína, mas somente quando esse tratamento foi realizado no mesmo ambiente previamente associado à cocaína (campo aberto);
- 11) O tratamento repetido com aripiprazol atenuou a expressão da sensibilização comportamental ao etanol quando esse tratamento foi realizado no mesmo ambiente previamente associado ao etanol (campo aberto) e também quando realizado na gaiola moradia.

## **6.2 - Conclusões finais.**

Nossos resultados demonstram o potencial terapêutico de estratégias que aliem processos de extinção e o tratamento com neurolépticos atípicos como a ziprasidona e o aripiprazol e sugerem um importante papel do condicionamento ambiental para que essas estratégias atinjam completa eficácia.

## 7.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, J.U.; CARERI, J.M.; EFFEREN, T.R.; ROTROSEN, J. Differential effects of dopamine antagonists on locomotor activity, conditioned activity and conditioned place preference induced by cocaine in rats. **Behavioural Pharmacology**, 12:603-611, 2001.
- AHLENIUS S, CARLSSON A, ENGEL J, SVENSSON T, SÖDERSTEN P. Antagonism by alpha methyltyrosine of the ethanol-induced stimulation and euphoria in man. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**. 14:586-591, 1973.
- AHMED, S.H.; MARTINE, C.; LeMOAL, M.; STINUS, L. Amphetamine-induced conditioned activity in rats: comparisons with novelty-induced activity and role of basolateral amygdala. **Behav. Neurosci**, 109: 723-733, 1995.
- AHMED, S.H.; STINUS, L.; CADOR, M. Amphetamine-induced conditioned activity is insensitive to perturbations known to affect pavlovian conditioned responses in rats. **Behav. Neurosci.**;112(5):1167-76, 1998.
- ALCANTARA, A.A.; LIM, H.Y.; FLOYD, C.E.; GARGES, J.; MENDENHALL, J.M.; LYONS, C.L.; BERLANGA, M.L. Cocaine- and morphine-induced synaptic plasticity in the nucleus accumbens **Synapse**. Aug 20, 2010.
- ALVAREZ JN, FUKUSHIRO DF, TATSU JA, CARVALHO EP, GANDOLFI AC, TSUCHIYA JB, CARRARA-NASCIMENTO PF, LIMA ML, BELLOT RG, FRUSSA-FILHO R. Amphetamine-induced rapid-onset sensitization: role of novelty, conditioning and behavioral parameters. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 83(4):500-507, 2006.
- ALVAREZ, JD, FUKUSHIRO, D.F., TATSU, J.A.; DE CARVALHO, E.P.; GANDOLFI A.C., TSUCHIYA J.B., CARRARA-NASCIMENTO P.F., LIMA ML, BELLOT RG, FRUSSA-FILHO R. Amphetamine-induced rapid-onset sensitization: Role of novelty, conditioning and behavioral parameters. **Pharmacol Biochem Behav.**, 2006.

- AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Task force on DSM-IV. Teton Data Systems (Firm). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders DSM-IV-TR. 4<sup>th</sup> ed. Washington, DC: **American Psychiatric Association**, 2000.
- ANAGNOSTARAS, S.G.; ROBINSON, T.E. Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: modulation by associative learning. **Behav Neurosci.** 110(6):1397-414, 1996.
- ANAGNOSTARAS, S.G.; SCHALLERT, T.; ROBINSON, T.E. Memory process governing amphetamine-induced psychomotor sensitization. **Neuropsychopharmacology**, 26: 703-715, 2002.
- ANDERSON, S.M.; PIERCE, R.C. Cocaine-induced alterations in dopamine receptor signaling: implications for reinforcement and reinstatement. **Pharmacol Ther.** 106(3):389-403. Review, 2005.
- APPEL SB, LIU Z, MCELVAIN MA, BRODIE MS. Ethanol excitation of dopaminergic ventral tegmental area neurons is blocked by quinidine. **J Pharmacol Exp Ther.** 306(2):437-446, 2003.
- ARAUJO NP, CAMARINI R, SOUZA-FORMIGONI ML, CARVALHO RC, ABÍLIO VC, SILVA RH, RICARDO VP, RIBEIRO RDE A, FRUSSA-FILHO R. The importance of housing conditions on behavioral sensitization and tolerance to ethanol. **Pharmacol Biochem Behav.** 82:40-45, 2005.
- ARAUJO NP, FUKUSHIRO DF, CUNHA JL, LEVIN R, CHINEN CC, CARVALHO RC, RIBEIRO IC, GOMES DC, ABÍLIO VC, SILVA RH, RIBEIRO RDE A, FRUSSA-FILHO R. Drug-induced home cage conspecifics' behavior can potentiate behavioral sensitization in mice. **Pharmacol Biochem Behav.** 84(1):142-7, 2006.
- ARAUJO NP, FUKUSHIRO DF, GRASSL C, HIPÓLIDE DC, SOUZA-FORMIGONI ML, TUFIK S, FRUSSA-FILHO R. Ethanol-induced behavioral sensitization is associated with dopamine receptor changes in the mouse olfactory tubercle. **Physiol Behav.** 96(1):12-7, 2009.
- ASHER, O.; CUNNINGHAM, T.D.; YAO L.; GORDON A.S.; DIAMOND I. Ethanol stimulates cAMP-responsive element (CRE)-mediated transcription via CRE-

- binding protein and cAMP-dependent protein kinase. **J Pharmacol Exp Ther.** Apr;301(1):66-70,2002.
- BARDIN L, KLEVEN MS, BARRET-GRÉVOZ C, DEPOORTÈRE R, NEWMAN-TANCREDI A. Antipsychotic-like vs cataleptogenic actions in mice of novel antipsychotics having D2 antagonist and 5-HT1A agonist properties. **Neuropsychopharmacology.** Sep;31(9):1869-79, 2006.
- BELLOT RG, CAMARINI R, VITAL MA, PALERMO-NETO J, LEYTON V, FRUSSA-FILHO R. Monosialoganglioside attenuates the excitatory and behavioural sensitization effects of ethanol. **Eur. J. Pharmacol.** 313(3): 175-179, 1996.
- BELLOT RG, VITAL MA, PALERMO-NETO J, FRUSSA-FILHO R. Repeated monosialoganglioside administration attenuates behavioral sensitization to amphetamine. **Brain Res.** 747(1):169-172, 1997.
- BERESFORD TP, CLAPP L, MARTIN B, WIBERG JL, ALFERS J, BERESFORD HF. Aripiprazole in schizophrenia with cocaine dependence: a pilot study. **J Clin Psychopharmacol.** Aug;25(4):363-6, 2005.
- BERRIDGE, K. C. The debate over dopamine's role in reward: The case for incentive salience. **Psychopharmacology**, v. 191, p. 391-431, 2007.
- BERRIDGE, K.C; ROBINSON, T.E.; ALDRIDGE, J.W. Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. **Current Opinion in Pharmacology.** n.9, p.65-73, 2009.
- BLOMQUIST O, SÖDERPALM B, ENGEL JA. 5-HT1A receptor agonists reduce ethanol-induced locomotor activity in mice. **Alcohol.Mar-Apr**;11(2):157-61, 1994.
- BOEHM SL 2ND, GOLDFARB KJ, SERIO KM, MOORE EM, LINSENBARDT DN. Does context influence the duration of locomotor sensitization to ethanol in female DBA/2J mice? **Psychopharmacology (Berl).** Apr;197(2):191-201, 2008.

- BOILEAU I., DAGHER A., LEYTON M., GUNN R., BAKER GB, DIKSIC M., BENKELFAT C. Modeling sensitization to stimulants in humans. **Arch Gen Psychiatry** 63:1386-1395., 2006.
- BOUTON, M. E. Conditioning, remembering, and forgetting. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, 20, 219–231, 1994.
- BOUTON, M. E. & BROOKS, D. C. Time and context effects on performance in Pavlovian discrimination reversal. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, 19, 165–179, 1993.
- BOUTON, M. E. A learning-theory perspective on lapse, relapse, and the maintenance of behavior change. **Health Psychology**, 19, 57–63, 2000.
- BRAGA, P.Q.; DIAS F.R.C., CAREY, R.J., CARRERA, M.P. Behavioral sensitization to dopaminergic inhibitory and stimulatory effects induced by low vs. high dose apomorphine treatments: An unconventional dose and response reversal sensitization challenge test reveals sensitization mechanisms. **Behavioural Brain Research** 204 169–174, 2009.
- BROADBENT J, GRAHAME NJ, CUNNINGHAM CL. Haloperidol prevents ethanol-stimulated locomotor activity but fails to block sensitization. **Psychopharmacology**. 120:475-482, 1995.
- BROADBENT J, KAMPMUELLER KM, KOONSE SA. Expression of behavioral sensitization to ethanol by DBA/2J mice: the role of NMDA and non-NMDA glutamate receptors. **Psychopharmacology** (Berl). May;167(3):225-34. Apr 1, 2003.
- BRODIE MS. Increased ethanol excitation of dopaminergic neurons of the ventral tegmental area after chronic ethanol treatment. **Alcohol Clin Exp Res**. Jul;26(7):1024-30, 2002.
- BROSNAN-WATTERS G, WOZNIAK DF, NARDI A, OLNEY JW. Parallel recovery of MK-801-induced spatial learning impairment and neuronal injury in male mice. **Pharmacol Biochem Behav**. Jan;62(1):111-22, 1999.

- BURRIS KD, MOLSKI TF, XU C, RYAN E, TOTTORI K, KIKUCHI T, YOCCA FD, MOLINOFF PB. Aripiprazole, a novel antipsychotic, is a high-affinity partial agonist at human dopamine D2 receptors. **J Pharmacol Exp Ther.** Jul;302(1):381-9, 2002.
- CAMARINI R, HODGE CW. Ethanol preexposure increases ethanol self-administration in C57BL/6J and DBA/2J mice. **Pharmacol Biochem Behav.** Dec;79(4):623-32, 2004.
- CAMARINI R. Sensibilização ao efeito estimulante do etanol: influência dos sistemas dopaminérgico, opióide e glutamatérgico. São Paulo. [Tese - Doutorado - UNIFESP, Escola Paulista de Medicina], 1997.
- CAREY RJ, GUI J. Cocaine conditioning and cocaine sensitization: what is the relationship? **Behav Brain Res.** Apr;92(1):67-76, 1988.
- CAREY RJ. Conditioning and the delayed onset of haloperidol-induced behavioral effect. **Biological Psychiatry** 22, 269-277, 1987.
- CAREY, R., GUI, J. Cocaine sensitization can accelerate onset of peak cocaine behavioral effects. **Pharmacol Biochem Behav**, 60: 395-405, 1998.
- CAREY, R.J., DEPALMA, G., DAMIANPOULOS, E. Evidence for Pavlovian conditioning of cocaine-induced response linked to emotional behavioral effects. **Pharmacol Biochem Behav**; 80:123-134, 2005b.
- CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS; E., HOPKINS; A., SHANAHAN, A.; MULLER, C.P.; HUSTON J.P. Dopaminergic and serotonergic autoreceptor stimulation effects are equivalent and additive in the suppression of spontaneous and cocaine induced locomotor activity. **Brain Res.** 3;1019(1-2):134-43, 2004.
- CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS; E., HOPKINS; A., SHANAHAN, A.; MULLER, C.P.; HUSTON J.P. Dopaminergic and serotonergic autoreceptor stimulation effects are equivalent and additive in the suppression of spontaneous and cocaine induced locomotor activity. **Brain Res.** 3;1019(1-2):134-43, 2004.

- CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANPPOULOS, E. Acute and chronic cocaine behavioral effects in novel versus familiar environments: open-field familiarity differentiates cocaine locomotor stimulant effects from cocaine emotional behavioral effects. **Brain Research** 158:321-330, 2005.
- CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANPPOULOS, E. Acute and chronic cocaine behavioral effects in novel versus familiar environments: open-field familiarity differentiates cocaine locomotor stimulant effects from cocaine emotional behavioral effects. **Brain Research** 158:321-330, 2005.
- CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANPPOULOS, E. Acute and chronic cocaine behavioral effects in novel versus familiar environments: open-field familiarity differentiates cocaine locomotor stimulant effects from cocaine emotional behavioral effects. **Brain Research** 158:321-330, 2005.
- CARLEZON, JR. W. A., NESTLER, E. J. Elevated levels of GluR1 in the midbrain: A trigger for sensitization to drugs of abuse? **Trends Neurosci.** **25**, 610–615, 2002.
- CARLEZON, W.A. JR.; THOME, J.; OLSON, V.G.; LANE-LADD, S.B.; BRODKIN, E.S; HIROI, N.; DUMAN, R.S.; NEVE, R.L.; NESTLER E.J. Regulation of cocaine reward by CREB. **Science** **282**, 2272–2275, 1998.
- CARLINI, E.A.; CALDUROZ, J.C.; NOTO. A.R.; NAPPO, S.A.; I levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 107 maiores cidades do país – Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas [CEBRID], Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, 2002.
- CARLINI, E.A.; GALDURÓZ, J.C.; NOTO A. R.; NAPPO, A. S. II Levantamento Domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil. São Paulo: **Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas [CEBRID]**, Departamento de Psicobiologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal Paulista, 2007.

- CARLSSON A, ENGEL J, SVENSSON TH. Inhibition of ethanol-induced excitation in mice and rats by  $\alpha$ -methyl-p-tyrosine. **Psychopharmacology**. 1972; 26: 307-312.
- CARVALHO RC, FUKUSHIRO DF, HELFER DC, CALLEGARO-FILHO D, TROMBIN TF, ZANLORENCI LH, SANDAY L, SILVA RH, FRUSSA-FILHO R. Long-term haloperidol treatment (but not risperidone) enhances addiction-related behaviors in mice: role of dopamine D2 receptors. **Addict Biol**. Jul;14(3):283-93. Mar 5, 2009.
- CELIKYURT IK, KAYIR H, ULAK G, ERDEN FB, ULUSOY GK, UZBAY TI. Effects of risperidone, quetiapine and ziprasidone on ethanol withdrawal syndrome in rats. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. Mar 30;35(2):528-36, 2011.
- CHELONIS, J. J., CALTON, J. L., HART, J. A. & SCHACHTMAN, T. R. Attenuation of renewal effect by extinction in multiple contexts. **Learning and Motivation**, 30, 1–14, 1999.
- CHEN K, KANDEL D. Relationship between extent of cocaine use and dependence among adolescents and adults in the United States. **Drug Alcohol Depend**. Sep 1;68(1):65-85, 2002.
- CHILDRESS, A.R., O'BRIEN, C.P. Dopamine receptor partial agonists could address the duality of cocaine craving. **Trends Pharmacol. Sci.** 21, 6–9, 2000.
- CHILDRESS, A.R.; McELGIN, W.; MOZLEY, P.D.; O'BRIEN, C.P. Limbic activation during cue-induced craving for cocaine and for natural rewards. **Biol Psychiatry**, 45: 170, 1999.
- CHILDRESS, A.R.; McLELLAN, A.T.; O'BRIEN, C.P. Role of conditioning factors in the development of drug dependence. **Psychiatr. Clin. North. Am.** 9: 413-25, 1986.
- CHILDRESS, A.R.; EHRMAN, R.; ROOHSENOW, D.J.; ROBBINS, S.J.; O'BRIEN, C.P. Classically conditioned factors in drug dependence. In: Substance

abuse: a comprehensive text book (Lowinson W, Luiz P, Millman RB, Langard JG, eds), pp 56-69. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992.

CHINEN C.C. Avaliação funcional comportamental da participação dos dopaminoceptores D1 em fenômenos de plasticidade dopaminérgica induzidos por fatores farmacológicos, fisiológicos e psicológicos. Tese de Doutorado, Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) – São Paulo, 2004.

CHINEN CC, FRUSSA-FILHO R. Conditioning to injection procedures and repeated testing increase SCH 23390-induced catalepsy in mice. **Neuropsychopharmacology**. 21(5):670-8, 1999.

CHINEN, C.C.; FARIA R.R.; FRUSSA-FILHO, R. Characterization of the rapid-onset type of behavioral sensitization to amphetamine in mice: role of drug-environment conditioning. **Neuropsychopharmacology**.; 31(1):151-9, 2006.

CHRISTAKOU A, ROBBINS TW, EVERITT BJ. Prefrontal cortical-ventral striatal interactions involved in affective modulation of attentional performance: implications for corticostriatal circuit function. **J Neurosci**. 28;24(4):773-80., 2004.

CIMINO M, PONZIO F, ACHILLI G, VANTINI G, PEREGO C, ALGERI S, GARATTINI S. Dopaminergic effects of buspirone, a novel anxiolytic agent. **Biochem Pharmacol**. Mar 15;32(6):1069-74, 1983.

CONKLIN, C.A.; TIFFANY, S.T. Applying extinction research and theory to cue-exposure addiction treatments. **Addiction**. n.97, p.155-167, 2002.

CORNEA-HERBERT V., RIAD, M, W.U., C., SINGH, S.K., DESCARRIES, L. Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT<sub>2a</sub> receptor in the central nervous system of adult rat. **J. Comp. Neurol** 409:187-209, 1999.

COSTA FG, FRUSSA-FILHO R, FELICIO LF. The neurotensin receptor antagonist, SR48692, attenuates the expression of amphetamine-induced behavioural sensitisation in mice. **Eur. J. Pharmacol**. 2001; 428(1):97-103.

- CROMBAG, H.S.; BADIANI, A.; CHAN, J.; DELLO'RCO, J.; DINEEN, S.P.; ROBINSON, T.E. The ability of enviromental context to facilitate psychomotor sensitization to amphetamne can be dissociated from its effect on acute drug responsiveness and on conditioned responding. **Neuropsychopharmacol**, 24: 680-690, 2001.
- CUNNINGHAM CL, NOBLE D. Conditioned activation induced by ethanol: role in sensitization and conditioned place preference. **Pharmacol Biochem Behav**. 43:307-313, 1992.
- DAMIANOPOULOS, E.N.; CAREY, R.J. Conditioning, habituation and behavioral reorganization factors in chronic cocaine effects. **Behav. Brain Res.**, 49: 149-157, 1992.
- DAS, G. Cocaine and the cardiovascular system. **Can J. Cardiol** 6:411-415, 1990.
- DAVIS, K.; WU, J. Role of Glutamatergic and Gabaergic system in Alcoholism. **J Biomed Sci**. Jan-Feb;8(1):7-19. Review, 2001.
- DAWE, S., POWELL, J. H., RICHARDS, D., GOSSOP, M., MARKS, I., STRANG, J., & GRAY, J. A. Does postwithdrawal cue exposure improve outcome in opiate addiction? **A controlled trial**. *Addiction*, 88, 1233–1245, 1993.
- DE DEURWAERDERE, P.; SPAMPINATO, U. Role of serotonin 2A and serotonin 2c receptor subtypes in the control of accumbal and atriatal dopamine release elicited in vivo by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. **J. Neurochem** 73:1033-1042, 1999.
- DE VRIES TJ, SCHOFFELMEER AN, BINNEKADE R, RAASO H, VANDERSCHUREN LJ. Relapse to cocaine- and heroin-seeking behavior mediated by dopamine D2 receptors is time-dependent and associated with behavioral sensitization. **Neuropsychopharmacology**.; 26(1):18-26, 2002.
- de Wit H, Stewart J. Reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat. **Psychopharmacology (Berl)**.;75(2):134-43, 1981.

- 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.** 85:5274-5278, 1988.
- DI CHIARA G. Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. **Eur J Pharmacol.** Jun 30;375(1-3):13-30. Review, 1999.
- DI CHIARA, G.; BASSAREO, V.; FENU, S.; DE LUCA, M. A.; SPINA, L.; CADONI, C.; ACQUAS, E.; CARBONI, E.; VALENTINI, V.; LECCA, D. Dopamine and drug addiction: the nucleus accumbens shell connection. **Neuropharmacology**, v. 47, p. 227-241, 2004.
- DI CHIARA; G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Depend.* 1995 May;38(2):95-137. Review. Erratum in: **Drug Alcohol Depend Aug**; 39(2):155, 1995.
- DI CIANO P, EVERITT BJ. Reinstatement and spontaneous recovery of cocaine-seeking following extinction and different durations of withdrawal. **Behav Pharmacol.** 13(5-6):397-405, 2002.
- DI MATTEO V., DE BLASI A., DI GIULIO C., ESPOSITO E. Role of 5-HT(2C) receptors in the control of central dopamine function. **Trends Pharmacol Sci.**; 22(5):229-32, 2001.
- DIANA M, PISTIS M, MUNTONI A, GESSA G. Mesolimbic dopaminergic reduction outlasts ethanol withdrawal syndrome: evidence of protracted abstinence. **Neuroscience.** 71(2):411-415, 1996.
- DIANA, M.; PISTIS, M. Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: electrophysiological and biochemical evidence. **Proc Natl Acad Sci.**; 90(17): 7966-7969, 1993.
- DICIANO, P.; BLAHA, C.D.; PHILLIPS, A.G.; The relation between dopamine oxidation currents in the nucleus accumbens and conditioned increases in motor activity in rats following repeated administration of d-amphet-amine or cocaine. **Eur J Neurosci** 10:1113-1120, 1998a.

- DICIANO; P.; BLAHA, C.D.; PHILLIPS, A.G. Conditioned changes in dopamine oxidation currents in the nucleus accumbens of rats by stimuli paired with self-administration or yoked-administration of d-amphetamine. **Eur J Neurosci** 10:1121-1127, 1998b.
- DOM G.; SABBE B.; HULSTIJ.N. W.; VAN DEN BRINK W. Substance use disorders and the orbitofrontal cortex: systematic review of behavioural decision-making and neuroimaging studies. **Br J Psychiatry.** 187:209-20, 2005
- DRUHAN, J.P.; WILENT, A.C. Effects of the competitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, CPP, on the development and expression of conditioned hyperactivity and sensitization by cocaine. **Behav Brain Res**;102:195-210, 1999.
- DRUMMOND, D. C., & GLAUTIER, S. A controlled trial of cue exposure treatment in alcohol dependence. **J Consult Clin Psychol.** Aug;62(4):809-17, 1994.
- DRUMMOND, D. C., TIFFANY, S. T., GLAUTIER, S., & REMINGTON, B. Cue exposure in understanding and treating addictive behaviours. In D. C. Drummond, S. T. Tiffany, S. Glautier, & B. Remington (Eds.), **Addictive behaviour: cue exposure theory and practice** ( pp. 1–17). Chichester: Wiley, 1995.
- DSM-IV, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, ed. 4. **Washington DC: American Psychiatric Association (AMA)**, 1994.
- DUALIBI LB, RIBEIRO M, LARANJEIRA R. Profile of cocaine and crack users in Brazil. **Cad Saude Publica.** 24 Suppl 4:s545-57. Review, 2008.
- EBERLE-WANG, K.; MIKELADZE, Z.; URYU, K.; CHESSELET, M-F. Pattern of expression of the serotonin 2C receptor messenger RNA in the basal ganglia of adults rats. **J. Comp. Neurol.**; 384:233-247, 1997.
- EKMAN G, FRANKENHAEUSER M, GOLDBERG L, BJERVER K, JAERPE G, MYRSTEN AL. Effects of alcohol intake on subjective and objective variables over a five-hour period. **Psychopharmacology.** Feb 22;4:28-38, 1963.

- EKMAN G, FRANKENHAEUSER M, GOLDBERG L, HAGDAHL R, MYRSTEN AL. Subjective and objective effects of alcohol as functions of dosage and time. **Psychopharmacologia.**, Dec 7;6(6):399-409, 1964.
- EMMANUEL VALJENT E.; BERTRAN-GONZALEZ, J.; AUBIER B.; GREENGARD, P.; DENIS HERVE, D.; GIRAULT, J.A. Mechanisms of Locomotor Sensitization to Drugs of Abuse in a Two-Injection Protocol. **Neuropsychopharmacology** 35, 401–415, 2010.
- ENGEL JA, FAHLKE C, HÅRD E, JOHANNESSEN K, SVENSSON L, SÖDERPALM B. Serotonergic and dopaminergic involvement in ethanol intake. **Clin Neuropharmacol.**;15 Suppl 1 Pt A:64A-65A,1992.
- EPSTEIN DH, PRESTON KL, STEWART J, SHAHAM Y. Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. **Psychopharmacology** (Berl). Nov;189(1):1-16. Sep 22. Review, 2006.
- EVERITT, B.J.; ROBBINS, T.W. Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci.* 2005 Nov;8(11):1481-9. Review. Erratum in: **Nat Neurosci.**:9(7):979, 2006.
- FELTERSTEIN, M. W.; ALTAR, C. A.; SEE, R. E. Aripiprazole blocks reinstatement of cocaine seeking in an animal model of relapse. **Biological Psychiatry.** n. 62, p. 582-590, 2007.
- FIGLIE, N.B. “Motivação para tratamento do alcoolismo”, 133 f, **Tese (Doutorado) – programa de Pós-Graduação em Psiquiatria**, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 2005.
- FILES FJ, DENNING CE, SAMSON HH. Effects of the atypical antipsychotic remoxipride on alcohol self-administration. **Pharmacol Biochem Behav.** Feb;59(2):281-5, 1998.
- FILIP M . CUNNINGHAM K. A . Serotonin 5-HT(2C) receptors in nucleus accumbens regulate expression of the hyperlocomotive and discriminative stimulus effects of cocaine.**Pharmacol Biochem Behav.**;71(4):745-56, 2002.

- FILIP, M.; BUBAR, M.J.; CUNNINGHAM, K.A. Contribution of serotonin (5-HT) 5-HT2 receptor subtypes to the discriminative stimulus effects of cocaine in rats. **Psychopharmacology**, 183: 482-489, 2006.
- FILIP, M.; FRANKOWSKA, M.; ZANIEWSKA, M.; GOTDA, A.; PRZEGALINSKI, E. The serotonergic system and its role in cocaine addiction. **Pharmacological Reports**, 57:685-700, 2005.
- FISH EW, DEBOLD JF, MICZEK KA. Repeated alcohol: behavioral sensitization and alcohol-heightened aggression in mice. **Psychopharmacology** (Berl). Feb;160(1):39-48. Epub 2001 Nov 28, 2002.
- FOLTIN RW, HANEY M. Conditioned effects of environmental stimuli paired with smoked cocaine in humans. **Psychopharmacology** (Berl);149(1):24-33, 2000.
- FOLTIN, R.W; HANEY, M. Conditioned effects of environmental stimuli paired with smoked cocaine in humans. **Psychopharmacology** (Berl);149(1):24-33, 2000.
- FONTANA, D.J.; POST, R.M.; PERT, A. Conditioned increases in mesolimbic dopamine overflow by stimuli associated with cocaine. **Brain Res.** 629:31-39, 1993.
- FRANKLIN TR, DRUHAN JP. Involvement of the nucleus accumbens and medial prefrontal cortex in the expression of conditioned hyperactivity to a cocaine-associated environment in rats. **Neuropsychopharmacology.** Dec;23(6):633-44, 2000a.
- FRANKLIN TR, DRUHAN JP. Expression of Fos-related antigens in the nucleus accumbens and associated regions following exposure to a cocaine-paired environment. **Eur J Neurosci.**;12(6):2097-106, 2000b.
- FRANKLIN, T.R; DRUHAN, J.P. Expression of Fos-related antigens in the nucleus accumbens and associated regions following exposure to a cocaine-paired environment. **Eur J Neurosci.**;12(6):2097-106, 2000.

- FRUSSA-FILHO R, PALERMO-NETO J. Effects of single and long-term administration of sulpiride on open-field and stereotyped behavior of rats. **Braz J Med. Biol. Res.**; 23(5):463-72, 1990.
- FUCHS RA, EVANS KA, PARKER MC, SEE RE. Differential involvement of the core and shell subregions of the nucleus accumbens in conditioned cue-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. **Psychopharmacology** (Berl). Nov;176(3-4):459-65, 2004a.
- FUCHS RA, EVANS KA, PARKER MP, SEE RE. Differential involvement of orbitofrontal cortex subregions in conditioned cue-induced and cocaine-primed reinstatement of cocaine seeking in rats. **J Neurosci**. Jul 21;24(29):6600-10, 2004b.
- FUKUSHIRO DF, ALVAREZ JDO N, TATSU JA, DE CASTRO JP, CHINEN CC, FRUSSA-FILHO R. Haloperidol (but not ziprasidone) withdrawal enhances cocaine-induced locomotor activation and conditioned place preference in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**.9;31(4):867-72. Epub Feb 6, 2007.
- FUKUSHIRO DF, BENETTI LF, JOSINO FS, OLIVEIRA GP, FERNANDES M, SAITO LP, UEHARA RA, WUO-SILVA R, OLIVEIRA CS, FRUSSA-FILHO R. Environmental novelty and illumination modify ethanol-induced open-field behavioral effects in mice. **Pharmacol Biochem Behav**. Mar;95(1):13-22, 2010.
- FUKUSHIRO DF, CARVALHO RDE C, RICARDO VP, ALVAREZ JDO N, RIBEIRO LT, FRUSSA-FILHO R. Haloperidol (but not ziprasidone) withdrawal potentiates sensitization to the hyperlocomotor effect of cocaine in mice. **Brain Res Bull**. Sep 30;77(2-3):124-8, 2008.
- FUTAMURA T, AKIYAMA S, SUGINO H, FORBES A, MCQUADE RD, KIKUCHI T. Aripiprazole attenuates established behavioral sensitization induced by methamphetamine. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**. Aug 16;34(6):1115-9, 2010.

- GALDURÓZ JC, CARLINI EA. Use of alcohol among the inhabitants of the 107 largest cities in Brazil-2001. **Braz J Med Biol Res.** Mar;40(3):367-75, 2007.
- GESSA, G. L.; MUNTONI, F. Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. **Brain Res.** 348(1): 201-203, 1985.
- GOEDERS, N.E.; KUHAR, M.J. Chronic cocaine administration induces opposite changes in dopamine receptors in the striatum and nucleus accumbens. **Alcohol Drug Res.** 7(4):207-16, 1987.
- GOLD, L.H.; SWERDLOW, N.R.; KOOB, G.F.: The role of mesolimbic dopamine in conditioned locomotion produced by amphetamine. **Behav Neurosci** 102:544-552, 1988.
- GOLDSTEIN RZ, VOLKOW ND. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. **Am J Psychiatry.** Oct;159(10):1642-52. Review, 2002.
- GRAHAME, N.J.; RYDELL, R.J.; LI, T-K.; LUMENG, L. Voluntary ethanol consumption induces sensitization to ethanol's locomotor activating effect in high alcohol-preferring mice. **Alcohol Clin. Exp. Res.**, 24(suppl): 16a, 2000.
- GRANT, S.; LONDON, E.D.; NEWLIN, D.B.; VILLEMAGNE, V.L.; XIANG, L.; CONTOREGGI, C.; PHILIPS, R.L.; KIMES, A.S.; MARGOLIN, A. Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *proc Natl Acad Sci USA*,; 93: 12040-12045, 1996.
- GRATTON, A.; WISE, R.A. Drug-and behavior-associated changes in dopamine-related electrochemical signals during intravenous cocaine self-administration in rats. **J Neurosci.**, 14:4130-4146, 1994.
- GRUNDER G, CARLSSON A, WONG DF. Mechanism of new antipsychotic medications: occupancy is not just antagonism. **Arch Gen Psychiatry.** 2003 Oct;60(10):974-7, 2003.
- GUAN XM, MCBRIDE WJ. Serotonin microinfusion into the ventral tegmental area increases accumbens dopamine release. **Brain Res Bull.** Dec;23(6):541-7, 1989.

- HAMON M, GOZLAN H, EL MESTIKAWY S, EMERIT MB, BOLAÑOS F, SCHECHTER L. The central 5-HT<sub>1A</sub> receptors: pharmacological, biochemical, functional, and regulatory properties. **Ann N Y Acad Sci.** 600:114-29; discussion 129-31, 1990.
- HAN, M.; HUANG, X.; DENG, C. Aripiprazole differentially affects mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic transmission: implications for long-term drug efficacy and low extrapyramidal side-effects. **International Journal of Neuropsychopharmacology.** v. 12, n. 7, p. 941-952, 2009.
- HAVERMANS, R. C.; JANSEN, A. T. M. Increasing the efficacy of cue exposure treatment in preventing relapse of addictive behavior. **Addictive Behaviors.** v.28, n. 5, p.989-994, 2003.
- HEDLUND L, WAHLSTRÖM G. Acute and long term effects of buspirone treatments on voluntary ethanol intake in a rat model of alcoholism. **Alcohol Clin Exp Res.** May;23(5):822-7, 1999.
- HEINZ A, LOBER S, GEORGI A, WRASE J, HERMANN D, REY ER, WELLEK S, MANN K. Reward craving and withdrawal relief craving: assesment of different motivational pathways to alcohol intake. **alcohol alcohol.** 38(1):35-39, 2003.
- HEINZ A, SIESSMEIER T, WRASE J, BUCHHOLZ HG, GRÜNDER G, KUMAKURA Y, Cumming P, Schreckenberger M, Smolka MN, Rösch F, Mann K, Bartenstein P. Correlation of alcohol craving with striatal dopamine synthesis capacity and D2/3 receptor availability: a combined [<sup>18</sup>F]DOPA and [<sup>18</sup>F]DMFP PET study in detoxified alcoholic patients. **Am J Psychiatry.** Aug;162(8):1515-20, 2005.
- HENRY D.J.; HU X.T.; WHITE F.J. Adaptations in the mesoaccumbens dopamine system resulting from repeated administration of dopamine D1 and D2 receptor-selective agonists: relevance to cocaine sensitization. **Psychopharmacology (Berl);** 140(2):233-42, 1998.

- HENRY, D.J.; WHITE, F.J. Repeated cocaine administration causes persistent enhancement of D<sub>1</sub> dopamine receptor sensitivity within the rat nucleus accumbens. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 258(3): 882-889, 1991.
- HERVÉ D, PICKEL VM, JOH TH, BEAUDET A. Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. **Brain Res. Dec** 1;435(1-2):71-83, 1987.
- HILDEBRANDT H, BROKATE B, HOFFMANN E, KRÖGER B, ELING P. Conditional responding is impaired in chronic alcoholics. **J Clin Exp Neuropsychol.** Jul;28(5):631-45., 2006.
- HIROSE T, UWAHODO Y, YAMADA S, MIWA T, KIKUCHI T, KITAGAWA H, BURRIS KD, ALTAR CA, NABESHIMA T. Mechanism of action of aripiprazole predicts clinical efficacy and a favourable side-effect profile. **J Psychopharmacol.** Sep;18(3):375-83, 2004.
- HOFFMAN PL, TABAKOFF B. Ethanol's action on brain biochemistry In: Tarter RE, Van Thiel DH (eds). Alcohol and the brain: chronic effects. New York : **Plenum Press**, New York, pp 19-68, 1985.
- HOFFMAN, D.C.; WISE, R.A. Locomotor-activating effects of the D2 agonist bromocriptine show environment-specific sensitization following repeated injections. **Psychopharmacology**, 107: 277-284, 1992.
- HOLLISTER LE. Drug treatment of schizophrenia. **Psychiatr Clin North Am.** 7(3):435-52. Review, 1984.
- IMPERATO A, DI CHIARA G. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. **J Pharmacol Exp Ther.** Oct;239(1):219-28, 1986.
- INGMAN K, HONKANEN A, HYYTIÄ P, HUTTUNEN MO, KORPI ER. Risperidone reduces limited access alcohol drinking in alcohol-preferring rats. **Eur J Pharmacol.** May 9;468(2):121-7, 2003.
- INOUE A, MIKI S, SETO M, KIKUCHI T, MORITA S, UEDA H, MISU Y, NAKATA Y. Aripiprazole, a novel antipsychotic drug, inhibits quinpirole-evoked GTPase

- activity but does not up-regulate dopamine D2 receptor following repeated treatment in the rat striatum. **Eur J Pharmacol.** Feb 19;321(1):105-11, 1997.
- JAFFE, J.H.; CASCELLA, N.G.; KUMOR, K.M.; SHERER, M.A. Cocaine-induced cocaine craving. **Psychopharmacol** 97:59-64, 1989.
- JANSEN A. A learning model of binge eating: cue reactivity and cue exposure. **Behav Res Ther.** 36(3):257-72, 1998.
- JERLHAG E. The antipsychotic aripiprazole antagonizes the ethanol- and amphetamine-induced locomotor stimulation in mice. **Alcohol.** 42(2):123-7, 2008.
- JOHANSON, C.E.; BALSTER, R.L. A summary of the results of a drug self-administration study using substitution procedures in rhesus monkeys. **Bull Narc.** 30(3):43-54, 1978.
- JOHANSON, C.E.; FISCHMAN, M.W. The pharmacology of cocaine related to its abuse. **Pharmacol. Rev.**, 41: 3-52, 1989.
- JOHANSON, C.E.; FISCHMAN, M.W. The pharmacology of cocaine related to its abuse. **Pharmacol. Rev.**, 41: 3-52, 1989.
- KALIVAS, P.W.; DUFFY, P. D<sub>1</sub> receptors modulate glutamate transmission in the ventral tegmental area. **J. Neurosci.**, 15(7 Pt 2): 5379-88, 1995.
- KALIVAS, P.W.; PIERCE R.C.; CORNISH, J.; SORG, B.A. A role for sensitization in craving and relapse in cocaine addiction. **J. Psychopharmacol.** 12(1):49-53, 1998.
- KALIVAS, P.W.; STEWART, J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Res. Rev.**, 16: 223-244, 1991.
- KAMEDA SR, FRUSSA-FILHO R, CARVALHO RC, TAKATSU-COLEMAN AL, RICARDO VP, PATTI CL, CALZAVARA MB, LOPEZ GB, ARAUJO NP, ABÍLIO VC, RIBEIRO RDE A, D'ALMEIDA V, SILVA RH. Dissociation of the effects of ethanol on memory, anxiety, and motor behavior in mice tested in

- the plus-maze discriminative avoidance task. **Psychopharmacology (Berl)**. May;192(1):39-48, 2007.
- KAPUR S, AGID O, MIZRAHI R, LI M. How antipsychotics work-from receptors to reality. **NeuroRx**. Jan;3(1):10-21, 2006.
- KAPUR S, REMINGTON G. Serotonin-dopamine interaction and its relevance to schizophrenia. **Am J Psychiatry**. 153(4):466-476, 1996.
- KAPUR S, SEEMAN P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics?: a new hypothesis. **Am J Psychiatry**. 158:360-369, 2001.
- KARLER, R.; CALDER, L.D.; CHAYDHRY, I.A.; TURKANIS, S.A. Blockade of "reverse tolerance" to cocaine and amphetamine by MK-801. **Life Sci.**, 45: 599-606, 1989.
- KASVIKIS, Y., BRADLEY, B., POWELL, J., MARKS, I. & GRAY, J. A. Postwithdrawal exposure treatment to prevent relapse in opiate addicts: a pilot study. **International Journal of Addictions**, 26, 1187–1195, 1991.
- KELAMANGALATH L, WAGNER JJ. Effects of abstinence or extinction on cocaine seeking as a function of withdrawal duration. **Behav Pharmacol**. Mar;20(2):195-203, 2009.
- KENNA GA, MCGEARY JE, SWIFT RM. Pharmacotherapy, pharmacogenomics, and the future of alcohol dependence treatment, Part 2. **Am J Health Syst Pharm**. 2004 Nov 15;61(22):2380-8, 2004.
- KENNA GA, MCGEARY JE, SWIFT RM. Pharmacotherapy, pharmacogenomics, and the future of alcohol dependence treatment, part 1. **Am J Health Syst Pharm**. Nov 1;61(21):2272-9, 2004a.
- KENNA, GA. Rationale for use of aripiprazole for alcohol dependence treatment. **Drugs Future** 28: 1227–1235, 2003.
- KLEVEN, M.S.; PERRY, B.D.; WOOLVERTON, W.L.; SEIDEN, L.S. Effects of repeated injections of cocaine on D1 and D2 dopamine receptors in rat brain. **Brain Res**. 5;532(1-2):265-70, 1990.

- KONRADI C.; LEVEQUE J.C.; HYMAN S.E. Amphetamine and dopamine-induced immediate early gene expression in striatal neurons depends on postsynaptic NMDA receptors and calcium. **J. Neurosci.** 16:4231–39, 1996.
- KOOB, G. F. AND N. D. VOLKOW. Neurocircuitry of addiction. **Neuropsychopharmacology** 35(1): 217-238, 2010.
- KOOB, G. F. Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, antireward, and emotional memory. **Pharmacopsychiatry** 42 Suppl 1: S32-41, 2009.
- KOOB; G.F.; Neurobiology of addiction. Toward the development of new therapies. **Ann N Y Acad Sci.** 909:170-185, 2000.
- KORNETSKY C, ESPOSITO RU. Euphorogenic drugs: effects on the reward pathways of the brain. **Fed Proc.** 38(11):2473-6, 1979.
- KOSTEN TA, NESTLER EJ. Clozapine attenuates cocaine conditioned place preference. **Life Sci.**55(1):PL9-14, 1994.
- KOSTEN, T.R.; GAWIN, F.H.; ROUNSAVILLE, B.J.; KLEBER H.D. Abuse of cocaine with opioids: psychological aspects of treatment. **NIDA Res Monogr.**;67:278-82, 1986.
- KUCZENSKI, R. & LEIGHT, N.J. – Chronic amphetamine: Is dopamine a link or a mediator of the development of tolerance and reverse tolerance? **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 15:405-413, 1981.
- KUNKO, P.M.; FRENCH, D.; IZENWASSER, S. Alterations in locomotor activity during chronic cocaine administration: effect on dopamine receptors and interaction with opioids. **J.Pharmacol. Exp. Ther**; 285(1):277-84, 1998.
- KURIBARA H., TADOKORO S. Effects of YM-09151-2, a potent and selective dopamine D2 antagonist, on the ambulation-increasing effect of methamphetamine in mice. **Jpn J. Pharmacol.**;52(3):489-92, 1990.
- KURIBARA H., UCHIHASHI Y. Dopamine Antagonists Can Inhibit Methamphetamine Sensitization, But Not Cocaine Sensitization, When Assessed by Ambulatory Activity in Mice. **J. Pharm. Pharmacol.**, 45: 1042-1045, 1993.

- KURIBARA, H. AND UCHIHASHI Y. Effects of dopamine antagonism on methamphetamine sensitization: evaluation by ambulatory activity in mice, pharmacol. **Biochem. Behav.** 47, 101, 1994.
- KURIBARA, H. Modification of Cocaine sensitization by Dopamine D1 and D2 Receptor Antagonists In Terms of Ambulation in Mice. **Pharmacology Biochemistry and behavior.** 51; (4):799-805, 1995a.
- KURIBARA, H. Modification of morphine sensitization by opioid and dopamine receptor antagonists: evaluation by studying ambulation in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, 275: 251-258, 1995b.
- LACERDA RB. Efeitos ansiolítico e excitatório do etanol administrado aguda ou cronicamente a camundongos: um estudo da variabilidade individual. São Paulo, [Tese – Doutorado - UNIFESP, Escola Paulista de Medicina], 1996.
- LARANJEIRA R, PINSKY I, SANCHES M, ZALESKI M, CAETANO R. Alcohol use patterns among Brazilian adults. **Rev Bras Psiquiatr.** Sep;32(3):231-41, 2010.
- LARANJEIRA R. Drugs legalization and public health. **Cien Saude Colet.** May;15(3):621-31, 2010.
- LATTAL KM. Effects of ethanol on encoding, consolidation, and expression of extinction following contextual fear conditioning. **Behav Neurosci.** Dec;121(6):1280-92, 2007.
- LAURIER, L.G.; CORRIGALL, W.A.; GEORGE, S.R. Dopamine receptor density, sensitivity and mRNA levels are altered following self-administration of cocaine in the rat. **Brain Res.** 14;634(1):31-40, 1994.
- LÊ AD, TOMKINS D, HIGGINS G, QUAN B, SELLERS EM. Effects of 5-HT<sub>3</sub>, D1 and D2 receptor antagonists on ethanol- and cocaine-induced locomotion. **Pharmacol Biochem Behav.** May-Jun;57(1-2):325-32, 1997.
- LEITE JV, GUIMARÃES FS, MOREIRA FA. Aripiprazole, an atypical antipsychotic, prevents the motor hyperactivity induced by psychotomimetics and psychostimulants in mice. **Eur J Pharmacol.** Jan 14;578(2-3):222-7, 2008.

- LESSOV CN, PALMER AA, PHILLIPS TJ. Voluntary ethanol drinking in C57BL/6J and DBA/2J mice before and after sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol. **Psychopharmacology**. 155:91-99, 2001.
- LESSOV CN, PHILLIPS TJ. Duration of sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol in mice. **Psychopharmacology** (Berl). Feb;135(4):374-82, 1998.
- LEYTON, M.; CASEY K.F.; DELANEY, J.S.; KOLIVAKIS, T. BENKELFAT, C. Cocaine craving, euphoria, and self-administration: a preliminary study of the effect of catecholamine precursor depletion. **Behav Neurosci**. 2005.
- LI M, HE W, MEAD A. Olanzapine and risperidone disrupt conditioned avoidance responding in phencyclidine-pretreated or amphetamine-pretreated rats by selectively weakening motivational salience of conditioned stimulus. **Behav Pharmacol**. Feb;20(1):84-98, 2009.
- LILE JA, STOOPS WW, VANSICKEL AR, GLASER PE, HAYS LR, RUSH CR. Aripiprazole attenuates the discriminative-stimulus and subject-rated effects of D-amphetamine in humans. **Neuropsychopharmacology**. Nov;30(11):2103-14, 2005.
- LUCAS G, SPAMPINATO U. Role of striatal serotonin2A and serotonin2C receptor subtypes in the control of in vivo dopamine outflow in the rat striatum. **J Neurochem**. Feb;74(2):693-701, 2000.
- LUDWIG, A.M.; WIKLER, A.; STARK L.H. The first drink: psychobiological aspects of craving. **Arch Gen Psychiatry**. Apr;30(4):539-47, 1974.
- MAMO, D., GRAFF, A., MIZRAHI, R., SHAMMI, C.M., ROMEYER, F., KAPUR, S. Differential effects of Aripiprazole on D2, 5-HT2, and 5-HT1A receptor occupancy in patients with schizophrenia: A triple tracer PET study. **Am. J. Psychiatry** 164, 1411–1417, 2007.
- MARTINEZ, D., GIL, R. Alcohol dependence is associated with blunted dopamine transmission in the ventral striatum. **Biol Psychiatry** 58(10): 779-786, 2005.

- MARTINOTTI G, DI NICOLA M, JANIRI L. Efficacy and safety of aripiprazole in alcohol dependence. **Am J Drug Alcohol Abuse**. 33(3):393-401, 2007.
- MARTINOTTI, G.; NICOLA, M. D.; GIANNANTONIO, M. D.; JANIRI, L. Aripiprazole in the treatment of patients with alcohol dependence: a double-blind, comparison trial vs. naltrexone. **Journal of Psychofarmacology**. v. 23 n. 123, p. 123-129, 2009.
- MASON, S.L. & REYNOLDS, G.P. Clozapine has sub-micromolar affinity for 5-HT<sub>1A</sub> receptors in human brain tissue. **Eur. J. Pharmacol**. 221(2-3):397-8, 1992.
- MASUR J, SOUZA MLO, ZWICKER AP. The excitatory effect of ethanol: absence in rats, no tolerance and increased sensitivity in mice. **Pharmacol Biochem Behav**. 24:1225-1228, 1986.
- MATTINGLY B.A., ROWLETT J.K., GRAFF J.T., HATTON B.J. Effects of selective D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine antagonists on the development of behavioral sensitization to apomorphine. **Psychopharmacology** (Berl).;105(4):501-7, 1991.
- MATTINGLY, B.A., ROWLETT, J.K., ELLISON, T., RASE, K. Cocaine-induced behavioral sensitization: effects of haloperidol and SCH 23390 treatments. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 53:481-486, 1995.
- MATTINGLY, B.A.; HART, T.C.; LIM, K.; PERKINS, C. Selective antagonism of dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors does not block the development of behavioral sensitization to cocaine. **Psychopharmacology**, 114: 239-242, 1994.
- MATTO M, LAUTE MA, PANDOLFO M. Depression of extra-cellular GABA and increase of NMDA-induced nitric oxide following acute intra-nuclear administration of alcohol in the cerebellar nuclei of the rat. **Cerebellum**. 4(4):230-8, 2005.
- MCKEON A, FRYE MA, DELANTY N. The alcohol withdrawal syndrome. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**. 79(8):854-862, 2008.

- MCMILLEN BA. Comparative chronic effects of buspirone or neuroleptics on rat brain dopaminergic neurotransmission. **J Neural Transm.** 64(1):1-12, 1995.
- MEERT TF. Effects of various serotonergic agents on alcohol intake and alcohol preference in Wistar rats selected at two different levels of alcohol preference. **Alcohol Alcohol.** Mar;28(2):157-70, 1993.
- MEIL WM, SCHECHTER MD. Olanzapine attenuates the reinforcing effects of cocaine. **Eur J Pharmacol.** Dec 4;340(1):17-26, 1997.
- MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H.; BREE, M.P.; LUKAS, S.E. Buprenorphine suppresses cocaine self-administration by rhesus monkeys. **Science**, 245: 859-862, 1989.
- MEREU, G.; F. FADDA, et al. Ethanol stimulates the firing rate of nigral dopaminergic neurons in unanesthetized rats. **Brain Res** 292(1): 63-69, 1984.
- MEYER, J. S.; QUENZER, L. F. Psychopharmacology: drugs, the brain, and behavior. **Sunderland: Sinauer Associates**, p. 232-237, 2005.
- MIYAMOTO, S.; DUNCAN, G.E.; GOFF, D.C.; LIEBERMAN, J.A. Therapeutics of schizophrenia. IN: Davis KL, Charney D., Coyle JT, Nemeroff C., editors. **Neuropsychopharmacology:5<sup>th</sup>**. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 755-807, 2002.
- MONTGOMERY C, ASHMORE KV, JANSARI A. The effects of a modest dose of alcohol on executive functioning and prospective memory. **Hum Psychopharmacol.** May 3. doi: 10.1002/hup.1194, 2011.
- MOORE, R.J.; VINSANT, S.L.; NADER, M.A.; PORRINO, L.J.; FRIEDMAN, D.P. Effect of cocaine self-administration on dopamine D2 receptors in rhesus monkeys. **Synapse**;30(1):88-96, 1998.
- MORIKAWA, H. AND R. A. MORRISETT. Ethanol action on dopaminergic neurons in the ventral tegmental area: interaction with intrinsic ion channels and neurotransmitter inputs. **Int Rev Neurobiol** 91: 235-288, 2010.

- MULLER C.P., HUSTON J.P. Determining the region-specific contributions of 5HT receptors to the psychostimulant effects of cocaine. **Pharmacological Sciences** , 2006.
- NAKAI S, HIROSE T, UWAHODO Y, IMAOKA T, OKAZAKI H, MIWA T, NAKAI M, YAMADA S, DUNN B, BURRIS KD, MOLINOFF PB, TOTTORI K, ALTAR CA, KIKUCHI T. Diminished catalepsy and dopamine metabolism distinguish aripiprazole from haloperidol or risperidone. **Eur J Pharmacol.** Jul 4;472(1-2):89-97, 2003.
- NAPIÓRKOWSKA-PAWLAK D, MALINOWSKA B, PAWLAK R, BUCZKO W, GÖTHERT M. Attenuation of the acute amnestic effect of ethanol by ifenprodil: comparison with ondansetron and dizocilpine. **Fundam Clin Pharmacol.** Mar-Apr;14(2):125-31. 2000.
- NATESAN, S., RECKLESS, G.E., NOBREGA, J.N., FLETCHER, P.J., KAPUR, S. Dissociation between in vivo occupancy and functional antagonism of dopamine D2 receptors: comparing aripiprazole to other antipsychotics in animal models. **Neuropsychopharmacology** 31, 1854–1863, 2006.
- NEISEWANDER, J.L.; BAKER, D.A.; FUCHS, R.A.; TRAN-NGUYEN, L.T.; PALMER, A.; MARSHALL, J.F.: Fos protein expression and cocaine-seeking behavior in rats after exposure to a cocaine self-administration environment. **J Neurosci** 20:798-805, 2000.
- NESTLER, E.J. Is there a common molecular pathway for addiction? **Nature Neuroscience**, v. 8, p. 1445-1449, 2005.
- NESTLER, E.J. Transcriptional mechanisms of addiction: role of Delta-FosB. **Review Phil. Trans. R. Soc. B:** 363, 3245–3255, 2008.
- NEWLIN D.B. A comparison of drug conditioning and craving for alcohol and cocaine. **Recent Dev Alcohol.**10:147-64, Review, 1992.
- NIAURA R, ABRAMS DB, SHADEL WG, ROHSENOW DJ, MONTI PM, SIROTA AD. Cue exposure treatment for smoking relapse prevention: a controlled clinical trial. **Addiction.** May;94(5):685-95, 1999.

- O'BRIEN C.P., CHILDRESS A.R., MCLELLAN AT, EHRMAN R. Classical conditioning in drug-dependent humans. **Ann N Y Acad** 654:400-415, 1992.
- O'BRIEN, C. P., CHILDRESS, A. R., MCCLELLAN, T., & EHRMAN, R. Integrating systematic cue exposure with standard treatment in recovering drug dependent patients. **Addictive Behaviors**, 15, 355–365, 1990.
- O'BRIEN CP. Experimental analysis of conditioning factors in human narcotic addiction. **Pharmacol Rev.** Dec;27(4):533-43, 1976.
- O'BRIEN J, SUTHERLAND RJ. Evidence for episodic memory in a pavlovian conditioning procedure in rats. *Hippocampus*. 17(12):1149-52, 2007.
- OHLSSEN, R.I.; PILOWSKY, L.S. The place of partial agonism in psychiatry: recent developments. **J Psychopharmacol.** 19(4):408-13, 2005.
- OLIVEIRA-LIMA, A.J. Efeitos de uma estratégia de “contra-condicionamento” sobre a sensibilização comportamental induzida por cocaína. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Curso de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2006.
- OLIVEIRA-LIMA, A.J.; MARINHO, E.A.V.; WUO-SILVA, R.; SANTOS, R. BALDAIA, M.A.; FERREIRA, L.A.; OLIVEIRA, N.D.; SILVA, F.W.; FERNANDES, H.A.; HOLLAIS, A.W.; SOUSA, P.B.; MELO, C.M.; FRUSSA-FILHO, R. Comparison among neuroleptic generations in inhibiting spontaneous and cocaine-induced locomotor activity in mice. **21<sup>st</sup> ECNP Congress.** Barcelona – Spain, 2008.
- PANLILIO, L.V.; YASAR, S.; NEMETH-COSLETT, R.; KATZ, J.L; HENNINGFIELD, J.E.; SOLINAS, M.; HEISHMAN, S.J.; SCHINDLER, C.W.; GOLDBERG, S.R. Human cocaine-seeking behavior and its control by drug-associated stimuli in the laboratory. **Neuropsychopharmacology.** Feb;30(2):433-43., 2005
- PARK HJ, CUI FJ, HWANG JY, KANG UG. Effects of clozapine on behavioral sensitization induced by cocaine. *Jan 30;175(1-2):165-70. Psychiatry Res.* 2010

- 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**, 104: 140-141, 1990.
- PAVLOV, I.P. Conditioned reflex. **New York**: International Publications;1927.
- PEOPLES, W.; LI, C.; WEIGHT, F. F. Lipid vs protein theories of alcohol action in the nervous system. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.** 36, 185–201 , 1996.
- PERT, M. Conditioning as a critical determinant of sensitization induced by psychostimulants. **NIDA Res. Mono Series**, 97: 208-240, 1990.
- PHILLIPS TJ, SHEN EH. Neurochemical bases of locomotion and ethanol stimulant effects. **Int Rev Neurobiol.** 39:243-82. Review, 1996.
- PHILLIPS, T.J.; ROBERTS, A.J.; LESSOV, C.N. Behavioral sensitization to ethanol: genetics and the effects of stress. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 57: 487-493, 1997.
- PIAZZA, P.V.; DEMINIÈRE, J.M.; LE MOAL, M.; SIMON, H. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. **Science**, 245: 1511-1513, 1989.
- PIERCE, R.C.; KUMARESANA, V. The mesolimbic dopamine system: The final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.** v.30, p.215-238, 2006.
- PRAKASH A, DAS G. Cocaine and the nervous system. **Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol.**; 31(12):575-81, 1993.
- QUEIROZ CM, FRUSSA-FILHO R. Effects of buspirone on dopaminergic supersensitivity. **Life Sci.** 61(4):371-82, 1997.
- REIMER A.R ., MARTIN-IVERSON M.T . Nimodipine and haloperidol attenuate behavioural sensitization to cocaine but only nimodipine blocks the establishment of conditioned locomotion induced by cocaine. **Psychopharmacology (Berl).**;113(3-4:404-10,1994.

- REZAYOF A, ZARRINDAST MR, SAHRAEI H, HAERI-ROHANI AH. Involvement of dopamine D2 receptors of the central amygdala on the acquisition and expression of morphine-induced place preference in rat. **Pharmacol Biochem Behav.** Dec;74(1):187-97, 2002.
- RISINGER FO, DICKINSON SD, CUNNINGHAM CL. Haloperidol reduces ethanol-induced motor activity stimulation but not conditioned place preference. **Psychopharmacology (Berl).** 107(2-3):453-6, 1992.
- ROBBINS, T.W.; EVERITT, B.J. Drug addiction: bad habits add up. **Nature.** v.398, p.567-570, 1999.
- ROBINSON TE, BERRIDGE KC. Addiction. **Annu Rev Psychol.** 54:25-53. Jun 10. Review, 2003.
- ROBINSON TE, BERRIDGE KC. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.** Oct 12;363(1507):3137-46. Review, 2008.
- ROBINSON, E. T.; BERRIDGE, C. K. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. **Brain Res.** v. 18, p. 247-291, 1993.
- ROBINSON, T.E.; BECKER, J.B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res. Rev.**, 11: 157-198, 1986.
- RON, D.; JURD, R. The "ups and downs" of signaling cascades in addiction. **Sciences's STKE**, v. 14, 2005.
- ROSSETTI ZL, HMAIDAN Y, GESSA GL. Marked inhibition of mesolimbic dopamine release: a common feature of ethanol, morphine, cocaine and amphetamine abstinence in rats. **Eur. J. Pharmacol.** 221(2-3):227-234, 1992.
- RUPNIAKI, N.M.; HALL, M.D.; MANN, S.; FLEMINGER, S.; KILPATRICK, G.; JENNER, P.; MARSDEN, C.D. Chronic treatment with clozapine, unlike

- haloperidol, does not induce changes in striatal D-2 receptor function in the rat. **Biochem. Pharmacol.**, 34: 2755 – 2763, 1985.
- RUPNIAKI, N.M.; KILPATRICK, G.; HALL, M.D.; JENNER, P.; MARSDEN, C.D. Differential alterations in striatal dopamine receptor sensitivity induced by repeated administration for clinically equivalent doses of haloperidol, sulpiride or clozapine in rats. **Psychopharmacology**, 34: 2755 – 2763, 1984.
- RYABININ AE. Role of hippocampus in alcohol-induced memory impairment: implications from behavioral and immediate early gene studies. **Psychopharmacology** (Berl). Sep;139(1-2):34-43, 1998.
- SALLER, C.F.; CZUPRYNA, M.J.; SALAMA, A.I. 5-HT<sub>2</sub> receptor blockade by ICI 169,369 and other 5-HT<sub>2</sub> antagonists modulates the effects of D-2 dopamine receptor blockade. **J Pharmacol Exp. Ther.**, 253:1162, 1990.
- SATO M (1992) A lasting vulnerability to psychosis in patients with previous methamphetamine psychosis. **Ann NY Acad Sci** 654: 160–170, 1992.
- SATO M, CHEN CC, AKIYAMA K, OTSUKI S (1983) Acute exacerbation of paranoid psychotic state after long-term abstinence in patients with previous methamphetamine psychosis. **Biol Psychiatry** 18: 429–440, 1983.
- SCHENK, S.; VALADEZ, A.; MC NAMARA, C. Development and expression of sensitization to cocaine's reinforcing properties: role of NMDA receptors. **Psychopharmacology**, 111: 332-338, 1993.
- SCHMIDT, A.W.; LEBEL, L.A.; HOWARD, H.R. JR, ZORN, S.H. Ziprasidone: a novel antipsychotic agent with a unique human receptor binding profile. **Eur J Pharmacol.** 17;425(3):197-201, 2001.
- SCHMIDT, C.J.; FADAYEL, G.M.; SULLIVAN, C.K.; TAYLOR, V.L. 5-HT<sub>2</sub> receptors exert a state-dependent regulation of dopaminergic function: studies with MDL 100,907 and the amphetamine analogue, 3,4-methylenedioxymethamphetamine. **Eur. J. Pharmacol**; 223(1):65-74, 1992.
- SCHOENBAUM G, SHAHAM Y. The role of orbitofrontal cortex in drug addiction: a review of preclinical studies. **Biol Psychiatry.** 1;63(3):256-62, 2008.

- SCHULTZ, W. Neural coding of basic reward terms of animal learning theory, game theory, microeconomics and behavioural ecology. **Curr. Opin. Neurobiol.** v.14, p. 139-147, 2004.
- SEE RE, FUCHS RA, LEDFORD CC, MCLAUGHLIN J. Drug addiction, relapse, and the amygdala. **Ann N Y Acad Sci.** Apr;985:294-307. Review, 2003.
- SEE RE, KRUZICH PJ, GRIMM JW. Dopamine, but not glutamate, receptor blockade in the basolateral amygdala attenuates conditioned reward in a rat model of relapse to cocaine-seeking behavior. **Pharmacology (Berl).** Mar;154(3):301-10, 2001.
- SEEGER, T.F.; SEYMOUR, P.A.; SCHMIDT, A.W.; ZORN, S.H.; SCHULZ, D.W.; LEBEL, L.A.; MCLEAN, S.; GUANOWSKY, V.; HOWARD, H.R.; LOWE, J.A.  
3. <sup>RD</sup> Ziprasidone (CP-88,059): a new antipsychotic with combined dopamine and serotonin receptor antagonist activity. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 275(1): 101-113, 1995.
- SEGAL, D.S; KELLY, P.; ROBERTS, D.C.S. Catecholamines: Basic and clinical frontiers. **Pergamon Press**, 2: 1672-1674, 1979.
- SHAHAM Y, SHALEV U, LU L, DE WIT H, STEWART J. The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. **Psychopharmacology** (Berl;168(1-2):3-20. Epub. Review., 2002.
- SIBLEY, D. R.; MONSMA, F. J. J. & SHEN, Y . Molecular neurobiology of dopaminergic receptors. **Int. Rev. Neurobiol.** 35, 391-415, 1993.
- SILVEIRA CM, VIANA MC, SIU ER, DE ANDRADE AG, ANTHONY JC, ANDRADE LH. Sociodemographic correlates of transitions from alcohol use to disorders and remission in the São Paulo megacity mental health survey, Brazil. **Alcohol Alcohol.** May-Jun;46(3):324-32, 2011.
- SORENSEN, G.; SAGER, T. N.; PETERSEN, J. H.; BRENNUM, L. T.; THOGERSEN, P.; BENGTSSEN, C. H.; THOMSEN, M.; WORTWEIN, G.; FINK-JENSEN, A.; WOLDBYE, D. P. Aripiprazole blocks acute self-administration of cocaine and is not self-administered in mice. **Psychopharmacology.** v. 199, n1,p.37-46, 2008.

- SOUSA, F.C.; GOMES, P.B.; MACEDO, D.S.; MARINHO, M.M.; VIANA, G.S. Early withdrawal from repeated cocaine administration upregulates muscarinic and dopaminergic D2-like receptors in rat neostriatum. **Pharmacol. Biochem. Behav.**;62(1):15-20, 1999.
- SOUZA-FORMIGONI ML, DE LUCCA EM, HIPÓLIDE DC, ENNS SC, OLIVEIRA MG, NÓBREGA JN. Sensitization to ethanol's stimulant effect is associated with region-specific increases in brain D2 receptor binding. **Psychopharmacology** (Berl). Oct;146(3):262-7, 1999.
- STAHL, S. M. Essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications. **3. ed. Nova York: Cambridge University Press, 2008.**
- STANWOOD, G.D.; LUCKI, I.; MCGONIGLE, P. Differential regulation of dopamine D2 and D3 receptors by chronic drug treatments. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** Dec;295(3):1232-40, 2000.
- STOOPS WW. Aripiprazole as a potential pharmacotherapy for stimulant dependence: human laboratory studies with d-amphetamine. **Exp Clin Psychopharmacol**, Nov;14(4):413-21, 2006.
- TARAZI, F.I.; ZHANG, K.; BALDESSARINI, R.J. Long-term effects of olanzapine, risperidone, and quetiapine on dopamine receptor types in regions of rat brain: implications for antipsychotic drug treatment. **J Pharmacol Exp Ther.** May;297(2):711-7, 2001.
- TARAZI, F.I.; ZHANG, K.; BALDESSARINI, R.J. Long-term effects of olanzapine, risperidone, and quetiapine on dopamine receptor types in regions of rat brain: implications for antipsychotic drug treatment. **J Pharmacol Exp Ther.** May;297(2):711-7, 2001.
- TASSIN, JP. Uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons as a molecular basis of stable changes in behavior induced by repeated drugs of abuse. **Biochem Pharmacol.**: Jan 1;75(1):85-97. 2008.
- TELLA SR. Differential blockade of chronic versus acute effects of intravenous cocaine by dopamine receptor antagonists. **Pharmacol Biochem Behav.** May;48(1):151-9, 1994.

- THIEL KJ, SANABRIA F, PENTKOWSKI NS, NEISEWANDER JL. Anti-craving effects of environmental enrichment. **Int J Neuropsychopharmacol.** Oct;12(9):1151-6. Epub 2009 Aug 20, 2009.
- THRASHER MJ, FREEMAN PA, RISINGER FO. Clozapine's effects on ethanol's motivational properties. **Alcohol Clin Exp Res.** Aug;23(8):1377-85, 1999.
- TIIHONEN J, KUOPPASALMI K, FÖHR J, TUOMOLA P, KUIKANMÄKI O, VORMA H, SOKERO P, HAUKKA J, MERIRINNE E. A comparison of aripiprazole, methylphenidate, and placebo for amphetamine dependence. **Am J Psychiatry.** Jan;164(1):160-2, 2007.
- UJIKE, H.; ONONE, T.; AKIYAMA, K.; HAMAMURA, T.; OTSAKI, S. Effects of selective D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine antagonists on development of methamphetamine-induced behavioral sensitization. **Psychopharmacology**, 98: 89-92, 1989.
- UNODOC. Relatório mundial sobre drogas WDR 2009. **Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNODC)**, 2010.
- UZUN S, KOZUMPLIK O, MIMICA N, FOLNEGOVIĆ-SMALC V. Aripiprazole: an overview of a novel antipsychotic. **Psychiatr Danub.**Jun;17(1-2):67-75, 2005.
- VALENZUELA, C.F. & HARRIS, R.A. – IN: LOWINSON, J.H; RUIA, P.; MILLMAN, R.B.; LANGROD, J.G. (EDS). **Substance Abuse, Third Edition, Baltimore, Maryland, USA**, pp 119-142, 1997.
- VALJENT, E., J. BERTRAN-GONZALEZ, et al. Mechanisms of locomotor sensitization to drugs of abuse in a two-injection protocol. **Neuropsychopharmacology** 35(2): 401-415, 2010.
- VANDERSCHUREN LJ, KALIVAS PW. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. **Psychopharmacology (Berl).** Aug;151(2-3):99-120, 2000.

- VASCONCELOS SM, CAVALCANTE RA, AGUIAR LM, SOUSA FC, FONTELES MM, VIANA GS. Effects of chronic ethanol treatment on monoamine levels in rat hippocampus and striatum. **Braz. J. Med. Biol. Res.** 37(12):1839-1846, 2004.
- VENGELIENE V, BILBAO A, MOLANDER A, SPANAGEL R. Neuropharmacology of alcohol addiction. **Br J Pharmacol.** May;154(2):299-315. Mar 3, 2008.
- 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.** Oct 9;499(1):108-20, 1989.
- VEZINA, P.; LEYTON, M. Conditioned cues and the expression of stimulant sensitization in animals and humans. **Neuropharmacology.** Suppl 1:160-8, 2009.
- VOLKOW ND, FOWLER JS. Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. **Cereb Cortex.** Mar;10(3):318-25. Review, 2000.
- VOLKOW, N. D.; J. S. FOWLER. Dopamine in drug abuse and addiction: results of imaging studies and treatment implications. **Arch Neurol** 64(11): 1575-1579, 2007.
- VOLKOW, N.D.; FOWLER, J.S.; WANG, G.J., GOLDSTEIN, R.Z. Role of dopamine, the frontal cortex and memory circuits in drug addiction: insight from imaging studies. **Neurobiol Learn Mem**;78(3):610-24, 2002.
- VOLKOW, N.D.; FOWLER, J.S.; WANG, G.J.; SWANSON, J.M. Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. **Mol Psychiatry** 9(6):557-69. Review, 2004.
- VOLKOW, N.D.; WANG, G.J.; TELANG, F.; FOWLER, J.S.; LOGAN, J.; CHILDRESS, A.R.; JAYNE, M.; MAY; WONG, C. Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. **J Neurosci.** 2006 Jun 14;26(24):6583-8. Erratum in: **J Neurosci.** Jul 5;26(27):table of contents., 2006

- WADDINGTON JL. New antipsychotic drugs preclinical evaluation and clinical profiles in the treatment of schizophrenia. In: Reveley MA and Deakin JFW. The psychopharmacology of schizophrenia. **London Arnold**. Pp. 225-50, 2000.
- WALKER BM, RASMUSSEN DD, RASKIND MA, KOOB GF. alpha1-noradrenergic receptor antagonism blocks dependence-induced increases in responding for ethanol. **Alcohol**. Mar;42(2):91-7, 2008.
- WALLIS, J.D. Neuronal Mechanisms in prefrontal cortex underlying adaptive choice behavior. **Ann N Y Acad Sci**. 1121:447-60, 2007.
- WANDER, T.J.; NELSON, A.; OKAZAKI, H.; RICHELSON, E. Antagonism by neuroleptics of serotonin 5-HT1A and 5-HT2 receptors of normal human brain in vitro. **Eur. J. Pharmacol.**, 143(2):279-82, 1987.
- WEISS F, ETTEMBERG A, KOOB GF. CCK-8 injected into the nucleus accumbens attenuates the supersensitive locomotor response to apomorphine in 6-OHDA and chronic-neuroleptic treated rats. **Psychopharmacology (Berl)** ;99(3):409-15, 1989.
- WEISS, F.; PARSONS, L. H. Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. **J Neurosci** 16(10): 3474-3485, 1996.
- WEISS, F.; PARSONS, L. H. Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. **J Neurosci** 16(10): 3474-3485, 1996.
- WILMOT CA, SZCZEPANIK AM. Effects of acute and chronic treatments with clozapine and haloperidol on serotonin (5-HT2) and dopamine (D2) receptors in the rat brain. **Brain Res**. May 22;487(2):288-98, 1989.
- WINANS E. **Aripiprazole**. **Am J Health Syst Pharm**. Dec 1;60(23):2437-45, 2003.
- WISE, R.A. The neurobiology of craving: implications for the understanding and treatment of addiction. **J Abnorm Psychol** 97(2):118-32, 1988.

- WOLF, M.E.; WHITE, F.J.; NASSAR, R.; BROODERSON, R.J.; KANSA, M.R. Differential development of auto-receptor subsensitivity and enhanced dopamine release during amphetamine sensitization. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 264(1): 249-255, 1993.
- WOZNIAK KM, PERT A, LINNOILA M. Antagonism of 5-HT<sub>3</sub> receptors attenuates the effects of ethanol on extracellular dopamine. **Eur J Pharmacol.** Oct 9;187(2):287-9, 1990.
- XIAO C, ZHANG J, KRNJEVI K, YE JH. Effects of ethanol on midbrain neurons: role of opioid receptors. **Alcohol Clin Exp Res** Jul;31(7):1106-13, 2007.
- YOKOI F, GRÜNDER G, BIZIERE K, STEPHANE M, DOGAN AS, DANNALS RF, RAVERT H, SURI A, BRAMER S, WONG DF. Dopamine D<sub>2</sub> and D<sub>3</sub> receptor occupancy in normal humans treated with the antipsychotic drug aripiprazole (OPC 14597): a study using positron emission tomography and [<sup>11</sup>C]raclopride. **Neuropsychopharmacology** ;27(2):248-59, 2002.
- ZHANG C, FANG Y, LI M. Olanzapine and risperidone disrupt conditioned avoidance responding by selectively weakening motivational salience of conditioned stimulus: further evidence. **Pharmacol Biochem Behav.** Mar;98(1):155-60, 2011.
- ZOCCHI A, FABBRI D, HEIDBREDEDER CA. Aripiprazole increases dopamine but not noradrenaline and serotonin levels in the mouse prefrontal cortex. **Neurosci Lett.** 28;387(3):157-61, 2005.