

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

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA AGUDA DE
COCAÍNA NOS HORMÔNIOS ACTH, CORTISOL E
PROLACTINA DE MICOS-ESTRELA (*Callithrix penicillata*).**

Daniela Lima Gonçalves

**Brasília – DF
2007**

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

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA AGUDA DE
COCAÍNA NOS HORMÔNIOS ACTH, CORTISOL E
PROLACTINA DE MICOS-ESTRELA (*Callithrix penicillata*).**

Daniela Lima Gonçalves

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marília Barros

Brasília – DF
2007

Este trabalho foi desenvolvido no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Marília Barros e, com colaboração, nas dosagens hormonais, do Laboratório SABIN de Análises Clínicas de Brasília.

Dedico este trabalho aos meus pais,
Lucas e Angela, e ao meu irmão
Guilherme.

AGRADECIMENTOS

- À Deus por iluminar toda esta minha trajetória, dando-me saúde e inteligência para, enfim, chegar ao final de mais uma etapa da minha vida.
- À Prof^a. Dr^a. Marília Barros, primeiro pela oportunidade dada quando ainda não me conhecia e depois pela orientação sempre tão presente. Aprendi muito com você! Não tem incentivo maior do que trabalhar com uma pessoa que gosta do que faz. Muito obrigada por tudo!!!
- Aos meus pais, pelo amor e carinho incondicionais que, apesar de todas as minhas reclamações e mau-humor desses últimos meses, sempre tiveram a maior paciência e vibravam com cada etapa vencida. Sem vocês eu não conseguiria terminar este trabalho.
- Ao meu irmão por aturar toda minha falta de paciência e me ajudar quando o computador teimava em não me obedecer.
- Às estagiárias Daiana, Luana e Natalia pela essencial contribuição dada durante as várias etapas deste trabalho. Ele também é fruto do esforço de vocês. Obrigada, meninas!
- Ao Dr. Raimundo, Danilo e Geinaldo do Centro de Primatologia que cuidam tão bem dos animais e foram muito prestativos sempre que precisei.
- Aos meus amigos pela grande paciência com minha constante ausência em bares, festas e até aniversários. Ainda pelo apoio imprescindível nas horas de cansaço. Muito obrigada e agora estou de volta!
- A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde pelos ensinamentos passados.
- À Dr^a. Lídia e ao Laboratório SABIN de Brasília pelo apoio e realização das dosagens hormonais necessárias para a realização deste trabalho.

- À Universidade de Brasília, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde e ao Centro de Primatologia por possibilitarem a realização deste trabalho.
- À CAPES e a FINATEC pelo apoio financeiro para a realização do experimento.
- A todos que direta ou indiretamente contribuíram para esta conquista. Obrigada!

SUMÁRIO

Agradecimentos	I
Sumário	III
Lista de abreviaturas	VI
Resumo	VIII
Abstract	X
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Neuropsicobiologia da farmacodependência	1
1.2. Farmacodependência da cocaína	5
1.2.1. Aspectos gerais	5
1.2.2. Efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração de cocaína	7
1.2.3. Efeitos neuroendócrinos da administração de cocaína	11
1.2.3.1. Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA)	11
1.2.3.2. Prolactina	17
1.3. Uso de primatas neotropicais como modelos experimentais	20
2. JUSTIFICATIVA & RELEVÂNCIA DO ESTUDO	22
3. OBJETIVOS	24
3.1. Objetivo geral	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. METODOLOGIA	25
4.1. Aspectos éticos	25

4.2. Sujeitos	25
4.3. Drogas	27
4.4. Procedimento Experimental	27
4.4.1. Estudo 1: Análise dos efeitos neuroendócrinos a curto prazo	27
4.4.2. Estudo 2: Análise dos efeitos neuroendócrinos a longo prazo	30
4.4.3. Coleta de sangue	31
4.4.4. Análise hormonal	33
4.5. Análise estatística	35
5. RESULTADOS	37
5.1. Estudo 1: Análise dos efeitos neuroendócrinos a curto prazo	37
5.1.1. Tempo de coleta de sangue	37
5.1.2. ACTH	38
5.1.2.1. Análise geral	38
5.1.2.2. Análise por grupo experimental	39
5.1.3. Cortisol	40
5.1.3.1. Análise geral	40
5.1.3.2. Análise por grupo experimental	42
5.1.4. Prolactina	44
5.1.4.1. Análise geral	44
5.1.4.2. Análise dos grupos experimentais	45
5.2. Estudo 2: Análise dos efeitos neuroendócrinos a longo prazo	49
5.3. Correlações entre os níveis hormonais e o tempo de coleta	50
6. DISCUSSÃO	52
6.1. Efeitos da cocaína no eixo HPA	52
6.1.1. Efeitos a curto prazo	52
6.1.2. Efeitos a longo prazo	56
6.2. Prolactina	58
6.2.1. Efeitos a curto prazo	58
6.2.2. Efeitos a longo prazo	60

6.3. Aspectos metodológicos	62
6.3.1. Administração intraperitoneal de cocaína/salina	62
6.3.2. Coleta de sangue	62
6.3.3. Análises hormonais por imunoenensaio enzimático quimioluminescente	64
6.3.4. Análise por grupo experimental	64
6.3.5. Análise por gênero sexual	66
6.4. Perspectivas futuras	67
7. CONCLUSÃO	69
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71
9. ANEXOS	81
9.1. Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética no Uso Animal	81
9.2. Anexo 2: Autorização da Agencia Nacional de Vigilância Sanitária	82
9.3. Anexo 3: Tabela de correlação entre o tempo e a concentração hormonal	83

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
C ₁₀ T ₃₀	30-min pós-injeção cocaína 10mg/kg
C ₁₀ T ₆₀	60-min pós-injeção cocaína 10mg/kg
C ₂₀ T ₃₀	30-min pós-injeção cocaína 20mg/kg
C ₂₀ T ₆₀	60-min pós-injeção cocaína 20mg/kg
CPUnB	Centro de Primatologia da Universidade de Brasília
CRF	Fator liberador de corticotropina
DA	Dopamina
DAT	Proteína transportadora de dopamina
h	Horas
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
5-HT	Serotonina
KO	Knockout
min	Minuto (s)
NA	Noradrenalina
NAc	Núcleo accumbens
NAT	Proteína transportadora de noradrenalina
s	Segundo (s)
S ₁ T ₀₀	0-min pós-injeção salina 1
S ₂ T ₀₀	0-min pós-injeção salina 2
S ₃ T ₀₀	0-min pós-injeção salina 3
S ₄ T ₀₀	0-min pós-injeção salina 4
S ₁ T ₃₀	30-min pós-injeção salina

S ₁ T ₆₀	60-min pós-injeção salina
SERT	Proteína transportadora de serotonina
SNC	Sistema Nervoso Central
TR	Tubo de reação
VTA	Área tegmental ventral

RESUMO

A cocaína, atuando sobre o Sistema Nervoso Central, induz alterações neuroquímicas, fisiológicas e comportamentais. De fato, a administração deste psicoestimulante influencia diversas funções neuroendócrinas como, por exemplo, a ativação do eixo HPA e a inibição da liberação de prolactina. Entretanto, os circuitos neurais ativados e as respostas fisiológicas e comportamentais provocadas pela cocaína, assim como suas possíveis interações, ainda não foram totalmente elucidadas. Desta forma, este trabalho teve como objetivo determinar os efeitos da administração sistêmica aguda de cocaína sobre os hormônios adrenocorticotrópico (ACTH), cortisol e prolactina em micos-estrela (*Callithrix penicillata*). Para tanto, foi dosada – por imunensaio com detecção quimioluminescente – a concentração plasmática/sérica dos hormônios acima citados em nove micos adultos e ingênuos ao procedimento experimental. Este consistiu em coletar, em intervalos de 7-dias, amostras de sangue de cada sujeito 30 e 60-min após a administração ip de 10 e 20 mg/kg de cocaína, e após 0, 30 e 60-min pós-injeção ip de salina. Ademais, os níveis basais de ACTH e cortisol foram determinados de 2 em 2 meses, durante 6 meses após a última injeção da droga. A administração de 20 mg/kg de cocaína aumentou a concentração plasmática basal de ACTH 30-min após a sua injeção, enquanto que depois de 60-min foi observada uma diminuição significativa. Este psicoestimulante também aumentou significativamente a concentração sérica de cortisol dos micos, porém apenas depois de 60-min da injeção de 20 mg/kg. Por outro lado, os níveis séricos de prolactina diminuíram significativamente após a administração de ambas as doses da droga (10 e 20 mg/kg), sendo este efeito observado 30 e 60-min pós-injeção. Por fim, um aumento persistente e gradual – mas não significativo – foi observado na concentração plasmática de ACTH, principalmente 4 e 6 meses da primeira injeção de cocaína, apesar da concentração circulante de cortisol ter permanecido

constante. A concentração dos hormônios avaliados não alterou significativamente após 0, 30 e 60-min da administração de salina. Ademais, os resultados não parecem ter sido influenciados pela administração da droga/salina, coleta de sangue ou análises de imunoensaio quimioluminescente. Contudo, a divisão dos sujeitos em grupos experimentais deve ser considerada ao interpretar os dados de alguns hormônios (ex. prolactina). Portanto, os resultados sugerem que a administração sistêmica aguda de cocaína induz alterações neuroendócrinas significativas em micos-estrela, similares às observadas em outros animais. Estes efeitos seguiram um padrão (temporal) distinto para cada um dos hormônios analisados, possivelmente devido ao seu respectivo mecanismo de controle de liberação (ex. *feedback* negativo). Novos estudos são necessários para melhor elucidar os efeitos neuroendócrinos – e seus mecanismos centrais subjacentes – da administração de cocaína, visando possíveis novos alvos farmacológicos para o tratamento de dependentes.

ABSTRACT

Cocaine, via its actions on the Central Nervous System, induces neurochemical, physiological and behavioral changes. In fact, the use of this psychostimulant influences several neuroendocrine functions, such as activation of the HPA axis and decrease in prolactin release. However, the neural circuits activated and the physiological and behavioral responses induced by cocaine, in addition to their possible interactions, have not been completely elucidated. Thus, the present study aimed at determining the effects of an acute systemic cocaine administration on the adrenocorticotrophic hormone (ACTH), cortisol and prolactin circulating levels of black tufted-ear marmosets (*Callithrix penicillata*). The plasma/serum concentrations of the aforementioned hormones were dosed – by immunoassay with quimioluminescent detection – in nine adult and experimentally naïve marmosets. For each subject, blood samples were collected at 7-day intervals, 30 and 60-min after an ip injection of 10 and 20 mg/kg of cocaine, as well as 0, 30 and 60-min following the ip administration of saline. Furthermore, basal levels of ACTH and cortisol were determined every 2-months, during 6 months after the last cocaine injection. The administration of 20 mg/kg of this drug increased plasma ACTH concentrations 30-min following its injection, while a significant decrease was observed after 60-min. This psychostimulant also significantly increased the marmosets' serum cortisol levels, although only after 60-min of a 20 mg/kg injection. On the other hand, serum prolactin levels decreased significantly after the administration of both cocaine doses (10 and 20 mg/kg), being this effect observed 30 and 60-min post-injection. Lastly, a gradual and persistent non-significant increase in plasma ACTH was observed, particularly 4 and 6 months after the first cocaine injection, although the circulating levels of cortisol remained constant. The concentration of the hormones

analyzed 0, 30 and 60-min after saline administrations were also similar. Furthermore, the results do not seem to have been influenced by the drug/saline injections, blood samplings or immunoassay quimioluminescent analysis. However, when interpreting data for some hormones (e.g. prolactina), the use of two experimental groups should be considered. The results, therefore, suggest that an acute systemic cocaine administration induces significant neuroendocrine changes in black tufted-ear marmosets, similar to previous results in other species. For each of the hormones analyzed, the effects followed a distinct (temporal) pattern possibly due to specific control mechanisms (e.g. negative feedback). Further studies are necessary to better elucidate the neuroendocrine effects – and their underlying central mechanisms – of cocaine administration, as new pharmacological target may be identified for the treatment of cocaine dependence.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Neuropsicobiologia da farmacodependência

A farmacodependência, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2004), é um transtorno complexo com mecanismos biológicos que afetam o cérebro causado pela ação recíproca entre um indivíduo e um fármaco e sua capacidade de controlar o uso dessas substâncias. Este estado é caracterizado por alterações comportamentais e outras reações que compreendem essencialmente a busca e a administração do composto em questão de forma contínua ou periódica a fim de experimentar seus efeitos e, às vezes, evitar o mal-estar gerado pela sua privação.

Os compostos psicoativos, que englobam um grande leque de classes químicas, são os principais agentes causadores da farmacodependência que atinge atualmente uma grande parcela da população mundial. Capazes de alterar o humor e o comportamento, principalmente por interferirem na transmissão sináptica química, estas substâncias podem ou não gerar dependência (Marquardt & Barros, 2006). As que de fato possuem este efeito geram, caracteristicamente, uma grande motivação por obter o prazer e a euforia propiciados por elas, além de induzirem mecanismos de reforçamento, independente de serem depressoras ou estimulantes do Sistema Nervoso Central (SNC) (Marquardt & Barros, 2006; Nestler et al., 2001).

Portanto, o abuso de drogas pode ser definido como um padrão mal-adaptado de uso recorrente de compostos ilícitos, com conseqüências adversas do ponto de vista interpessoal, social, legal e profissional (Marquardt & Barros, 2006). Já a dependência é um padrão de uso desadaptado de substâncias psicoativas que, além de provocar alterações clinicamente

significativas, está necessariamente associada à perda de controle do comportamento de auto-administração, aos sintomas de retirada (síndrome de abstinência) e à tolerância aos efeitos da droga (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV*; DMS-IV, 1994). Atualmente, estes três critérios são empregados para o diagnóstico de um quadro clínico de dependência de drogas (DMS-IV, 1994).

Existem didaticamente dois tipos de dependência, a física e a psicológica relacionadas, respectivamente, aos processos de tolerância e aos mecanismos de reforçamento. A tolerância é a diminuição de um efeito provocado pela administração repetida da droga (Rang et al., 2001), ou seja, é a necessidade de se aumentar a dose administrada para alcançar os mesmos efeitos prazerosos obtidos inicialmente (Marquardt & Barros, 2006). Existem três tipos de tolerância, a saber: (I) a farmacocinética, que ocorre devido ao aumento da velocidade de metabolismo e/ou excreção da droga; (II) a farmacodinâmica, decorrente de alterações neurais adaptativas de afinidade e número dos receptores, e (III) a comportamental, que envolvem processos não-associativos e/ou associativos clássicos (Graeff, 1999). É importante ressaltar que um tipo de tolerância não exclui outro, podendo haver uma interação entre eles.

Ademais, os compostos psicoativos capazes de gerar dependência induzem mecanismos de recompensa. Estes podem estar associados a estímulos extra- e/ou intra-corpóreos percebidos pelo cérebro que alteram a probabilidade de ocorrência de comportamentos diretamente associados a estes estímulos (Nestler et al., 2001). No caso da dependência pode ocorrer recompensa: (I) positivo, onde os comportamentos relacionados à administração da droga tornam-se mais frequentes com o intuito de se obter o seu efeito prazeroso, ou (II) negativo, onde o aumento do comportamento está associado à uma tentativa

de diminuir o efeito aversivo provocado pela interrupção do uso da droga do qual o indivíduo tenta evitar através da auto-administração (Rang et al., 2001).

A dependência não é um processo que se instala repentinamente, sendo, na verdade, um processo complexo de cinco etapas gerais: (I) aquisição, relacionada aos mecanismos de reforçamento positivo, aos sistemas neurais de recompensa e ao poder inerente da droga gerar dependência; (II) manutenção, formação do hábito de consumir a droga, estando associado ao recompensa negativo (Graeff, 1999); (III) retirada, interrupção do consumo da droga; (IV) compulsão, associada ao intenso desejo de se obter e consumir a droga após sua retirada (Marquardt & Barros, 2006); e (V) recaída, retomada do comportamento de busca e auto-administração da droga (Graeff, 1999).

Ademais, a dependência não ocorre da mesma forma e na mesma intensidade em todos os indivíduos (Graeff, 1999). Além da variabilidade individual, existe uma complexa relação entre a auto-administração e fatores sociais, genéticos, culturais e políticos. Há, por exemplo, um maior risco de dependência quando tem-se uma história de uso na família ou entre os amigos e companheiros (Graeff, 1999). Comportamentos anti-sociais também podem ser preditivos do desenvolvimento da dependência (Graeff, 1999). Vale ressaltar que as características da dependência também variam de acordo com o tipo de substância utilizada sendo que, normalmente, ela começa com uma classe específica, mas tende a expandir-se e incluir outras classes (Graeff, 1999).

Os mecanismos de ação das drogas no cérebro e de desenvolvimento da dependência ainda não estão totalmente elucidados (Marquardt & Barros, 2006). Porém, o seu efeito recompensador parece ser devido à ativação do substrato neural relacionado aos reforçadores naturais como comida, água e sexo (Graeff, 1999). Estes estímulos naturais ativam o chamado

“Sistema de Recompensa/Prazer” do cérebro, envolvendo a via neurotransmissora dopaminérgica mesocorticolímbica (Fig. 1). Esta via tem origem na área tegmental ventral do mesencéfalo (VTA) e projeta para o estriado ventral, incluindo o núcleo accumbens (NAc) e outras regiões do sistema límbico, como a amígdala e o septo, assim como para áreas corticais (Rang et al., 2001; Graeff, 1999; Marquardt & Barros, 2006). Na verdade, um aumento na concentração extracelular do neurotransmissor catecolaminérgico dopamina (DA) no NAc está intimamente relacionado ao comportamento de auto-administração e a dependência de vários compostos, a exemplo dos psicoestimulantes anfetamina e cocaína (Graeff, 1999).

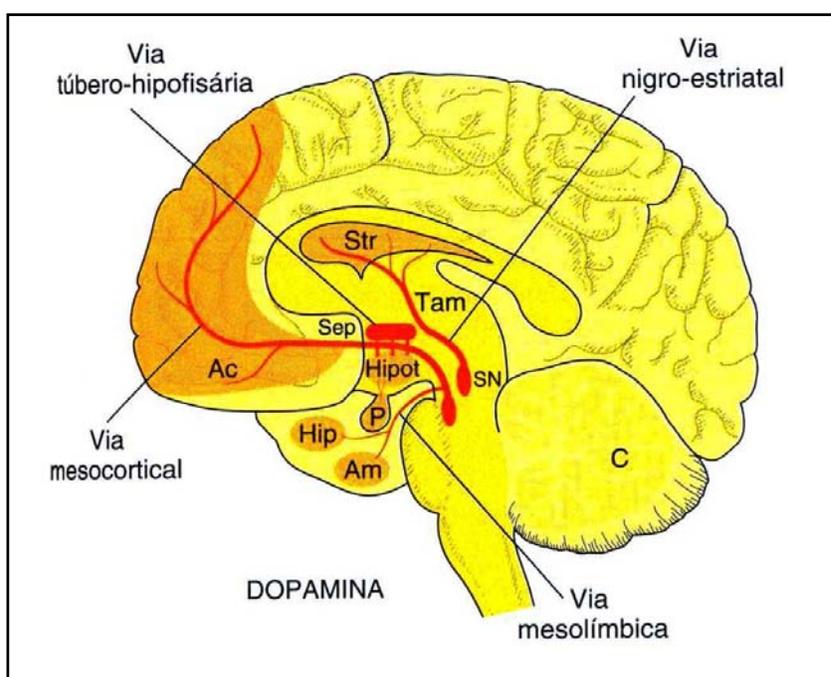


Figura 1. Vias dopaminérgicas no cérebro: Ac = núcleo *accumbens*; Am = amígdala; C = cerebelo; Hipot = hipotálamo; Hip = hipocampo; P = pituitária/hipófise Sep = septo; SN = substância negra; Str = corpo estriado; Tam = tálamo (Fonte: Rang et al., 2001).

De fato, todos os compostos capazes de gerar dependência até hoje testados, incluindo os opióides, a nicotina, as anfetaminas, o etanol e a cocaína, conseguem ativar o NAc, mesmo que por mecanismos e receptores diferentes (Rang et al., 2001). Esta estrutura atua como uma

importante interface entre os sistemas límbico e motor, relacionado à motivação das nossas ações (Ventulani, 2001a). Porém, já se tem conhecimento que outros sistemas neurotransmissores são fundamentais para farmacodependência como, por exemplo, o serotoninérgico, glutamatérgico e GABAérgico (Graeff, 1999). Ademais, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) também é alterado por drogas de abuso, estando esse efeito relacionado aos mecanismos envolvidos na dependência, aspecto que será discutido mais adiante.

1.2. Farmacodependência da cocaína

1.2.1. Aspectos gerais

A cocaína é um alcalóide presente na folha da planta *Erythroxylon coca* (Fig. 2), que é um arbusto perene endêmico do Peru, Colômbia e Bolívia, isolado pela primeira vez por Albert Niemann em 1860 (Katzung, 1998).

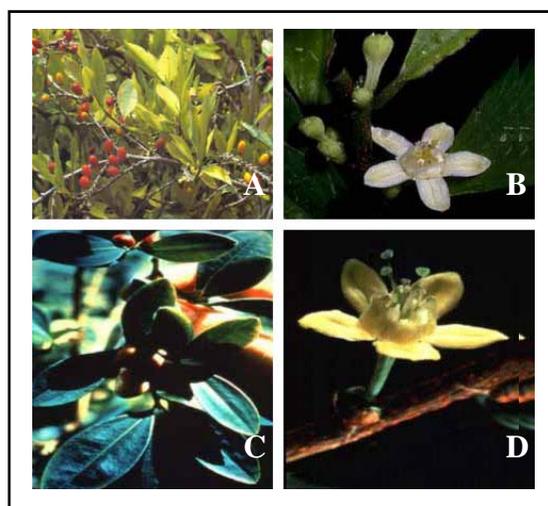


Figura 2. Fotografias do arbusto *Erythroxylon coca* (a) folhas e frutos; (b) e (d) flor; (c) folha (Fotos:http://asanbiotech.co.kr/img/inform/p02a_12.jpg).

Durante muito tempo a cocaína foi consumida somente na América, principalmente nos países andinos. Os primeiros relatos de sua utilização datam do século XVI, quando a folha da coca era comumente mastigada em cerimônias religiosas pelos incas (Ventulani, 2001b). Nesta época, a cocaína também era consumida em chás e infusões da folha, além de ser misturada com alimentos. Seu uso era indicado para diminuir os efeitos de altitudes elevadas e facilitar a realização de trabalhos pesados nestas regiões, uma vez que ela diminui os sintomas de cansaço e fome, além de melhorar a resistência do organismo em circunstâncias ambientais adversas.

Introduzida na Europa na segunda metade do século XIX, através de uma companhia farmacêutica, a cocaína passou a ser adicionada a remédios caseiros e vários alimentos e bebidas, como o vinho Mariani. Ademais, nos Estados Unidos, a cocaína fez parte da composição inicial da Coca-cola[®] durante muito tempo (Ventulani, 2001b). Em 1884, o oftalmologista Carl Koller descobriu um efeito anestésico reversível deste composto e durante muitos anos a cocaína foi aplicada como anestésico local em cirurgias gerais e odontológicas (Rang et al., 2001). Entretanto, devido aos seus efeitos colaterais, parou de ser usada para este fim.

Atualmente, o agente químico puro – hidrocloreto de cocaína – já pode ser sintetizado em laboratório. Contudo, seu processamento a partir da *Erythroxylon coca* começa com a maceração de suas folhas e o seu tratamento com solventes e ácidos, como o querosene e o ácido sulfúrico, resultando em uma pasta base de cocaína. Em seguida trata-se esta pasta com ácido clorídrico, obtendo-se a forma mais conhecida da droga – o pó cloridrato de cocaína, também conhecido vulgarmente como “branquinha”, “neve” ou “coca”. Este pó é cheirado ou dissolvido em água para ser injetado. O *crack* é obtido a partir do processamento da pasta

básica de cocaína com amônia ou bicarbonato de sódio, apresenta-se como uma pedra branca pequena para ser fumada, e tem sido amplamente utilizado principalmente devido ao seu menor custo (Romano et al., 2002; Brick & Erickson, 1999).

Vale ressaltar que a via de administração da cocaína influencia a intensidade e duração dos seus efeitos. Por via intravenosa, a droga produz euforia intensa e rápida (30 a 45-s), porém de curta duração (10 a 20-min); quando aspirada cronicamente tende a provocar atrofia e necrose da mucosa do septo nasal, sendo o início do efeito um pouco mais demorado (120 a 180-s) e com duração entre 30 a 45-min, aproximadamente. A via inalatória produz um efeito eufórico imediato, uma vez que a droga atinge o cérebro após ± 5 -s, porém tem menor duração (5 e 10-min). A cocaína não é comumente administrada por via oral. Depois de absorvida, é rapidamente metabolizada e excretada na forma de benzoilecgonina, norcocaína (metabólitos ativos) e éster de metilecgonina (metabólito inativo) na urina, possuindo uma meia-vida plasmática de ± 1 -h (Romano et al., 2002; Rang et al., 2001; Vasconcelos et al. 2001; Brick & Erickson, 1999).

1.2.2. Efeitos comportamentais e neuroquímicos da administração de cocaína

A cocaína provoca alterações comportamentais, autonômicas e fisiológicas poucos segundos/minutos após sua administração. Os principais efeitos a curto-prazo incluem: euforia, desinibição, redução do sono, diminuição da fadiga, hiperlocomoção, hipervigilância, midríase, anorexia e elevação dos batimentos cardíacos, da temperatura corporal e da pressão arterial. Entretanto, o uso indiscriminado e crônico da droga pode levar a agressividade, alterações hormonais, cefaléia, febre alta, hipertensão arterial, parada cardiorespiratória, convulsões e óbito (Marquardt & Barros, 2006; Brick & Erickson, 1999; Mello & Mendelson,

1997). Ademais, importantes eventos neurovasculares já foram observados, a exemplo de hemorragias sub-aracnóides e acidentes vascular cerebrais (Nicastri et al., 2000).

O principal – e mais conhecido – mecanismo de ação da cocaína no SNC está relacionado ao neurotransmissor DA (Fig. 3). Este psicoestimulante bloqueia a recaptação neuronal de DA liberada na fenda sináptica (Nestler et al., 2001), resultando em uma maior disponibilidade extracelular deste neurotransmissor (Ritz et al., 1990). De fato, a cocaína induz alterações conformacionais na proteína transportadora de DA (DAT), presente na membrana pré-sináptica, impedindo a recaptação deste neurotransmissor (Elliott & Beveridge, 2004). Estudos recentes também sugerem que esta droga possa aumentar a liberação de DA, atuando nos transportadores vesiculares responsáveis pelo armazenamento deste neurotransmissor dentro dos neurônios pré-sinápticos, porém este mecanismo não está totalmente elucidado (Venton et al., 2006). De qualquer forma, o acúmulo extracelular de dopamina no NAc, proveniente da VTA e induzido pelo uso desta droga, é visto como um dos principais mecanismos subjacentes ao efeito de recompensa e da hiperatividade induzida pela cocaína (Koob, 1992).

No entanto, pesquisas recentes vêm demonstrando que outros neurotransmissores também possuem um importante papel modulador na dependência de cocaína. De fato, a capacidade de adquirir e manter o comportamento de auto-administração – um indicativo do potencial de dependência de um composto (Almeida, 2006; Graeff 1999) – foi observado mesmo em camundongos *knockout* (KO) para a proteína DAT (Elliott & Beveridge, 2004). De forma semelhante, camundongos KO para DAT também mantiveram o comportamento de preferência-por-lugar condicionada/aprendida (*conditioned place-preference*), outro teste relacionado à farmacodependência, após administração de cocaína (Rocha et al., 1998).

Portanto, os efeitos recompensadores podem ser mediados por outros mecanismos dependentes e/ou independentes de DA (Elliott & Beveridge, 2004; Muller et al., 2003).

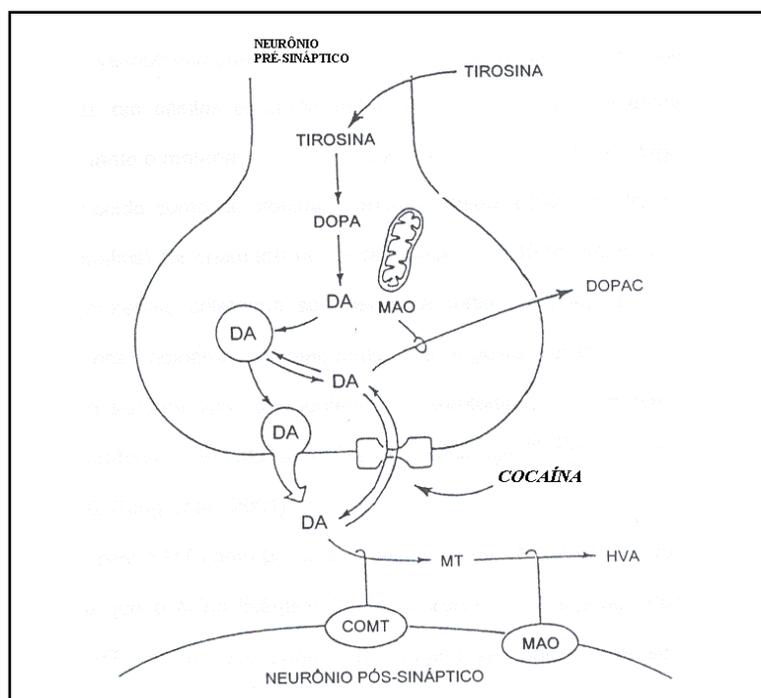


Figura 3. Mecanismo de ação clássica do psicoestimulante cocaína no SNC (Fonte: Cooper et al., 1996; com adaptações).

Na verdade, a administração de cocaína também aumenta a disponibilidade do neurotransmissor monoaminérgico serotonina (5-HT) no NAc, podendo haver, portanto, uma interação entre os sistemas DA/5-HT nesta, e talvez outras regiões com altas concentrações de receptores 5-HT. Camundongos KO para as proteínas transportadoras pré-sinápticas de serotonina (SERT) e para DAT não adquiriram o comportamento de auto-administração de cocaína (Elliott & Beveridge, 2005). Em roedores, a administração do antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A} WAY 100635 bloqueou, enquanto que a do agonista 8-OH-DPAT aumentou a hiperlocomoção induzida por baixas doses de cocaína (Carey et al., 2000, 2001, 2002; Muller et al., 2002a, 2002b, 2003). O efeito comportamental desses ligantes

serotonérgicos parece ser exercido sem alterar a capacidade da cocaína em aumentar a disponibilidade de DA em diversas regiões cerebrais intimamente relacionadas ao processo de recompensa (Carey et al., 2000, 2001, 2002; Muller et al., 2002a, 2002b, 2003). A administração de agonistas de receptores 5-HT_{1B} (RU 24969, CP 94,253 e CP 93,129) também potencializou os efeitos recompensadores da cocaína. Da mesma forma, os efeitos do GBR12909, um inibidor seletivo da recaptação de DA, aumentaram com a administração do agonista 5-HT_{1B} CGS 12066B (Caine, 1998; Parsons et al., 1998). Portanto, vários receptores serotonérgicos parecem exercer um papel facilitador sobre os efeitos comportamentais promovidos pela cocaína.

A noradrenalina (NA) e alguns neuropeptídeos também parecem estar envolvidos. Zhang & Kosten (2005), mostraram que o antagonista de receptores α -1 adrenérgicos prazosin atenuou os comportamentos de recaída induzidos pela cocaína e camundongos KO para proteína transportadora de noradrenalina (NAT) não demonstraram a resposta de preferência-por-lugar condicionado/aprendido (Elliott & Beveridge, 2005). Ademais, a substância P (SP), um neuropeptídeo da família das taquicininas, possui um conhecido efeito reforçador (ex. Hasenöhrl et al., 2000), assim como aumenta a concentração extracelular de DA (Kombian et al., 2003). Com a administração de antagonistas de receptores NK₁, ligante preferencial da SP, estes efeitos foram bloqueados (Gygi et al., 1993; Gonzalez-Nicolini & McGinty, 2002; Loonam et al., 2003). Recentemente, em ratos e primatas neotropicais, os receptores NK₃ também se mostraram relacionados aos efeitos comportamentais e neuroquímicos da cocaína (Jocham et al., 2006; de Sousa Silva et al., 2006a, 2006b).

1.2.3. Efeitos neuroendócrinos da administração de cocaína

A administração de cocaína provoca, além dos efeitos comportamentais e neuroquímicos descritos anteriormente, importantes modificações fisiológicas, como alterações nas concentrações plasmáticas de diversos hormônios. Dentre os principais efeitos neuroendócrinos estão a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e a inibição da prolactina (revs. Levy et al., 1994; Mello & Mendelson, 1997), discutidos a seguir.

1.2.3.1. Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA)

O eixo HPA, o principal sistema neuroendócrino relacionado ao estresse, é formado pelas estruturas do hipotálamo, hipófise e glândulas adrenais (Fig. 4). O primeiro consiste em um pequeno agrupamento bilateral de núcleos situados na região ventral do 3º ventrículo do cérebro. Com aproximadamente 4g, é uma das estruturas mais importantes do SNC devido a sua participação em várias funções vitais do corpo, como a liberação de hormônios, a temperatura corporal, a diurese e o ciclo sono e vigília (Machado, 2004).

Dentre as substâncias secretadas por esta estrutura está o fator liberador de corticotropina (CRF), um peptídeo de 41 aminoácidos produzido pelos neurônios parvocelulares do núcleo paraventricular do hipotálamo e liberado na circulação porta-hipofisária (Berne et al., 2004). Este fator se liga a dois tipos de receptores membranais, CRF₁ e CRF₂, os quais são amplamente distribuídos no SNC e na hipófise anterior (ex. Hauger et al., 2006). Sua liberação é controlada por dois mecanismos gerais: retroalimentação negativa de glicocorticóides circulantes e/ou por estimulação neural direta. No primeiro, o glicocorticóide cortisol liberado pelas glândulas supra-adrenais (produto final da ativação do eixo HPA) penetra facilmente no SNC e liga-se aos seus receptores nucleares presentes nos neurônios

parvocelulares, inibindo a liberação de CRF (Fig. 4; Berne et al., 2004). No segundo mecanismo, a ativação de receptores dopaminérgicos D_2 no hipotálamo estimula a liberação de CRF e ativação do resto do eixo HPA (Levy et al., 1994). Porém, outros mecanismos também estão envolvidos na liberação do CRF, como a estimulação no hipotálamo de receptores de 5-HT, NA e adrenalina e o sistema opióide endógeno que inibem a secreção deste fator (Yen, 1991a).

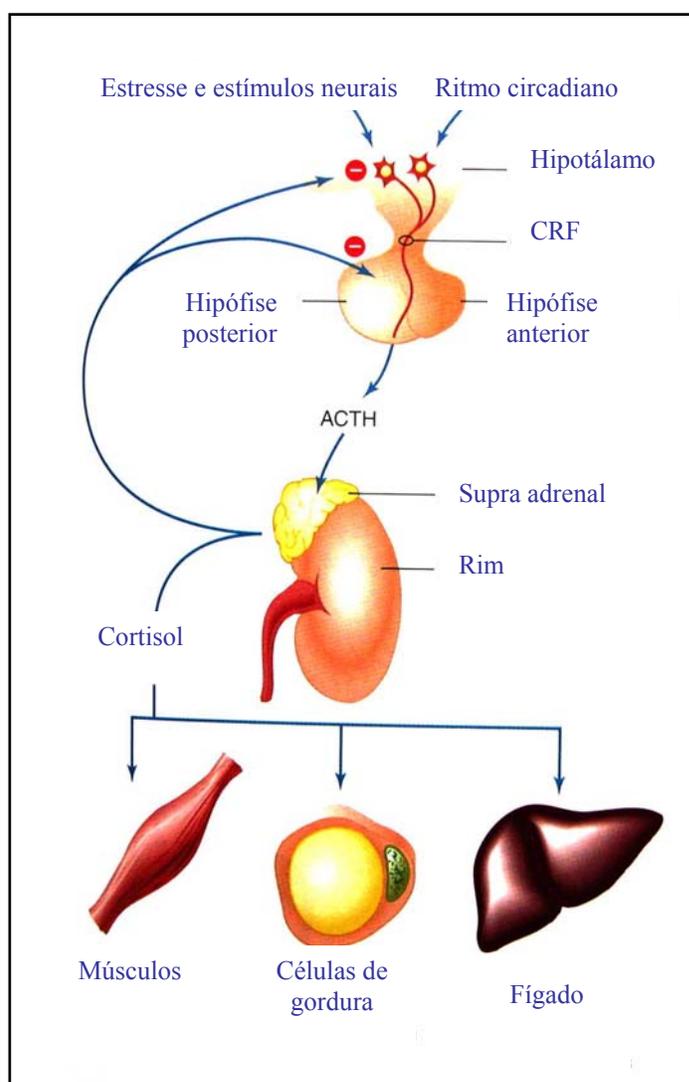


Figura 4. Mecanismo de ativação e regulação do eixo HPA. (Fonte: Randall et al., 2002; com adaptações).

O CRF liberado pelo hipotálamo irá, por sua vez, estimular a síntese e liberação do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) na circulação sistêmica pela hipófise anterior/adenohipófise (Fig. 4) que é formada essencialmente por células endócrinas (Sarnyai et al., 1992). O ACTH é um hormônio polipeptídeo amplamente encontrado entre os vertebrados (Berne et al., 2004; Katzung, 1998), sendo a sua secreção regulada por diversos fatores/estímulos. Além de exibir ritmos circadianos e controle por retroalimentação, o ACTH responde a uma variedade de estímulos/situações, como estresse (cirurgia, hipoglicemia, trauma), depressão, ansiedade, transições no estado sono-vigília e neurotransmissores (5-HT, acetilcolina) (Berne et al., 2004). Entretanto, a liberação de ACTH está sob o controle direto do CRF, sendo este um dos seus principais moduladores (Millan et al., 1987).

Este hormônio possui uma meia-vida plasmática de 15-min, sendo sua principal função estimular/regular o crescimento de zonas específicas do córtex das glândulas supra-adrenais, além de induzir a síntese e liberação dos hormônios corticoesteróides por estas glândulas (Fig. 4; Berne et al., 2004). Estas são órgãos endócrinos complexos, formados por duas partes funcionais distintas: um córtex externo de três camadas, onde são produzidos e liberados os hormônios corticoesteróides, e uma medula interna, fonte das catecolaminas circulantes (Berne et al., 2004).

O glicocorticóide cortisol, um dos hormônios corticoesteróides liberados, mantém a produção de glicose a partir de proteína, facilita o metabolismo de gordura, mantém a responsividade da árvore vascular, modula várias funções do SNC e afeta o sistema imune, as respostas inflamatórias e as funções muscular e renal (Fig. 4; Berne et al., 2004). A maior parte deste hormônio circulante no plasma está ligada a uma α -globulina de ligação específica a corticoesteróides, chamada transcortina ou CBG (*corticosteroid-binding-globulin*). Cada

molécula de transcortina se liga a apenas uma de cortisol, que apresenta uma meia-vida plasmática de ± 70 -min (Berne et al., 2004). Ademais, o cortisol – a exemplo dos demais glicocorticóides – pode se ligar a dois tipos de receptores nucleares: tipo I (receptor mineralocorticóide – MR) e tipo II (receptor glicocorticóide – GR) (ex. Prunet et al., 2006).

A liberação de cortisol é controlada primariamente pelo hipotálamo e hipófise, através dos hormônios CRF e ACTH, respectivamente (Fig. 4; Mello & Mendelson, 1997). Desta forma, os fatores que influenciam a secreção desses hormônios também afetam a de cortisol. Portanto, situações de estresse, cirurgia, queimaduras, infecções, terapia eletroconvulsiva, febre, depressão, ansiedade, exercícios prolongados e quadros de hipoglicemia tendem a aumentar os níveis de cortisol circulante. Ademais, este glicocorticóide também apresenta um ritmo circadiano, com um pico pouco antes do despertar e nadir a partir do final da tarde (Berne et al., 2004). A liberação de cortisol no sangue, como dito anteriormente, induz o mecanismo de retroalimentação negativa, inibindo a ativação do hipotálamo, e consequentemente do eixo HPA.

Este importante sistema neuroendócrino de resposta a situações de estresse também é influenciado pela administração de cocaína, que induz principalmente um aumento significativo na concentração plasmática de corticosterona em roedores (Mantsch et al., 2000) e de cortisol em primatas não-humanos e no homem (ex. Baumann et al., 1995; Sarnyai et al., 1996). Esta resposta decorre, principalmente, de um aumento na liberação de CRF pelo hipotálamo, detectado através de estudos *in vitro* (Calogero et al., 1989) e *in vivo* (Sarnyai et al., 1993), ao invés de uma ação direta sobre o ACTH ou cortisol (Rivier & Vale, 1987). Estudos em roedores demonstraram que o bloqueio de CRF endógeno, pela administração sistêmica de anticorpos anti-CRF (Rivier & Vale, 1987; Sarnyai et al., 1992) e de antagonistas

dos receptores CRF (Sarnyai et al., 1992), bloqueou o aumento de corticosterona circulante induzido pela cocaína. Ademais, foi observado um aumento de mRNA para CRF no núcleo paraventricular do hipotálamo com a administração de cocaína, assim como uma menor liberação de ACTH após lesões feitas nesta mesma região (Rivier & Lee, 1994). Em seres humanos tratados com o opióide buprenorfina, houve uma diminuição na concentração de ACTH em resposta à administração de cocaína, possivelmente devido à ação inibitória do primeiro sobre a liberação de CRF pelo hipotálamo (Mendelson et al., 1992).

O mecanismo exato pelo qual a cocaína modula o eixo HPA e mais precisamente no hipotálamo ainda não está totalmente elucidado. Contudo, existem importantes indícios que essa estimulação possa estar sendo modulada diretamente por neurotransmissores no SNC, como a DA e 5-HT. Neste sentido, foi identificada a existência de receptores D₁ e D₂, assim como 5-HT₁, no núcleo paraventricular do hipotálamo (rev. Levy et al., 1994). Ademais, a administração de antagonistas seletivos de receptores D₁ (SCH 23390) e D₂ (sulpirida) atenuou o aumento na concentração de ACTH provocado pela cocaína (Levy et al., 1994; Borowsky & Kuhn, 1991a). Por outro lado, os agonistas dopaminérgicos SKF38393 e quinpirola, quando administrados em roedores, induziram respostas neuroendócrinas semelhantes à cocaína, como o aumento nos níveis circulantes de ACTH e corticosterona (Borowsky & Kuhn, 1992).

Com relação a 5-HT, a lesão de neurônios serotoninérgicos ou depleção dos seus estoques intracelulares com *p*-clorofenilalanina (PCPA) bloqueou a liberação de ACTH e corticosterona induzida pela cocaína (Levy et al., 1991). Nesta mesma linha, a administração dos antagonistas serotoninérgicos quetanserina e ritanserina induziu o mesmo efeito em roedores

(Borowsky & Kuhn, 1991a; Levy et al., 1991), demonstrando assim uma possível interação entre esta via neurotransmissora e os efeitos neuroendócrinos da cocaína sobre o eixo HPA.

Como este eixo é o principal sistema endógeno relacionado ao estresse e às suas respostas fisiológicas (Mello & Mendelson, 1997), vários autores vêm sugerindo a existência de uma importante relação entre este fator e os mecanismos neurais que subsidiam a farmacodependência (Mello & Mendelson, 1997; Goeders, 2002a; Majewska, 2002). Marinelli et al. (1997), observaram em roedores que a supressão de glicocorticóides, através da retirada das glândulas supra-adrenais ou de manipulações farmacológicas, diminui o efeito hiperlocomotor da cocaína, sendo este revertido pela reposição exógena de corticosterona. O mesmo efeito foi observado via bloqueio dos receptores glicocorticóides no cérebro (Marinelli et al., 1997). De forma semelhante, a adrenalectomia inibiu a aquisição do comportamento de auto-administração de cocaína em ratos, o qual foi revertido pela reposição hormonal de glicocorticóides (Goeders & Guerin, 1996).

Estudos mais recentes, por sua vez, vêm apontando para a interação entre o sistema DA e os glicocorticóides na dependência de cocaína, especificamente no NAc. A hiperlocomoção induzida pela injeção de cocaína no NAc é dependente do aumento de DA nesta estrutura, sendo reduzida pela supressão de corticosterona (Marinelli et al., 1994). Ademais, foi observado que a adrenalectomia em ratos era capaz de reduzir os níveis extracelulares de DA na região periférica, mas não na central, do NAc em condições basais e após a administração de psicoestimulantes, detectado por meio de estudos de microdialise *in vivo* e da expressão de proteínas *fos* (Barrot et al., 2000). Estes efeitos parecem ser específicos para os receptores GR, uma vez que a administração de antagonistas destes, e não para os MR, foi capaz de diminuir as concentrações extracelulares de DA no NAc (Marinelli et al., 1998).

Portanto, os efeitos e alterações neuroendócrinos observados após a administração de cocaína em animais, e que também estão presentes nos usuários dessa droga, podem subsidiar, em parte, os mecanismos pelos quais este psicoestimulante gera dependência e induz uma resposta de recaída após a sua retirada. Contudo, é importante ressaltar que apesar da cocaína induzir uma característica ativação do eixo HPA, esta não é uma condição primordial para que a droga induza seus efeitos eufóricos/comportamentais, nem para o desenvolvimento da dependência (Marinelli & Piazza, 2000).

1.2.3.2. Prolactina

A prolactina é um hormônio de natureza protéica, encontrado em todos os vertebrados e produzido especificamente pelas células lactotrópicas da adenohipófise (Berne et al., 2004). Foram identificados dois subtipos de células, uma sensível ao hormônio tireoideano (TRH) e outra à DA, sendo que a última possui receptores D₂ e secreta significativamente mais prolactina que a primeira (Mello & Mendelson, 1997).

Este hormônio atua estimulando a produção de leite e mantém a lactação após o parto. Entretanto, a prolactina desempenha vários outros efeitos fisiológicos e comportamentais no homem e em outros animais. Como exemplo, ela influencia a função reprodutora e as respostas imunes, uma vez que também é sintetizada em linfócitos, neurônios e células especializadas do útero, placenta e mamas (Berne et al., 2004). A sucção dos mamilos, o sexo, o exercício físico e até o sono podem aumentar os níveis circulantes deste hormônio, estando as concentrações basais mais elevadas entre as 04:00 e 06:00 horas da manhã (Mello & Mendelson, 1997). Situações de estresse, incluindo anestesia, cirurgia, hipoglicemia insulínica e medo também podem estimular a liberação de prolactina (Berne et al., 2004).

Todos os mecanismos específicos pelos quais este hormônio é liberado ainda não estão completamente estabelecidos, sendo possível a existência de fatores neuroendócrinos e parácrinos (Yen, 1979, 1986, 1991a). Ao contrário do eixo HPA, a liberação de prolactina não parece ser controlada por retroalimentação negativo do produto final de uma ativação em cascata. Na verdade, ela mesma parece desempenhar um controle de retroalimentação (Fig. 5), mas através da regulação do sistema DA do hipotálamo (via túbero-infundibular; Fig. 1). Neste mecanismo, a prolactina liberada é capaz de aumentar a síntese e liberação de DA da via túbero-infundibular, uma importante conexão entre o hipotálamo e a hipófise. A liberação de DA pelo hipotálamo na adenohipófise inibe a síntese e liberação da prolactina no sangue, através da ativação de receptores DA (Berne et al., 2004). Contudo, sabe-se que a própria DA também é capaz de controlar a via túbero-infundibular.

Desta forma, a administração de cocaína atuando sobre a neurotransmissão DA, também induz uma diminuição na liberação de prolactina em roedores, macacos rhesus e seres humanos (Mantsch et al., 2000). Esta alteração ocorre em resposta ao acúmulo extracelular de DA em decorrência do bloqueio de sua recaptação na região túbero-infundibular (Martinez de la Escalera & Weiner, 1992; Mello et al., 1993). Por consequência, o acúmulo de DA induz uma maior ativação de receptores nesta região, que inibe as células lactotrópicas da hipófise, diminuindo a liberação de prolactina (Martinez de la Escalera & Weiner, 1992).

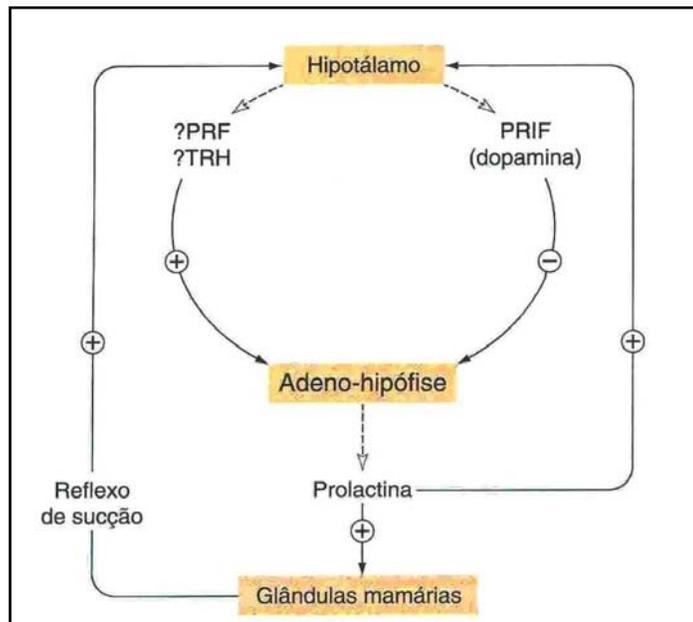


Figura 5. Mecanismo que regula a liberação de prolactina. PRF=fator de liberação de prolactina, PRIF=fator de inibição de liberação de prolactina, TRH=hormônio de liberação da tireotropina (Fonte: Rang et al., 2001; com adaptações).

Ademais, estudos clínicos e pré-clínicos sugerem que a cocaína altera os níveis de prolactina dependendo do seu regime de administração: agudo ou crônico (rev. Mello & Mendelson, 1997). Neste sentido, após o uso agudo de cocaína foi observada uma hipoprolactinemia, enquanto após sua administração crônica, têm-se verificado uma hiperprolactinemia. Esta última, possivelmente, causada por uma diminuição no número e afinidade dos receptores dopaminérgicos na região túbero-infundibular (Mello et al., 1994). Independentemente do resultado, alterações nos níveis circulantes de prolactina podem ter sérios efeitos sobre o sistema imune como, por exemplo, a maior incidência de infecções e a amenorréia (rev. em Mello & Mendelson, 1997).

1.3. Uso de primatas neotropicais como modelos experimentais

Entende-se por primatas neotropicais, primatas do Novo Mundo ou platirrinos, aqueles que habitam o continente Americano, desde a América Central até a América do Sul. Por sua vez, primatas do Velho Mundo ou catarrinos são aqueles que habitam os continentes Asiático e Africano (Napier, 1985).

O mico-estrela (*Callithrix penicillata*; Fig. 6) pertence à família Callithrichidae de primatas neotropicais. Pesa entre 250-450 g quando adulto, possui tufo pretos pré-auriculares, tem uma expectativa de vida de 10-12 anos em cativeiro, atinge maturidade sexual após 12-18 meses e apresenta alta taxa reprodutiva devido ao seu curto período de gestação (± 145 dias), partos gemelares e anestro pós-parto (Coimbra Filho & Mittermeier, 1981). Esses pequenos animais vivem nas copas das árvores e raramente vão ao chão, alimentando-se principalmente do exsudato (goma) de árvores, mas também de pequenos insetos, frutos, folhas, sementes, aranhas, lagartos, sapos, lesmas e ovos de aves (Coimbra Filho & Mittermeier, 1981). Na natureza, calitriquídeos vivem em grupos familiares de 3-10 indivíduos, dependendo da disponibilidade de alimento, habitando desde a Bacia Amazônica, a costa Atlântica e florestas secas na Amazônia, até a caatinga do nordeste semi-árido. O *Callithrix penicillata*, em particular, é originalmente endêmico da região do cerrado do centro-oeste brasileiro, mas hoje já é observado em várias regiões do Brasil (Coimbra Filho & Mittermeier, 1981).

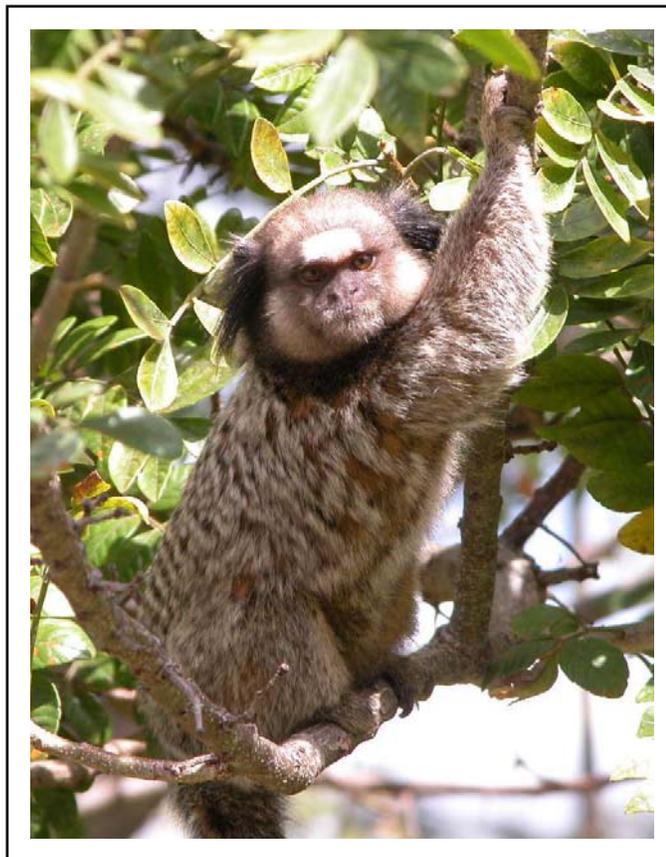


Figura 6. Fotografia do mico-estrela (*Callithrix penicillata*) adulto em seu ambiente natural.

Portanto, por pertencer a uma família de primatas neotropicais de pequeno porte, fácil manipulação e manejo, e com alta taxa reprodutiva – em comparação a outros símios, assim como apresentar uma diversidade de comportamentos complexos, o mico-estrela é um sujeito ímpar para pesquisas comportamentais, biomédicas e neuropsicofarmacológicas (ex. Barros & Tomaz, 2002).

2. JUSTIFICATIVA & RELEVÂNCIA DO ESTUDO

O abuso e dependência de drogas são problemas graves enfrentados pela nossa sociedade nos dias atuais, devendo ser tratados como uma questão de saúde pública, uma vez que envolve uma problemática muito maior do que o mero tratamento clínico dos usuários. Esta prática acaba sendo a causa direta ou indireta de vários crimes e mortes, de horas de trabalho desperdiçadas, de falta de produtividade e é um importante vetor para a transmissão de doenças como a hepatite B e a AIDS (Nestler, 2002; Ventulani, 2001b).

Com relação à cocaína, especificamente, estima-se que 13,4 milhões de pessoas no mundo usam anualmente este psicoestimulante (OMS, 2006), sendo a maior parcela encontrada nas Américas, principalmente nos Estados Unidos (OMS, 2006). No Brasil, o consumo de cocaína por estudantes de 10-18 anos do ensino fundamental e médio das escolas públicas brasileiras aumentou de 0,6% em 1987 para 2,1% em 1997, permanecendo nesta taxa entre 1997-2004 (OMS, 2006; CEBRID, 2004). No Distrito Federal, segundo dados do CEBRID (2004), as drogas mais consumidas por adolescentes homens foram a maconha, a cocaína, os anabolizantes e os energéticos, enquanto que entre as mulheres, houve predomínio de anfetamínicos e ansiolíticos.

Em vista do grande número de dependentes químicos em nossa sociedade, assim como da falta de conhecimento a respeito dos mecanismos específicos de ação, dos substratos neurais envolvidos e das vias neurotransmissoras relacionadas, estudos sobre a farmacodependência são de alta relevância. Com relação à cocaína, alguns mecanismos subjacentes aos seus efeitos comportamentais vêm sendo elucidados. Contudo, este composto também induz alterações neuroendócrinas após o seu consumo agudo e crônico, sendo estes mecanismos ainda pouco

conhecidos (Levy et al., 1994). Na verdade, respostas hormonais podem ser bastante complexas, como demonstrado pelo desenvolvimento de quadros de hipo e hiperprolactinemia, dependendo do uso agudo ou crônico, respectivamente (Levy et al., 1994). Ademais, a cocaína pode gerar alterações persistentes no funcionamento do eixo HPA (Mello & Mendelson, 1997), o que sugere uma inter-relação entre os mecanismos neurais e hormonais da farmacodependência (Majewska, 2002).

Para se estabelecer a relação entre os eventos neuroquímicos no cérebro, os comportamentos observados e as respostas fisiológicas resultantes, contribuições significativas poderão ser obtidas através de estudos que empregam modelos animais. Estudos desta natureza permitem verificar de forma mais controlada os diversos efeitos da administração (aguda e/ou crônica) de cocaína. Estudos clínicos realizados com usuários apresentam complicações éticas e metodológicas, como a influência do uso concomitante de outras substâncias que dificultam a interpretação dos efeitos provocados apenas pelo uso da cocaína (Mello & Mendelson, 1997). Adicionalmente, devido a semelhança nos mecanismos específicos e nos sistemas fisiológicos entre primatas humanos e não-humanos, torna-se vantajoso o uso de primatas não-humanos em pesquisas desta natureza. A partir destes modelos animais se minimizam possíveis restrições ao se generalizar os resultados para humanos.

Neste contexto, o presente estudo visa dados que contribuam para uma melhor elucidação dos efeitos neuroendócrinos induzidos pela administração aguda da cocaína em primatas não-humanos.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo geral investigar respostas neuroendócrinas decorrentes da administração sistêmica aguda de cocaína em um primata neotropical, (*Callithrix penicillata*).

3.2. Objetivos específicos

De forma mais específica, este trabalho se propôs a:

- determinar as concentrações plasmáticas/séricas basais de ACTH, cortisol e prolactina de micos-estrela adultos (*Callithrix penicillata*);
- verificar os efeitos, a curto prazo, da administração sistêmica aguda de cocaína sobre a concentração plasmática/sérica de ACTH, cortisol e prolactina nos micos;
- determinar a influência da dose de cocaína administrada (10 ou 20 mg/kg) e do seu curso temporal no corpo (30 ou 60-min pós-injeção) sobre os possíveis efeitos hormonais a curto prazo;
- avaliar os efeitos, a longo prazo (6 meses), da administração sistêmica aguda de cocaína sobre a concentração plasmática/sérica de ACTH e cortisol nos micos.

4. METODOLOGIA

4.1. Aspectos éticos

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília (Anexo 1). A compra e utilização do hidrocloreto de cocaína neste estudo foram autorizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, Ministério da Saúde; nº. 129/2005; Anexo 2).

4.2. Sujeitos

Foram utilizados nove sujeitos adultos ingênuos (6 fêmeas, 3 machos) da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*; Fig. 6). Os animais foram mantidos no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CPUnB) sob condições naturais de temperatura, luminosidade e umidade. O CPUnB é um criadouro de primatas para fins científicos credenciado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) (Registro IBAMA 1/53/1999/000006-2). A rotina alimentar e de manejo adotadas pelo CPUnB estão em conformidade com o IBAMA. Todos os animais foram pesados no início e ao final dos procedimentos e foram acompanhados por um médico veterinário durante a realização da pesquisa.

Os animais foram alojados no Pavilhão Central do CPUnB (Fig. 7A), o qual consiste de dois corredores paralelos de 12 viveiros cada, separados no meio por um corredor de segurança (Fig. 7B). Os micos foram alojados em casais heterossexuais ou grupos mistos de 2-3 animais em viveiros medindo 1,3 m de comprimento x 2 m de largura x 2 m de altura (Fig. 7C). Dentro do viveiro existem troncos de madeira natural em diversas alturas, uma caixa-

ninho suspensa, um recipiente de alumínio para alimento fresco e um tubo de PVC para ração seca. Cada viveiro possui duas paredes paralelas de concreto e outras duas de tela de arame (malha: 2,5 cm²). As telas de arame formam a frente e o fundo do viveiro. O teto do viveiro também é feito da mesma tela de arame, enquanto que o chão, de terra e areia, é coberto por uma camada grossa de folhas secas naturais. Acima da tela superior existe uma cobertura de telha Eternite intercalada com telha transparente em dois terços do viveiro, a partir do corredor central de segurança (Fig. 7D). Desta forma, o animal dispõe de uma área coberta e outra ao ar livre.



Figura 7. Fotografias do Pavilhão Central do CPUnB. (A) Vista frontal do pavilhão: porta de acesso ao pavilhão; (B) Vista interna do pavilhão: corredor e disposição dos viveiros, (C) Vista de um viveiro típico; e (D) Vista lateral do pavilhão.

D

A

Aos animais foram fornecidos diariamente, das 07:30 às 17:30 h, uma variedade de frutas e vegetais frescos. Água e ração seca são oferecidos *ad libitum*. Ademais, os micos receberam larvas de tenébrio três vezes na semana e ovos cozidos e peito de frango cozido uma vez por semana.

4.3. Drogas

Hidroclorato de cocaína (Sigma, USA) foi dissolvido em solução salina e injetado nos animais nas doses de 10 e 20 mg/kg. O volume injetado variou de acordo com o peso do animal, seguindo a proporção de 1 ml/kg. Solução salina também foi empregada como controle, no mesmo volume que a cocaína, e todos os compostos foram administrados intraperitonealmente (ip).

4.4. Procedimento Experimental

Em cada dia de coleta a ordem dos sujeitos foi randomizada e as coletas foram realizadas entre 10-12 horas da manhã para evitar o pico de concentração plasmática do ciclo circadiano do cortisol que ocorre às 8-h. Todos os procedimentos relacionados à coleta de sangue foram realizados com o objetivo minimizar o grau de estresse do animal.

Cada sujeito foi submetido à seqüência de procedimentos descritos a seguir.

4.4.1. Estudo 1: Análise dos efeitos neuroendócrinos a curto prazo

FASE 1: Inicialmente foram avaliados os níveis hormonais basais dos sujeitos através da coleta de três amostras de sangue, com intervalos de sete dias entre cada coleta (Fig. 8). A primeira ocorreu imediatamente após a administração de solução salina (S_1T_{00}), a segunda após 30-min (S_1T_{30}) e a terceira depois de 60-min (S_1T_{60}). Estas três primeiras coletas foram utilizadas como controle. Ademais, a primeira coleta de sangue (S_1T_{00}) também foi utilizada como controle na análise dos efeitos neuroendócrinos da cocaína a longo prazo (ver Estudo 2).

Sete dias depois da última coleta, foi avaliada a resposta hormonal dos sujeitos após a administração intraperitoneal de cocaína. Para isto, foi injetada uma dose de 10 mg/kg de cocaína em 5 sujeitos (Grupo 1; n=5), enquanto que os demais micos receberam uma dose de 20 mg/kg (Grupo 2; n=4). Para cada sujeito foram coletadas duas amostras de sangue, também em intervalos de sete dias, sendo a primeira 30-min após a administração da dose de cocaína (Grupo 1: $C_{10}T_{30}$; Grupo 2: $C_{20}T_{30}$), e a segunda após 60-min da injeção (Grupo 1: $C_{10}T_{60}$; Grupo 2: $C_{20}T_{60}$). A determinação dos intervalos entre a administração de cocaína e coleta de sangue foi baseada em um estudo realizado anteriormente em um outro grupo de micos (dados não publicados) e em dados da literatura (Mello & Mendelson, 1997).

FASE 2: Esta fase do estudo foi realizada dois meses após o término da Fase 1 (Fig. 8). Os animais que haviam recebido durante a Fase 1 a dose de 10 mg/kg (Grupo 1; n=5) foram testados com a dose de 20 mg/kg, e aos que receberam 20 mg/kg na Fase 1 (Grupo 2; n=4) foi administrada uma dose de 10 mg/kg.

Uma amostra de sangue foi coletada imediatamente após a administração de solução salina (S_2T_{00}), a qual foi utilizada como controle na análise dos efeitos a longo prazo da

administração de cocaína (ver Estudo 2). Após um intervalo de sete dias, foram coletadas novamente duas amostras de sangue de cada sujeito para avaliação dos efeitos hormonais da cocaína, mantendo-se o intervalo de sete dias entre cada coleta. A primeira amostra foi coletada 30-min depois da administração da droga (Grupo 1: C₂₀T₃₀; Grupo 2: C₁₀T₃₀), e a segunda após 60-min (Grupo 1: C₂₀T₆₀; Grupo 2: C₁₀T₆₀).

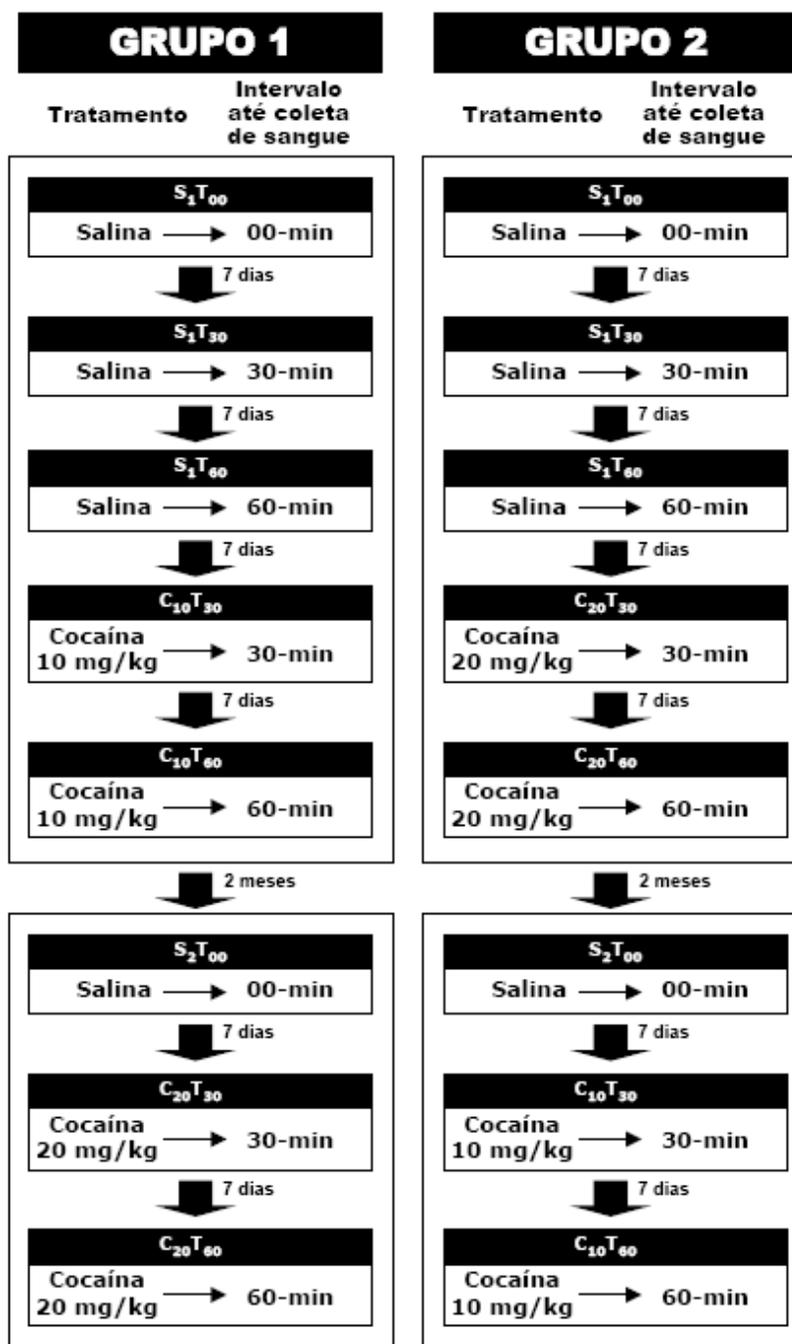


Figura 8. Esquema do procedimento experimental empregado nas duas fases do Estudo 1 para a análise dos efeitos neuroendócrinos a curto prazo da cocaína, indicando a sequência realizada em cada grupo experimental, os tratamentos administrados e os intervalos de tempo das injeções até às coletas e entre as coletas de sangue.

Portanto, ao final do Estudo 1 todos os animais receberam os três tratamentos (salina, cocaína 10 mg/kg e cocaína 20mg/kg), e foram coletadas oito amostras de sangue após três intervalos de tempo pré-estabelecidos (0-min: somente para salina; 30 e 60-min para os três tratamentos).

4.4.2. Estudo 2: Análise dos efeitos neuroendócrinos a longo prazo

Para analisar os efeitos da administração aguda da cocaína a longo prazo nos hormônios ACTH e cortisol foi coletada uma amostra de sangue de cada sujeito imediatamente após a administração de salina (tempo = 0-min), durante um período de seis meses sendo o intervalo entre cada coleta de 2 meses. Desta forma, ao final deste estudo, foram analisadas um total de quatro amostras sanguíneas de cada mico (Fig. 9). Vale ressaltar que as duas primeiras amostras (S_1T_{00} e S_2T_{00}) correspondem às coletas realizadas durante o Estudo 1 descrito anteriormente.

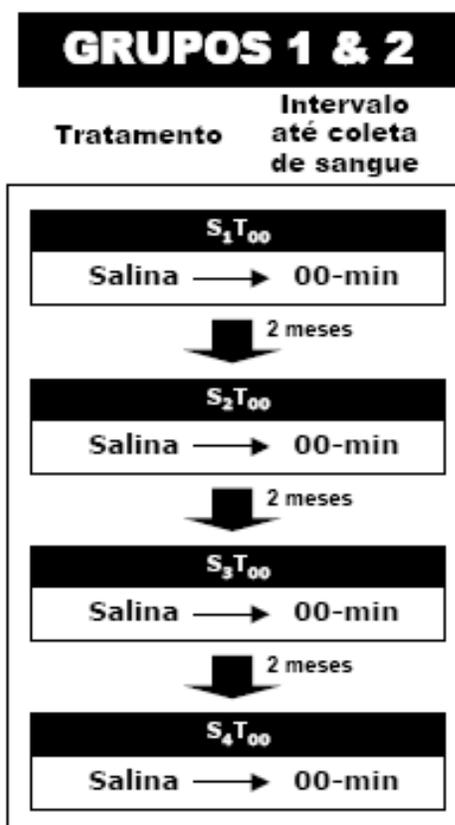


Figura 9. Esquema do procedimento experimental empregado no Estudo 2 para análise dos efeitos neuroendócrinos a longo prazo da cocaína, indicando a seqüência realizada nos dois grupos experimentais, o tratamento administrado e os intervalos de tempo das injeções às coletas e entre as coletas de sangue.

4.4.3. Coleta de sangue

Todas as coletas de sangue foram realizadas no CPUnB e acompanhadas pelo veterinário. Para cada sujeito, o procedimento nos dias de coleta consistiu na captura do animal no seu viveiro de moradia pelo tratador, seguida da administração de um dos tratamentos pré-estabelecidos (salina, cocaína 10 mg/kg ou cocaína 20 mg/kg) e da liberação do mico no seu viveiro de moradia. Após o intervalo de tempo estipulado (30 ou 60-min pós-injeção), o animal foi novamente capturado pelo tratador, levado para uma sala de procedimento e em seguida anestesiado para a realização da coleta de sangue. No caso da

coleta imediatamente após a administração da salina ($t=0$ -min), o mico foi anestesiado logo depois da injeção de salina. Foi registrado, com um cronômetro, o tempo despendido na captura do animal, que consistiu na entrada do tratador no viveiro do animal, a captura propriamente dita do mico e o transporte deste até a sala de procedimento.

Cada sujeito foi anestesiado com o auxílio de um algodão embebido com o anestésico inalatório isoflurano (Flurane[®]). Este algodão foi colocado próximo às vias aéreas do mico de forma que ele inalasse o anestésico. O animal foi considerado anestesiado depois que se observava uma diminuição visível nos movimentos motores voluntários e na sua frequência respiratória. O tempo entre a aproximação do algodão com anestésico nas vias aéreas do animal e a observação do efeito do isoflurano, denominado de tempo de anestesia, também foi registrado.

Uma vez anestesiado, uma amostra de 1,0 ml de sangue foi obtida por venopunção da veia femoral, sendo que 0,4 ml desta amostra foram colocados em um tubo pré-resfriado com EDTA para posterior análise de ACTH plasmático e os outros 0,6 ml em um tubo pré-resfriado com ativador de coágulo para dosagem de cortisol e prolactina séricos. As amostras foram mantidas em gelo até seu processamento no laboratório. O sujeito foi então liberado no seu viveiro de moradia e o seu comportamento geral observado durante 30-min pós-anestesia para verificar a sua completa recuperação. A duração do procedimento de coleta também foi cronometrado e consistiu no tempo gasto entre a anestesia e o fim da coleta de sangue.

4.4.4. Análise hormonal

As dosagens das concentrações plasmáticas e séricas dos hormônios de interesse foram realizadas em colaboração com o Laboratório SABIN de Análises Clínicas de Brasília.

As amostras de sangue resfriadas foram centrifugadas a 3.500 rpm, por 5 minutos, a 4°C para ACTH ou temperatura ambiente (22°C) para cortisol e prolactina. O plasma ou soro foi então coletado e transferido para um tubo Eppendorf, seguido da realização das seguintes diluições em solução salina: 1:50 para a análise do cortisol, 1:8 para prolactina e 1:2 para ACTH, uma vez que os níveis circulantes basais de cortisol em micos são maiores que os encontrados em humanos (ex. Boere et al., 2005) e que o volume de amostra coletado era pequeno. Os fatores de diluição empregados no presente estudo foram baseados em dosagens realizadas em micos em um experimento anterior com procedimento semelhante (dados não publicados).

Em seguida, as concentrações plasmática ou sérica de ACTH, cortisol e prolactina foram determinadas por imunensaio enzimático quimioluminescente no analisador automatizado IMMULITE 2000™ (*Diagnostic Products Corporation/DPC Medlab*, Los Angeles, EUA). Portanto, os procedimentos para quantificação do nível dos hormônios de interesse foram realizados de forma automatizada, sendo a metodologia descrita a seguir de acordo com dados fornecido pelo fabricante (Manual Immulite 2000 ACTH, Cortisol e Prolactina).

A concentração plasmática do ACTH foi determinada através do método imunométrico sequencial de dois ciclos, sendo 75 µl de plasma da amostra diluída transferidos para um TUDO de Reação (TR) contendo uma esfera de poliestireno recoberta com anticorpos monoclonais de rato anti-ACTH (kit: L2KAC2; DPC Medlab) e 124 µl de uma solução de uma matriz protéica

de soro tamponizada com anticorpos policlonais de coelho anti-ACTH conjugada a fosfatase alcalina bovina. Após 2 ciclos de incubação de 30-min a 37°C, a fração não-ligada foi retirada por lavagem centrifugal (4 ciclos de 400 µl de água deionizada). Em seguida, foram acrescentados ao TR 200 µl de PPD (fosfato de adamantil de dioxietano; LUMIGEN®; Southfield/MI, EUA)– substrato da fosfatase alcalina ainda presente no TR. Para reação luminogênica a quantidade de luz emitida foi diretamente proporcional à concentração de ACTH na amostra.

Para quantificação do cortisol, através do método de imunoensaio competitivo, 10 µl de soro da amostra diluída foram transferidos para um TR contendo uma esfera de poliestireno recoberta com anticorpos policlonais de coelho anti-cortisol e 190 µl de cortisol conjugado a fosfatase alcalina bovina em solução tampão (kit: L2KCO6; DPC Medlab). O cortisol da amostra competiu com o cortisol conjugado a enzima por um número limitado de sítios de ligação na esfera recoberta com anticorpos. Após 30-min de incubação a 37°C, a fração não-ligada foi removida por lavagem centrifugal de 4 ciclos de 400 µl de água deionizada (15 segundos). Em seguida, foram acrescentados ao TR 200 µl de PPD para reação luminogênica. A quantidade de luz emitida foi indiretamente proporcional à concentração de cortisol na amostra.

A concentração de prolactina foi analisada pelo método imunométrico, sendo 25 µl de soro da amostra diluída transferidos para um TR contendo uma esfera de poliestireno recoberta com anticorpos monoclonais de rato anti-prolactina e anticorpos policlonais de cabra anti-prolactina conjugada a fosfatase alcalina bovina tamponizada (kit: L2KPR6; DPC Medlab). Após 30-min de incubação a 37°C, a fração não-ligada foi removida por lavagem centrifugal (4 ciclos de 400 µl de água deionizada; 15 segundos). Em seguida, foram

adicionados ao TR 200 µl de PPD para reação luminogênica. A quantidade de luz emitida foi diretamente proporcional à concentração de prolactina na amostra.

Após a reação luminogênica de cada ensaio, o TR específico foi posicionado a frente de um Tubo Fotomultiplicador (PMT), onde a luz gerada pela reação foi medida. O sistema IMMULITE 2000™ efetua uma leitura da quantidade de luz emitida em 1 segundo na faixa espectral de 350-500 nm. Esta contagem por segundo (cps) foi diretamente proporcional à quantidade de fosfatase alcalina remanescente no TR, e que por sua vez, foi direta ou indiretamente associada à concentração do hormônio presente na amostra (dependendo do tipo de ensaio descrito acima). Após a passagem de cada amostra, o sistema foi lavado com 2,0 ml de água deionizada.

O IMMULITE 2000™, integrado a um sistema computadorizado, gerou um relatório impresso da concentração do hormônio de interesse presente na amostra em função do sinal de luz (cps) medido, já incluindo o fator de diluição específico e usando uma curva padrão previamente determinada e armazenada.

4.5. Análise estatística

Os dados de cada hormônio foram analisados para detectar possíveis diferenças entre: 1) os diferentes tratamentos realizados (salina/cocaína 0, 30 e/ou 60-min pós-injeção), por meio de uma Análise de Variância (ANOVA) *one-way* para amostras pareadas para o fator tratamento, seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas quando detectado diferenças estatísticas; 2) as doses semelhantes em intervalos de tempo distintos utilizando o Teste t para amostras pareadas; 3) os grupos experimentais (Grupo 1 e 2), empregando um

two-way ANOVA para amostras não pareadas (fatores: tratamento e grupo experimental), seguido do teste de Tukey quando detectado diferenças estatísticas; (4) a concentração de prolactina após a administração das duas salinas no tempo de 0-min (S_1T_{00} vs. S_2T_{00} ; ver metodologia) a partir de um Teste t para amostras pareadas.

Possíveis correlações entre concentrações séricas/plasmáticas de cortisol e ACTH foram testadas por meio do teste de correlação de Pearson, ao: 1) tempo total do procedimento, e ao 2) tempo até o animal ser anestesiado.

O nível de significância adotado em todos os testes foi de $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Estudo 1: Análise dos efeitos neuroendócrinos a curto prazo

5.1.1. Tempo de coleta de sangue

Conforme descrito na metodologia, foi registrado o tempo de cada etapa do procedimento para coleta de sangue dos micos (Tabela 1). Portanto, obteve-se os seguintes tempos: 1) captura do sujeito, entrada do tratador no viveiro do animal, captura propriamente dita do mesmo, e o seu transporte até a sala de procedimento; 2) anestesia do sujeito, aproximação do algodão com anestésico das vias aéreas do animal até o início do efeito; 3) coleta de sangue, procedimento de coleta sanguínea realizado após o animal estar anestesiado; e 4) tempo total despendido no procedimento.

Tabela 1. Tempo médio em segundos (\pm SEM) despendidos em cada etapa do procedimento para coleta de sangue dos micos-estrela para cada sessão experimental.

Tratamento	Captura	Anestesia	Coleta de sangue	Tempo total
S ₁ T ₀₀	132,9 \pm 8,9	46,8 \pm 8,0	130,7 \pm 33,1	310,3 \pm 40,0
S ₂ T ₀₀	103,0 \pm 5,5	68,0 \pm 9,1	146,1 \pm 35,2	317,1 \pm 36,7
S ₃ T ₀₀	145,4 \pm 10,4	64,6 \pm 7,1	207,6 \pm 81,9	417,6 \pm 81,5
S ₄ T ₀₀	110,1 \pm 4,3	59,7 \pm 3,1	74,9 \pm 13,9	244,7 \pm 14,3
S ₁ T ₃₀	55,7 \pm 6,0	34,3 \pm 2,5	109,3 \pm 29,0	199,3 \pm 27,4
S ₁ T ₆₀	45,7 \pm 4,0	36,3 \pm 3,1	153,0 \pm 27,4	235,0 \pm 26,4
C ₁₀ T ₃₀	61,6 \pm 8,4	33,2 \pm 2,8	110,9 \pm 28,6	205,7 \pm 31,1
C ₁₀ T ₆₀	48,1 \pm 3,2	29,6 \pm 4,6	189,1 \pm 58,3	266,9 \pm 61,8
C ₂₀ T ₃₀	58,0 \pm 4,7	42,3 \pm 4,0	123,2 \pm 67,1	223,6 \pm 70,7
C ₂₀ T ₆₀	52,8 \pm 4,0	35,3 \pm 2,8	103,1 \pm 23,5	191,1 \pm 26,0

S₁T₀₀= 0-min pós-injeção salina 1; S₂T₀₀ = 0-min pós-injeção salina 2; ; S₃T₀₀ = 0-min pós-injeção salina 3; S₄T₀₀ = 0-min pós-injeção salina 4; S₁T₃₀= 30-min pós-injeção salina; S₁T₆₀= 60-min pós-injeção salina; C₁₀T₃₀= 30-min pós-injeção cocaína 10mg/kg; C₁₀T₆₀= 60-min pós-injeção cocaína 10mg/kg; C₂₀T₃₀= 30-min pós-injeção cocaína 20mg/kg; C₂₀T₆₀= 60-min pós-injeção cocaína 20mg/kg

5.1.2. ACTH

5.1.2.1. Análise geral

A concentração plasmática basal de ACTH dos micos, após a administração de salina, diferiu significativamente dependendo do intervalo de tempo da coleta: 0, 30 ou 60-min pós-injeção (S_1T_{00} vs. S_1T_{30} vs. S_1T_{60} : $F_{8,2}=4,467$, $p<0,05$). Análises posteriores mostraram que o nível deste hormônio foi significativamente menor ($p<0,05$) quando coletado 60-min após injeção, comparado ao de 30-min (S_1T_{30} vs. S_1T_{60} , Fig.9).

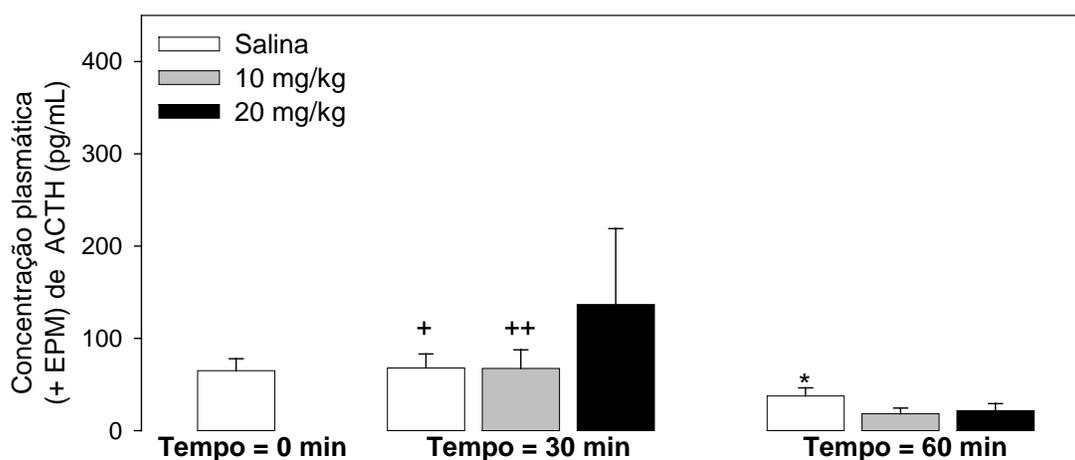


Figura 9. Efeito da administração sistêmica aguda de cocaína (10 e 20 mg/kg) sobre a concentração plasmática de ACTH \pm EPM (pg/mL) de micos-estrela (n=9) avaliada 00, 30 e 60 minutos pós-injeção. (S_1T_{00} = 0-min pós-injeção salina; S_1T_{30} = 30-min pós-injeção salina; S_1T_{60} = 60-min pós-injeção salina; $C_{10}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{10}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{20}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; $C_{20}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg). * $p<0,05$ vs. $C_{10}T_{60}$ & $C_{20}T_{60}$; + $p<0,05$ vs. S_1T_{60} ; ++ $p<0,05$ vs. $C_{10}T_{60}$.

Após 30-min da administração de 20 mg/kg de cocaína, foi detectada um aumento na concentração plasmática de ACTH, em relação ao controle salina, embora não tenha atingido níveis significativos (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{30}$: $F_{8,2}=1,200$; $p=0,330$; Fig. 9). Entretanto, quando analisado os efeitos deste psicoestimulante 60-min após a sua injeção, um efeito significativo foi observado sobre os níveis plasmáticos deste hormônio (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ &

C₂₀T₆₀: $F_{8,2}=7,136$; $p<0,05$). Análises posteriores indicaram que a administração de ambas as doses de cocaína induziram, após 60-min, uma diminuição significativa ($p<0,05$) da concentração de ACTH, comparado ao controle salina (S₁T₆₀ vs. C₁₀T₆₀ & C₂₀T₆₀; Fig.9).

Quando analisado os níveis de ACTH após a administração de 10 mg/kg de cocaína, a concentração observada deste hormônio 60-min depois da injeção foi significativamente menor que após 30-min (C₁₀T₃₀ vs. C₁₀T₆₀: $t=2,955$; $gl=7$; $p<0,05$). Um resultado semelhante também foi observado para dose de 20 mg/kg, porém esta diferença não atingiu níveis significativos (C₂₀T₃₀ vs. C₂₀T₆₀: $t=83,00$; $gl=8$; $p=0,130$; Fig.9).

5.1.2.2. Análise por grupo experimental

Considerando que no procedimento experimental os sujeitos foram divididos em dois grupos, foram analisadas possíveis diferenças entre eles (Grupo 1: recebeu primeiro a dose de 10 mg/kg de cocaína e, 2 meses depois, a de 20 mg/kg; Grupo 2: recebeu primeiro a dose de 20 mg/kg da droga e, 2 meses depois, a de 10 mg/kg). Porém, a análise estatística não identificou diferenças significativas na concentração de ACTH entre os dois grupos experimentais ($F_{7,1}=3,270$; $p=0,077$; Fig.10), entre os tratamentos administrados (salina, cocaína 10 mg/kg e cocaína 20 mg/kg; $F_{7,1}=1,737$; $p=0,123$), ou uma interação entre estes dois fatores (grupo experimental vs. tratamento: $F_{7,1}=0,927$; $p=0,495$).

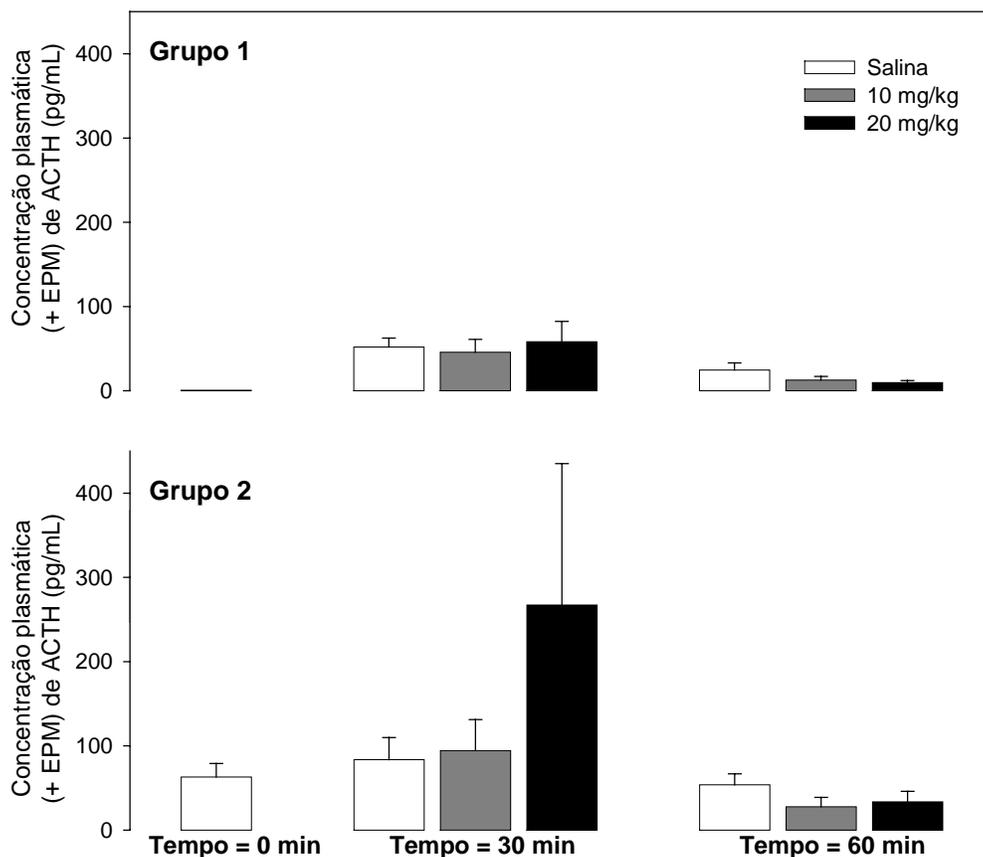


Figura 10. Efeito da administração sistêmica aguda de cocaína (10 e 20 mg/kg) na concentração plasmática de ACTH \pm EPM (pg/mL) de micos-estrela (Grupo 1: n=5; Grupo 2: n=4) avaliada 00, 30 e 60 minutos pós-injeção (S₁T₀₀= 0-min pós-injeção salina; S₁T₃₀= 30-min pós-injeção salina; S₁T₆₀= 60-min pós-injeção salina; C₁₀T₃₀= 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; C₁₀T₆₀= 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; C₂₀T₃₀= 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; C₂₀T₆₀= 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg).

5.1.3. Cortisol

5.1.3.1. Análise geral

A concentração sérica basal inicial de cortisol dos micos permaneceu constante, independente do intervalo de tempo da coleta: 0, 30, e 60-min após a administração de solução salina (S₁T₀₀ vs. S₁T₃₀ vs. S₁T₆₀: F_{8,2}=1,267; p=0,308; Fig.11). Portanto, a concentração média inicial deste hormônio foi de 139,86 \pm 12,94 μ g/dL (S₁T₀).

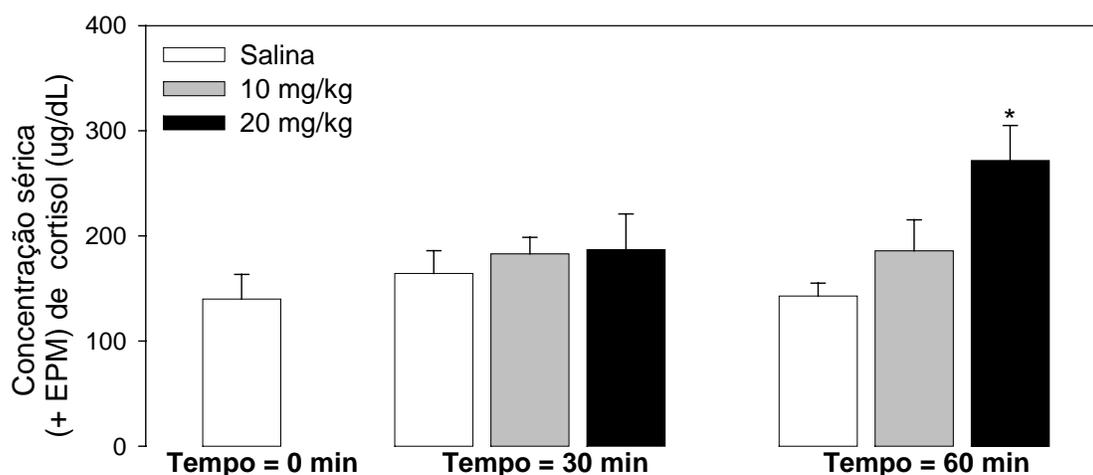


Figura 11. Efeito da administração sistêmica aguda de cocaína (10 e 20 mg/kg) na concentração sérica de cortisol \pm EPM ($\mu\text{g/dL}$) de micos estrela ($n=9$) avaliada 00, 30 e 60 minutos pós-injeção (S_1T_{00} = 0-min pós-injeção salina; S_1T_{30} = 30-min pós-injeção salina; S_1T_{60} = 60-min pós-injeção salina; $C_{10}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{10}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{20}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; $C_{20}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg). * $p<0,05$ vs. S_1T_{60} & $C_{10}T_{60}$.

Trinta minutos após a administração de cocaína não foram detectadas alterações nos níveis de cortisol, em relação ao controle salina (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{30}$: $F_{8,2}=0,589$; $p=0,566$; Fig.11). Porém, 60-min após a injeção da droga, os níveis diferiram significativamente (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $F_{8,2}=10,207$; $p<0,05$). Análises posteriores revelaram que a concentração sérica de cortisol dos micos aumentou significativamente ($p<0,05$) após a administração da dose de 20 mg/kg de cocaína, comparado ao controle salina e a dose de 10 mg/kg ($C_{20}T_{60}$ vs. S_1T_{60} & $C_{10}T_{60}$: Fig.11).

Ao se comparar cada dose administrada, nos dois intervalos de tempo de coleta, o nível de cortisol permaneceu constante 30 e 60-min após a administração de 10 mg/kg de cocaína ($C_{10}T_{30}$ vs. $C_{10}T_{60}$: $t=-0,368$; $gl=7$; $p=0,724$). Já para a dose de 20 mg/kg, a concentração deste hormônio foi maior 60-min pós-injeção que depois de 30-min, porém esta diferença não atingiu níveis significativos ($C_{20}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $t=-1,560$; $gl=7$; $p=0,163$; Fig.11).

5.1.3.2. Análise por grupo experimental

Ao comparar separadamente os grupos experimentais (Grupo 1 vs. Grupo 2), não foi observada uma diferença significativa para esse fator ($F_{7,1}=0,764$; $p=0,386$) ou uma interação significativa entre grupo experimental vs. tratamento ($F_{7,1}=0,696$; $p=0,675$; Fig. 12). Porém, considerando somente o fator tratamento, diferenças significativas foram observadas ($F_{7,1}=2,405$; $p<0,05$) e analisadas em mais detalhe, conforme descrito a seguir.

No Grupo 1, a concentração de cortisol variou da mesma forma que o padrão descrito na análise geral (ver seção 5.1.3.1). Assim, a concentração sérica basal inicial foi semelhante nos três intervalos de tempo de coleta: 0, 30 e 60-min após injeção de salina (S_1T_{00} vs. S_1T_{30} vs. S_1T_{60} : $F_{4,2}=0,208$; $p=0,816$; Fig.12); concentração média inicial de $145,64\pm 41,41$ $\mu\text{g/dL}$ (S_1T_{00}). Ademais, a cocaína não alterou os níveis de cortisol 30-min após sua administração (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{30}$: $F_{4,2}=0,530$; $p=0,608$), mas induziu mudanças significativas após 60-min (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $F_{4,2}=15,618$; $p<0,05$; Fig.12). Análises posteriores indicaram que a concentração deste hormônio aumentou significativamente ($p<0,05$) 60-min após a dose de 20 mg/kg, comparado ao controle salina e a dose de 10 mg/kg ($C_{20}T_{60}$ vs. S_1T_{60} & $C_{10}T_{60}$; Fig.12). Além disso, ao comparar a concentração de cortisol após administração de 10 mg/kg de cocaína, este parâmetro permaneceu constante independentemente do intervalo de tempo ($C_{10}T_{30}$ vs. $C_{10}T_{60}$: $t=1,335$; $gl=4$; $p=0,253$). Após a dose de 20 mg/kg, o cortisol sérico observado 60-min pós-injeção foi maior que depois de 30-min, mas não de forma estatisticamente significativa ($C_{20}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $t=-0,869$; $gl=3$; $p=0,449$; Fig.12).

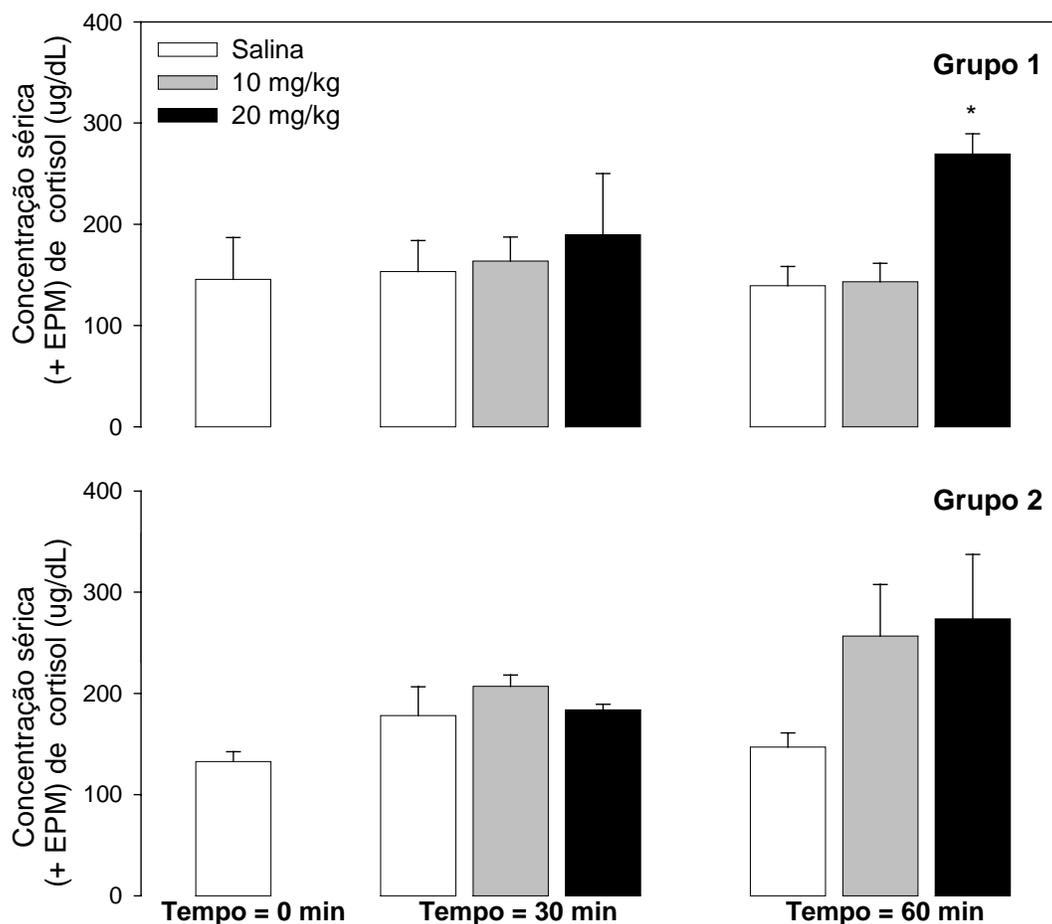


Figura 12. Efeito da administração sistêmica aguda de cocaína (10 e 20 mg/kg) na concentração sérica de cortisol \pm EPM (μ g/dL) de micos-estrela (Grupo 1: n=5; Grupo 2: n=4) avaliada 00, 30 e 60 minutos pós-injeção (S_1T_{00} = 0-min pós-injeção salina; S_1T_{30} = 30-min pós-injeção salina; S_1T_{60} = 60-min pós-injeção salina; $C_{10}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{10}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{20}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; $C_{20}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg). * $p < 0,05$ vs. S_1T_{60} & $C_{10}T_{60}$.

No Grupo 2, a concentração sérica basal inicial de cortisol também permaneceu constante independente do intervalo de tempo de coleta após administração de salina (S_1T_{00} vs. S_1T_{30} vs. S_1T_{60} : $F_{3,2}=1,395$; $p=0,318$; Fig.12), sendo a concentração média de $132,63 \pm 9,73$ μ g/dL (S_1T_{00}). Trinta minutos após a administração de cocaína não foi detectada alteração significativa nos níveis de cortisol, comparada ao controle salina (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{30}$: $F_{3,2}=0,856$; $p=0,471$). Entretanto, 60-min depois da injeção das duas doses da droga, foi

observado um aumento na concentração deste glicocorticóide em relação ao controle, porém não atingiu níveis significativos (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $F_{3,2}=3,054$; $p=0,136$; Fig.12). Por fim, após a administração de ambas as doses de cocaína (10 e 20 mg/kg), a concentração de cortisol foi maior no tempo de 60-min que no de 30-min pós-injeção, para cada dose. Contudo, estas diferenças também não atingiram níveis estatisticamente significativos ($C_{10}T_{30}$ vs. $C_{10}T_{60}$: $t=-0,952$; $gl=2$; $p=0,441$; $C_{20}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $t=-1,178$; $gl=3$; $p=0,324$; Fig.12).

5.1.4. Prolactina

5.1.4.1. Análise geral

A concentração sérica basal inicial de prolactina dos micos foi semelhante entre os três intervalos de tempo de coleta: 0, 30 e 60-min após a administração de salina (S_1T_{00} vs. S_1T_{30} vs. S_1T_{60} : $F_{8,2}=3,402$; $p=0,059$; Fig.13); concentração média inicial de $6,85\pm 0,46$ ng/mL (S_1T_{00}).

Depois de 30-min da administração do psicoestimulante, foi detectado um efeito significativo deste sobre a concentração de prolactina (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{30}$: $F_{8,2}=10,138$; $p=0,001$). Análises posteriores mostraram que os níveis do hormônio diminuíram significativamente ($p<0,05$) após a injeção de ambas as doses de cocaína, comparado ao controle salina (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ & $C_{20}T_{30}$; Fig.13). Adicionalmente, o efeito da cocaína parece ter persistido até pelo menos 60-min depois de sua administração (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $F_{8,2}=17,768$; $p<0,001$), sendo observado uma diminuição significativa ($p<0,05$) na concentração de prolactina após a administração ambas as doses da droga em relação ao controle salina (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ & $C_{20}T_{60}$; Fig.13).

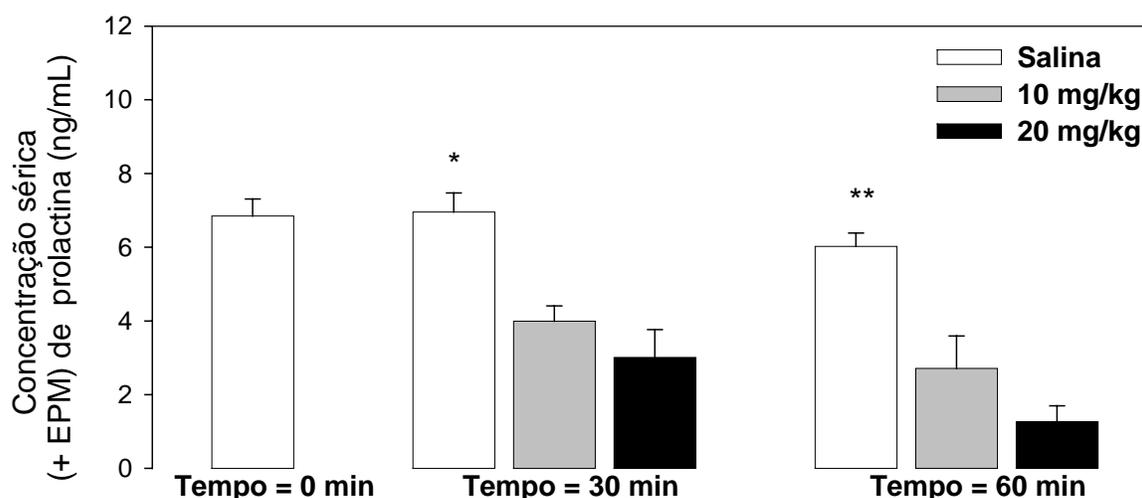


Figura 13. Efeito da administração sistêmica aguda de cocaína (10 e 20 mg/kg) na concentração sérica de prolactina \pm EPM (ng/mL) de micos-estrela (n=9) avaliada 00, 30 e 60 minutos pós-injeção (S_1T_{00} = 0-min pós-injeção salina; S_1T_{30} = 30-min pós-injeção salina; S_1T_{60} = 60-min pós-injeção salina; $C_{10}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{10}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{20}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; $C_{20}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg). * $p < 0,05$ vs. $C_{10}T_{30}$ & $C_{20}T_{30}$; ** $p < 0,05$ vs. $C_{10}T_{60}$ & $C_{20}T_{60}$.

Ao se comparar possíveis diferenças na concentração de prolactina, em relação ao intervalo de coleta após a administração de 10 mg/kg de cocaína, não foi detectada alterações significativas ($C_{10}T_{30}$ vs. $C_{10}T_{60}$: $t=1,507$; $gl=7$; $p=0,176$). Porém, após a dose de 20 mg/kg, a concentração do hormônio foi menor 60-min pós-injeção que após 30-min. Contudo essa diferença não atingiu níveis significativos ($C_{20}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{60}$; $t=1,753$; $gl=7$; $p=0,123$; Fig.13).

5.1.4.2. Análise dos grupos experimentais

A análise realizada para verificar possíveis diferenças entre os fatores grupo experimental e tratamento administrado não revelou um efeito significativo entre os grupos (Grupo 1 vs. Grupo 2: $F_{7,1}=0,0145$; $p=0,905$), mas sim entre os diferentes tratamentos

($F_{7,1}=12,721$; $p<0,001$) e para interação grupo experimental vs. tratamento ($F_{7,1}=3,107$; $p<0,05$).

No Grupo 1, a concentração basal inicial de prolactina permaneceu constante, independentemente do intervalo de coleta (S_1T_{00} vs. S_1T_{30} vs. S_1T_{60} : $F_{2,4}=1,256$; $p=0,335$; Fig.14); concentração média inicial de $6,38\pm 0,62$ ng/mL (S_1T_{00}). Trinta minutos após a administração de cocaína foi observado um efeito significativo nos níveis de prolactina (S_1T_{30} vs. $C_{10}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{30}$: $F_{4,2}=10,124$; $p<0,05$). Este diminuiu significativamente ($p<0,05$) após a injeção de 10 mg/kg de cocaína, comparado com o controle salina ($C_{10}T_{30}$ vs. S_1T_{30} : Fig.14). Sessenta minutos pós-cocaína, ainda se observou um efeito significativo (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $F_{4,2}=15,148$; $p<0,05$), sendo verificado que a concentração de prolactina diminuiu de forma significativa ($p<0,05$) após a administração de ambas as doses da droga, em relação ao controle salina (S_1T_{60} vs. $C_{10}T_{60}$ & $C_{20}T_{60}$; Fig. 14). Ademais, com a dose de 10 mg/kg e 60-min pós-injeção de cocaína, os níveis do hormônio foram menores que depois de 30-min, quase atingindo níveis estatisticamente significativos ($C_{10}T_{30}$ vs. $C_{10}T_{60}$: $t=2,571$; $gl=4$; $p=0,062$). Para a dose de 20 mg/kg, a diferença entre 60 e 30-min pós-injeção foi significativa ($C_{20}T_{30}$ vs. $C_{20}T_{60}$: $t=4,291$; $gl=3$; $p<0,05$; Fig.14).

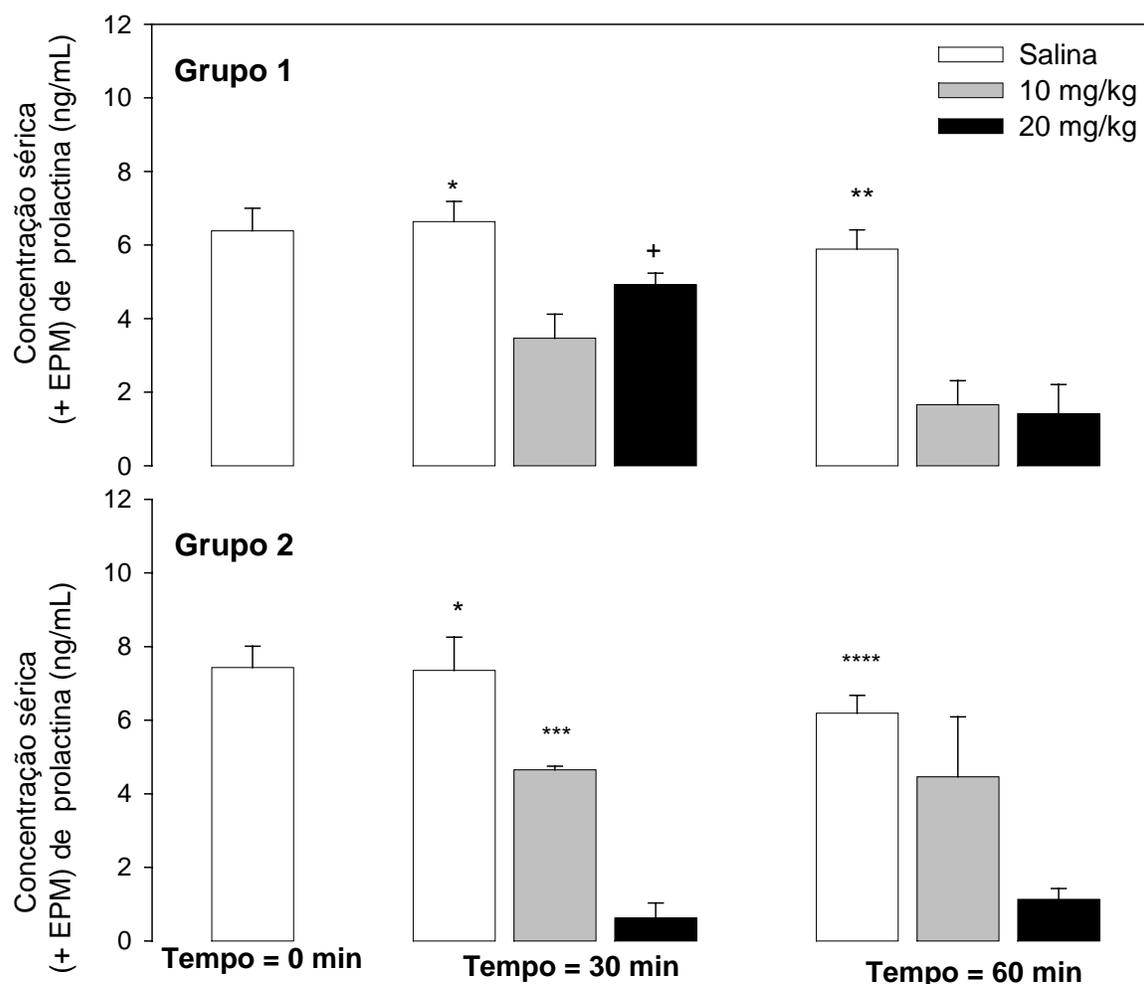


Figura 14. Efeito da administração sistêmica aguda de cocaína (10 e 20 mg/kg) na concentração sérica de prolactina \pm EPM (ng/mL) de micos-estrela (Grupo 1: n=5, Grupo 2: n=4) avaliada 00, 30 e 60 minutos pós-injeção (S₁T₀₀= 0-min pós-injeção salina; S₁T₃₀= 30-min pós-injeção salina; S₁T₆₀= 60-min pós-injeção salina; C₁₀T₃₀= 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; C₁₀T₆₀= 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; C₂₀T₃₀= 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; C₂₀T₆₀= 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg). *p<0.05 vs. C₁₀T₃₀ (Grupo 1) ou C₁₀T₃₀ & C₂₀T₃₀ (Grupo 2); **p<0.05 vs. C₁₀T₆₀ & C₂₀T₆₀ (Grupo 1); ***p<0.05 vs. C₂₀T₃₀ (Grupo 2); ****p<0,05 vs. C₂₀T₆₀ (Grupo 2); +p<0.05 vs C₂₀T₆₀.

No Grupo 2, a concentração sérica basal inicial de prolactina também manteve-se constante nos três intervalos de coleta após a injeção de salina (S₁T₀₀ vs. S₁T₃₀ vs. S₁T₆₀: F_{3,2}=1,990; p=0,217; Fig.14); com concentração média inicial de 7,43 \pm 0,58 ng/mL (S₁T₀₀). Depois de 30-min da administração de cocaína foi observado um efeito significativo (S₁T₃₀ vs.

C₁₀T₃₀ vs. C₂₀T₃₀: $F_{3,2}=31,251$; $p<0,001$), sendo detectado uma diminuição significativa ($p<0,05$) na concentração sérica de prolactina após a administração de ambas as doses do psicoestimulante, comparada com o controle salina, e entre si (S₁T₃₀ vs. C₁₀T₃₀ vs. C₂₀T₃₀; Fig.14). No tempo 60-min, a cocaína também induziu uma alteração no hormônio (S₁T₆₀ vs. C₁₀T₆₀ vs. C₂₀T₆₀: $F_{3,2}=11,387$; $p<0,05$), estando os seus níveis significativamente reduzidos ($p<0,05$) apenas após a administração da dose de 20 mg/kg da droga, em relação ao controle salina (S₁T₆₀ vs. C₂₀T₆₀; Fig.14). Na mesma dose de cocaína, mas após intervalos de tempo distintos (30 ou 60-min pós-injeção) não foi observada diferença significativa (C₁₀T₃₀ vs. C₁₀T₆₀: $t=0,0991$; $gl=2$; $p=0,930$; C₂₀T₃₀ vs. C₂₀T₆₀: $t=-1,659$; $gl=3$; $p=0,196$; Fig.14).

Vale lembrar que quando quando o Grupo 1 passou a receber a dose de 20 mg/kg e o Grupo 2 a de 10 mg/kg, foi realizada uma coleta sanguínea após a administração de salina (S₂T₀₀) (ver Metodologia). A concentração de prolactina permaneceu constante quando se comparou as concentrações basais iniciais de prolactina dos micos (n=9) (S₁T₀₀ vs. S₂T₀₀: $t=0,173$; $gl=8$; $p=0,867$; Fig.15). Quando a análise foi realizada para cada grupo separadamente, o Grupo 1 seguiu o mesmo padrão e os níveis hormonais permaneceram semelhantes (S₁T₀₀ vs. S₂T₀₀: $t=-1,026$; $gl=4$; $p=0,363$; Fig.15). Contudo, no Grupo 2, a segunda salina (S₂T₀₀) foi significativamente menor em relação à primeira (S₁T₀₀ vs. S₂T₀₀: $t=3,506$; $gl=3$; $p<0,05$; Fig.15).

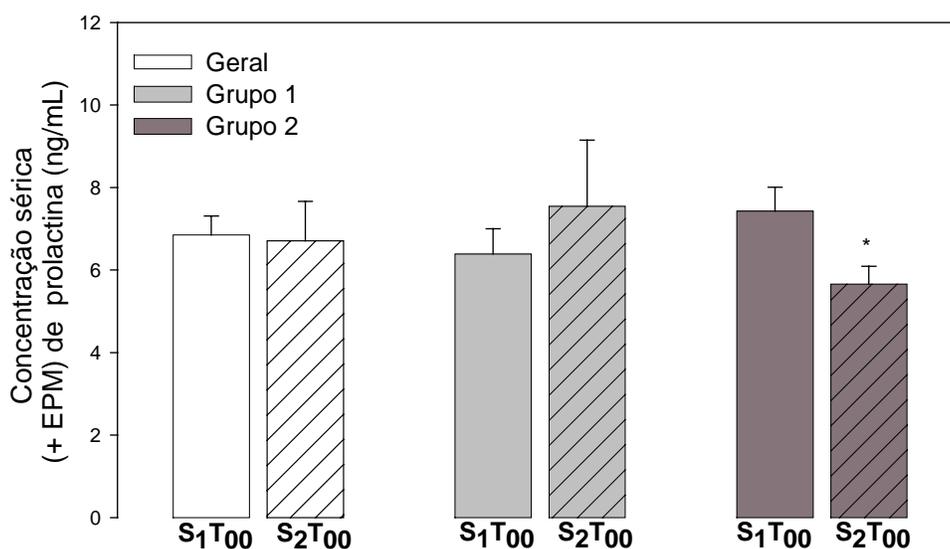


Figura 15. Concentração sérica de prolactina \pm EPM (ng/mL) de micos-estrela (Geral: n=9, Grupo 1: n=5, Grupo 2: n=4) avaliada antes (S₁T₀₀= 0-min pós-injeção salina 1) e 2 meses após (S₂T₀₀= 0-min pós-injeção salina 2) a administração inicial de cocaína *p<0.05 vs. S₁T₀₀ no grupo 2.

5.2. Estudo 2: Análise dos efeitos neuroendócrinos a longo prazo

Neste estudo foram analisadas durante seis meses as concentrações dos hormônios ACTH e cortisol logo após a administração de solução salina (tempo = 0-min), coletadas em intervalos de dois meses. Portanto, para este estudo foram coletadas 4 amostras de sangue de cada animal, sendo as primeiras duas coletas realizadas, de fato, durante o Estudo 1 (ver Procedimento Experimental).

Para o hormônio cortisol, foi observado um aumento da concentração sérica apenas na segunda coleta, apesar de não-significativo (S₁T₀₀ vs. S₂T₀₀ vs. S₃T₀₀ vs. S₄T₀₀: F_{8,3}=3,051; p=0,052; Fig. 16). Para o ACTH, a concentração plasmática aumentou gradativamente ao longo das quatro coletas, porém este efeito também não atingiu níveis significativos (S₁T₀₀ vs. S₂T₀₀ vs. S₃T₀₀ vs. S₄T₀₀: F_{8,3}=1,822; p=0,189; Fig. 16).

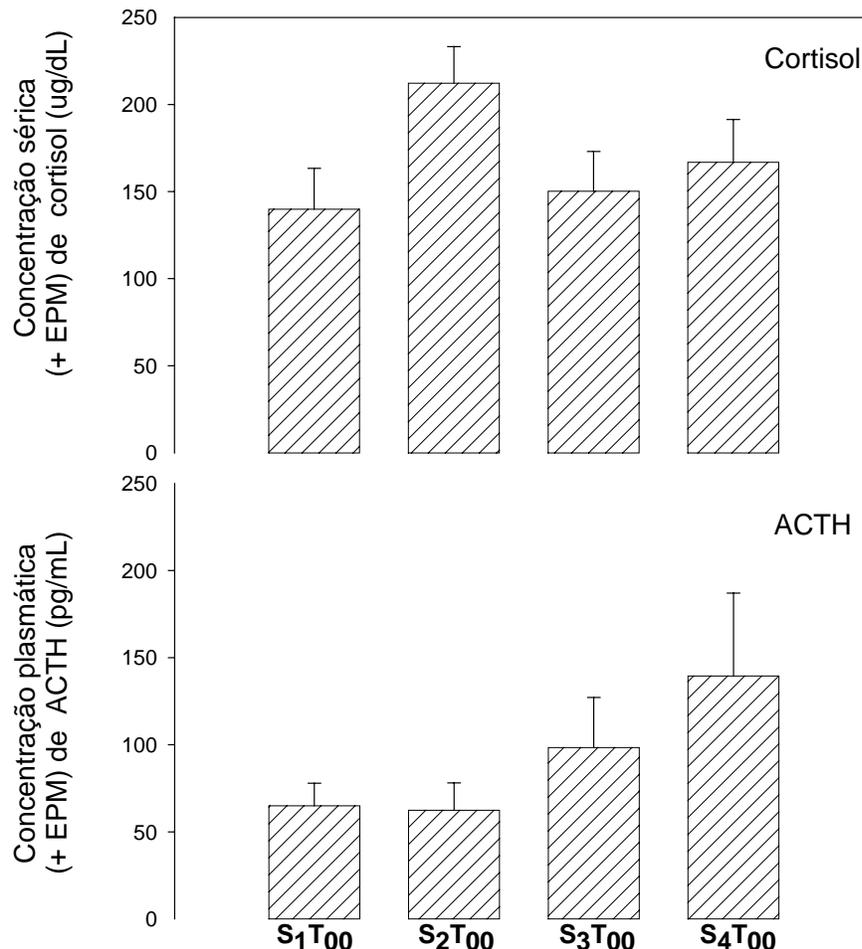


Figura 16. Concentração sérica de cortisol \pm EPM (μ g/dL) e plasmática de ACTH \pm SEM (pg/mL) de micos-estrela ($n=9$) avaliada antes (S₁T₀₀= 0-min pós-injeção salina 1), 2 meses (S₂T₀₀ = 0-min pós-injeção salina 2), 4 meses (S₃T₀₀= 0-min pós-injeção salina 3) e 6 meses (S₄T₀₀= 0-min pós-injeção salina 4) depois da administração inicial de cocaína.

5.3. Correlações entre os níveis hormonais e o tempo de coleta

Uma vez que a concentração plasmática/sérica de ACTH e cortisol pode ser influenciada por situações de estresse, os dados obtidos para estes hormônios foram testados quanto ao tempo gasto para a coleta de sangue. O tempo despendido nas seguintes etapas foi analisado: tempo de captura e tempo total do procedimento.

Os resultados, indicados de forma resumida na Tabela 2 e de forma detalhada no Anexo 3 (Tabela 3), revelaram que o tempo total para coleta apresentou correlação positiva apenas a concentração plasmática de ACTH coletada 60-min após a administração de salina (S_1T_{60} : $r=0,796$; $p<0,05$; Tabela 3).

Tabela 2. Correlação entre a concentração plasmática/sérica de ACTH e cortisol e o tempo despendido em duas etapas da coleta de sangue em cada sessão experimental.

Tratamento	ACTH		Cortisol	
	Tempo captura (s)	Tempo total (s)	Tempo captura (s)	Tempo total (s)
S_1T_{00}	o	o	o	o
S_2T_{00}	o	o	o	o
S_3T_{00}	o	o	o	o
S_4T_{00}	o	o	o	o
S_1T_{30}	o	o	o	o
S_1T_{60}	o	+	o	o
$C_{10}T_{30}$	o	o	o	o
$C_{10}T_{60}$	o	o	o	o
$C_{20}T_{30}$	o	o	o	o
$C_{20}T_{60}$	o	o	o	o

S_1T_{00} = 0-min pós-injeção salina 1; S_2T_{00} = 0-min pós-injeção salina 2; S_3T_{00} = 0-min pós-injeção salina 3; S_4T_{00} = 0-min pós-injeção salina 4; S_1T_{30} = 30-min pós-injeção salina; S_1T_{60} = 60-min pós-injeção salina; $C_{10}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{10}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 10 mg/kg; $C_{20}T_{30}$ = 30-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg; $C_{20}T_{60}$ = 60-min pós-injeção cocaína 20 mg/kg
+p=correlação positiva; o=sem correlação

6. DISCUSSÃO

6.1. Efeitos da cocaína no eixo HPA

6.1.1. Efeitos a curto prazo

A administração sistêmica aguda de cocaína em micos-estrela adultos e experimentalmente ingênuos alterou significativamente a concentração plasmática/sérica dos hormônios do eixo HPA. De fato, sabe-se que dentre os efeitos neuroendócrinos deste psicoestimulante ocorre uma importante ativação deste eixo, gerando um aumento nos níveis circulantes de corticosterona em roedores (Mantsch et al., 2000) e de cortisol no homem e em primatas não-humanos (ex. Baumann et al., 1995; Sarnyai et al., 1996). Contudo, outros estudos sobre os efeitos neuroendócrinos deste psicoestimulante em *Callithrix*, ou até outros gêneros de calitriquídeos, ainda não foram publicados.

No presente trabalho, o efeito sobre o cortisol e ACTH foi dose-dependente, seguindo um curso temporal distinto para cada hormônio. Ou seja, a administração da dose mais elevada de cocaína (20 mg/kg) induziu efeitos sobre os níveis dos hormônios do eixo HPA. Após 30-min da injeção desta dose houve um aumento na concentração plasmática de ACTH seguido de uma diminuição significativa depois de 60-min. Em relação ao cortisol, não foram observadas alterações 30-min após a administração de 20 mg/kg de cocaína. Porém, 60-min pós-injeção foi detectado um aumento significativo nos níveis circulantes deste glicocorticóide, comparado ao seu respectivo controle salina.

As diferenças no curso temporal dos efeitos dos hormônios do eixo HPA podem estar relacionadas aos seus próprios mecanismos de controle, sendo um dos principais a retroalimentação negativa. Através deste, o cortisol liberado pelas glândulas supra-adrenais

penetra no SNC, ligando-se aos receptores GR presentes nos neurônios parvocelulares do hipotálamo, inibindo a liberação de CRF e conseqüentemente a de ACTH circulante (Berne et al., 2004). Estudos farmacocinéticos vêm demonstrando que a curva da concentração plasmática da cocaína *versus* o tempo, em geral, corresponde à curva do ACTH *versus* o tempo (Sholar et al., 1998; Mendelson et al., 1998). Portanto, o aumento na concentração plasmática de ACTH 30-min após administração de 20 mg/kg de cocaína, levando a liberação de cortisol no sangue detectada 60-min pós-injeção, que poderia ser explicado por um mecanismo de inibição do o eixo HPA por retroalimentação negativa, gerando a diminuição nos níveis de ACTH aos 60-min pós-injeção.

Alguns efeitos observados com a administração da dose de 10 mg/kg de cocaína nos micos também podem estar associados a este mecanismo de retroalimentação negativa, destacando-se a diminuição significativa de ACTH plasmático 60-min pós-cocaína. Neste sentido, o pequeno aumento não-significativo de cortisol – detectado aos 60-min pós-injeção de 10 mg/kg de cocaína – pode ter induzido uma diminuição na liberação de ACTH observada no mesmo momento, mesmo que as taxas deste hormônio não estivessem significativamente elevadas depois de 30-min de sua administração (para outra hipótese ver item 6.3.4). De fato, sabe-se que vários compostos, em doses que não elevam os níveis de ACTH, são capazes de aumentar significativamente a concentração de corticosterona em roedores, sugerindo que as glândulas supra-adrenais respondem a pequenas variações de ACTH que nem sempre são detectáveis (Levy et al., 1994). Tal resultado poderia explicar como baixas doses de cocaína alteram os níveis de corticosterona e cortisol sem alterar a concentração de ACTH (Levy et al., 1994).

Estudos realizando coletas em intervalos de tempo menores são necessários para melhor elucidar a relação dos efeitos da retroalimentação negativa no curso temporal das alterações observadas no eixo HPA após a administração de cocaína em micos. Em roedores, o nível de ACTH permaneceu elevado até 2-h após a administração aguda deste psicoestimulante em animais adrenalectomizados sendo a ausência do mecanismo de *feedback* indicado como o responsável por este efeito persistente (Torres & Rivier, 1992a,b). Adicionalmente, Moldow & Fischman (1987) observaram um aumento nos níveis de ACTH entre 10 e 30-min da administração ip de 20 mg/kg de cocaína, enquanto Borowsky & Kuhn (1991a) detectaram elevações significativas deste hormônio apenas 30-min pós-injeção de 15mg/kg. No mico-estrela, a administração de 10 mg/kg de cocaína não induziu um aumento significativo nos níveis circulantes de ACTH e cortisol analisados 20-min após sua injeção (dados não publicados). Já em humanos, a cocaína elevou a concentração de cortisol apenas 60-min após sua administração intra-nasal (Heesch et al., 1995). Com a administração iv, observou-se um aumento significativo nos níveis de ACTH 5-min após a injeção, o qual persistiu por 45-min (Mendelson et al., 1992). Ademais, Sholar et al. (1998) mostraram em humanos que a elevação na concentração de cortisol iniciou-se 16-min após da administração do psicoestimulante e atingiu um pico 30-min depois. Esta alteração foi detectada 22-min após o pico do ACTH (Sholar et al. 1998).

Um efeito dose-dependente do psicoestimulante também foi observado sendo necessário a administração de 20 mg/kg para induzir uma resposta significativa e consistente no eixo HPA. Apesar da dose de 10 mg/kg, em geral, não ter alterado os níveis destes hormônios, a mesma influenciou outras respostas neuroendócrinas neste estudo (ver item 6.2), e diversas reações comportamentais em outros estudos (de Sousa Silva et al., 2006a & 2006b).

A divergência, particularmente entre as respostas neuroendócrinas, pode estar associada ao fato do mico-estrela, assim como várias outras espécies de primatas neotropicais, apresentar elevadas taxas basais de cortisol no sangue (Chrousos et al., 1982). Este glicocorticóide pode atingir níveis 7-20 vezes maiores que os observados em primatas do Velho Mundo – incluindo o homem – apesar de não apresentarem sintomas ou sinais de hipercortisolismo como, por exemplo, o aumento dos níveis de glicose, de apetite, de pressão arterial e osteoporose (Chrousos et al., 1982; Berne et al., 2004). Acredita-se que esta resistência à glicocorticóides possa ser devido, em parte, a uma diminuição na afinidade dos receptores GR pelo seu ligante, induzido por uma mutação no próprio receptor ou em um fator citoplasmático essencial para a ligação receptor-hormônio (Reynolds et al., 1997). Além disso, a globulina de ligação à corticosteróide (CBG – *corticosteroid-binding-globulin*), também conhecida como transcortina, está em menor concentração no sangue e possui uma menor afinidade pelo glicocorticóide, contribuindo para os altos níveis de cortisol livre no sangue de micos (Chrousos et al., 1982). Em testes de supressão de dexametasona, Moura (2002) relatou que no mico-estrela foi necessária uma dose significativamente maior que a de outros primatas para inibir o eixo HPA. Portanto, esta característica peculiar dos micos pode ter influenciado a resposta diferenciada do cortisol à administração de cocaína, levando a um aumento significativo apenas depois da injeção de doses mais altas. Uma análise comparativa entre diferentes espécies de primatas (do Velho e Novo Mundo) seria interessante para confirmar uma possível relação entre a resistência ao glicocorticóide e a ativação do eixo HPA por psicoestimulantes.

De fato, a dose necessária para ativar o eixo HPA parece depender em grande parte de características anatomo-fisiológicas espécie-específicas. Em roedores, diversos estudos

relatam um efeito dose-dependente após administrações centrais e periféricas, porém a dose significativa variou de 50 a 1000 µg/kg ou 1,6 a 30 mg/kg, respectivamente (ex. Levy et al., 1991; Sarnyai et al., 1991). Em macacos rhesus, 0,8 mg/kg iv de cocaína aumentou a liberação de cortisol, comparado ao controle e a dose de 0,4 mg/kg (Sarnyai, 1996). Vale ressaltar que não foram encontrados na literatura estudos em primatas não-humanos utilizando a mesma via de administração usada neste trabalho, o que limita as comparações entre as doses utilizadas. Em homens dependentes, um aumento significativo na concentração plasmática de cortisol foi observado após a administração iv de 40 mg/kg de cocaína (Baumann et al., 1995). Em não-dependentes, a utilização de 2 mg/kg intra-nasal deste psicoestimulante elevou significativamente os níveis deste glicocorticóide (Heesch et al., 1995), enquanto que 30 mg/kg iv foi eficaz para aumentar a concentração de ACTH (Mendelson et al., 1992).

6.1.2. Efeitos a longo prazo

A longo prazo, foi observado um aumento persistente e gradual, mas não significativo, na concentração plasmática de ACTH detectada principalmente após 4 (S₃T₀₀) e 6 meses (S₄T₀₀) da primeira injeção de cocaína. Nesta segunda fase do estudo, vale ressaltar que as duas primeiras coletas correspondem aos controles salina realizados na fase anterior (Estudo 1), enquanto que as últimas duas referem a novas coletas. Desta forma, para que todas as amostras pudessem ser comparadas, foi mantido o mesmo procedimento, ou seja, uma administração de solução salina precedeu todas as coletas de sangue. Portanto, a elevação a longo prazo nos níveis de ACTH poderia, na verdade, estar relacionada a um efeito de memória a cerca do procedimento de coleta de sangue, do que a cocaína *per se*. Contudo, a

concentração circulante de cortisol não seguiu o mesmo padrão, sendo observado um aumento não-significativo transitório apenas na segunda coleta (S₂T₀₀).

Em roedores, os estudos da avaliação a longo prazo referem-se aos efeitos do uso crônico da cocaína nos hormônios do eixo HPA e empregam procedimentos distintos para o estabelecimento de uma administração crônica. Este varia de 3 a 15 dias de administrações diárias (até duas vezes ao dia; revisão em Mello & Mendelson, 1997, 2002), sendo injetados pelo próprio experimentador, ou seja, não foram auto-administrados. Questões metodológicas dificultam a extrapolação para humanos e primatas não-humanos dos dados obtidos até o momento com roedores. Mesmo assim, não foram observadas nestes animais alterações persistentes nos níveis circulantes basais de ACTH e corticosterona (Pilotte et al., 1990; Van der Kar et al., 1992), apesar de ter sido relatado uma diminuição na densidade/afinidade dos receptores para CRF (Goeders et al., 1990), sugerindo que a exposição crônica à este psicoestimulante não resulta em uma tolerância ou sensibilização do eixo HPA. Contudo, Mantsch et al. (2002) demonstraram que a auto-administração de doses crescentes de cocaína em ratos poderia induzir alterações permanentes no eixo HPA.

Em humanos, a utilização crônica de cocaína pode causar alterações persistentes no eixo HPA. Contudo os mecanismos não estão totalmente esclarecidos e podem variar de acordo com a metodologia do estudo. Neste sentido, os pulsos de liberação de cortisol e ACTH não diferiram entre homens dependentes ou com histórico de uso de cocaína e pessoas normais (Mendelson et al., 1989; Teoh et al., 1994). Vecovi et al. (1992) detectaram um aumento significativo nos níveis de ACTH diurno em homens dependentes de cocaína, comparados a homens normais, porém o ritmo de secreção do hormônio não foi alterado. A dificuldade em realizar estudos crônicos em humanos está na interferência que outras drogas

de abuso podem provocar visto que, normalmente, os dependentes de cocaína fazem uso de várias substâncias ao mesmo tempo. Por exemplo, homens com histórico de abuso de cocaína e opióides por 9 anos mostraram-se tolerantes aos efeitos neuroendócrinos e cardiovasculares da administração iv do psicoestimulante quando comparados à usuários esporádicos da cocaína (Mendelson et al., 1998).

Portanto, o presente estudo mostrou que a administração sistêmica aguda de cocaína, principalmente na dose de 20 mg/kg, provocou alterações a curto prazo no eixo HPA que seguiram um curso temporal distinto para cada um dos hormônios. No geral, os efeitos encontrados estão de acordo com a literatura, apesar da ausência de estudos desta natureza em primatas neotropicais, particularmente os calitriquídeos.

6.2. Prolactina

6.2.1. Efeitos a curto prazo

Outro efeito neuroendócrino comumente induzido pela administração sistêmica aguda de cocaína é a redução dos níveis circulantes de prolactina (Heesch et al., 1996; Mello et al., 1990a, 1993). Um dos principais mecanismos de controle da liberação deste hormônio está relacionado ao neurotransmissor DA da via túbero-infundibular que, ao ligar-se à receptores D₂ presente nas células lactotrópicas da adenohipófise, inibe a liberação de prolactina (ex. Martinez de la Escalera & Weiner, 1992). A cocaína, por inibir a recaptação deste neurotransmissor e conseqüentemente aumentar a concentração extracelular de DA (ex.

Nestler et al., 2001), atua indiretamente como um agonista dos receptores dopaminérgicos reduzindo os níveis de prolactina no sangue.

No presente estudo foi observada uma diminuição significativa na concentração sérica de prolactina dos micos-estrela após a administração sistêmica aguda de cocaína, comparada ao controle salina. Na verdade, ambas as doses testadas (10 e 20 mg/kg ip) reduziram os níveis deste hormônio, sendo este efeito significativo observado tanto 30-min, como 60-min depois de sua injeção.

O curso temporal observado para este efeito neuroendócrino corresponde a resultados já observados nesta e outras espécies de primatas. Em micos-estrela, os níveis séricos de prolactina já estavam reduzidos 20-min após a administração ip de 10 mg/kg de cocaína (dados de estudos anteriores realizados pela equipe não Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, porém, não publicados). Em macacos rhesus, foi observado o mesmo efeito 40 a 80-min após a injeção iv da droga, apesar dos níveis hormonais terem começado a diminuir 10-min pós-injeção (Mello et al., 1993). A concentração de prolactina nestes macacos só começou a elevar 90-min após a administração, atingindo níveis basais depois de 110-min (Mello et al., 1993). Porém, Evans & Foltin (2006) relataram que os níveis de prolactina permaneceram reduzidos por até 120-min após a injeção de cocaína também em macacos rhesus. Ademais, a administração direta de dopamina em primatas também foi capaz de diminuir os níveis deste hormônio, sendo este quadro revertido após sua retirada, sugerindo novamente o envolvimento da neurotransmissão dopaminérgica nos efeitos da cocaína sobre a concentração da prolactina (Frawley & Neill, 1984; Norman et al., 1980). Devido à longa duração do efeito da administração aguda de cocaína em primatas, uma elevação na

concentração sérica de prolactina para os níveis basais não foi detectada nos micos, uma vez que o tempo máximo analisado foi de 60-min.

Com relação às doses de cocaína testadas, ambas induziram uma diminuição significativa de prolactina, não sendo detectada diferença significativa entre elas, conforme descrito acima. Contudo, ao se comparar o efeito detectado 30 e 60-min pós-injeção, observa-se que para a dose mais elevada (20 mg/kg) a redução nos níveis de prolactina foi mais acentuada, apesar de não atingir níveis significativos se comparada à dose de 10 mg/kg nos respectivos tempos de coleta. A diminuição observada aplica-se para animais de ambos os gêneros (machos e fêmeas), como tem sido relatado em macacos rhesus (ex. Mello et al., 1990a, 1990b, 1993).

Em pacientes dependentes de cocaína, doses administradas de forma aguda que provocaram alterações nos níveis de ACTH e cortisol não foram suficientes para influenciar a concentração de prolactina (Mendelson et al., 1992; Baumann et al., 1995). Divergências entre estudos com humanos e outros animais é geralmente atribuída ao fato de dependentes químicos fazerem uso de vários tipos de drogas ao mesmo tempo, as quais podem agir antagonicamente sobre os mecanismos responsáveis pelo controle da liberação de diversos hormônios (Levy et al., 1994).

6.2.2. Efeitos a longo prazo

No presente estudo os efeitos a longo prazo da administração sistêmica aguda da cocaína sobre a prolactina não foram avaliados uma vez que estes só são observados após a exposição crônica ao psicoestimulante (rev. Mello & Mendelson, 1997, 2002). A concentração

sérica basal do hormônio permaneceu constante dois meses após as primeiras administrações (S₁T₀₀ vs. S₂T₀₀) realizadas no Estudo 1.

O efeito da cocaína nos níveis circulantes de prolactina parece depender, na verdade, do tempo de exposição à droga. O uso agudo reduz a concentração de prolactina, enquanto que com a administração crônica observa-se o desenvolvimento de quadros de hiperprolactinemia provocado por um descontrole na regulação dopaminérgica central (Mello et al., 1993). Portanto, o uso crônico parece alterar a regulação por *feedback* existente entre a dopamina hipotalâmica e a liberação de prolactina, resultando em níveis séricos excessivos do hormônio. Adicionalmente, o bloqueio crônico da recaptção de DA – provocado pela cocaína – parece gerar uma redução na expressão de receptores dopaminérgicos e em uma provável depleção dos estoques dopaminérgicos intra-celulares (ex. Dackis & Gold, 1985). De fato, estudos clínicos observando o metabolismo de glicose cerebral mostraram uma redução na densidade de receptores D₂ em regiões do lóbulo frontal de dependentes de cocaína durante a abstinência (Volkow et al., 1993).

Portanto, dados do presente estudo mostraram que a administração sistêmica aguda de cocaína reduziu significativamente a concentração sérica de prolactina nos micos. No entanto, os efeitos de dose e curso temporal provocados por este psicoestimulante foram distintos dos observados para os hormônios do eixo HPA. Tal resultado pode ser devido a mecanismos distintos, alguns dos quais seriam específicos para o gênero *Callithrix*.

6.3. Aspectos metodológicos

6.3.1. Administração intraperitoneal de cocaína/salina

A captura, a manipulação e a administração sistêmica de compostos são possíveis fatores de estresse e ansiedade para micos (Hennessy, 1997), capazes de alterar os níveis circulantes dos hormônios do eixo HPA. Portanto, no presente estudo deve-se levar em consideração um possível efeito destes procedimentos realizados no início de cada sessão. Estes procedimentos podem ter alterado os níveis basais dos hormônios de interesse, em particular o ACTH e cortisol, influenciando os níveis analisados após 30- ou 60-min.

Contudo, ao analisar os níveis circulantes basais de cortisol e prolactina, não foram detectadas diferenças significativas entre as concentrações séricas coletadas 00, 30 ou 60-min após a administração de solução salina. Este resultado sugere que os procedimentos realizados inicialmente para administração de cocaína/salina não influenciaram significativamente os níveis hormonais analisados 30- e 60-min pós-injeção. Para o ACTH, foi detectada uma diminuição significativa na sua concentração plasmática 60-min após a administração de salina, em relação ao tempo de 30-min, sendo necessário cuidados ao interpretar os resultados obtidos para este hormônio.

6.3.2. Coleta de sangue

Conforme acima descrito, o eixo HPA pode ser alterado por situações de estresse e ansiedade, sendo os procedimentos necessários para realização de coletas de sangue um desses fatores (Hennessy, 1997). Assim sendo, todas as etapas do procedimento de coleta foram cronometradas para se estabelecer: 1) o tempo gasto para realização de cada etapa do

procedimento de coleta de sangue em cada sessão experimental, 2) o tempo total necessário para coleta de sangue em cada sessão experimental, e 3) uma possível relação entre a concentração de ACTH/cortisol e a duração da coleta.

Com relação aos tempos de coleta, foi observado que o tempo total para realização da coleta de sangue foi maior nas sessões onde foi administrada salina imediatamente antes da coleta (S_1T_{00} , S_2T_{00} , S_3T_{00} , S_4T_{00}) que nas demais. Na verdade, esta maior duração corresponde ao tempo necessário para a administração ip do tratamento, realizado entre a captura do animal no seu viveiro de moradia e seu transporte até a sala de procedimento. Em outras espécies de calitriquídeos, uma coleta realizada em <5-min não influenciou os níveis de cortisol e ACTH analisados posteriormente (Saltzman et al., 1994). Em geral, os procedimentos do presente estudo se enquadram neste intervalo. Portanto, o tempo necessário para realização da coleta de sangue foi realizado de maneira uniforme entre as sessões e de acordo com uma duração máxima descrita na literatura, minimizando a influencia deste fator nos resultados encontrados para os efeitos da administração de cocaína.

Apenas um dos tempos de captura apresentou uma correlação positiva significativa em relação à concentração plasmática de ACTH nos micos. Este resultado sugere que os níveis hormonais observados não estavam, em geral, correlacionados ao tempo de coleta de sangue, indicando uma dissociação entre estes dois parâmetros. Vale ressaltar que a concentração da prolactina não foi utilizada na análise de correlação, uma vez que este hormônio não é significativamente influenciado por condições de estresse.

6.3.3. Análises hormonais por imunoensaio enzimático quimioluminescente

Foi detectada uma concentração sérica basal inicial de cortisol de $139,86 \pm 12,94$ $\mu\text{g/dL}$, semelhante a valores já descritos para esta espécie (Boere et al., 2005; Moura, 2002) e outros calitriquídeos (Saltzman et al., 2006; Pryce et al., 2002). A concentração plasmática basal inicial de ACTH encontrada ($64,94$ pg/mL) também se assemelha aos níveis encontrados por Pryce et al. (2002). Para a prolactina, o nível sérico basal inicial foi de $6,85 \pm 0,46$ ng/mL , correspondendo aos valores observados por Almond et al. (2006).

Portanto, as concentrações basais iniciais, obtidas por imunoensaio enzimático quimioluminescente imediatamente após a administração de salina, estão de acordo com níveis basais já relatados na literatura para calitriquídeos. Desta forma, as alterações nas concentrações de ACTH, cortisol e prolactina, após a administração de cocaína, possivelmente se devem à injeção do psicoestimulante *per se* e não a questões metodológicas associadas ao procedimento automatizado de dosagem hormonal.

6.3.4. Análise por grupo experimental

No presente estudo foram empregados dois grupos experimentais, que diferiram em termos da ordem de administração dos tratamentos. Na primeira fase do Estudo 1 o Grupo 1 recebeu a dose de 10 mg/kg de cocaína e o Grupo 2 a de 20 mg/kg . Na segunda fase, as doses do psicoestimulante foram invertidas e o Grupo 1 passou a receber 20 mg/kg e o Grupo 2 a dose de 10 mg/kg . Desta forma, ao final do experimento, todos os sujeitos foram submetidos a todos os tratamentos (ver Metodologia).

Neste sentido, é importante analisar os possíveis efeitos da primeira administração de cocaína nos níveis hormonais observados na segunda administração. Por exemplo, torna-se

relevante considerar se a dose de 10 mg/kg influenciou os resultados observados após a dose de 20 mg/kg para o Grupo 1, sendo a sequência inversa para os micos do Grupo 2.

Ao analisar os efeitos da administração de cocaína na concentração dos hormônios do eixo HPA, em cada um dos grupos experimentais isoladamente, foi verificado no Grupo 1 o mesmo padrão de resposta descrito na análise geral de todos os micos juntos. Contudo, no Grupo 2 foi observado um aumento mais acentuado nos níveis séricos de cortisol após 60-min da injeção da dose de 10 mg/kg, comparado ao perfil geral de todos os animais, apesar de não atingir níveis significativos.

Deste modo, o pequeno aumento não-significativo de cortisol pós-injeção de 10 mg/kg de cocaína, pode ter sido devido aos sujeitos pertencentes ao Grupo 2. É possível que a administração inicial da dose mais alta de cocaína possa ter influenciado os níveis hormonais observados posteriormente com a administração da dose mais baixa após um intervalo de 2 meses. Em pessoas ingênuas, respostas neuroendócrinas observadas após a administração de cocaína podem ser significativamente diferentes de pessoas dependentes (Mendelson et al., 1992; Baumann et al., 1995; Heesch et al., 1995). Entretanto, o regime de administração da cocaína adotado nos micos não caracteriza uma exposição crônica e não parece induzir efeitos neuroendócrinos a longo prazo após administração aguda. Estudos comportamentais nesta mesma espécie também não relataram efeitos duradouros, mesmo após cinco administrações de 10 mg/kg ip em intervalos de 72-h (de Souza Silva et al., 2006a, 2006b).

Com relação os efeitos da cocaína nos níveis de prolactina do Grupo 1, não foi observada uma redução significativa 30-min pós-injeção de 20 mg/kg, ao contrário do que foi visto quando todos os animais foram analisados em conjunto. Porém, ao analisar os resultados deste mesmo grupo 60-min após ambas as doses de cocaína, foi observado um perfil

semelhante a análise geral descrita no item 6.2.1. No Grupo 2, a dose de 10 mg/kg, que foi a segunda a ser administrada nestes animais, só diminuiu os níveis de prolactina 30-min pós-injeção. Além disso, neste mesmo momento, a redução do hormônio depois de 20 mg/kg da droga foi significativamente maior que a de 10 mg/kg.

Estes resultados sugerem que a resposta da prolactina à administração aguda de cocaína nos micos ingênuos pode ser diferente daquela observada em animais não ingênuos ao uso do psicoestimulante. Contudo, o efeito desta exposição prévia parece ser complexo, sendo necessários mais estudos em micos. Em roedores, a injeção de 15 mg/kg ip de cocaína durante 3 ou 7 (Borowsky & Kuhn, 1991b; Baumann & Rothman, 1993) ou 14 dias (Levy et al., 1992) não alterou a redução induzida posteriormente por uma injeção aguda da droga.

6.3.5. Análise por gênero

No presente estudo não foi realizada uma comparação entre machos e fêmeas em vista do pequeno número de sujeitos machos (n=3). Em estudos desta natureza, análises realizadas com poucos sujeitos podem não ser muito representativas, influenciando a validade do resultado encontrado (Cozby, 2003).

Sabe-se que os efeitos da administração de cocaína não parecem ocorrer da mesma forma em fêmeas/mulheres e machos/homens. Estudos vêm demonstrando que fêmeas de roedores são mais sensíveis aos efeitos comportamentais dos psicoestimulantes (ex. Festa, 2003, 2004). Em relação aos efeitos neuroendócrinos em roedores, as fêmeas apresentaram uma elevação maior nos níveis de ACTH e corticosterona que os machos após a administração de cocaína (Kuhn & Francis, 1997; Walker et al., 2000). Em comparação, macacos rhesus machos parecem ser mais responsivos à estimulação do eixo HPA induzida pela cocaína

(Broadbear et al., 1999). A causa dessa diferença na resposta entre gêneros pode estar relacionada aos hormônios sexuais, principalmente o estrogênio (Festa, 2003, 2004; Kuhn & Francis, 1997; Walker et al., 2000). A resposta diferenciada também poderia estar relacionada às diferenças existentes na farmacocinética da cocaína entre machos/homens e fêmeas/mulheres (Van Haaren et al., 1997; Bowman et al., 1999; Festa et al., 2004).

6.4. Perspectivas futuras

A relação temporal entre o pico plasmático de cocaína e respostas como euforia e elevação nos níveis circulantes de ACTH e adrenalina sugere que as rápidas alterações hormonais podem contribuir para a dependência provocada pela droga (Mello et al., 2002). Contudo, resultados obtidos neste trabalho sugerem que a administração aguda deste psicoestimulante induz alterações neuroendócrinas que seguem um curso temporal distinto para cada hormônio. Desta forma, novos estudos abordando a temporalidade dos efeitos hormonais induzidos pela cocaína, correlacionada a concentração da cocaína no sangue ao longo do tempo e os efeitos comportamentais por ela eliciados, poderão contribuir significativamente para uma melhor elucidação dos mecanismos responsáveis pela dependência gerada por esta droga.

Como o mico-estrela apresenta uma característica resistência a glicocorticóides, outros experimentos com este pequeno primata neotropical podem fornecer dados comparativos a respeito do envolvimento do eixo HPA na dependência de cocaína. A utilização e associação de ferramentas farmacológicas e moleculares são essenciais para elucidar o impacto que os receptores GR (ou sua ausência ou função alterada) exercem sobre os mecanismos neurais

responsáveis pelos diversos efeitos que a cocaína induz no organismo. Na verdade, os receptores GR (ou seus co-fatores citoplasmáticos) podem se tornar alvos farmacológicos para o desenvolvimento de novos fármacos no tratamento da dependência através do bloqueio dos efeitos da cocaína no eixo HPA. Neste sentido, micos-estrela podem atuar como um importante modelo experimental em pesquisas desta natureza.

Outros aspectos importantes que também deveriam ser explorados no futuro incluem:

1) analisar possíveis alterações a curto, médio e longo prazo da administração sistêmica aguda de cocaína em outras funções endócrinas (ex. hormônios sexuais), e 2) verificar uma possível influência dos hormônios sexuais na resposta diferenciada encontrada em macho/homens versus fêmeas/mulheres.

7. CONCLUSÃO

No presente estudo sobre os efeitos da administração sistêmica aguda de 10 e 20 mg/kg de cocaína em micos-estrela (*Callithrix penicillata*) nos hormônios ACTH, cortisol e prolactina foi observado que:

- a administração aguda de cocaína induziu alterações neuroendócrinas significativas nos micos-estrela, em geral similares às observadas em outros animais, inclusive no homem;
- as alterações neuroendócrinas induzidas nesta espécie seguiram um curso temporal distinto para cada hormônio analisado, possivelmente associado a seu respectivo

mecanismo de controle de liberação, a saber: 1) a concentração plasmática de ACTH aumentou significativamente 30-min após a injeção de 20 mg/kg de cocaína, enquanto que depois de 60-min a mesma diminuiu (retroalimentação negativa do cortisol sobre o eixo HPA), 2) um aumento na concentração sérica de cortisol foi observado apenas depois de 60-min da administração de 20 mg/kg de cocaína, induzido pelo aumento na concentração de ACTH no sangue dos micos, e 3) os níveis séricos de prolactina estavam significativamente reduzidos após a administração de ambas as doses de cocaína (10 e 20 mg/kg) e nos dois intervalos de coleta avaliados (30 e 60-min);

- o efeito dose-dependente observado no eixo HPA pode estar relacionado a resistência aos glicocorticóides apresentados por várias espécies de primatas neotropicais, o que faz do mico-estrela um importante modelo experimental em pesquisas sobre o potencial dos receptores GR (ou seus co-fatores citoplasmáticos) como alvos para o desenvolvimento de novos fármacos no tratamento de dependentes, via o eixo HPA;
- a administração sistêmica aguda de cocaína não induziu alterações significativas a longo prazo (até 6 meses depois) nos hormônios ACTH e cortisol;
- os resultados observados não parecem ter sido influenciados por aspectos metodológicos, uma vez que: 1) os níveis basais dos hormônios de interesse permaneceram constantes 00, 30 e 60-min após a administração de salina; 2) o tempo de captura e a duração total da coleta de sangue não foram significativamente correlacionados aos níveis hormonais observados após a injeção de salina ou cocaína, 3) as análises automatizadas de imunoensaio enzimático quimioluminescente geraram níveis hormonais basais correspondentes aos descrito na literatura para calitriquídeos;

- a divisão dos sujeitos em grupos experimentais, porém, deve ser considerada ao interpretar os resultados de alguns hormônios (ex. prolactina), uma vez que a resposta de micos ingênuos (Estudo 1, fase 1) foi diferente daquela observada em animais não-ingênuos (Estudo 1, fase 2).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMOND, R.E.A.; BROWN, G.R.; KEVERNE, E.B. Suppression of prolactin does not reduce infant care by parentally experienced male common marmosets (*Callithrix jacchus*). **Hormones and Behavior**, 49, 673-680, 2006.

AMERICAN PSYCHIATRY ASSOCIATION. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DMS-IV)**, 4^a ed. Washington DC, 1994.

BARROS, M.; TOMAZ, C. Non-human primate models for investigating fear and anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 26: 187-201; 2002.

BARROT, M.; ABROUS, D.N.; MARINELLI, M.; ROUGE-PONT, F.; LE MOAL, M.; PIAZZA, P.V. Influence of glucocorticoids on dopaminergic transmission in the rat dorsolateral striatum. **The European Journal of Neuroscience**, 12, 973-979, 2000.

BAUMANN, M.H.; GENDRON, T.M.; BECKETTS, K.M.; HENNING-FIELD, J.E.; GORELICK, D.A.; ROTHMAN, R.B. Effects of intravenous cocaine on plasma cortisol and prolactin in human cocaine abusers. **Biological Psychiatry**, 38: 751-755, 1995.

BAUMANN, M.H.; ROTHMAN, R.B. Effects of acute and chronic cocaine on the activity of tuberoinfundibular dopamine neurons in the rat. **Brain Research**, 608: 175-179, 1993

BERNE, R.M.; LEVY, M.N.; KOEPPEN, B.M.; STANTON, B.A. **Fisiologia**. 5^aed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

BOERE, V.; PINHEIRO, E.C.; DE OLIVEIRA E SILVA, I.; PALUDO, G.R.; CANALE, G.; PIANTA, T.; WELKER, A.; ROCHA-DE-MOURA, R.C. Comparison between sex and age class on some physiological, thermal, and hematological indices of the cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). **Journal of Medical Primatology**, 34: 156-162, 2005.

BOROWSKY, B.; KUNH, C.M. Monoamine mediation of cocaine induced hypothalamo-pituitary-adrenal activation. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 256: 204-210, 1991a

BOROWSKY, B.; KUNH, C.M. Chronic cocaine administration sensitizes behavioral but not neuroendocrine responses. **Brain Research**, 543: 301-306, 1991b.

BOROWSKY, B.; KUNH, C.M. D1 and D2 dopamine receptor stimulation of hypothalamo-pituitary-adrenal activity in rats. **Neuropharmacology**, 31: 671-678, 1992.

BOWMAN, B.P.; VAUGHN, S.R.; WALKER, Q.D.; DAVIS, S.L.; LITTLE, P.J.; SCHEFFLER, N.M.; et al.. Effects of sex and gonadectomy on cocaine metabolism in the rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 290: 1316-23, 1999.

BRICK, J.; ERICKSON, C.K. **Drugs, the brain, and behavior: the pharmacology of abuse and dependence**. New York: Haworth Medical Press, 1999.

BROADBEAR, J.H.; WINGER, G.; CICERO, T.J.; WOODS, J.H. Effects of response contingent and noncontingent cocaine injection on hypothalamic-pituitary-adrenal activity in rhesus monkeys. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 290, 393-402, 1999.

CALOGERO, A.E.; GALLUCCI, W.T.; KLING, M.A.; CHROUSOS, G.P.; GOLD, P.W. Cocaine stimulates rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro. **Brain Research**, 505, 7-11, 1989.

CAREY, R.J.; DAMIANOPOULOS, E.; DEPALMA, G. The 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635 can block the low-dose locomotor stimulant effects of cocaine. **Brain Research**, 862: 242-246; 2000.

CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E. Cocaine and serotonin: a role for the 5-HT_{1A} receptor site in the mediation of cocaine stimulant effects. **Behavioural Brain Research**, 126: 127-133; 2001.

CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E. 5-HT_{1A} agonist/antagonist modification of cocaine stimulant effects: implications for cocaine mechanisms. **Behavioural Brain Research**, 132: 37-46; 2002.

CAINE, S.B. Cocaine abuse: hard knocks for dopamine hypothesis? **Nature Neuroscience**, vol. 1, n. 2, p.90-92, June 1998.

CHROUSOS, G.P.; RENQUIST, D.; BRANDON, D.; EIL, C.; PUGHEAT, M.; VIGERSKY, R.; CUTLER JR, G.B.; LORLAUX, D.L. LIPSETT, M.B. Glucocorticoid hormone resistance during primate evolution: receptor-mediated mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 79: 2036-2040, 1982.

COIMBRA FILHO, A.F.; MITTERMEIER, R.A. The marmosets. **Ecology and behavior of neotropical primates**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, editors: Coimbra-Filho 1981.

COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. **The biochemical basis of neuropharmacology**, 7 ed. New York: Oxford University Press, 1996.

COZBY, P.C. **Métodos de pesquisa em ciências do comportamento**. São Paulo, SP: Ed. Atlas, 2003.

DACKIS, C.A.; GOLD, M.S. New concepts in cocaine addiction: the dopamine depletion hypothesis. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 9: 469-477, 1985

DE SOUSA SILVA, M.A.; MELLO JR., E.L.; MULLER, C.P.; JOCHAM, G.; MAIOR, R.S.; HUSTON, J.P.; TOMAZ, C.; BARROS, M. The neurokinin-3 receptor antagonist SR142801 blocks the behavioral of cocaine in marmoset monkeys. **European Journal of Pharmacology**, 536 (3): 269-278, May 1, 2006a.

DE SOUSA SILVA, M.A.; MELLO JR., E.L.; MULLER, C.P.; JOCHAM, G.; MAIOR, R.S.; HUSTON, J.P.; TOMAZ, C.; BARROS, M. Interaction of the tachykinin NK3 receptor agonist senktide with behavioral effects of cocaine in marmosets (*Callithrix penicillata*). **Peptides**, 27(9): 2214-2223, Sep., 2006b.

ELLIOTT, J.M.; BEVERIDGE, T.J.R. Psychostimulants and monoamine transporters: upsetting the balance. **Current Opinion in Pharmacology**, 5: 94-100, 2005.

EVANS, S.M.; FOLTIN, R.W. Pharmacokinetics of repeated doses of intravenous cocaine across the menstrual cycle in rhesus monkeys. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 83, 56-66, 2006.

FELDMAN, R.S.; QUENZER, L.F. **Principles of Neuropsychopharmacology**. Sinauer Associates Inc, Massachusetts, 1997.

FESTA, E.D.; QUINONES-JENAB, V.. Gonadal hormones provide the biological basis for sex differences in behavioral responses to cocaine. **Hormones and Behavioral**, 46, 509-519, 2004.

FESTA, E.D.; JENAB, S.; CHIN, J.; GAZI, F.M.; WU, H.B.K.; RUSSO, S.J.; QUINONES-JENAB, V. Frequency of cocaine administration affects behavioral and endocrine responses in male and female Fischer rats. **Cellular and Molecular Biology**, 49, 1275-1280, 2003.

FRAWLEY, S.S.; NEILL, J.D. Brief decreases in dopamine result in surges of prolactin secretion in monkeys. **The American Journal of Physiology**, 247: E778-E780, 1984.

GOEDERS, N.E. Stress and cocaine addiction. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 301: 785-789, 2002a.

GOEDERS, N.E. The HPA axis and cocaine reinforcement. **Psychoneuroendocrinology**, 27, 13-33, 2002b.

GOEDERS, N.E.; GUERIN, G.F. Effects of surgical and pharmacological adrenalectomy on the initiation and maintenance of intravenous cocaine self-administration in rats. **Brain Research**, 25, (1-2): 145-52, May, 1996.

GONZALEZ-NICOLINI, V.; MCGINTY, J.F. NK-1 receptor blockade decreases amphetamine-induced behavior and neuropeptide mRNA expression in the striatum. **Brain Research**, 931: 41-49; 2002.

GRAEFF, F.G. Abuso e dependência de drogas. In: GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES F.S. **Fundamentos de psicofarmacologia**. São Paulo: Atheneu, 1999.

GYGI, S.P.; GIBB, J.W.; JOHNSON, M. HANSON, G.R. Blockade of tachykinin NK₁ receptors by CP-96345 enhances dopamine release and the striatal dopamine effects of methamphetamine in rats. **European Journal of Neuroscience**, 250: 177-180; 1993.

HASENÖHRL, R.U.; DE SOUZA-SILVA, M.A.; NIKOLAUS, S.; TOMAZ, C.; BRANDÃO, M.L.; SCHWARTING, R.; HUSTON, J.P. Substance P and its role in neural mechanisms governing learning, anxiety and functional recovery. **Neuropeptides**, 34: 272-280, 2000.

HAUGER, R.L.; RISBROUGH, V.; BRAUNS, O.; DAUTZENBERG, F.M. Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets. **CNS Neurological Disorders Targets**, 5 (4): 453-79, Aug. 2006

HEESCH, C.M.; NEGUS, B.H.; BOST, J.E.; KEFFER, J.H.; SNYDER, R.W.; EICHHORN, E.J. Effects of cocaine on anterior pituitary and gonadal hormones. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 278, 1195-1200, 1996

HEESCH, C.M.; NEGUS, B.H.; KEFFER, J.H.; SNYDER, R.W.; RISSER, R.; EICHHORN, E.J. Effects of cocaine on cortisol secretion in humans. **The American Journal of the Medical Science**, 310: 61-64, 1995.

HENNESSY, M.B. Hypothalamic-pituitary-adrenal responses to brief social separation. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 21: 11-29, 1997.

JOCHAM, G.; LEZOCH, K.; MULLER, C.P.; KART-TEKE, E.; HUSTON, J.P. DE SOUZA SILVA, M.A. Neurokinin receptor antagonism attenuates cocaine's behavioural activating effects yet potentiates its dopamine-enhancing action in the nucleus accumbens core. **The European Journal of Neuroscience**, 24(6):1721-1732, 2006.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica & Clínica**. 6^aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

KOMBIAN, S.B.; ANANTHALAKSHMI, K.V.V.; PARVATHY, S.S.; MATOWE, W.C. Substance P depresses excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens through dopaminergic and purinergic mechanisms. **Journal of Neurophysiology**, 89: 728-737; 2003.

KOOB, G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology, and function of reward pathways. **Trends Pharmacology Science** 13: 177-184; 1992.

KUHN, C.; FRANCIS, R. Gender difference in cocaine induced HPA axis activation. **Neuropsychopharmacology**. 16, 399-407, 1997.

LEVY, A.D.; LI, Q.; ALVAREZ SANZ, M.C.; RITTENHOUSE, P.A.; KERR, J.E.; VAN DE KAR, L.D. Neuroendocrine responses to cocaine do not exhibit sensitization following repeated cocaine exposure. **Life Sciences**, 51: 887-897, 1992.

LEVY, A.D.; BAUMAN, M.H.; VAN DER KAR, L.D. Monoaminergic regulation of neuroendocrine function and its modification by cocaine. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 15, 85-156, 1994.

LEVY, A.D.; LI, Q.; KERR, J.E.; RITTENHOUSE, P.A.; MILONAS, G.; CABRERA, T.M.; BATTAGLIA, G.; ALVAREZ SANZ, M.C.; VAN DE KAR, L.D. Cocaine-induced elevation of plasma adrenocorticotropin hormone and corticosterone is mediated by serotonergic neurons. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 259: 495-500, 1991.

LOONAM, T.M.; NOAILLES, T.A.H.; YU, J.; ZHU, J.P.Q.; ANGULO, J.A. Substance P and cholecystinin regulate neurochemical responses to cocaine and methamphetamine in the striatum. **Life Sciences**, 73: 727-739; 2003.

MARINELLI, M.; PIAZZA, P.V. Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. **European Journal of Neuroscience**, vol.16, p.387-394, 2002.

MAJEWSKA, D.M. HPA axis and stimulant dependence: an enigmatic relationship. **Psychoneuroendocrinology**, 27: 5-12, 2002.

MACHADO, A.B.M.; **Neuroanatomia funcional**, 2^a ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2004.

MAGNANO, C.L.; GARDNER, J.M.; KARMEL, B.Z. Difference in salivary cortisol levels in cocaine-exposed and noncocaine exposed NICU infants. **Developmental Psychology**, 25: 93-103, 1992.

MANTSH, J.R.; YUFEROV, A.M.; MATHIEU-KIA, A. HO.; KREEK, M.J. Neuroendocrine alteration in a high-dose, extended-access rat self-administration model of escalating cocaine use. **Psychoneuroendocrinology**, 28, 836-862, 2003.

MANTSH, J.R.; SCHLUSSMAN, S.D.; HO, A.; KREEK, M.J. effects of cocaine self-administration on plasmacorticosteroneand prolactin in rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 294: 239-247, 2000.

MARTINEZ DE LA ESCARELA, G.; WEINER, R.I. Dissociation of dopamine from its receptor as a signal in the pleiotropic hypothalamic regulation of prolactin secretion. **Endocrine Reviews**, 13, 241-245, 1992

MARQUARDT, A.R.; BARROS, H.M.T. Métodos Comportamentais para avaliar drogas de abuso. In: ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia fundamentos básicos**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2006

MELLO JR., E.L. **Interação entre os sistemas serotoninérgico, dopaminérgico e peptidérgico na modulação dos efeitos psicoestimulantes da cocaína e anfetamina**. 2006. 89f.. (Doutorado em Ciências – Área: Biologia Animal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H. Cocaine's effects on neuroendocrine systems: clinical and preclinical studies. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 57 (3): 571-599, 1997.

MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H.; DRIEZE, J.M.; TEOH, S.K.; KELLY, M.L.; SHOLAR, J.W. Effects of dopamine on prolactin: interactions with cocaine self-administration by female rhesus monkeys. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 270: 1110-1120, 1994

MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H.; DRIEZE, J.; KELLY, M. Acute effects of cocaine on prolactin and gonadotropins in female rhesus monkey during the follicular phase of the menstrual cycle. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 254: 815-823, 1990a.

MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H.; DRIEZE, J.; KELLY, M. Cocaine effects on luteinizing hormone-releasing hormone stimulated anterior pituitary hormones in female rhesus monkey. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 71: 1434-1441, 1990b.

MELLO, N.K.; SARNYAI, Z.; MENDELSON, J.H.; DRIEZE, J.; KELLY, M. Acute effects of cocaine on anterior pituitary hormones in male and female rhesus monkeys. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 266: 804-811, 1993.

MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H. Cocaine, hormones and behavior: clinical and preclinical studies. **Hormones, Brain and Behavior**, 5: 665-745, 2002.

MENDELSON, J.H.; TEOH, S.K.; MELLO N.K.; ELLINGBOE, J.; RHOADES, E. Acute effects of cocaine on plasma adrenocorticotrophic hormone, luteinizing hormone and prolactin levels in cocaine-dependent men. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 263: 505-509, 1992.

MENDELSON, J.H.; MELLO, N.K.; SHOLAR, M.B.; SIEGEL, A.J.; MUTSCHLER, N.; HALPERN, J. Temporal concordance of cocaine effects on mood states and neuroendocrine hormones. **Psychoneuroendocrinology**, 27, 71-82, 2002.

MENDELSON, J.; MELLO, N.K.; LUKAS, S.E.; WOODS, B.T.; TEOH, S.K. Promising new biological and behavioral correlates of the reinforcing properties of drugs. In: FISCHMAN, M.W.; MELLO, N.K.; eds. **Testing for abuse liability of drugs in humans**. NIDA Research monograph n. 92 DHHS Publ. N. (ADM) 89-1613, Rockville, M.D.: US Government Printing Office; 307-340, 1989.

MILLAN, A.M.; SAMRA, A.B.; WYNN, P.C.; CATT, K.J.; AGUILERA, G. Receptors and actions of corticotropin-releasing hormone in the primate pituitary gland. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 64 (5): 1036-1041, 1987.

MOLDOW, R.L.; FISCHMAN, A.J. Cocaine induced secretion of ACTH, beta-endorphin, and corticosterone. **Peptides**, 8: 819-822, 1987

MOURA, R.C.R. **Diferenças na sensibilidade ao glucocorticóide entre macacos do Novo Mundo: Macaco-Prego x Sagüi do Cerrado**. 2002. 75f.. (Mestrado em Ciências da Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2002.

MÜLLER, C.P.; CAREY, R.J.; HUSTON, J.P. Serotonin as an important mediator of cocaine's behavioral effects. **Drugs of Today**, 39 (7): 497-511, 2003.

MÜLLER, C.P.; DE SOUZA SILVA M.A.; DE PALMA G.; TOMAZ, C.; CAREY, R.J.; HUSTON, J.P. The selective serotonin1A-receptor antagonist WAY 100635 blocks behavioural stimulating effects of cocaine but not ventral striatal dopamine release. **Behavioural Brain Research**, 134: 337–346, 2002a.

MÜLLER, C.P.; CAREY, R.J.; DE SOUZA SILVA M.A.; JOCHAM, G.; HUSTON J.P. Cocaine increases serotonergic activity in the hippocampus and nucleus accumbens in vivo: 5-HT1A-receptor antagonism blocks behavioural but potentiates serotonergic activation. **Synapse**, 45: 67–77, 2002b.

MÜLLER, C.P.; DE SOUZA SILVA M.A.; HUSTON, J.P.; DE PALMA G.; TOMAZ, C.; CAREY, R.J. Serotonin1A-receptor antagonism attenuates the cocaine-induced increase in serotonin levels in the hippocampus and nucleus accumbens but potentiates hyperlocomotion: an in vivo microdialysis study. **Neuropharmacology**, 44: 592-603; 2003.

NAPIER, J.R.; NAPER, P.H. **The natural history of primates**. Cambridge MIT Press, MIT Press editors 1985.

NESTLER, E.J.; HYMAN, S.E.; MALENKA, R.C. **Molecular neuropharmacology: a foundation for clinical neuroscience**. New York: McGraw-Hill, 2001

NICASTRI, S.; BUCHPIGUEL, C.A.; ANDRADE, A.G. Anormalidade de fluxo sanguíneo cerebral em indivíduos dependentes de cocaína. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 22 (2): 42-50, 2000.

NORMAN, R.L.; QUADRI, S.K.; SPIES, H.G. Differential sensitivity of prolactin release to dopamine and thyrotrophin-releasing hormone in intact and pituitary stalk-sectioned rhesus monkeys. **The Journal of Endocrinology**, 84: 479-487, 1980.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Neurociência de consumo e dependência de substâncias psicoativas: Resumo**. Organização Mundial de Saúde, Genebra; 40p, 2004.

PARSONS, L.H.; WEISS, F.; KOOB, G.F. Serotonin 1B receptor stimulation enhances cocaine reinforcement. **The Journal of Neuroscience**, 18 (23): 100078-100089, December 1, 1998.

PILOTTE, N.S.; SHARPE, L.G.; DAX, E.M. Multiple, but not acute, infusion of cocaine alter the release of prolactin in male rats. **Brain Research**, 512, 107-112, 1990.

PRYCE, C.R.; PALME, R.; FELDON, J. Development of Pituitary-Adrenal Endocrine Function in the Marmoset Monkey: Infant Hypercortisolism Is the Norm. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 87 (2): 691-699, 2002.

PRZEGALINSKE, E.; FILIP, M.; FRANKOWSKA, M.; ZANIEWSKA, M.; PAPLA, I. Effects of CP 154,526, a CRF1 receptor antagonist, on behavioral responses to cocaine in rats. **Neuropeptides**, 39 (5): 525-33, Oct, 2005.

PRUNET, P.; STURN, A.; MILLA, S. Multiple corticosteroid receptors in fish: from old ideas to new concepts. **General and Comparative Endocrinology**, 147, 17-23, 2006.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4^aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koognan, 2001.

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

RIVER, C.; VALE, W. Cocaine stimulates adrenocorticotropin (ACTH) secretion through a corticotropin-releasing factor (CRF) mediated mechanism. **Brain Research**, 422, 403-406, 1987.

ROCHA, B.A.; FUMAGALLI, F.; GAINETDINOV, R.R.; JONES, S.R.; ATOR, R.; GIROS, B.; MILLER, G.W.; CARON, M.G. Cocaine self-administration in dopamine transporter knockout mice. **Nature Neurosciece**, 1: 132-7, 1998.

ROMANO, M.; RIBEIRO, M.; MARQUES, A.C.P.R. **Abuso e dependência da cocaína**. Projeto Diretrizes: Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina. 15p. Setembro, 2002.

SARNYAI, Z.; HÖHN, J.; SZABÓ, G.; PENKE, B. Critical role of endogenous corticotropin-releasing factor (CRF) in the mediation of the behavioral action of cocaine in rats. **Life Sciences**, 51, 2019-2024, 1992.

SARNYAI, Z.; BÍRÓ, E.; TELEGDY, G. Cocaine induced elevation of plasma corticosterone is mediated by different neurotransmitter systems in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 45, 209-214, 1993.

SARNYAI, Z.; MELLO, N.K.; MENDELSON, J.H.; EROS-SARNYAI, M.; MERCER, G. Effects of cocaine on pulsatile activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in male rhesus monkeys: neuroendocrine and behavioral correlates. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 277: 225-234, 1996.

SALTZMAN, W.; HOGAN, B.K.; ALLEN, A.J.; ABBOTT, D.H. Hypoestrogenism does not mediate social suppression of cortisol in subordinate female marmosets. **Psychoneuroendocrinology**, 31, 692-702, 2006.

SALTZMAN, W.; SCHULTZ-DARKEN, N.J.; SHEFFLER, G.; WEGNER, F.H.; ABBOTT, D.H. Social and reproductive influences on plasma cortisol in female marmoset monkeys. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 56:801-810, 1994.

SHOLAR, M.B.; MENDELSON, J.H.; MELLO, N.K.; SIEGEL, A.J.; KAUFMAN, M.J.; LEVIN, J.M.; RENSHAW, P.F.; COHEN, B.M. Concurrent pharmacokinetic analysis of plasma cocaine and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in men. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 83, 966-968, 1998.

TEOH, S.K.; SARNYAI, Z.; MENDELSON, J.H.; MELLO, N.K.; SPRINGER, S.A.; SHOLAR, J.W.; WAPLER, M.; KUEHNLE, J.C.; GELLES, H. Cocaine effects on pulsatile secretion of ACTH in men. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 270: 1134-1138, 1994.

TORRES, G.; RIVIER, C. Cocaine induced ACTH secretion: dependence of plasma levels of the drug and mode of exposure. **Brain Research Bulletin**, 29: 51-56, 1992a.

TORRES, G.; RIVIER, C. Cocaine induced stimulation of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis is progressively attenuated following hourly-interval regimens of drug. **Life Sciences**, 51: 1041-1048, 1992b.

VAN DER KAR, L.; BONADONNA, A.; RITTENHOUSE, P.; KERR, J.; LEVY, A.; IYER, L.; HERBERT, G.; ALVAREZ SANZ, M.; LENT, S.; CARNES, M. Prior chronic exposure to cocaine inhibits the serotonergic stimulation of ACTH and secretion of corticosterone. **Neuropharmacology**, 31, 169-175, 1992.

VAN HAAREN, F.; GARCEA, M.; ANDERSON, K.; TEBBETT, I. Cocaine and benzoylecgonine in serum microsamples of intact and gonadectomized male and female Wistar rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavioral**, 58:421-4, 1997.

VASCONCELOS, S.M.M.; MACEDO, D.S.; LIMA, I.S.P.; SOUSA, F.C.F.; FONTELES, M.M.F.; VIANA, G.S.B. Cocaetileno: um metabólito da associação cocaína e etanol. **Revista de Psiquiatria Clínica**, 28 (4): 2007-210, 2001

VENTON, B.J.; SEIPEL, A.T.; PHILLIPS, P.E.M.; WETSEL, W.C.; GITLER, D.; GREENGARD, P.; AUGUSTINE, G.J.; WIGTHMAN, M. Cocaine increases dopamine release by mobilization of a synapse-dependent reserve pool. **The Journal of Neuroscience**, 26 (12): 3206-3209, March 22, 2006

VENTULANI, J. Drug addiction. Part I. Psychoactive substances in the past and presence. **Polish Journal of Pharmacology**, 53: 201-214, 2001b.

VENTULANI, J. Drug addiction. Part II. Neurobiology of addiction. **Polish Journal of Pharmacology**, 53: 303-317, 2001a.

VESCOVI, P.P.; COIRO, V.; VOLPI, R.; PASSERI, M. Diurnal variations in plasma ACTH, cortisol and beta-endorphin levels in cocaine addicts. **Hormone Research**, 37: 221-224, 1992.

VOLKOW, N.D.; FOWLER, J.S.; WANG, G.J.; HITZEMANN, R.; LOGAN, J.; SCHYLER, D.J.; DEWEY, S.L.; WOLF, A.P. Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. **Synapse**, 14: 169-177, 1993.

WALKER, Q.D.; FRANCIS, R.; CABASSA, J.; KUHN, C.M. Effect of ovarian hormones and estrous cycle on stimulation of the HPA axis by cocaine. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 209, 291-298, 2000.

World Drug Report. Volume 1. United Nation – Office on Drugs and crime. Analysis United Nations Publications, 2006

YEN, S.S.C. Hypothalamic control of pituitary hormone secretion. In: **Reproductive endocrinology**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co, 65-104, 1991a.

YEN, S.S.C. Prolactin in human reproduction. In: **Reproductive endocrinology**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Co, 357-388, 1991b.

YEN, S.S.C. Neuroendocrine control of hypophyseal function. In: **Reproductive endocrinology**. eds. Philadelphia: W. B. Saunders Co, 1986: 33-74.

YEN, S.S.C. Studies of the role of dopamine in the control of prolactin and gonadotropin secretion in humans. In: **Central Regulation of the Endocrine System**. Ds. New York: Plenum Press, 1979, 387-416.

ZHANG, X.Y.; KOSTEN, T.A. Prazosin, an α -1adrenergic antagonist, reduces cocaïne-induced reinstatement of drug seeking. **Biological Psychiatry** 57: 1202-1204, 2005.

http://asanbiotech.co.kr/img/inform/p02a_12.jpg acesso em: 13/09/2006

9. ANEXOS

9.1. Anexo 1: Parecer do Comitê de Ética no Uso Animal



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - IB
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

Brasília, 18 de julho de 2006.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado “**ANÁLISE DOS EFEITOS NEUROENDÓCRINOS INDUZIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO SISTÊMICA AGUDA DE COCAÍNA EM PRIMATAS NEOTROPICAIS**”, sob responsabilidade da Profa. Marília Barros, foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

Profa. Anamélia Lorenzetti Bocca
Coordenadora do CEUA