

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Estudo dos componentes farmacológico e condicionado da sensibilização
comportamental induzida por morfina em camundongos Swiss**

Thaís Fernanda Trombin

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas

Uberlândia - MG

Julho - 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Estudo dos componentes farmacológico e condicionado da sensibilização
comportamental induzida por morfina em camundongos Swiss**

Thaís Fernanda Trombin

Ana Angélica Almeida Barbosa

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Uberlândia - MG
Julho - 2005

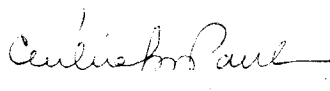
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Estudo dos componentes farmacológico e condicionado da sensibilização
comportamental induzida por morfina em camundongos Swiss**

Thaís Fernanda Trombin

Ana Angélica Almeida Barbosa
Instituto de Biologia

Homologado pela coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em 27/02/05



Cecília Lomônaco de Paula
Coordenadora do curso

Uberlândia – MG
Julho – 2005

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Estudo dos componentes farmacológico e condicionado da sensibilização
comportamental induzida por morfina em camundongos Swiss**

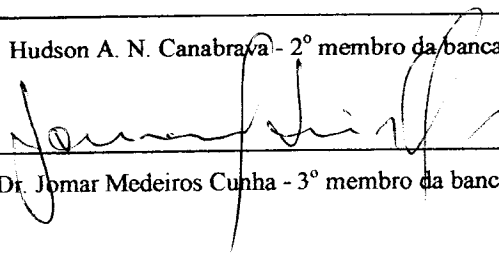
Thaís Fernanda Trombin

Aprovado pela Banca Examinadora em 07/07/05 Nota ...



Ana Angélica Barbosa
Presidente da Banca Examinadora

Dr. Hudson A. N. Canabrava - 2º membro da banca examinadora



Dr. Jomar Medeiros Cunha - 3º membro da banca examinadora

Uberlândia, 07 de Julho de 2005.

Dedico este trabalho à Deus que me presenteou com o dom da vida, que me ajudou demasiadamente a superar a distância dos meus entes queridos durante a pesquisa. Além de ter me proporcionado esta oportunidade. Aos meus pais pela compreensão e financiamento dos meus custos. À Dra. Benvinda dos Santos que abriu minha mente ao estudo de drogas de abuso. Aos meus irmãos, Maria Cláudia e Vinícius, e aos meus cunhados que tanto me estimularam à pesquisa. Ao meu namorado que compreendeu a finalidade de tamanha saudade. E à mim por tamanho obstáculo vencido.

Agradecimentos

À universidade pública, gratuita e de qualidade por ter proporcionado a minha graduação na Universidade Federal de Uberlândia e a minha pesquisa na Universidade Federal de São Paulo.

À minha co-orientadora Doutora Benvinda Rosalina dos Santos que tanto me estimulou e mostrou a importância das pesquisas com fármacos de abuso, despertando em mim o interesse pela área, além de abrir as portas para a realização desta pesquisa na Unifesp. Sobretudo, agradeço ao seu carinho e aos preciosos conselhos que contribuíram para meu crescimento pessoal.

À minha orientadora Ana Angélica Almeida Barbosa, que sem nenhuma restrição, aceitou-me como sua orientanda e tanto me ajudou a concluir a redação e formatação do trabalho.

Ao setor de Neurotransmissores do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de São Paulo, que me aceitou de portas abertas para realização desta pesquisa.

Aos professores de farmacologia da Unifesp, especialmente ao Doutor Roberto Frussa-Filho, que me acolheu em seu setor, ajudando-me sempre com idéias cientificamente fabulosas, e também à Ms. Mariana B. Calzavara, que forneceu a base e o sustento para concretizar esta pesquisa, além de todo o carinho, compreensão e a disponibilidade constante para me auxiliar, as correções e sugestões para este trabalho. E não poderia esquecer dos técnicos e dos amigos da Unifesp, que colaboraram imensuravelmente para que eu pudesse concluir este estudo, ensinando-me as técnicas de pesquisa, as aptidões necessárias para pesquisar, e agradeço também aos bate-papos depois dos experimentos que ajudavam minimizar a distância dos entes queridos e as dificuldades de São Paulo, as despedidas e a paciência que tiveram comigo.

Aos meus amados pais, à minha família, o meu maior tesouro, agradeço-lhes por tudo. Por me amarem tanto, por me respeitarem, por me estimularem, por compreenderem o meu nervosismo em algumas horas e a minha ausência.

Ao meu amado Tadeu, agradeço a compreensão do meu afastamento durante este período da minha vida, do meu silêncio nas horas angustiantes e do meu nervosismo nas horas difíceis, e acima de tudo, da paciência que teve comigo. Agradeço à minha paixão pela

colaboração em tudo que estava ao seu alcance para concluir este trabalho e em toda a minha graduação.

Às minhas queridas amigas, Johara e Camila pela amizade sincera e pelo companheirismo nestes quatro anos de graduação.

Aos meus tios, Vera e José, aos meus primos, Fernando e Guilherme, que me acolheram carinhosamente na casa deles durante a pesquisa. Respeitaram as nossas diferenças e me ajudaram a superar a distância dos meus pais e amigos.

“O importante não é o que o destino faz conosco e sim o que nós fazemos dele”.

Floence Nigthingale

Resumo

Há evidências de que exista dois componentes que modulam a sensibilização comportamental: o componente farmacológico e o condicionado, podendo atuar separadamente ou em conjunto. O componente farmacológico consiste na influência da droga em induzir e/ou modular o fenômeno. Já o componente condicionado consiste na ação dos estímulos contextuais na sensibilização comportamental. Neste contexto, pesquisou-se a participação destes componentes no processo de sensibilização comportamental à morfina, a participação do fator dose, o desenvolvimento da sensibilização comportamental por dose única de morfina em camundongos. Através dos resultados obtidos, conclui-se que o efeito estimulante é importante para promover sensibilização comportamental perante à morfina; que a sensibilização comportamental perante à morfina está dose-dependentemente relacionada ao efeito estimulante e à sensibilização em alguns parâmetros e condições de regimes de tratamentos; que é o componente farmacológico da sensibilização que está dose-dependentemente relacionado ao efeito estimulante; que o componente condicionado não depende do efeito estimulante, nem de forma dose-dependente, não podendo arcar sozinho com o fenômeno de sensibilização comportamental; os componentes condicionado e farmacológico somam-se na expressão final do fenômeno de sensibilização comportamental, e que a sensibilização comportamental em camundongos por dose única foi verificada.

Palavras-chave: sensibilização; morfina; condicionamento e componente farmacológico.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	DEPENDÊNCIA QUÍMICA E SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL.....	1
1.2	MORFINA.....	5
1.3	COMPONENTES PRESENTES NA SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL.....	7
2	OBJETIVOS.....	11
2.1	PREPOSIÇÃO GERAL.....	11
2.2	PREPOSIÇÕES ESPECÍFICAS.....	11
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1	ANIMAIS.....	12
3.2	DROGAS.....	12
3.3	MODELO COMPORTAMENTAL.....	12
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	13
3.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	13
3.5.1	<i>Experimento 1: Efeitos dos componentes farmacológico e condicionado sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração aguda e pareada de morfina.....</i>	<i>13</i>
3.5.2	<i>Experimento 2: Efeitos do componente farmacológico sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração pareada de morfina.....</i>	<i>14</i>
3.5.3	<i>Experimento 3: Efeito do componente condicionado sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração pareada de morfina.....</i>	<i>14</i>
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
4.1	EXPERIMENTO 1: EFEITOS DOS COMPONENTES FARMACOLÓGICO E CONDICIONADO SOBRE A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E PAREADA DE MORFINA.....	16
4.2	EXPERIMENTO 2: EFEITOS DO COMPONENTE FARMACOLÓGICO SOBRE A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO PAREADA DE MORFINA.....	25
4.3	EXPERIMENTO 3: EFEITOS DO COMPONENTE CONDICIONADO SOBRE A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO PAREADA DE MORFINA.....	30
5	CONCLUSÕES.....	39
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

Estudo dos componentes farmacológico e condicionado da sensibilização comportamental induzida por morfina em camundongos *Swiss*

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dependência química e Sensibilização comportamental

Há inúmeras evidências de que os homens fazem uso de drogas desde a Antiguidade. Desde que os homens começaram a utilizar as drogas, observou-se os inúmeros efeitos proporcionados por elas no organismo. Neste contexto, percebeu-se que muitos fármacos provocavam comportamento compulsivo e muitas vezes euforizantes, estes foram denominados drogas de abuso. Diversos cientistas estudam estas drogas e suas conseqüências durante ou após o uso abusivo, uma vez que estas induzem a dependência química, processo conhecido popularmente como vício. Sendo a dependência química um fator psico-social extremamente relevante, atualmente, para a sociedade mundial.

A dependência a drogas de abuso é um assunto extremamente amplo e ainda um tanto obscuro. Toda esta complexidade é objeto de muitas pesquisas no âmbito da comunidade científica. Neste contexto, descobriu-se algumas características próprias destas drogas.

Observou-se que o comportamento compulsivo induzido pelas drogas, o que caracteriza a dependência, é freqüentemente motivado, entre outros estímulos, pelo desejo de obter os efeitos positivos oferecidos por elas, ou mesmo pela vontade de atenuar as conseqüências da síndrome de abstinência. (ROBINSON & BERRIDGE, 2000).

Experimentos com animais de laboratório demonstraram que a maioria das drogas de abuso, senão todas, exercem o papel de reforçadoras positivas, isto é, aumentam a freqüência de uma determinada resposta comportamental. Neste mesmo contexto, a recompensa indica o efeito subjetivo positivo da droga. A “via do prazer”, situada no mesencéfalo, é a principal responsável pelo reforço positivo associado às drogas de abuso. O núcleo accumbens é um componente chave da via de recompensa e do prazer, com importante função no processo de dependência às drogas de abuso (VOLKOW et al., 2003).

Pesquisas em roedores constataram que a atividade locomotora é a resposta exacerbada pela administração repetida de drogas com potencial de abuso. Esta exacerbação consiste no aumento progressivo e constante da ambulação dos animais. Esse fenômeno é denominado sensibilização comportamental (KALIVAS & STEWART, 1991; ROBINSON & BECKER, 1986; ROBINSON & BERRIDGE, 1993; ROBINSON et al., 1985; SEGAL et al., 1981; STEWART & BADIANI, 1993; VANDERSCHUREN & KALIVAS, 2000). No entanto, diversos termos têm sido utilizados como, por exemplo, tolerância reversa, facilitação comportamental, sendo que sensibilização comportamental é o mais comum (KURIBARA & TADOKORO, 1989; SZECHTMAN et al., 1994; TZSCHENTKE & SCHMIDT, 1998).

A sensibilização comportamental pode ser observada em comportamentos estereotipados, comportamento rotacional, comportamento de beber, responsividade a estímulos acústicos, comportamento de escalar e performance em labirinto em Y (HENRY & WHITE, 1991; ROBINSON & BECKER, 1986; WISE et al., 1996). Contudo, a hiperatividade locomotora é a resposta mais exacerbada e afetada pela administração repetida de agonistas dopaminérgicos. Desta forma, constitui-se o parâmetro quantificado na grande maioria dos estudos relacionados ao fenômeno de sensibilização comportamental induzido por agentes psicoestimulantes como a anfetamina (ANAGNOSTARAS et al., 2002; ROBINSON & BECKER, 1986; TZSCHENTKE & SCHMIDT, 1998), e praticamente o único parâmetro quantificado nos estudos de sensibilização com outras drogas de abuso.

Sugere-se que este fenômeno, exaustivamente estudado em experimentos animais, seja análogo ao quadro comportamental que caracteriza a dependência a drogas de abuso em seres humanos (MORRIS, et al., 1986; ROBINSON & BERRIDGE, 1993, 2001; SEGAL & SCHUCKIT, 1983; VANDERSHUREN & KALIVAS, 2000). Wise e Bozarth (1987) propuseram que a analogia entre a sensibilização comportamental e a dependência de drogas consista na semelhança entre os substratos neurais que mediam esses fenômenos. Este substrato neural refere-se ao sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Mais especificamente, já está fundamentado que a sensibilização comportamental correlaciona-se com neuroadaptações na liberação de dopamina no núcleo accumbens (KALIVAS & STEWART, 1991; PIERCE & KALIVAS, 1997; ROBINSON & BECKER, 1986; ROBINSON & BERRIDGE, 1993; STEWART & BADIANI, 1993; WHITE & KALIVAS, 1998; WOLF, 1998).

Neste sentido, estabeleceu-se que o neurotransmissor dopamina é a chave para o desenvolvimento da sensibilização comportamental frente à administração repetida de drogas de abuso (PIERCE & KALIVAS, 1997; ROBINSON & BERRIDGE, 1993). Esse processo ocorre devido às projeções dopaminérgicas da área ventral do tegmento mesencefálico (do inglês *ventral tegmental area* ou VTA) em direção ao núcleo accumbens (LE MOAL & SIMON, 1991), ao córtex pré-frontal (PFC) e à amígdala. As células de origem do sistema dopaminérgico mesolímbico são denominadas núcleo dopaminérgico A10. Estão localizadas na área ventral do tegmento mesencefálico e o núcleo accumbens é a maior região terminal destas células (KALIVAS & DUFFY, 1987). Pesquisas demonstraram que não somente a dopamina está envolvida no processo de sensibilização, mas também o glutamato. A partir do córtex pré-frontal e da amígdala partem projeções glutamatérgicas para o núcleo accumbens e para a área ventral do tegmento mesencefálico (GORELOVA & YANG, 1997; GROENEWEGWYN et al., 1999; SESACK et al., 1989; SESACK & PICKEL, 1990, 1992; WRIGHT et al., 1996; WRIGHT & GROENEWEGEN, 1995). Provavelmente, são nestas projeções glutamatérgicas que modulariam a liberação dopaminérgica na VTA participando da sensibilização comportamental (PIERCE & KALIVAS, 1997).

Embora tenham efeitos farmacológicos opostos, tanto a tolerância quanto a sensibilização são fenômenos importantes para o desenvolvimento da dependência. Uma 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 com doses baixas resulta num aumento da resposta comportamental (ARAÚJO; 2003). Neste sentido, baixas doses de morfina aumentam a atividade locomotora em ratos, enquanto altas doses produzem uma inicial diminuição da atividade, no entanto, em seguida ocorre uma elevação da mesma. A administração repetida de altas doses resulta no desenvolvimento da tolerância, para o efeito depressor inicial e um progressivo aumento dos efeitos excitatórios (BABBINI & DAVIS, 1977; VASKO & DOMINO, 1978 apud VEZINA et al., 1987).

Investigando a sensibilização comportamental através de experimentos animais, pesquisadores propuseram que a sensibilização comportamental poderia ser temporalmente dividida em indução e expressão. Enquanto que a indução do fenômeno de sensibilização comportamental se deva a uma ação de drogas como a anfetamina nos corpos celulares dos neurônios dopaminérgicos localizados na área ventral do tegmento mesencefálico, a expressão

consiste na persistência das neuroadaptações após cessar as administrações desse fármaco, conferindo uma hiper-responsibilidade ao organismo frente aos neurotransmissores. Provavelmente, tal fato seja conseqüente do aumento da liberação de dopamina e um aumento da sensibilização pós-sináptica à esse neurotransmissor no núcleo accumbens (KALIVAS et al., 1985).

Essa sugestão é corroborada por vários experimentos envolvendo a anfetamina, uma droga psicoestimulante. Verificou-se que lesões promovidas pela neurotoxina 6-OHDA no núcleo accumbens de ratos atenuaram o desenvolvimento da sensibilização comportamental à anfetamina. (SEGAL et al., 1981). Além disso, mais recentemente LE MOAL (1995) complementou esse dado ao observar que as lesões farmacológicas na área ventral do tegmento mesencefálico também provocavam um completo bloqueio do efeito estimulante locomotor da anfetamina, assim como quando as lesões atingiam o núcleo accumbens. Neste mesmo contexto, Paulson e Robinson (1991) 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 área ventral do tegmento mesencefálico, mas não no núcleo accumbens, produzem sensibilização à resposta locomotora induzida por uma injeção periférica subsequente (desafio) de anfetamina (KALIVAS & WEBER, 1988).

Diversas drogas induzem a sensibilização comportamental verificada por meio do aumento do efeito estimulante locomotor, quando administradas repetidamente. Nesse sentido, propõe-se que os opióides também promovem sensibilização comportamental. Essas drogas são semelhantes às endorfinas cerebrais e que estimulam os receptores opióides μ e δ e não os receptores κ (KALIVAS et al., 1985; MARINELLI et al., 1998; MELCHIORRI et al., 1992). A administração dessas drogas parece promover um aumento de seu efeito estimulante motor caracterizado pela intensificação da ambulação em camundongos (IIZUKA & HIRABAYASHI, 1983; KURIBARA & TADOKORO, 1989).

Além disso, pesquisas comprovaram que ao estimular os receptores μ opióides na área ventral do tegmento mesencefálico ocorre uma melhoria na neurotransmissão dopaminérgica mesolímbica. Isto se deve a inibição dos interneurônios GABAérgicos que por sua vez desinibem

os neurônios dopaminérgicos no sistema mesolímbico e promovem uma crescente liberação de dopamina no núcleo accumbens (DEVINE et al., 1993; KALIVAS & DUFFY, 1990; JOHNSON & NORTH, 1992; SPANAGEL et al., 1992). No entanto, na década de 90 descobriu-se que os opióides, ao contrário dos psicoestimulantes, abolem a liberação de glutamato no núcleo accumbens (ENRICO et al., 1998) e no córtex pré-frontal (NICOL et al., 1996).

Ainda não se sabe exatamente qual é o papel dos receptores dopaminérgicos na indução da sensibilização induzida por opióides em ratos. Já que antagonistas dopaminérgicos como o haloperidol, que bloqueia predominantemente receptores dopaminérgicos D2 e o SCH- 23390, que bloqueia de forma seletiva os receptores dopaminérgicos D1, apresentam um ineficiente bloqueio ao desenvolvimento da sensibilização à morfina (JEZIORSKI & WHITE, 1995; KALIVAS, 1985). Contrapondo esses resultados, Kuribara (1995) observou que a hiperatividade locomotora em camundongos é eficientemente inibida por antagonistas dopaminérgicos, o que colabora para a relevância desse sistema na indução do fenômeno em camundongos. Além disso, Serrano et al. (2002), através de seus estudos, concluíram que a dopamina exerce um importante papel sobre o desenvolvimento e a expressão da sensibilização induzida pela morfina em camundongos. Ressaltaram o envolvimento dos receptores dopaminérgicos do tipo D1 neste fenômeno, uma vez que o bloqueio seletivo desses diminuiu a aquisição e a expressão da sensibilização, enquanto que o bloqueio de receptores dopaminérgicos do tipo D2 não influenciou o desenvolvimento da sensibilização, apenas modificou a expressão em altas doses de morfina. Essa contradição entre resultados pode ser atribuída a diferenças no delineamento experimental, nas doses ou no intervalo entre doses, além de diferenças intrínsecas entre os animais usados. Robinson (1988) apud Robinson e Berridge (2000) corrobora esse fato afirmando que muitos fatores podem contribuir para a variação individual na susceptibilidade à sensibilização, incluindo fatores genéticos, hormonais e experimentais.

1.2 Morfina

Neste contexto, a morfina é um típico opiáceo (IIZUKA & HIRABAYASHI, 1983), descoberto em 1806 por Friedrich Wilhelm Adam Serturner (O' CALLAGHAN; 2001). Este fármaco consiste em um dos componentes do ópio, um suco leitoso obtido através de cortes na cápsula da papoula da *Papaver somniferum*, quando ainda verde. A *Papaver somniferum*

representa um vegetal importantíssimo para a indústria farmacêutica uma vez que fornece a morfina, utilizada clinicamente como um poderoso analgésico.

Através de experimentos animais, descobriu-se que a morfina promove um comportamento excitatório em camundongos (IIZUKA & HIRABAYASHI, 1983) e em ratos (SHAHAM, et al.; 1995). Esse é caracterizado pelo aumento locomotor (KURIBARA, 1996a).

As administrações repetidas de morfina com intervalo de um dia ou mais produzem um aumento significativo e progressivo nos efeitos ambulatoriais nos camundongos, caracterizando a sensibilização comportamental à morfina (IZUKA & HIRABAYASHI, 1983).

Wise (1998) observou a grande importância do sistema dopaminérgico no processo de recompensa produzido pela morfina. Nesse contexto, o desenvolvimento de sensibilização comportamental à essa droga correlaciona-se com alterações no sistema dopaminérgico devido à estimulação de receptores opióides do tipo μ por essa droga. Desta forma, o fenômeno de sensibilização comportamental à morfina também resulta do aumento da liberação de dopamina na fenda sináptica decorrente da estimulação dos receptores μ -opióides pela morfina (IWAMOTO, 1981; KURIBARA, 1995; SWERDLOW, et al., 1985). Nesse sentido, um antagonista dos receptores μ -opióides, como a naloxona, foi capaz de inibir o desenvolvimento da sensibilização comportamental à morfina quando administrado conjuntamente (KURIBARA, 1995). Além disso, a administração de naloxona após o tratamento com morfina também bloqueou a indução da sensibilização comportamental a essa droga. Dessa forma, Kuribara (1996b) demonstrou que a naloxona, administrada após a morfina, inibiu a indução da sensibilização dentro de 2 – 3 minutos e os animais mantiveram níveis baixos de atividade. Assim, o tratamento com naloxona dentro do intervalo de 30 minutos após a administração de morfina seria responsável pela inibição da indução da sensibilização comportamental à morfina (KURIBARA, 1996b).

A administração repetida do opiáceo em questão por três semanas (em intervalos de 3 a 4 dias) promoveu um aumento progressivo da hiperatividade locomotora produzida pela droga (KURIBARA, 1995). Esse aumento da atividade locomotora em camundongos promovida por agonistas opióides parece refletir no aumento da neurotransmissão dopaminérgica (IWAMOTO, 1981; KURIBARA, 1995; SWERDLOW et al., 1985).

No entanto, Kuribara (1995) estudando as modificações comportamentais causadas pela sensibilização comportamental à morfina descobriu que os receptores D1 e D2 também estão envolvidos nesse fenômeno. Através da ação de antagonistas desses receptores, SCH 23390 (MAILMAN et al., 1984) e YM – 09151 – 2 (TERAI et al., 1983) demonstrou-se a inibição do desenvolvimento da sensibilização. Porém, a administração desses antagonistas antes do tratamento com morfina tende a elevar a sensibilização. A administração de nemonapride também levou à inibição da sensibilização comportamental à morfina, já que este fármaco é um antagonista dopaminérgico D2 (KURIBARA, 1995).

Em 2002, Vanderschuren e Kalivas descobriram que, com poucas exceções, a transmissão dopaminérgica mesoaccumbens é consistentemente associada com a expressão da sensibilização comportamental após um período relativamente longo do tratamento repetitivo de opióide. Serrano et al. (2002) citam que o começo da síndrome de abstinência não é muito estudado, mas as evidências do envolvimento do sistema dopaminérgico são claras.

Serrano et al. (2002) observaram que a dopamina exerce um importante papel na aquisição e na expressão de sensibilização à morfina em camundongos, principalmente a ativação dos receptores do tipo D1. Como já discutido anteriormente, o bloqueio dos receptores do tipo D1 influenciou os dois fenômenos, enquanto que o bloqueio de D2 apenas influenciou os efeitos da expressão em altas doses de morfina.

1.3 Componentes presentes na sensibilização comportamental

Através de experimentos realizados, na grande maioria com o psicotrópico anfetamina, observou-se a existência de dois componentes que modulam a sensibilização comportamental. Até agora se tratou do componente farmacológico da sensibilização comportamental, ou seja, a sensibilização observada em decorrência da ação farmacológica de drogas de abuso nos substratos neurais envolvidos, culminando em alterações comportamentais. Há, no entanto, consideráveis evidências mostrando que em algumas circunstâncias a sensibilização comportamental sofre forte influência do contexto/ambiente. Esse fenômeno suporta uma visão associativa da sensibilização, em que essa passa a ser considerada como um exemplo de condicionamento droga-contexto (ANAGNOSTARAS et al., 2002). Nesse sentido, a droga (estímulo incondicionado) que produz uma resposta fisiológica (resposta a ser condicionada -

RC) é administrada somente em associação com um único ambiente (estímulo condicionado). Após o pareamento entre a droga e o ambiente, este último adquire a habilidade de eliciar a resposta condicionada antes produzida pela droga. Nesse aspecto, a hiperatividade locomotora e comportamentos estereotipados induzidos por agonistas dopaminérgicos têm se mostrado passíveis de condicionamento ambiental em roedores (AHMED et al., 1995; CAREY & GUI, 1998; TILSON & RESH, 1973).

Através de investigações realizadas sob o enfoque do papel do efeito condicionado na expressão da sensibilização, Anagnostaras et al. (2002) demonstraram que os animais desafiados (sessão Teste) com anfetamina no mesmo ambiente do tratamento prévio (pareamento ambiental) expressaram sensibilização demasiada, enquanto que os animais testados com anfetamina, em um ambiente não pareado com a droga, não expressaram sensibilização. O desafio com salina nos animais que sofreram pareamento ambiental com a anfetamina produziu uma resposta rotacional condicionada. Baseados nos resultados obtidos, esses mesmos pesquisadores sugeriram que a associação entre os efeitos das drogas e o contexto ambiental, capaz de modular a expressão da sensibilização, pode interagir com a habilidade das drogas de produzirem respostas condicionadas quando associadas ao ambiente. Essa interação representa grande importância não somente para o fenômeno em questão, mas também para o processo de dependência, recaída e desejo compulsivo pela droga (“*craving*”).

Entretanto, componente farmacológico e condicionado podem agir em conjunto ou separadamente.

A riqueza de resultados alcançados pelos estudos de sensibilização comportamental ainda não é totalmente compreendida. Sendo possível traçar três perspectivas diferentes em torno desse fenômeno. Robinson e Becker (1986) definem a sensibilização comportamental como a manifestação da plasticidade celular que ocorre como consequência da exposição repetida às drogas de abuso. Essa perspectiva conceitua a sensibilização como um aumento progressivo das respostas incondicionadas às drogas decorrente das mudanças, induzidas por tais fármacos, nos substratos neurais que mediam essas respostas. Por essa visão não-associativa, os estímulos contextuais, assim como os estímulos condicionados, pouco influenciam na indução ou na expressão da sensibilização (ANAGNOSTARAS et al., 2002).

Por outra visão, os estímulos ambientais (contextuais) exercem grande relevância na indução e expressão do fenômeno. Na literatura, esta perspectiva é denominada “sensibilização contexto-específico” ou sensibilização condicionada. Neste contexto, esse fenômeno é considerado como um exemplo de associação entre os efeitos das drogas e o ambiente. Nota-se que essa concepção da sensibilização assemelha-se aos experimentos de Pavlov, ou seja, o ambiente exerce papel fundamental para se observar os efeitos. Nesse contexto, a sensibilização é freqüentemente ausente ou reduzida quando os animais são testados em um ambiente no qual não tiveram nenhuma experiência anterior com drogas, mesmo que em seguida recebam tratamentos indutores de robusta sensibilização (BATTISTI et al., 2000; CAREY & GUI, 1998). De acordo com essa perspectiva da importância do componente condicionado na sensibilização, quando a administração das drogas (estímulos incondicionais) é pareada com um ambiente distinto, os estímulos desse contexto adquirem a habilidade de manifestar as respostas condicionadas, incluindo os efeitos psicomotores (WOLGIN, 2000).

No entanto, diversas descobertas contrapõem-se à visão associativa entre drogas e contexto-específico. Anagnostaras et al. (2002) apresentaram algumas: 1) quando a salina é administrada no ambiente, a resposta condicionada é pequena e não apresenta diferença significativa entre os animais previamente sensibilizados e os animais que estão sendo expostos ao mesmo ambiente pela primeira vez (ANAGNOSTARAS & ROBINSON, 1996); 2) a resposta condicionada é extinta pela exposição ao contexto sem a administração da droga, no entanto esse procedimento de intensa exposição ao ambiente, anteriormente associado ao efeito estimulante da droga, não altera a sensibilização ao desafio posterior de anfetamina (ANAGNOSTARAS & ROBINSON, 1996; BATTISTI et al., 2000; CAREY & GUI, 1998); 3) o aumento do intervalo entre a administração de drogas (estímulo incondicionado) e a exposição ao ambiente (estímulos contextuais) elimina a resposta condicionada, mas não a sensibilização (CROMBAG et al., 2001) e 4) é possível observar o desenvolvimento de sensibilização comportamental em contextos não anteriormente associados aos efeitos da droga. Neste contexto, observa-se que o condicionamento pode contribuir para a expressão da sensibilização sob determinadas circunstâncias, mas não pode ser considerado o único responsável pelo fenômeno.

Analisando ainda os componentes da sensibilização, encontra-se uma outra perspectiva (ANAGNOSTARAS et al., 2002). Esta última associa elementos de ambos os modelos apresentados. Nesta concepção, a administração repetida de drogas induz uma sensibilização

neural não-associativa (farmacológica), a qual pode alterar a resposta incondicionada à droga. Contudo, de acordo com Anagnostaras e Robinson (1996) os estímulos contextuais podem adquirir um controle forte sobre a habilidade de sensibilizar o substrato neural, influenciando, assim, o comportamento.

Considerando a atual importância do papel das interações de componentes farmacológicos e condicionados na sensibilização comportamental, a contribuição quantitativa desses dois componentes no fenômeno da sensibilização à morfina ainda é obscura.

2 OBJETIVOS

2.1 Proposição geral

A intensidade dos estudos de sensibilização comportamental decorre da analogia existente entre esse fenômeno e o desejo compulsivo pelo uso das drogas de abuso nos seres humanos. Dessa forma, a sensibilização comportamental consiste em um importante modelo animal para o estudo da dependência psicológica decorrente do uso de drogas. Além de que, representa um valioso instrumento para o estudo da plasticidade neural.

As diferentes drogas de abuso apresentam diferenças importantes no que concerne a farmacocinética e farmacodinâmica das mesmas. Entretanto é de consenso que a propriedade de dependência esteja correlacionada com o aumento da estimulação dopaminérgica. Paralelamente, além das diferenças inerentes a ação da droga no organismo, tem se questionado a participação de outros componentes na sensibilização comportamental às drogas, tais como a interação do animal com o ambiente no qual recebe a droga e o estado emocional frente à droga e o ambiente. Nesse sentido, o estudo dos componentes presentes no processo de sensibilização comportamental pode trazer informações relevantes quer sob um aspecto mecanicístico, quer sob um enfoque terapêutico. Este trabalho visa investigar tais componentes na sensibilização comportamental à morfina.

2.2 Proposições específicas

O presente trabalho teve como objetivo específico pesquisar qual é a participação dos componentes condicionado e farmacológico no processo de sensibilização comportamental à morfina.

Além disso, objetivou-se verificar a participação do fator dose na sensibilização comportamental à morfina por meio de uma curva dose-efeito em camundongos.

Na perspectiva da dependência à morfina, diversos fatores podem modificar a ação deste fármaco no organismo, como a variação de metabolismo encontrada entre espécies. Este trabalho teve também como objetivo específico a investigação do possível desenvolvimento da sensibilização comportamental por dose única de morfina em camundongos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados camundongos EPM-M1 (Swiss) machos, com idade de 3 meses. Os animais foram alojados com, aproximadamente, 19 animais, em caixas de Plexiglass (41x34x16,5 cm) sendo mantidos sob temperatura constante ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) e respeitando o ciclo claro/escuro de 12 horas. Água e comida foram fornecidas *ad-libitum*, exceto durante os experimentos.

3.2 Drogas

. Sulfato de Morfina (Laboratório Cristália)

A morfina utilizada neste trabalho compunha o arsenal desse opiáceo cedido pelo Hospital São Paulo à professora de farmacologia da Unifesp, Dra. Rosana de Alencar com destino à pesquisas científicas. Para a preparação das soluções, a droga foi diluída em solução salina (NaCl 0,9%). Essa solução também foi utilizada como solução controle. Administrou-se todas as injeções subcutaneamente (s.c.).

3.3 Modelo comportamental

O modelo comportamental utilizado neste trabalho foi o registro da atividade locomotora de camundongos em campo aberto. Esse aparelho consiste em uma arena de polietileno (PVC) branco opaco com formato cilíndrico e fundo de madeira. O corpo do cilindro possui 50 cm de altura e sua base cilíndrica 40 cm de diâmetro e 2 cm de altura. As paredes da arena (corpo do cilindro) são justapostas a base (chão da arena), de tal maneira que ocorra um efetivo encaixe entre ambos. Dessa forma, pode-se separar corpo e base proporcionando uma efetivação da limpeza. A base da arena é subdividido em 19 regiões aproximadamente iguais demarcadas por 3 circunferências concêntricas de raios diferentes (4, 12, e 20 cm), intersectadas por segmentos de retas radiais.

Os animais foram observados no campo aberto, individualmente, durante cinco minutos entre 8 e 11 horas da manhã.

A atividade locomotora dos animais foi avaliada por meio de observação direta. Foram observados os seguintes parâmetros comportamentais: frequências de locomoção total, central e periférica.

Cada unidade de locomoção corresponde ao ato do animal pisar com as quatro patas em um dos 19 quadrantes demarcados na base da arena. Sendo que os quadrantes contíguos à parede do campo aberto correspondem aos periféricos, e as demais regiões demarcadas nos outros dois círculos concêntricos correspondem a locomoção central.

A quantificação da locomoção central pode ser considerada como uma medida de ansiedade, pois a permanência dos animais nos quadrantes centrais de um campo aberto consiste em um desafio por ser um local aberto e, conseqüentemente, ansiogênico. Dessa forma, animais com menor frequência de locomoção central podem ser considerados mais ansiosos (PRUT & BELZUNG, 2003).

3.4 Análise estatística

Para análise estatística dos dados comportamentais, aplicou-se o Teste de Levene para estabelecer se os dados em questão foram paramétricos ou não. Assim, para os dados paramétricos utilizou-se a análise de variância (ANOVA), seguida do teste *post-hoc* de Duncan. A probabilidade de $p < 0,05$ foi considerada suficiente para revelar diferenças estatisticamente significantes entre os vários grupos comparados.

3.5 Delinamento experimental

3.5.1 Experimento 1: Efeitos dos componentes farmacológico e condicionado sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração aguda e pareada de morfina

Camundongos EPM – M1 foram distribuídos em seis grupos com 10/12 animais cada. Na primeira semana, administrou-se, via subcutânea, quatro diferentes doses de morfina (5; 10; 15; 30 mg/Kg) formando os seguintes grupos: Mor5, Mor10, Mor15 e Mor30, sendo que dois grupos receberam salina (Sal e Sal2). Vinte minutos após a injeção (ZARRINDAST et al., 2003), a

atividade locomotora dos animais foi observada no campo aberto por cinco minutos, conforme descrito no item 3.1. Essa sessão foi denominada treino.

Os animais foram mantidos sete dias sem nenhum tratamento e sob as condições descritas no item 3.1. Após este intervalo, os camundongos foram desafiados nesta Sessão Teste com a menor dose capaz de promover efeito estimulante locomotor (obtida na observação anterior). A dose escolhida foi a dose de 15mg/Kg de morfina. Passados vinte minutos da injeção, observou-se a atividade locomotora dos animais no campo aberto.

3.5.2 Experimento 2: Efeitos do componente farmacológico sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração pareada de morfina

Seis grupos com 12 camundongos EPM-1 foram submetidos ao tratamento com salina (Sal) ou diferentes doses de morfina: 5; 10; 15; 30 mg/Kg (Mor5, Mor10, Mor15, Mor30) sem qualquer pareamento ambiental. Ou seja, os animais após receberem a respectiva dose, retornavam à caixa-moradia, sem haver qualquer exposição ao ambiente de teste.

Passados sete dias, todos os animais, exceto àqueles de um dos grupos controle (Sal2), foram desafiados com a menor dose efetiva capaz de promover o efeito estimulante (15mg/Kg), determinada pela observação realizada no experimento 1. Quantificou-se a atividade locomotora em campo aberto vinte minutos após a injeção. Portanto, nesse experimento está presente apenas o componente farmacológico da sensibilização comportamental.

3.5.3 Experimento 3: Efeitos do componente condicionado sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração pareada de morfina

Camundongos EPM – M1 foram distribuídos em três grupos com 12 animais cada. Na primeira semana, administrou-se, via subcutânea, 2 diferentes doses de morfina (15; 30 mg/Kg) formando os seguintes grupos: Mor15 e Mor30, um grupo recebeu salina (NaCl 0.9% - Sal).

Vinte minutos após a injeção, observou-se os animais no campo aberto para quantificar a atividade locomotora dos mesmos. Denominou-se essa sessão de Treino.

Sete dias após a administração de seus respectivos tratamentos e da primeira exposição ao campo aberto, todos os animais foram desafiados com salina (NaCl 0,9%). Passados vinte minutos da injeção, os animais foram observados no campo aberto para a quantificação da atividade locomotora. Nesse esquema de tratamento (Sessão Teste) nota-se apenas a presença do componente condicionado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento 1: Efeitos dos componentes farmacológico e condicionado sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração aguda e pareada de morfina

Antes de se investigar os efeitos da administração repetida de diferentes doses de morfina sobre o fenômeno de sensibilização comportamental, fez-se necessário caracterizar os efeitos da administração aguda dessas doses sobre a atividade locomotora dos animais em campo aberto. Tal caracterização permitiu informações importantes para o delineamento do experimento referente a sensibilização (como, por exemplo, a escolha da dose a ser utilizada nos desafios).

Os efeitos da administração aguda de diferentes doses de morfina na atividade locomotora dos roedores estão representados nas figuras 1 a 3. Para o parâmetro locomoção total (Figura 1), a análise de variância de uma via (ANOVA) revelou diferenças significativas entre os grupos. Nesse sentido, as comparações permitidas pelo teste *post-hoc* de Duncan revelaram que os animais tratados agudamente com as doses 15 e 30 mg/Kg apresentaram frequências de locomoção total significativamente superiores àquelas exibidas pelos demais grupos. Não obstante, somente os animais tratados com essas doses apresentaram efeito estimulante locomotor significativo. Isso corrobora com os dados obtidos por Zarrindast et al. (2003). Como era esperada, a curva dose-efeito de morfina apresentou-se ascendente, ou seja, as baixas doses de morfina (5 e 10 mg/Kg) não promoveram aumento na atividade locomotora. Enquanto que as altas doses de morfina (15 e 30 mg/Kg) produziram locomoção significativamente maiores, esses dados também foram obtidos para anfetamina, outro psicoestimulante (ZARRINDAST et al., 2003). O uso da dose de 5 mg/Kg por Vanderschuren et al. (1997) suprimiu a atividade locomotora dos camundongos, refletindo os efeitos sedativos desta dose. No entanto, há na literatura dados que contrariam os já apresentados. Kuribara e Tadokoro (1989) observaram que, em camundongos de diferentes espécies, incluindo o Swiss, as doses 5, 10, e 20 mg/Kg (s.b.) de morfina induziram aumento da locomoção. Esses autores, no entanto, utilizaram delineamento experimental um pouco diferente do delineamento do presente estudo. Ainda nesse contexto, utilizando doses mais baixas de morfina (2, 4, 6 e 8 mg/Kg) Badiani et al. (2000) verificaram que

todas produziram um aumento significativo na atividade locomotora de camundongos. Esse estudo não é compatível com o presente e com Zarrindast et al. (2003), como já discutido.

No presente estudo, nota-se também que o grupo tratado com a dose 30mg/Kg apresentou aumento de locomoção total significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo Mor15. Powell e Holtzman (2001) e Badiani et al. (2000) verificaram que o efeito estimulante à morfina em ratos é dose-dependente, baseando-se nos dados apresentados nesta pesquisa e em estudos prévios, pode-se inferir que o efeito estimulante à morfina seja também dose-dependente para camundongos.

A frequência de locomoção periférica está representada na figura 2. Assim como apresentado na locomoção total, os grupos tratados com 15 e 30 mg/Kg de morfina apresentaram aumento da locomoção periférica em relação aos demais grupos. Entretanto, não diferiram entre si.

A análise da locomoção central mostrou que os grupos Mor5 e Mor10 apresentaram diminuição significativa de locomoção central quando comparados aos demais grupos. Os dados obtidos por essas duas doses de morfina vão de encontro com os estudos de Zarrindast et al. (2003) e de Badiani et al. (2000). Cabe ressaltar aqui que a diminuição da locomoção central poderia ser interpretada como um aumento de ansiedade (PRUT & BELZUNG, 2003).

As figuras 4 a 6 mostram a atividade locomotora após o desafio (sessão Teste) com 15 mg/Kg de morfina, menor dose efetiva em promover o efeito estimulante (dado obtido na observação anterior). A análise de variância (ANOVA) revelou diferença significativa em todos os parâmetros (locomoção total, periférica e central). O teste de Duncan apresentou locomoção total elevada dos grupos Mor15-Mor15 e Mor30-Mor15 em relação ao grupo agudo Sal-Mor15 e aos demais tratamentos (Figura 4). Observou-se nesses animais, portanto, a ocorrência do fenômeno de sensibilização comportamental. Assim, somente as doses que promoveram efeito estimulante significativo no treino (15 e 30mg/Kg) foram capazes de promover sensibilização comportamental na sessão teste. Além disso, a diferença entre esses dois grupos sugere que a sensibilização comportamental por dose única e pareada de morfina seja realmente dose-dependente.

Além disso, o grupo Sal-Mor15 apresenta aumento de locomoção total quando comparados ao grupo Sal-Sal. Esse dado revela o efeito estimulante motor agudo da morfina, coincidindo com vários estudos (IIZUKA & HIRABAYASHI, 1983; KURIBARA &

TADOKORO, 1989; SUZUKI et al., 1995; ZARRINDAST et al., 2003). De acordo com Iizuka e Hirabayashi (1983) a morfina, um típico analgésico estimulante, eleva a atividade ambulatorial em camundongos e esses efeitos são aumentados quando a administração dessa droga ocorre com um intervalo maior do que um dia. Esse dado corrobora com o presente estudo, no qual se observou a sensibilização comportamental com um intervalo de sete dias da primeira injeção de morfina.

A sensibilização comportamental à morfina apresenta-se sob protocolos de pré-tratamentos diversificados e diante de variadas doses (KURIBARA & TADOKORO, 1989; KURIBARA, 1996a, b; SZUMLINSKI et al., 2000; POWELL & HOLTZMAN, 2001; ANAGNOSTARAS et al., 2002). Isso sugere que o regime de pré-tratamento e as doses utilizadas influenciam o grau da indução da sensibilização comportamental (STEWART & BADIANI, 1993).

A locomoção periférica da sessão Teste (Figura 5) demonstra o aumento da atividade locomotora periférica dos grupos Mor15-Mor15 e Mor30-Mor15 quando comparados aos demais. Conforme a locomoção total, os grupos Sal-Mor15 e Mor10-Mor15 apresentaram aumento de locomoção periférica quando comparados ao grupo Sal-Sal, evidenciando o efeito estimulante locomotor agudo da morfina no grupo Sal-Mor15 (IIZUKA & HIRABAYASHI, 1983; KURIBARA & TADOKORO, 1989; SUZUKI et al., 1995; ZARRINDAST et al., 2003).

A locomoção central (Figura 6) revelou apenas um aumento no grupo Mor30-Mor15 em relação aos demais grupos. Portanto, esse parâmetro corrobora com a dose-dependência da sensibilização comportamental à morfina (BADIANI et al., 2000; POWELL & HOLTZMAN, 2001). Além de que, a partir desse dado, pode-se sugerir que os animais tratados com 30 mg/Kg de morfina e desafiados com 15mg/Kg apresentam diminuição de ansiedade conferindo maior locomoção no centro do campo aberto (PRUT & BELZUNG, 2003).

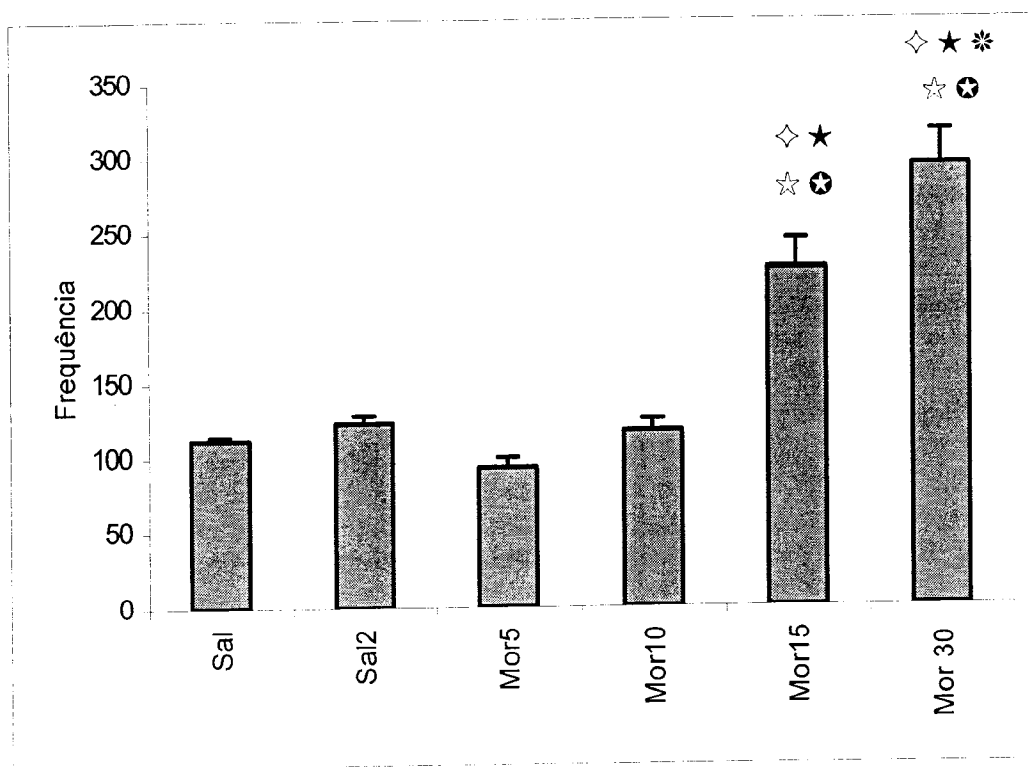


Figura 1- Locomoção total – Sessão Treino -- Frequência dos testes de locomoção total de camundongos tratados agudamente com diferentes doses (5; 10; 15; 30 mg/Kg) de morfina (Mor) ou salina (Sal e Sal2).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal 2;
- ☆ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor5;
- ⊗ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor10;
- * $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor15.

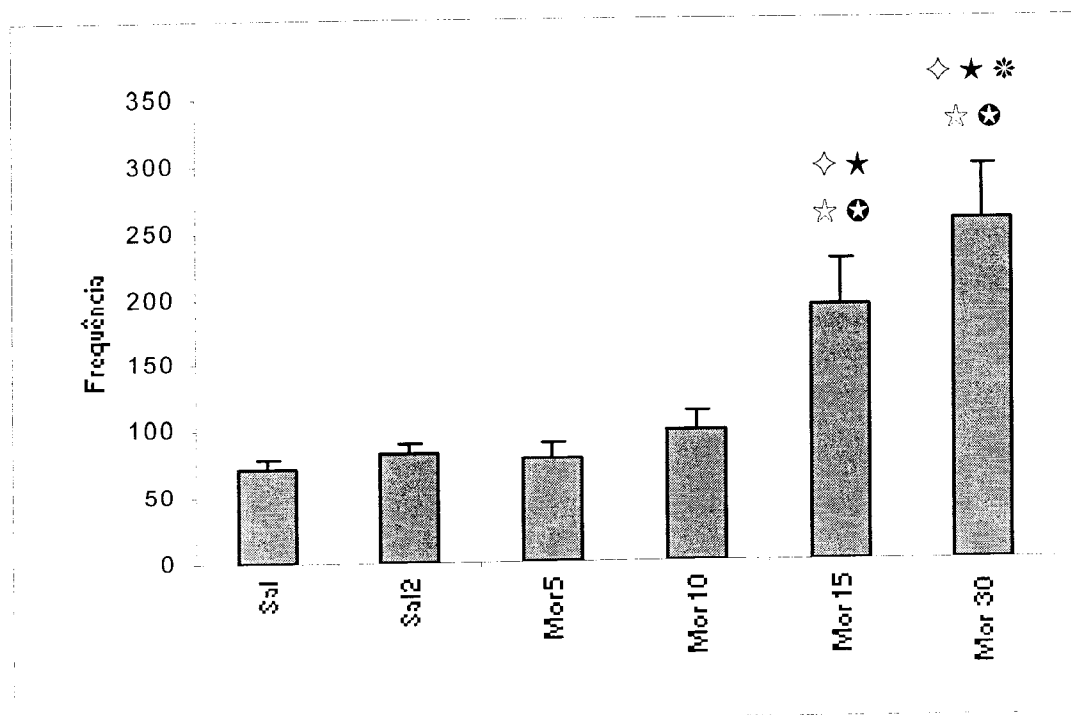


Figura 2- Locomoção periférica – Sessão Treino -- Frequência de locomoção periférica dos testes de camundongos tratados agudamente com diferentes doses (5; 10; 15; 30 mg/Kg) de morfina (Mor) ou salina (Sal e Sal2).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal 2;
- ☆ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor5;
- ⊛ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor10;
- * $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor15.

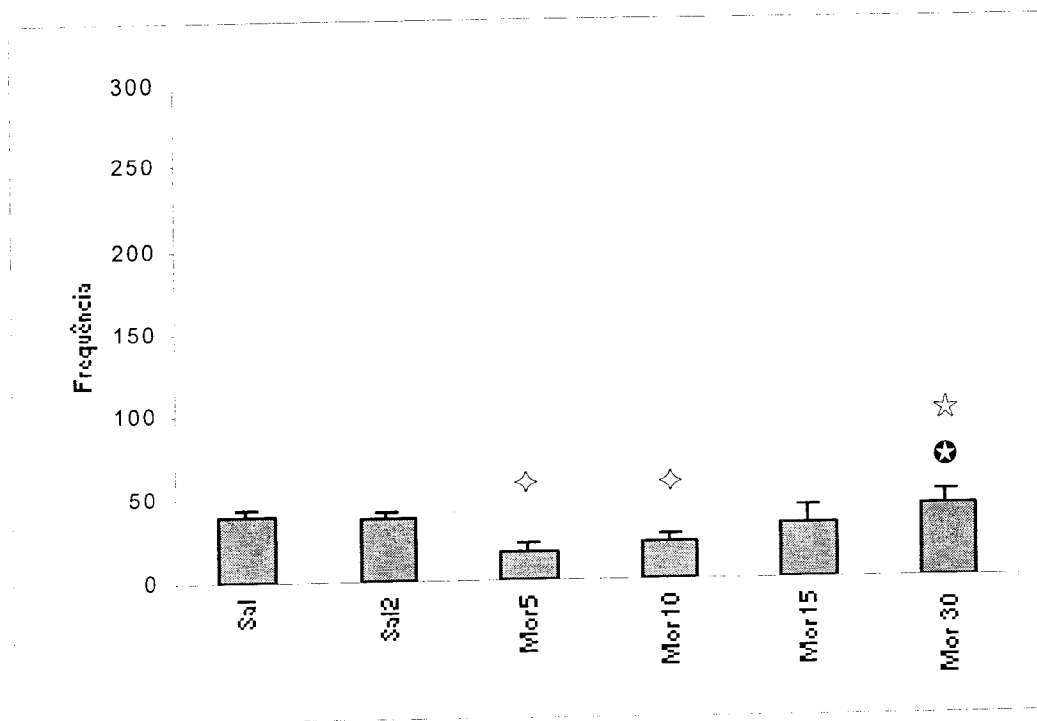


Figura 3- Locomoção Central – Sessão Treino -- Frequência dos testes de locomoção central de camundongos tratados agudamente com diferentes doses (5; 10; 15; 30 mg/Kg) de morfina (Mor) ou salina (Sal e Sal2).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal;
- ☆ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor5;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor10.

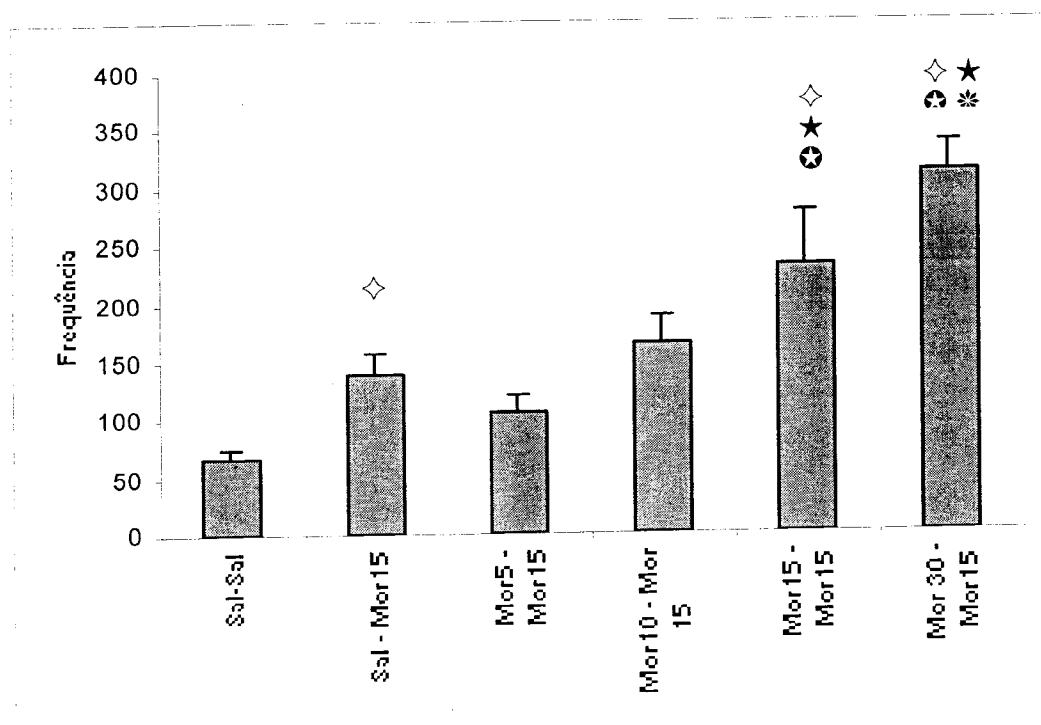


Figura 4- Locomoção total – Sessão Teste --Frequência dos testes de locomoção total de camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 5, 10, 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor5, Mor10, Mor15, Mor30) e desafiados 7 dias após com 15 mg/Kg de morfina (Mor15) ou salina (Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Mor15
- ☆ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor5-Mor15;
- ⊗ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor10-Mor15;
- * $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor15-Mor15.

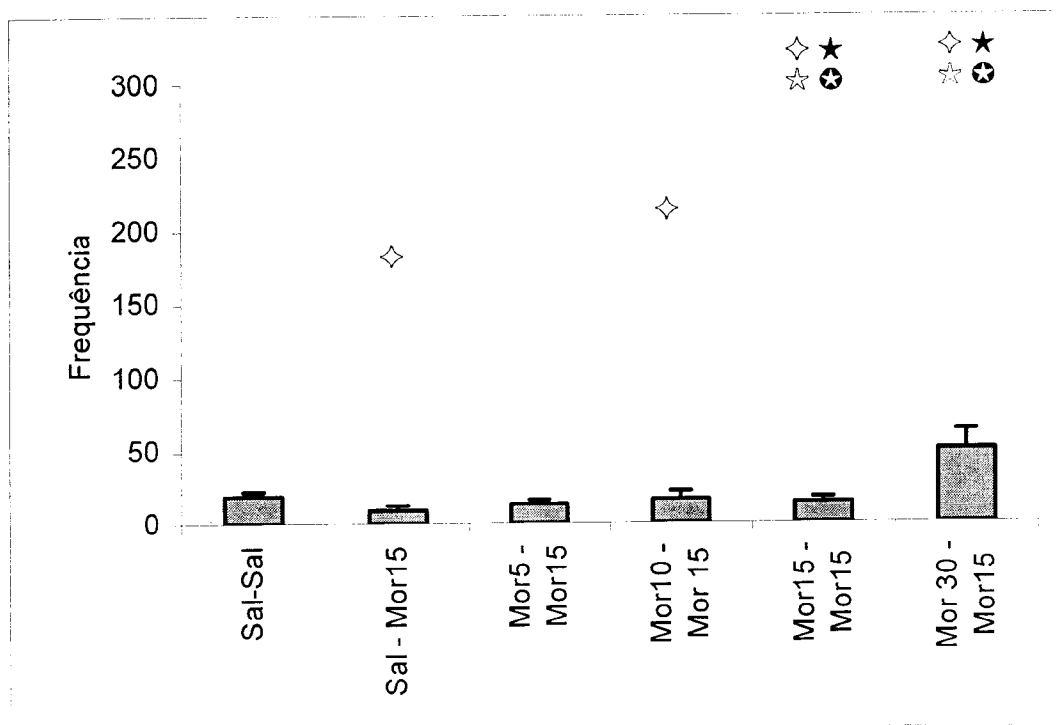


Figura 5- Locomoção periférica – Sessão Teste – Frequência dos testes de locomoção periférica de camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 5, 10, 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor5, Mor10, Mor15, Mor30) e desafiados 7 dias após com 15 mg/Kg de morfina (Mor15) ou salina (Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Mor15
- ☆ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor5-Mor15;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor10-Mor15.

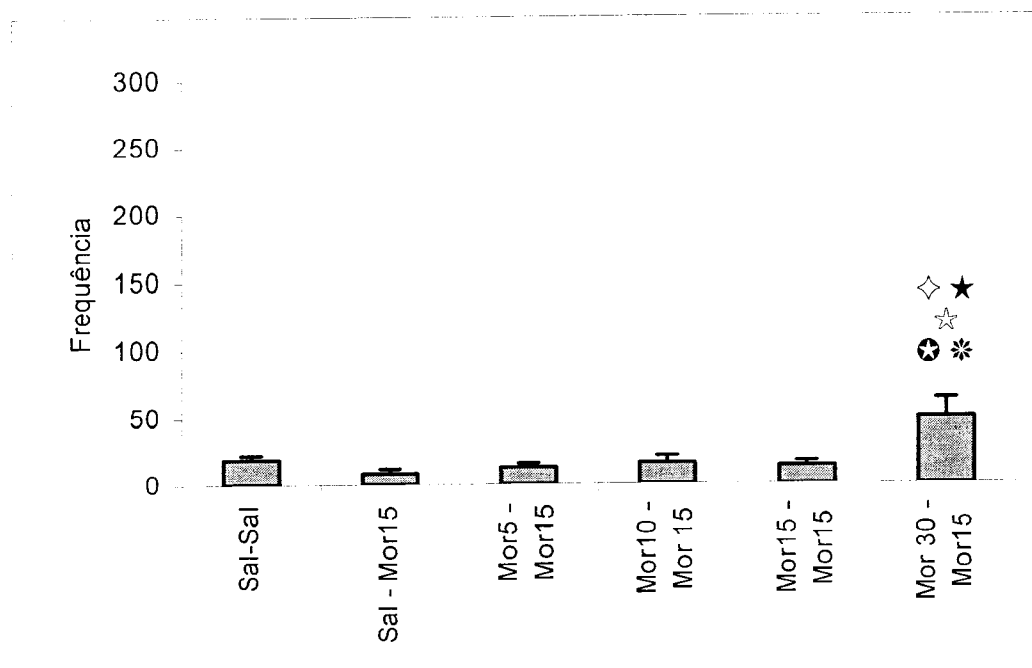


Figura 6- Locomoção central – Sessão Teste --Frequência dos testes de locomoção central de camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 5, 10, 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor5, Mor10, Mor15, Mor30) e desafiados 7 dias após com 15 mg/Kg de morfina (Mor15) ou salina (Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ p < 0,05 em relação ao grupo Sal-Sal;
- ★ p < 0,05 em relação ao grupo Sal-Mor15
- ☆ p < 0,05 em relação ao grupo Mor5-Mor15;
- ⊛ p < 0,05 em relação ao grupo Mor10-Mor15;
- * p < 0,05 em relação ao grupo Mor15-Mor15.

4.2 Experimento 2: Efeitos do componente farmacológico sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração pareada de morfina

Os efeitos do componente farmacológico na sensibilização comportamental à morfina estão representados nas Figuras 7 a 9. A análise de variância (ANOVA) revelou diferenças significativas entre os grupos para os parâmetros locomoção total e periférica. A figura 7 mostra a frequência de locomoção total. As comparações *post-hoc* (Teste de Duncan) revelaram que todos os grupos desafiados com Mor15 apresentaram aumento de locomoção total quando comparados ao grupo Sal-Sal. Entretanto, somente a dose mais elevada de morfina (30 mg/Kg) promoveu aumento de locomoção total significativo em relação ao grupo tratado agudamente com morfina 15 mg/Kg, sendo a única capaz de promover a sensibilização comportamental nesse esquema de tratamento.

De acordo com Anagnostaras e Robinson (1996) a sensibilização é frequentemente ausente em termos comportamentais quando os animais são desafiados em um ambiente diferente daquele onde pela primeira vez receberam a droga. Assim, esse dado corrobora os resultados obtidos com o grupo tratado com 15 mg/Kg no presente trabalho.

Entretanto, a sensibilização comportamental também pode ocorrer em situações de administração não pareada da droga com o ambiente (BATTISTI et al., 2000) como reportado para a dose de 30 mg/Kg.

Com relação à ausência de sensibilização do grupo tratado com 15 mg/Kg, apresentam-se na revisão de Robinson e Berridge (2001) duas razões para acreditar que nestes animais ocorreu a sensibilização sem a sua expressão comportamental; os animais receberam a droga em um ambiente diferente do contexto do teste desenvolvendo sensibilização normal referente ao tratamento, no entanto não expressaram essa sensibilização no ambiente nunca pareado com a droga (ANAGNOSTARAS & ROBINSON, 1996). Dessa forma, esses dados corroboram com as diversas pesquisas sobre a importância dos estímulos contextuais na modulação da sensibilização comportamental. Portanto, sugere-se que a sensibilização comportamental induzida pelo teste da dose de 15mg/Kg em camundongos tratados com a mesma dose (observada no experimento 1) não resultou do componente farmacológico do fenômeno em questão. A revisão de Robinson e Berridge (2001) e a comparação entre os dados expostos na figura 4 e 7 sugerem que a

sensibilização não consiste em um processo puramente farmacológico. Com relação ao grupo tratado com a dose de 30 mg/Kg de morfina, o presente estudo sugere a potencialização do componente farmacológico na sensibilização comportamental quando a dose do opiáceo é aumentada.

A frequência de locomoção periférica está representada na figura 8. Assim como apresentada na locomoção total, o teste de Duncan revelou o aumento da locomoção periférica de todos os grupos desafiados com morfina na dose de 15 mg/Kg em relação ao grupo controle (Sal-Sal) (IIZUKA & HIRABAYASHI, 1983; KURIBARA & TADOKORO, 1989; SUZUKI et al., 1995; ZARRINDAST et al., 2003). Contudo, não apresentaram diferenças significativas entre si. Tal fato também sugere que a sensibilização comportamental apresentada pelos grupos Mor15-Mor15 e Mor30-Mor15, neste parâmetro, no experimento 1 não decorre apenas das conseqüências do componente farmacológico (ROBINSON & BERRIDGE, 2001).

A análise da locomoção central mostrou que os grupos não apresentam nenhuma diferença significativa, conforme pode ser observado na figura 9. Este dado sugere que a ansiedade não foi alterada por uma segunda administração de morfina.

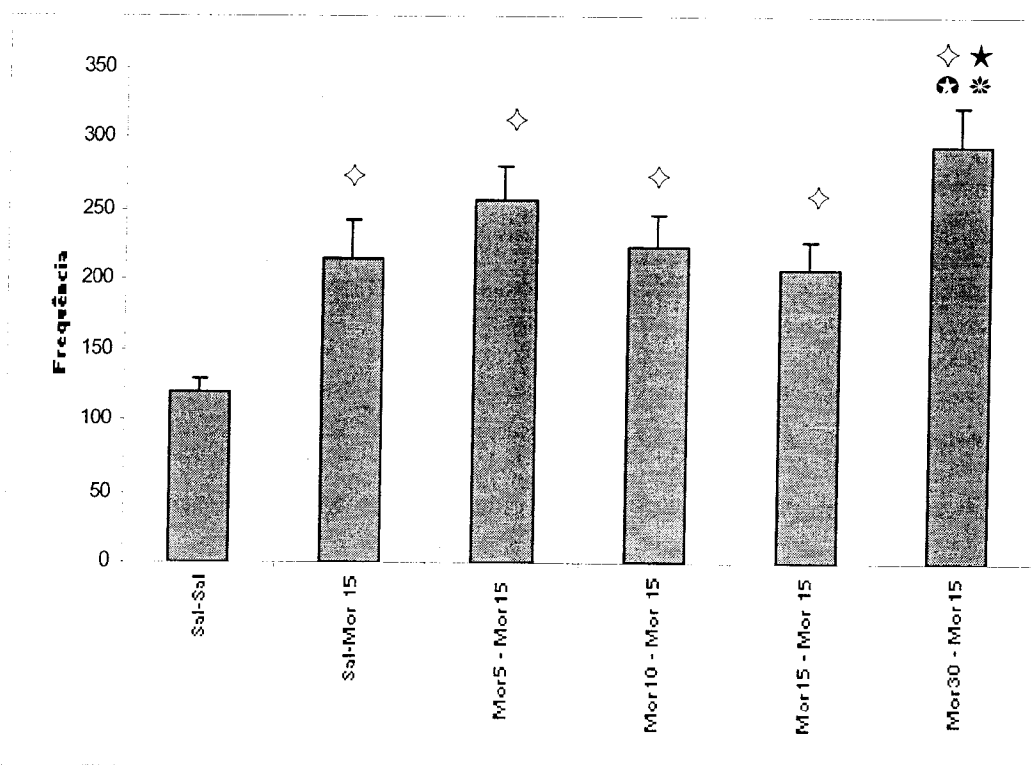


Figura 7- Locomoção Total – componente farmacológico – Frequência dos testes de locomoção total dos camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 5, 10, 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor5, Mor10, Mor15 e Mor30) não expostos ao campo aberto durante o treino e desafiados 7 dias após com salina (Sal) ou 15 mg/Kg de morfina (Mor15).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal;
- ★ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Mor15;
- ⊗ $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor10-Mor15;
- * $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor15-Mor15.

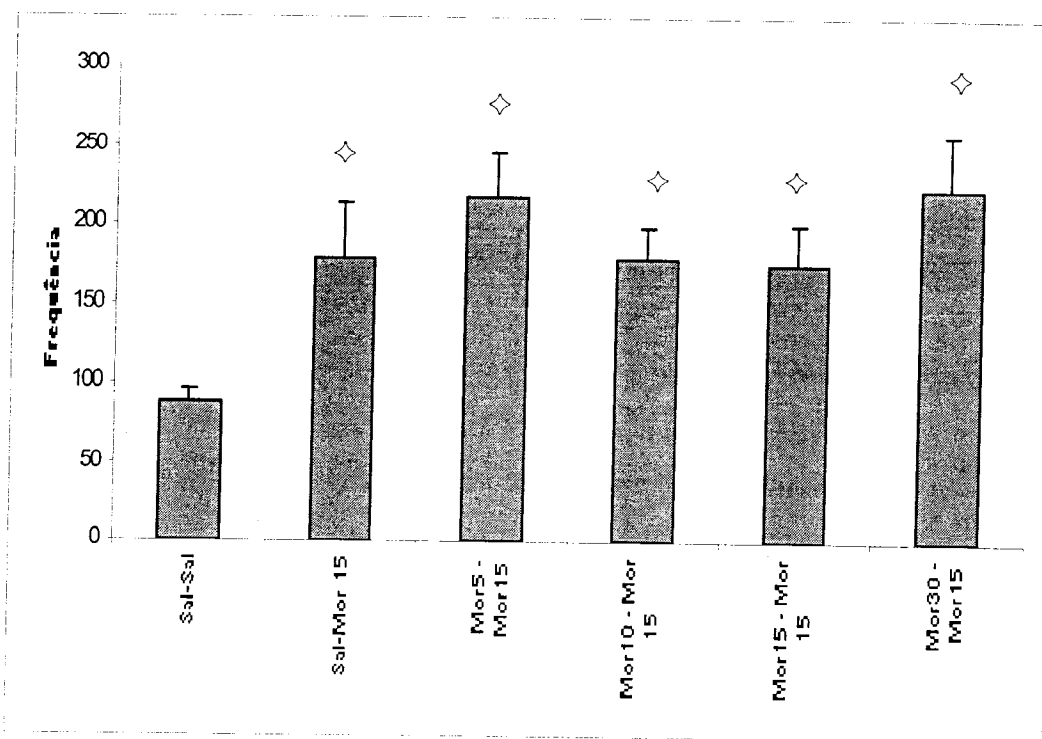


Figura 8- Locomoção periférica – componente farmacológico – Frequência dos testes de locomoção periférica dos camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 5, 10, 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor5, Mor10, Mor15 e Mor30) não expostos ao campo aberto durante o treino e desafiados 7 dias após com salina (Sal) ou 15 mg/Kg de morfina (Mor15).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal.

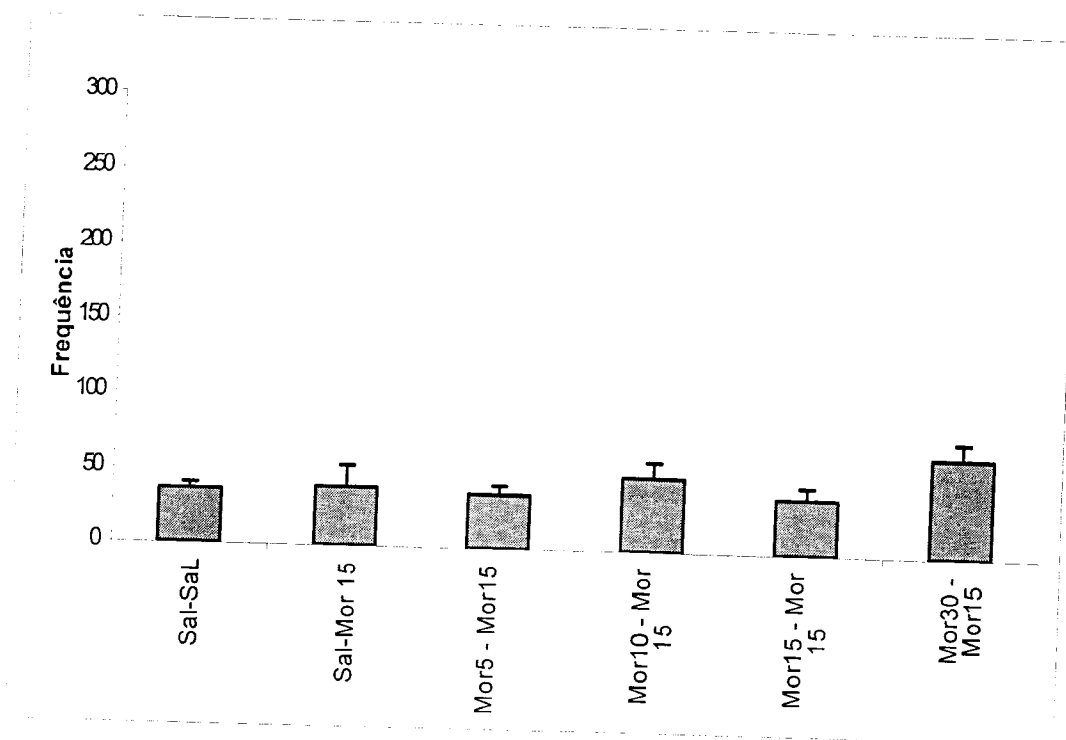


Figura 9- Locomoção central – componente farmacológico - Frequência dos testes de locomoção central dos camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 5, 10, 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor5, Mor10, Mor15 e Mor30) não expostos ao campo aberto durante o treino e desafiados 7 dias após com salina (Sal) ou 15 mg/Kg de morfina (Mor15).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan não apresentou diferenças significativas entre os grupos

4.3 Experimento 3: Efeitos do componente condicionado sobre a sensibilização comportamental induzida pela administração pareada de morfina

As figuras 10 a 12 demonstram a atividade locomotora dos roedores sob os efeitos da administração aguda das diferentes doses de morfina (15; 30 mg/Kg) e de salina. A análise de variância de uma via (ANOVA) apresentou diferenças significantes para as frequências de locomoção total e periférica. A figura 10 apresenta a locomoção total aumentada dos grupos Mor15 e Mor30 quando comparados com os grupos tratados com salina (Sal), evidenciando o efeito estimulante locomotor (ZARRINDAST et al., 2003). Além disso, o grupo tratado com a dose 30mg/Kg de morfina apresentou aumento de locomoção total significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo Mor15. Desta forma, todos estes resultados corroboram com o experimento 1, comprovando que o efeito estimulante à morfina em camundongos seja realmente dose-dependente.

A locomoção periférica apresentada pelos roedores sob os efeitos da administração aguda das diferentes doses de morfina está representada na figura 11. Os mesmos resultados obtidos na análise da locomoção total deste tratamento foram observados neste parâmetro, ou seja, os grupos tratados com 15 e 30 mg/Kg de morfina apresentaram aumento da locomoção periférica em relação aos grupos Sal, o que comprova os efeitos agudos estimulantes da morfina (ZARRINDAST et al., 2003). Além disso, esses grupos diferiram entre si, comprovando novamente a relação de dose-dependente da sensibilização comportamental à morfina em camundongos.

A figura 12 revela as frequências de locomoção central dos animais tratados agudamente com morfina (Mor15 e Mor30) ou salina (Sal). As comparações *post-hoc* do Teste de Duncan não demonstraram diferenças entre os grupos. Portanto, os efeitos estimulantes apresentada pelos animais na locomoção total decorre da frequência dos animais na locomoção periférica. Além disto, a administração aguda de morfina não causa efeitos ansiogênicos nos animais, pois nenhum grupo tratado com esse fármaco apresentou locomoção central significativamente menor perante o grupo controle.

As figuras 13 a 15 apresentam os efeitos da atividade locomotora nos animais quando somente o componente condicionado está presente. Neste sentido, os resultados contidos nessas figuras resultam das possíveis interferências proporcionadas pelo fator ambiente na indução e/ou modulação da sensibilização comportamental. Os animais desta sessão já haviam sido expostos ao aparelho, portanto estavam condicionados àquele ambiente. Além disso, a administração de salina não causa nenhuma interferência farmacológica na atividade locomotora.

A figura 13 apresenta a frequência de locomoção total de camundongos desse experimento. Os grupos previamente tratados com morfina apresentam aumento de locomoção quando comparados com o grupo controle (Sal-Sal), entretanto as comparações permitidas pelo *post-hoc* do Teste de Duncan não apresentaram diferenças significantivas entre eles. Esse dado evidencia que a relação de dose-dependência observada no experimento 1 seja apenas decorrente do componente farmacológico e não da locomoção condicionada, uma vez que não se observou o mesmo perfil quando se verifica a locomoção condicionada. A locomoção condicionada foi verificada em ambos os grupos que apresentaram efeito estimulante da morfina. Pode-se sugerir que se um efeito estimulante é associado com o ambiente, a locomoção condicionada é observada e é independente da dose usada. Portanto, para se observar uma resposta condicionada, basta o condicionamento do efeito estimulante independente de sua magnitude. De encontro com esta idéia, notou-se que a dose de 5 mg/Kg de morfina não apresentou efeito estimulante e nem locomoção condicionada (dados não mostrados).

A locomoção apresentada pelo grupo Mor15-Sal corrobora a idéia de sensibilização apresentada pelo grupo tratado com 15 mg/kg de morfina depende essencialmente da associação do efeito estimulante da droga com o ambiente. No entanto, a atividade locomotora condicionada observada no grupo Mor30-Sal sugere que ambos os componentes da sensibilização comportamental atue em conjunto para que ocorra o desenvolvimento do fenômeno nessa dose. Portanto, hipotetiza-se que o componente condicionado não seja o único responsável pelo desenvolvimento da sensibilização comportamental às diferentes doses de morfina.

Resultados semelhantes aos da locomoção total da sessão Teste foram obtidos para a locomoção periférica (figura 14). O teste de Duncan apresentou diferenças entre os animais tratados com morfina (Mor15-Sal e Mor30-Sal) e os animais controles (Sal-Sal). No entanto, não

houve diferença significativa entre Mor15-Sal e Mor30-Sal. Dessa forma, para esse parâmetro observa-se a apresentação de locomoção condicionada em ambos grupos.

Para o parâmetro locomoção central (figura 15), a análise de variância de uma via (ANOVA) seguindo do teste de Duncan revelou diferenças significantes apenas entre o grupo controle quando comparados com os animais Mor15-Sal, sendo que esse apresentou um aumento quando comparado com àqueles. Esse dado vai ao encontro da hipótese de que o componente condicionado é o principal componente na sensibilização comportamental observada no grupo tratado com 15 mg/Kg

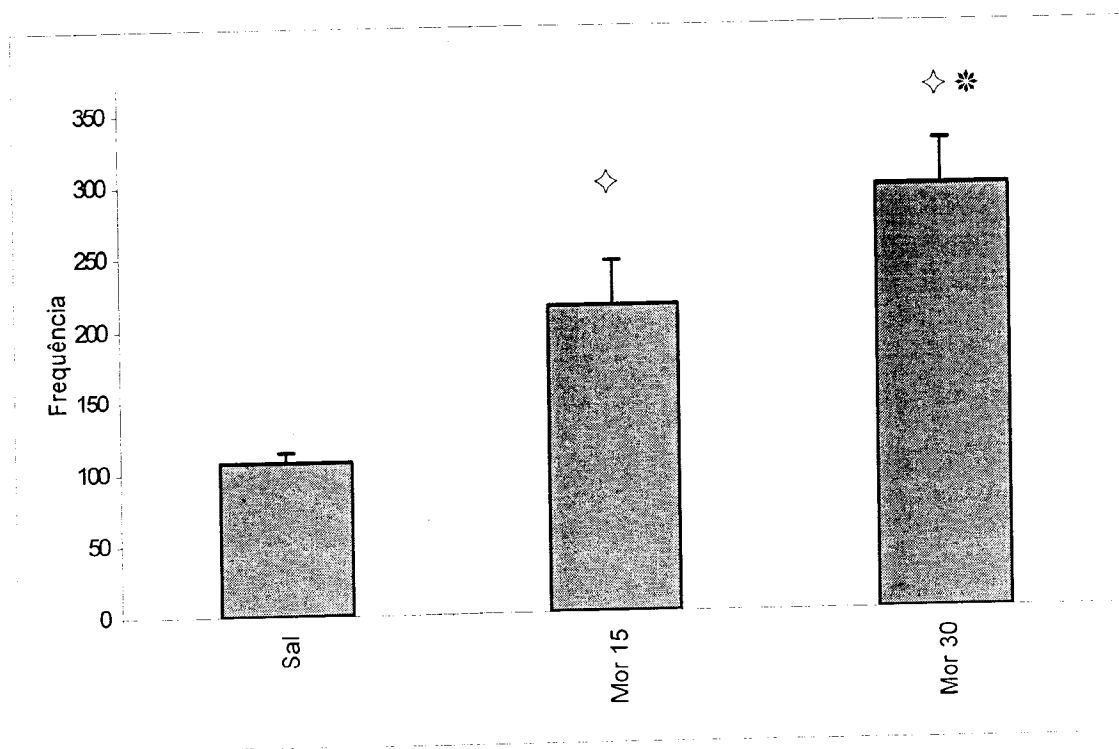


Figura 10- Locomoção total – componente condicionado, Sessão Treino - Frequência dos testes de locomoção total de camundongos tratados agudamente com diferentes doses (15; 30 mg/Kg) de morfina (Mor) ou salina (Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

- ◇ p < 0,05 em relação ao grupo Sal;
- * p < 0,05 em relação ao grupo Mor15.

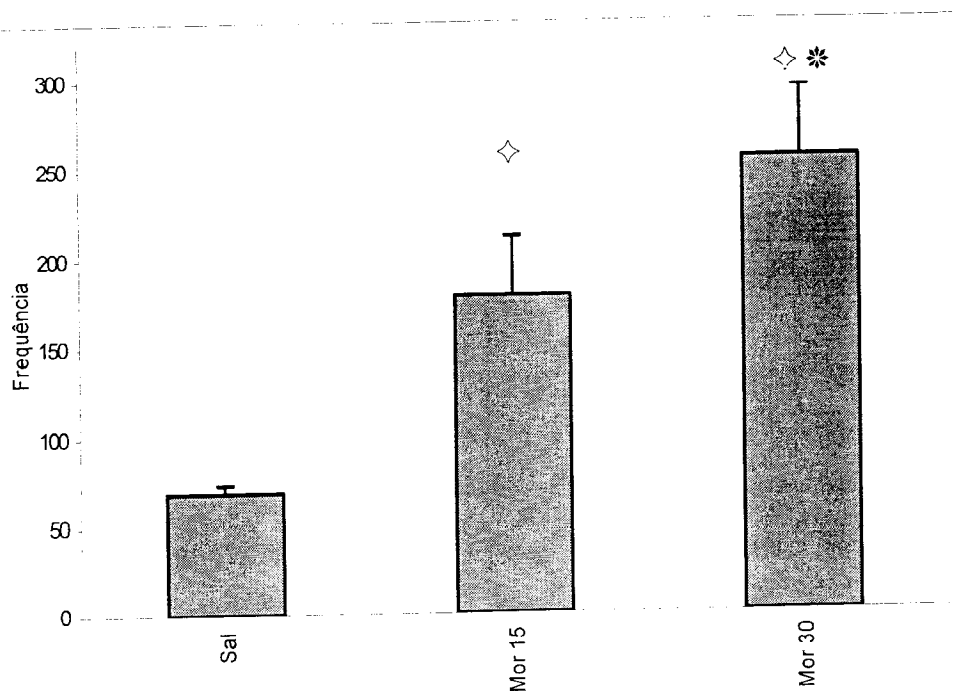


Figura 11- Locomoção periférica – componente condicionado, Sessão Treino --
Frequência dos testes de locomoção periférica de camundongos tratados agudamente com diferentes doses (15; 30 mg/Kg) de morfina (Mor) ou salina (Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal;

* $p < 0,05$ em relação ao grupo Mor15.

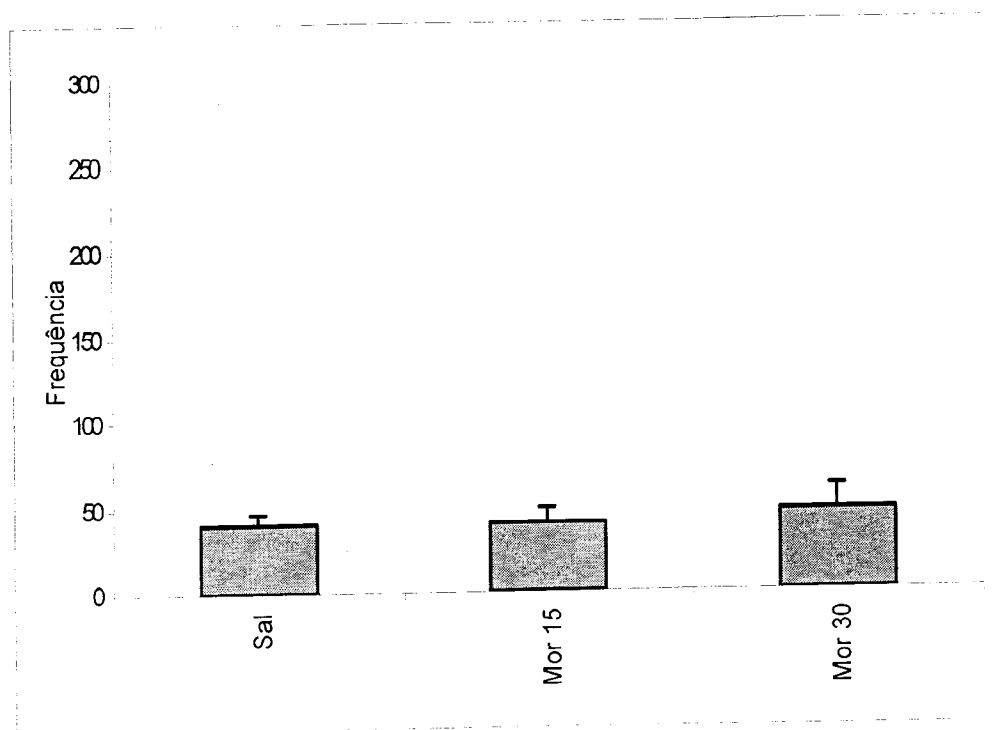


Figura 12- Locomoção central – componente condicionado, Sessão Treino -- Frequência dos testes de central de camundongos tratados agudamente com diferentes doses (15; 30 mg/Kg) de morfina (Mor) ou salina (Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan não apresentou diferenças significativas entre os grupos

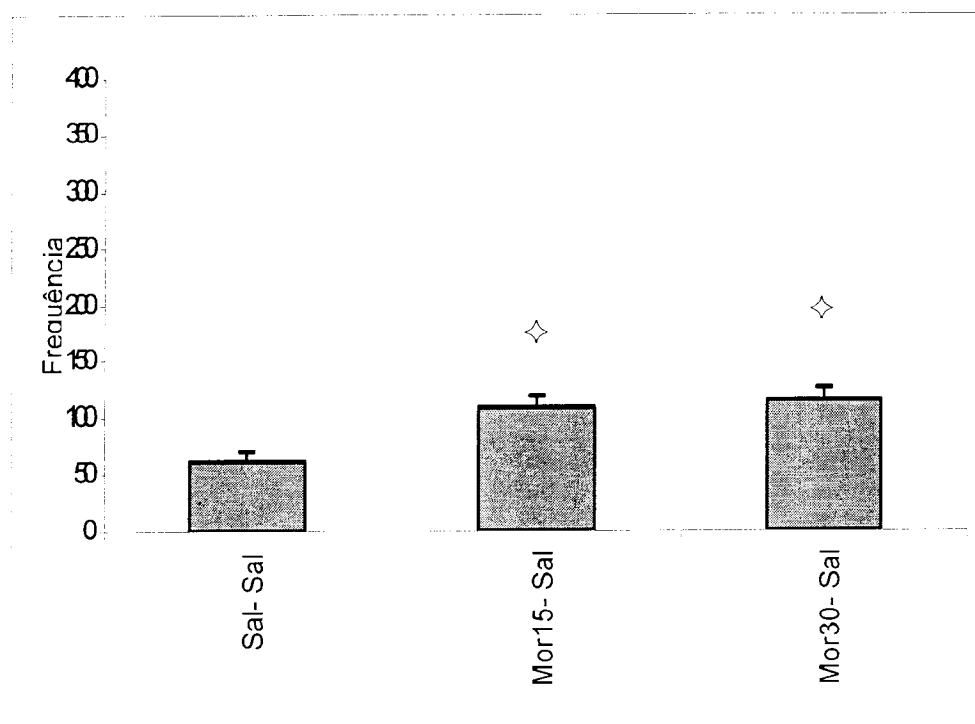


Figura 13- Locomoção total – componente condicionado, Sessão Teste -- Frequência dos testes de locomoção total de camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor15, Mor30) e desafiados 7 dias após NaCl 0,9% (salina – Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

♦ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal;

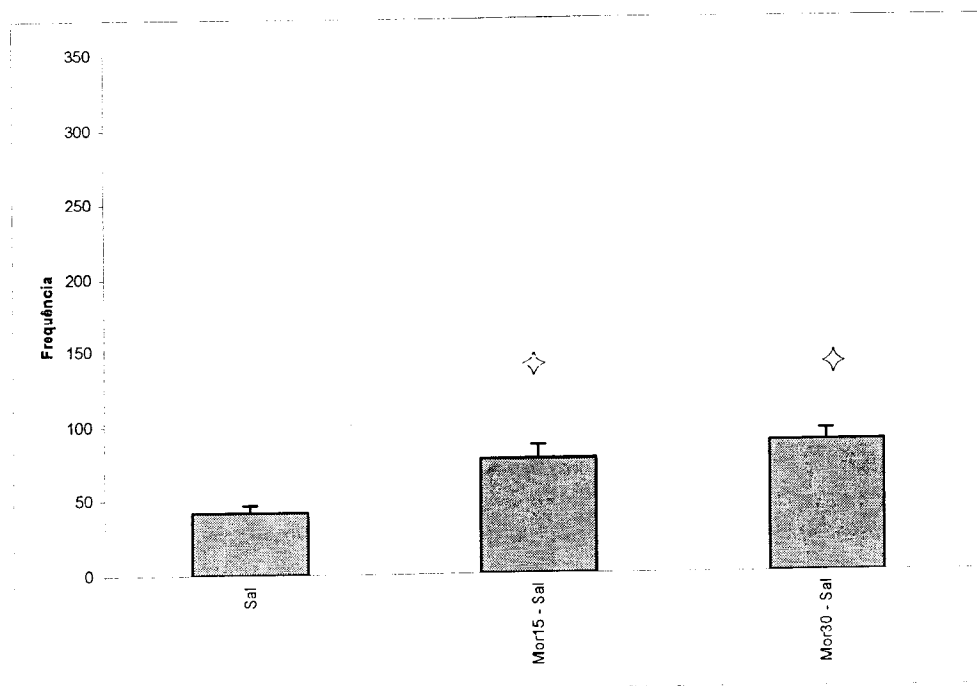


Figura 14- Locomoção periférica – componente condicionado, Sessão Teste -- Frequência dos testes de locomoção periférica de camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor15, Mor30) e desafiados 7 dias após NaCl 0,9% (salina – Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

◇ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal.

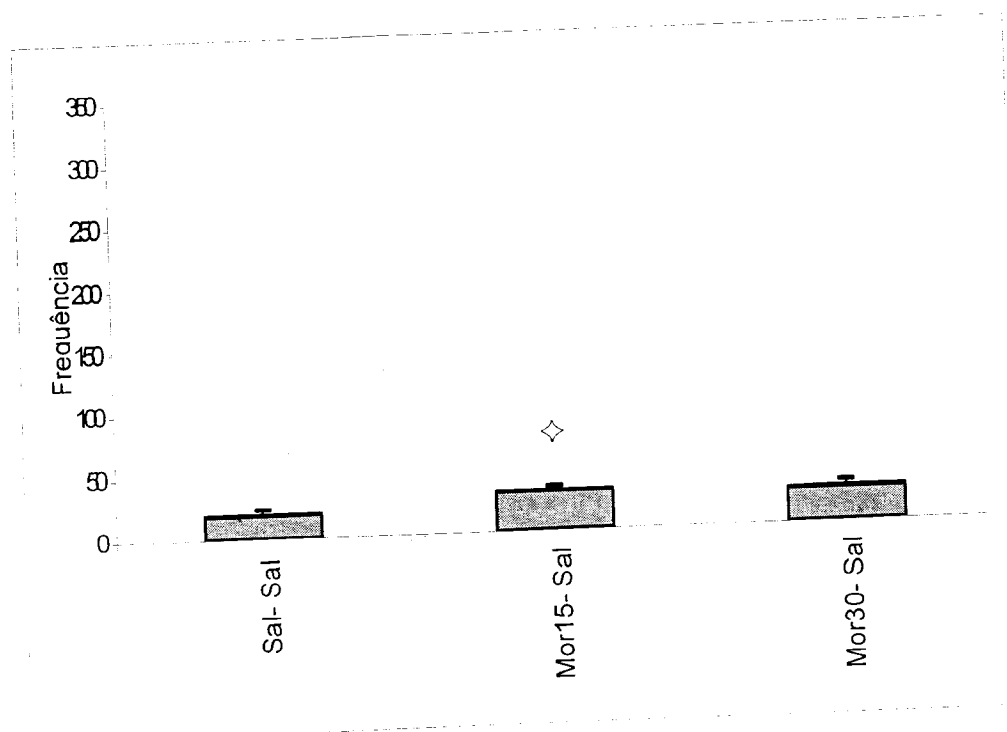


Figura 15- Locomoção central – componente condicionado, Sessão Teste --
 Frequência dos testes de locomoção central de camundongos tratados agudamente com salina (Sal) ou 15 e 30 mg/Kg de morfina (Mor15, Mor30) e desafiados 7 dias após NaCl 0,9% (salina – Sal).

Os dados representam médias $\pm$ erro padrão.

Análise de variância e teste de Duncan.

♦ $p < 0,05$ em relação ao grupo Sal-Sal.

5 CONCLUSÕES

Através das experimentações realizadas para a concretização deste trabalho, pode-se concluir que:

- 1- A administração de dose única de morfina foi capaz de desenvolver a sensibilização comportamental em camundongos;
- 2- O efeito estimulante é importante para promover sensibilização comportamental à morfina;
- 3- A sensibilização comportamental à morfina está dose-dependentemente relacionada ao efeito estimulante;
- 4- É o componente farmacológico da sensibilização que está dose-dependentemente relacionado, favorecendo a sensibilização em doses mais altas;
- 5- O componente condicionado depende do efeito estimulante, mas não depende da dose, influenciando, portanto, tanto a sensibilização induzida por uma dose menor (15 mg/kg) ou maior (30 mg/kg);
- 6- Os componentes condicionado e farmacológico somam-se na expressão final do fenômeno de sensibilização comportamental a morfina.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS ¹

AHMED, S.H.; CADOR, M.; LE MOAL, M.; STINUS, I. Amphetamine-induced conditioned activity in rats: comparison with novelty-induced activity and role of the basolateral amygdala. **Behavioural Neuroscience**. v. 109, n. 4, p. 723-733, Aug. 1995.

ANAGNOSTARAS, S.G.; ROBINSON, T.E. Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: modulation by associative learning. **Behavioural Neuroscience**. v. 110, n. 6, p. 1397-1414, Dec. 1996.

ANAGNOSTARAS, S.G.; SCHALLERT, T.; ROBINSON, T.E. Memory process governing amphetamine-induced psychomotor sensitization. **Neuropsychopharmacology**. v. 26, n. 6, p. 703-715, Jun. 2002.

ARAÚJO, N. P. de; **Fatores que modificam a sensibilização comportamental induzida pela administração repetida de etanol**. 2003. 288 f. Tese de doutorado (Doutorado em Psicobiologia) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2004.

BABBINI, M.; DAVIS, W.M. Time-dose relationship for locomotor activity effects of morphine after acute or repeated treatment. **Br Journal of Pharmacology**. v. 46, N. 2, p. 213-224, Oct. 1972.

BADIANI, A.; OATES, M. M.; ROBINSON, T. Modulation of morphine sensitization in the rat by contextual stimuli. **Psychopharmacology**. v. 151, n. 2/3, p. 273-282, Aug. 2000.

BATTISTI, J. J.; URETSKY, N. J.; WALLACE, L. J. Importance of environmental context in the development of amphetamine or apomorphine-induced stereotyped behavior after single and multiple doses. **Pharmacology and Biochemistry Behavior**. v. 66, n. 4, p. 671-677, Aug. 2000.

CAREY, R. & GUI, J. Cocaine conditioning and cocaine sensitization: what is the relationship? **Behavioral Brain Research**. v. 92, n. 1, p. 67-76, Aug. 1998.

¹ Referências bibliográficas de acordo com as normas da ABNT, 2003

CROMBAG, H.S.; BADIANI, A.; CHAN, J.; DELL-ORCO, J.; DINEEN, S.P.; ROBINSON, T.E. - The ability of environmental context to facilitate psychomotor sensitization to amphetamine can be dissociated from its effect on acute drug responsiveness and on conditioned responding. **Neuropsychopharmacology**. v. 24, n. 6, p. 680-690, Jun. 2001.

DEVINE, D.P.; LEONE, P.; POCOCCO, D.; WISE, R.A. Differential involvement of ventral tegmental um, delta and kappa opioid receptors in modulation of basal mesolimbic dopamine release: in vivo microdialysis studies. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 266, n. 3, p. 1236-1246, Sep. 1993.

ENRICO, P.; MURA, M.A.; ESPOSITO, G.; SERRA, P.; MIGHELI, R.; DE NATALE, G.; DESOLE, M.S.; MIELE, E. Effects of naloxone on morphine-induced changes in striatal dopamine metabolism and glutamate, ascorbic acid and uric acid release in freely moving rats. **Brain Research**. v. 797, n. 1, p. 94-102, Jun. 1998.

GORELOVA, N.; YANG, C.R. The course of neural projection from the prefrontal cortex to the nucleus accumbens in the rat. **Neuroscience**. v. 76, n. 3, p. 689-706, Dec. 1997.

GROENEWEGER, H.J.; MULDER, A.B.; BEIJER, A.V.J.; WRIGHT, C.I.; LOPES DA SILVA, F.H.; PENNARTZ, C.M.A. Hippocampal and amygdaloid interactions in the nucleus accumbens. **Psychobiology**. v. 27, p. 149-164, 1999

HENRY, D.J. & WHITE, F.J. Repeated cocaine administration causes persistent enhancement of d1 dopamine receptor sensitivity within the rat nucleus accumbens. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 258, n. 3, p. 882-889, Sep. 1991.

IIZUKA, M. & HIRABAYASHI, M. Development and characteristics of reverse tolerance to repeatedly administered morphine in mice manifested by enhanced motor activities. **Folia of Pharmacology Japanese**. v. 82, n. 4, p. 293-301. Oct. 1983.

IIZUKA, M.; HIRABAYASHI, M. Enhancing effect of morphine on ambulatory activity produced by repeated administration in mice. **Folia of Pharmacology Japanese**. v. 82, n. 4, p. 293-301. Oct 1983.

IWAMOTO, E.T. Locomotor activity and antinociception after putative μ , κ and σ receptor agonists and antagonists. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 217, n. 2, p. 451-460, May. 1981.

JEZIORSKI, M.; WHITE, F.J. Dopamine receptor antagonist prevent expression, but not development of morphine sensitization. **European Journal of Pharmacology**. v. 275, n. 3, p. 235-244, Mar. 1995.

JOHNSON, S.W.; NORTH, R.A. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. **Journal of Neuroscience**. v. 12, n. 2, p. 483-488, Feb. 1992.

KALIVAS, P. W. Sensitization to repeated enkephalin administration into the ventral tegmental area of the rat. ii. involvement of the mesolimbic dopamine system. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 235, n. 2, p. 544-550, Nov. 1985.

KALIVAS, P.W.; DUFFY, P. Sensitization to repeated morphine injection in the rat: possible involvement of a10 dopamine neurons. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 241, n. 1, p. 204-212, Apr. 1987

KALIVAS, P.W.; DUFFY, P. Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. **Journal of Neuroscience**. v. 10, n. 9, p. 2940-2949, Sep. 1990

KALIVAS, P. W.; STEWART, J. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug – and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Research and Review**. v. 16, n. 3, p. 223-244, Sep/Dec, 1991.

KALIVAS, P.W.; TAYLOR, S.; MILLER, J. S. Sensitization to repeated enkephalin administration into the ventral tegmental area of the rat. i. behavioral characterization. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 235, n. 2, p. 537-543, Nov. 1985.

KALIVAS, P.W.; WEBER, B. Amphetamine injection into the ventral mesencephalon sensitizes rats to peripheral amphetamine and cocaine. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 245, n. 3, p. 1095-1102, Jun, 1988.

KALIVAS, P.W. ; WEBER, B. Behavioral and neurochemical effects of acute and daily cocaine administration in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 245, n. 3, p. 1095-1102, Jun. 1988.

KLITENICK, M.A.; DEWITTE,P.; KALIVAS, P.W. Regulation of somatodendritic dopamine release in the ventral tegmental area by opioid and gaba: an in vivo microdialysis study. **Journal of Neuroscience**. v. 12, n. 7, p. 2623-2632, Jul. 1992.

KURIBARA, H. Modification of morphine sensitization by opioid and dopamine receptor antagonists: evaluation by studying ambulation in mice. **European Journal of Pharmacology**. v. 275, n. 3, p. 251-258, Mar. 1995.

KURIBARA, H. Effects of interdose interval on ambulatory sensitization to methamphetamine, cocaine and morphine in mice. **European Journal of Pharmacology**. v. 316, n. 1, p. 1-5, Nov. 1996a.

KURIBARA, H. Interval-dependent inhibition of morphine sensitization of ambulation in mice by post-treatment with naloxone or restraint. **Psychopharmacology**. v. 125, n.2, p. 129-134, May. 1996b.

KURIBARA, H.; TADOKORO, S. Reverse tolerance to ambulation- increasing effects of methamphetamine and morphine in 6 mouse strains. **Japanese Journal of Pharmacology**. v. 49, n. 2, p. 197-203, Feb. 1989.

LE MOAL, M. In psychopharmacology: the fourth generation of progress, bloom, f.e. & kupfer, d.j. (eds) **Raven Press LTD**. New York, 1995.

LE MOAL, M.; SIMON, H. Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. **Physiology Review**. v. 71, p. 155-234, Jan. 1991.

MAILMAN, R.B.; SCHULTZ, D.W.; LEWIS, M.H.; STAPLES, L.; ROLLEMA, H.; DEHAVEN, D.L. SCH 23390: a selective d1 dopamine antagonist with potent d2 behavioral actions. **European Journal of Pharmacology**. v. 101, n. 1/2, p. 159-160, May. 1984.

MARINELLI, M.; LE MOAL, M.; PIAZZA, P.V. Sensitization to the motor effects of contingent infusions of heroin but not of kappa agonist ru 51599. **Psychopharmacology**. v. 139, n. 3, p. 281-285, Jun. 1998.

MELCHIORRI, P.; MARITATI, M.; NEGRI, L.; ERSPAMER, V. Long-term sensitization to the activation of cerebral delta - opioid receptors by the deltorphin tyr-d-ala-phe-glu-val-val-gly-nh2 in rats exposed to morphine. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 89, n. 9, p. 3696-3700, May. 1992.

MORRIS, R.G.M., ANDERSON, E.; LYNCH, G.S., BAUDRY, M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by na n-methyl-d-aspartate antagonist, ap5. **Nature**. v. 319, n. 6056, p. 774-776, Feb/Mar, 1986.

NICOL, B.; ROWBOTHAM, D.J.; LAMBERT, D.G. μ and κ opioids inhibit k^+ evoked glutamate release from rat cerebrocortical slices. **Neuroscience Letters**. v. 218, n. 2, p. 79-82, Nov. 1996.

O' CALLAGHAN, J.P. Evolution of a rational use of opioids in chronic pain. **European Journal Pain**. v. 5, suppl 1, p. 21-26, Dec. 2001.

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**. v. 104, n. 1/2, p. 140-141, Mar. 1991.

PIERCE, R.C.; KALIVAS, P.W. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. **Brain Research Review**, v. 25, n. 2, p. 192-216, Oct. 1997.

POWELL, K. R.; HOLTZMAN, S. G.; Parametric evaluation of the development of sensitization to the effects of morphine on locomotor activity. **Drug and Alcohol Dependence**. v. 62, n. 1, p. 83-90, Mar. 2001.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**. v. 463, n. 1/3, p. 3-33, Feb. 2003.

ROBINSON, T.E.; ANGUS, A. L., BECKER, J.B. Sensitization to stress: the enduring effects of prior stress on amphetamine-induced rotational behavior. **Life of Science**. v. 37, n. 11, p. 1039-1042, Sep. 1985.

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 Research**. v. 18, n. 2, p. 157- 198, Jun. 1986.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K.C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. **Brain Research Review**. v. 18, n. 3, p. 247-291, Sep/Dec. 1993.

ROBINSON, T.E., BERRIDGE, K. C. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. **Addiction**. v. 95, n. 8s 2, p. 91-118, Aug. 2000.

ROBINSON, T.E.; BERRIDGE, K. C. Incentive-sensitization and addiction mechanisms of action of addictive stimuli. **Addiction**. v. 96, n. 1, p.103-114, Jan. 2001.

SEERANO, A.; AGUILAR, M.A.; MANZANEDO, C.; RODRÍGUEZ-ARIAS, M.; MIÑARRO, J. Effects of DA D1 and D2 antagonists on the sensitisation to the motor effects of morphine in

mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology e Biological Psychiatry**. v. 26, n. 7/8, p. 1263-1271, Dec. 2002.

SEGAL, D.S.; GEYER, M.A.; SCHUCKIT, M.A. Stimulant-induced psychosis: an evaluation of animal models. **Essays in Neurochemistry and Neuropharmacology**. v. 5, p. 95-129, 1981.

SEGAL, D.S.; SCHUCKIT, M.A. Animal models of stimulant-induced psychosis. in: creese i (ed) stimulants: neurochemical, behavioral, and clinical perspectives. **Raven Press**, New York, p. 131-167, 1983.

SESACK, S.R.; DEUTCH, A.Y.; ROTH, R.H.; BUNNEY, B.S. Topographic organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with *phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. **Journal Comp Neurol**. v. 290, n. 2, p. 213-242, Dec. 1989.

SESACK, S.R.; PICKEL, V.M. In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. **Brain Research**. v. 527, n. 2, p. 266-279, Sep. 1990.

SESACK, S.R.; PICKEL, V.M. Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. **Journal Comp Neurology**. v. 320, n. 2, p. 145-160, Jun. 1992.

SHAHAM, Y.; KELSEY, J.E.; STEWART, J. Temporal factor in the effect of restraint stress on morphine-induced behavioral sensitization in the rat. **Psychopharmacology**. v. 117, n. 1, p. 102-109, Jan. 1995.

SPANAGEL, R.; HERZ, A.; SHIPPENBERG, T.S. Opposing tonically active endogenous opioid systems modulate the mesolimbic dopaminergic pathway. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 89, n. 6, p. 2046-2050, Mar. 1992.

STEWART, J.; BADIANI, A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. **Behavioral of Pharmacology**. v. 4, n. 4, p. 289-312, 1993.

SUZUKI, T.; MAEDA, J.; MASAHIKO, F.; MISAWA, M. The d3-receptor agonist (+ -)-7-hydroxy-*n,n*-di-*n*-propyl-2-aminotetralin (7-oh-dpat) attenuates morphine-induced hyperlocomotion in mice. **Neuroscience Letter**. v. 187, n. 1, p. 45-48, Feb. 1995.

SWERDLOW, N.R.; VACCARINO, F.J.; KOOB, F.G. Effects of naloxone on heroin, amphetamine, and caffeine stimulated locomotor activity in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 23, n. 3, p. 499-501, Sep. 1985.

SZECHTMAN, H., TALANGBAYAN, H., CANARAN, G.; DAI, H.; EILAM, D. – Dynamics of behavioral sensitization induced by the dopamine agonist quinpirole and a proposed central energy control mechanism. **Psychopharmacology**. v. 115, n. 1/2, p. 95-104, Jun. 1994.

SZUMLINSKI, K.K.; MAISONNEUVE, I.M.; GLICK, S.D. The potential anti-addictive agent, 18-methoxycoronaridine, blocks the sensitized locomotor and dopamine responses produced by repeated morphine treatment. **Brain Research**. v. 864, n. 1, p. 13-23, May. 2000.

TERAI, M.; USUDA, S.; KUROIWA, I.; NOSHIRO, O.; MAENO, H. Selective binding of YM-09151-2, a new potent neuroleptic, to D2-dopamine receptors. **Japanese Journal of Pharmacology**. v. 33, n. 4, p. 749-755, Aug. 1983.

TILSON, H.A.; RESH, R.A.; Conditioned drug effects and absence of tolerance to *d*-amphetamine induced motor activity. **Pharmacology and Biochemistry Behavior**. v. 1, n. 2, p. 149-153, Mar/Apr. 1973.

TZSCHENTKE, T.M. & SCHIMDT, W.J. - Does the noncompetitive nmda receptor antagonist dizocilpine (MK801) really block behavioural sensitization associated with repeated drug administration? **TIPS**. v. 19, p. 447-451, 1998.

VANDERSCHUREN, L.J.M.J., KALIVAS, P.W. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of pre-clinical studies. **Psychopharmacology**. v. 151, n. 2/3, p. 99-120, Aug. 2000.

VANDERSCHUREN, L.J.M.J.; TJON, H.K.G.; NESTBY, P.; MULDER, A.H.; SCHOFFELMEER, A.N.M.; VRIES, T.J. DE. Morphine induced long-term sensitization to the locomotor effects of morphine and amphetamine depends on the temporal pattern of the pre-treatment regimen. **Psychopharmacology**. v. 131, n. 2, p. 115-122, May. 1997.

VEZINA, P.; KALIVAS, P.W.; STEWART, J. Sensitization occurs to the locomotor effects of morphine and specific μ opioid receptor agonist, DAGO, administered repeatedly to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens. **Brain Research**. v. 417, n. 1, p. 51-58, Aug. 1987.

VOLKOW, N.D.; FOWLER, J.S.; WANG, G.J.; The addicted human brain: insights from imaging studies. **The Journal of Clinical Investigation**. v. 111, n. 10, p. 1444- 1451, May. 2003.

WHITE, F.J.; KALIVAS, P.W. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. **Drug and Alcohol Dependence**. v. 51, n. 1/2, p. 141-153, Jun. 1998.

WISE, R.A. Drug-activation of brain reward pathways. **Drug and Alcohol Dependence**. v. 51, n. 1/2, p. 13-22, Jun. 1998.

WISE, R.A.; BOZARTH, M.A. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychological Review**. v. 94, n. 4, p. 469-492, Oct. 1987.

WISE, R.A.; GINGRAS, M.A.; AMIT, Z. - Influence of novel and habituated testing conditions on cocaine sensitization. **European Journal of Pharmacology**. v. 307, n. 1, p. 15-19, Jun. 1996.

WOLF, M.E. The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. **Progress in Neurobiology**. v. 54, n. 6, p. 679-720, Apr. 1998.

WOLGIN, D.L. Contingent tolerance to amphetamine hypophagia: new insights into the role of environmental context in the expression of stereotyp. **Neuroscience Biobehavioural Review**. v. 24, n. 3, p. 279-294, May. 2000.

WRIGHT, C.I.; BEIJER, V.J.; GROENEWEGEN, H.J. Basal amygdaloid complex afferents to the rats nucleus accumbens are compartmentally organized. **Journal Neuroscience**. v. 16, n. 5, p. 1877-1893, Mar. 1996.

WRIGHT, C.I.; GROENEWEGEN, H.J. Patterns of convergence and segregation in the medial nucleus accumbens of the rats: relationships of prefrontal cortical, midline thalamic, and basal amygdaloid afferents. **Journal Comp Neurology**. v. 361, n. 3, p. 383-403, Oct. 1995.

ZARRINDAST, M.R.; GHOLAMI, A.; SAHRAEI, H.; HAERI-ROHANI, A. Role of nitric oxide in the acquisition and expression of apomorphine- or morphine –induced locomotor sensitization. **European Journal of Pharmacology**. v. 482, n. 1/3 , p. 205-213, Dec. 2003.