

MONIQUE DA SILVA GEVAERD

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA ASSOCIAÇÃO
ETANOL+MAZINDOL EM CAMUNDONGOS.**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Florianópolis, 1996.

GEVAERD, Monique S. *Efeitos comportamentais induzidos pela associação de EtOH+MZ em camundongos*. Florianópolis, 1996. 79 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo N. Takahashi

Defesa: 08.03.96

O uso combinado de álcool e anoréticos constitui uma conduta comum em nosso meio. Para caracterizar os efeitos interativos do etanol (EtOH) e do mazindol (MZ), um anorético bastante utilizado no Brasil, o presente estudo teve como objetivo examinar alguns efeitos comportamentais induzidos pelo [EtOH 1.2 g/kg] e [MZ 5.0 mg/kg] administrados via i.p, isoladamente ou em combinação, em camundongos. O possível envolvimento de sistemas dopaminérgicos e/ou opióide em algumas destas respostas foi avaliado através do pré-tratamento com antagonistas específicos como o haloperidol (0.075 mg/kg) e a naloxona (1.0 mg/kg). Os teste utilizados foram: [atividade locomotora], preferência condicionada de lugar [PCL] e o labirinto em cruz elevado [LCE]. Os resultados obtidos indicaram que a combinação [EtOH+MZ] potencializou a atividade locomotora induzida em camundongos, em comparação às drogas administradas separadamente. Este efeito foi atenuado após pré-tratamento com haloperidol, mas não com naloxona. No teste de PCL a associação EtOH+MZ causou significativo aumento no tempo de permanência no compartimento pareado com a droga, sugerindo o desenvolvimento de propriedade reforçadora. O haloperidol e a naloxona não afetaram esta resposta. No modelo de ansiedade, a associação EtOH+MZ não causou alteração em comparação ao grupo controle. Em conclusão, estes resultados indicam que a combinação EtOH+MZ induz efeitos comportamentais mais acentuados em relação aos efeitos causados pela injeção isolada dessas substâncias, e que estes efeitos podem envolver, ao menos parcialmente, a estimulação de vias dopaminérgicas centrais.

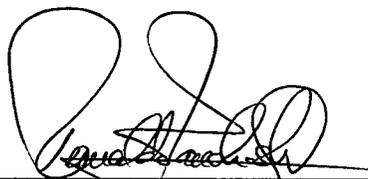
[etanol] [mazindol] [labirinto em cruz elevado] [preferência condicionada de lugar]

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA ASSOCIAÇÃO
ETANOL + MAZINDOL EM CAMUNDONGOS**

POR

MONIQUE DA SILVA GEVAERD

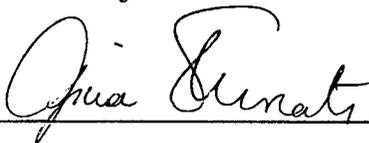
Dissertação julgada e aprovada em sua forma final, pelo Orientador e membros da Banca Examinadora, composta pelos Professores Doutores:



Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi



Prof. Dr. Moacyr Aizenstein



Profa. Dra. Gina Struffaldi Morato

Florianópolis, março de 1996.

"Se conseguirmos honrar genuinamente nossos pais não apenas ficamos em paz com nós mesmos, como podemos então dar nascimento ao nosso futuro."

Shirley Maclaine

Aos meus pais pela formação e estímulo;
Aos meus irmãos e amigos pelo incentivo;
Ao Rogério por seu apoio e sua atenção.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Reinaldo N. Takahashi pela idealização e orientação para a realização deste projeto e por sua contribuição na minha formação científica.

Aos professores da Coordenadoria Especial de Farmacologia pela colaboração na concretização deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Farmacologia que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, em especial à Rosana, à Sandra, ao Juarez e à Josane.

Aos funcionários do Biotério da Coordenadoria Especial de Farmacologia, sem os quais não haveria possibilidades de trabalhar.

Aos amigos de curso, Alcíbia, Daniela, Elizabeth, Martha, Rodrigo, Vânia, Zulma e demais colegas, pela amizade, colaboração e companheirismo.

Aos professores do Departamento da Ciências Farmacêuticas pelo incentivo ao curso de mestrado, em especial prof. Aldo Brito e Eliana Dihel.

Um agradecimento especial aos meus pais e irmãos que sempre me apoiaram, e ao Rogério que sempre me incentivou e estimulou na horas difíceis.

Finalmente à todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para a realização desta dissertação.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
1 - INTRODUÇÃO.....	1
2 - OBJETIVOS.....	13
3 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
3.1 - Animais.....	14
3.2 - Drogas.....	14
3.3 - Equipamentos e procedimentos.....	15
3.3.1 - <i>Teste de Movimentação Espontânea</i>	15
3.3.2 - <i>Teste de Preferência Condicionada de Lugar</i>	15
3.3.3 - <i>Teste do Labirinto em Cruz Elevado</i>	17
3.4 - Análise Estatística.....	18
4 - RESULTADOS.....	19
4.1 - Experimento 1.....	19
4.2 - Experimento 2.....	22
4.3 - Experimento 3.....	25
4.4 - Experimento 4.....	29
4.5 - Experimento 5.....	33
4.6 - Experimento 6.....	37
4.7 - Experimento 7.....	40
4.8 - Experimento 8.....	44

5 - DISCUSSÃO	48
6 - CONCLUSÕES	63
ABSTRACT	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Avaliação do efeito do EtOH sobre a atividade motora em camundongos	22
Figura 2: Avaliação da atividade motora após administração isolada e associada de EtOH e MZ.....	25
Figura 3: Curva tempo resposta do efeito do haloperidol na atividade locomotora induzida por EtOH e/ou MZ em camundongos	28
Figura 4: Avaliação do efeito do haloperidol sobre a atividade locomotora induzida por EtOH e/ou MZ, em camundongos, aos 15, 30, 45 e 60 min.....	29
Figura 5: Curva tempo resposta do efeito da naloxona sobre a atividade locomotora induzida por EtOH e/ou MZ, em camundongos	32
Figura 6: Avaliação do efeito da naloxona sobre a atividade locomotora induzida por EtOH e/ou MZ, em camundongos, aos 15, 30, 45 e 60 min.	33
Figura 7: Tempo de permanência no compartimento pareado com a droga, na caixa de preferência condicionada de lugar, em diferentes tempos de condicionamento	37
Figura 8: Tempo de permanência no compartimento pareado com a droga, após pré-tratamento com haloperidol e naloxona	40
Figura 9: Efeito do EtOH, MZ e sua associação sobre a frequência e o tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado.....	43

Figura 10: Efeito do EtOH, MZ e sua associação sobre o número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado.....	44
Figura 11: Efeito do tratamento repetido durante 4 dias, com EtOH, MZ e sua associação, sobre a frequência e o tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado	47
Figura 12: Efeito do tratamento repetido com EtOH, MZ e sua associação, sobre o número de entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado.	48

RESUMO

O uso combinado de etanol (EtOH) e outras drogas psicoestimulantes, como os anorexígenos, na tentativa de prolongar o seu efeito euforizante, constitui um sério problema em nosso país. Sabe-se que o EtOH em doses baixas e moderadas produz efeito estimulante no SNC em animais de laboratório, principalmente em camundongos, enquanto doses maiores induzem ação depressora. Sabe-se também que o mazindol (MZ), um anorexígeno utilizado com frequência em nosso meio, bloqueia o processo de recaptação das catecolaminas e apresenta efeito estimulante na atividade locomotora de animais. O presente estudo teve como objetivo examinar os efeitos comportamentais induzidos pelo EtOH (1.2 g/kg) e pelo MZ (5.0 mg/kg) administrados isoladamente ou em combinação, via i.p., em camundongos. Além disso, o envolvimento dos mecanismos dopaminérgico (DAérgico) e/ou opióide sobre os efeitos destas drogas também foi avaliado através do uso de antagonistas específicos. Os testes utilizados foram: atividade locomotora medida em caixa de movimentação espontânea, teste de preferência condicionada de lugar (PCL) e o teste do labirinto em cruz elevado (LCE). Os resultados indicaram que a interação EtOH+MZ induziu um aumento significativamente maior na atividade locomotora dos camundongos, do que as drogas administradas isoladamente, sendo que este efeito foi inibido na presença de haloperidol (0.075 mg/kg), antagonista DAérgico, mas não de naloxona (1.0 mg/kg), antagonista opióide. No teste de PCL, a associação EtOH+MZ aumentou o tempo de permanência no compartimento menos preferido, independentemente do tempo de condicionamento empregado, o que indica que esta associação possui propriedades reforçadoras. O pré-tratamento com haloperidol (0.075 mg/kg) ou naloxona (1.0 mg/kg) não afetou a preferência de lugar induzida pela associação EtOH+MZ ou pelo MZ. Além disso, no teste do LCE, o EtOH apresentou efeito ansiolítico, quando administrado agudamente, enquanto o MZ apresentou efeito ansiogênico após tratamento repetido. Entretanto a associação

EtOH+MZ não apresentou nenhuma alteração em relação ao grupo controle tanto aguda quanto repetidamente, ou seja, os efeitos observados com a administração isolada das drogas foram atenuados quando administradas em combinação. Esses resultados indicam que a associação EtOH+MZ pode induzir efeitos comportamentais mais acentuados do que aqueles observados quando as drogas são administradas isoladamente. Tais efeitos podem estar relacionados à estimulação de vias DAérgicas cerebrais uma vez que a movimentação induzida por esta associação foi bloqueada pelo haloperidol. Esses resultados também sugerem que pode haver um maior risco de abuso em relação ao uso isolado dessas substâncias, aumentando inclusive as possibilidades de reações adversas apresentadas por ambas as drogas.

1 - INTRODUÇÃO

O uso das drogas psicotrópicas vem desde a antiguidade. Ao que parece, na maioria das vezes as drogas eram usadas como remédio para diminuir o sofrimento das pessoas. Com o tempo, diversas drogas foram sendo assimiladas pelos costumes e hábitos dos povos antigos, integrando as pessoas principalmente por ocasiões das festas e dos rituais religiosos. Entretanto, o consumo estava sob controle, não representando perigo para a harmonia do grupo, sendo normalmente acompanhado por uma aura sagrada, de origem divina (Paulino, 1994).

A partir da década de 60, observaram-se algumas mudanças importantes em relação ao uso das drogas psicotrópicas. Acredita-se que a influência dos meios de comunicação, o aumento da produção industrial e o advento do capitalismo deram origem a um processo ativo de estímulo ao consumismo (Gikovate, 1993). Além disso, uma precária situação sócio-econômica, a violência no ambiente familiar, a degradação das condições de ensino, o abandono escolar e a prática de atividades ilícitas parecem também estar relacionadas ao consumo abusivo das drogas (Bucher, 1992). Adicionalmente, as diferentes culturas e a própria condição humana criam um grau variável de insatisfação ou frustração, quando não de dor e privação extremas, de modo a exigir para o próprio equilíbrio individual e coletivo o uso de recursos e práticas culturais que permitam a esses indivíduos um aumento, ainda que temporário, do prazer ou um alívio da ansiedade, da culpa, das frustrações mais prementes ou da dor. Entre esses recursos está o uso de substâncias químicas que, atuando sobre o sistema nervoso central (SNC), induzem sensações de prazer intenso ou de euforia ou aliviam o medo, a frustração e a dor (Graeff, 1990).

A compreensão atual do abuso de drogas tem sido influenciada pela ênfase dada ao comportamento de busca à droga como elemento comum. A capacidade de

servir como reforçador positivo é o fator principal que leva o sujeito à manutenção do consumo da droga (Stolerman, 1992).

Os mecanismos neurais associados aos efeitos reforçadores positivos das drogas são os prováveis responsáveis primários pela manutenção deste comportamento. Além disso, sabe-se que este comportamento pode estar sujeito a algumas variáveis moduladoras como fatores sociais, ambientais e genéticos, incluindo a história comportamental e farmacológica de cada indivíduo (Stolerman, 1992).

A propriedade reforçadora positiva das drogas de abuso origina-se provavelmente de sua capacidade de induzir mudanças na atividade de neurotransmissores específicos utilizados pelos reforçadores convencionais como comida, água, sexo, etc. Dentre as vias neurais que participam no comportamento motivacional, aquelas que utilizam dopamina (DA) parecem as mais difusamente envolvidas na ação das drogas de abuso (Di Chiara e North, 1992; Koob, 1992).

As drogas de abuso parecem pertencer a diferentes classes farmacológicas que aumentam a DA extracelular em vários terminais dopaminérgicos (DAérgicos), como observado em estudos de microdiálise cerebral em ratos (Di Chiara e Imperato, 1988). Esta propriedade se aplica às drogas psicoestimulantes como anfetamina, cocaína; aos opióides como morfina, metadona e fentanil; aos depressores centrais como o etanol (EtOH) (Di Chiara e Imperato, 1988), que produzem aumento da propriedade reforçadora em ratos (Gardner *et al.*, 1992). O mecanismo pelo qual as drogas de abuso estimulam a transmissão DAérgica é diferente, dependendo da classe farmacológica a qual a droga pertence. Por exemplo, a anfetamina é classicamente considerada como um liberador pré-sináptico da DA através de um processo mediado por um transportador (Westerink *et al.*, 1987; Carboni *et al.*, 1989). A cocaína aumenta os níveis de DA extracelular pelo bloqueio da recaptação da DA liberada de forma exocitótica (Carboni *et al.*, 1989). O EtOH estimula a atividade de disparo das unidades DAérgicas através de um

mecanismo desinibitório indireto, que deprime ou dificulta a ação dos neurônios GABAérgicos sobre os neurônios DAérgicos (Gessa *et al.*, 1985; Brodie *et al.*, 1990; Mereu *et al.*, 1987). A morfina estimula preferencialmente o “turnover” de DA nas regiões mesolímbicas, e também os disparos dos neurônios DAérgicos mesolímbicos (Attila e Ahtee, 1984; Matthews e German, 1984).

Vários estudos têm demonstrado preocupação com o uso de drogas, principalmente entre os jovens, em virtude dos efeitos provocados pelo seu abuso para a sociedade, dentre os quais se destacam a criminalidade, as conseqüências diretas ou indiretas sobre o estado de saúde e os custos a este relacionados. Segundo o último levantamento realizado pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID), em 1993, o consumo de drogas continua sendo um problema crescente tanto entre os meninos(as) em situação de rua, quanto em estudantes de 1º e 2º graus, destacando a utilização de solventes inalantes, maconha, cocaína, compostos benzodiazepínicos e anfetamínicos, além do álcool e do tabaco. Cabe salientar a ocorrência de diferenças regionais no que se refere ao tipo de droga consumida, provavelmente em decorrência das culturas locais. Outro fato constatado, foi o “policonsumo” de drogas, ou seja, o uso simultâneo e independente de duas ou mais drogas, assim como o de suas misturas. Estas interações de drogas podem levar à mudanças qualitativas e quantitativas em relação aos efeitos das substâncias isoladas. Um problema de especial interesse em nossa sociedade é a interação entre o EtOH e outras drogas psicoativas, uma vez que o EtOH é uma das substâncias mais comumente associada a outras drogas em todo o mundo (Chapman *et al.*, 1991; Mendelson *et al.*, 1995; Haberman *et al.*, 1995). No Brasil constata-se, através dos meios de comunicação, que o EtOH é muito usado em combinação com drogas anoréticas como o mazindol (MZ). A prevalência do uso desta combinação pode refletir a crença popular que pela mistura de EtOH e MZ alcança-se um aumento da ação estimulante do MZ.

O MZ (5 - hidróxi - 5 - p - clorofenil - 2, 3 - diidro - 5H - imidazo -2, 1 - d - isoindol) é um composto sintético tricíclico, derivado imidazoisoindólico, que difere quimicamente da feniletilamina, a estrutura básica das anfetaminas e outras drogas anoréticas (Maclay e Wallace, 1977). Foi sintetizado com o objetivo de suprimir o apetite sem apresentar efeitos sobre o SNC ou sistema cardiovascular (Gogerty *et al.*, 1975). Entretanto, foi evidenciado por alguns pesquisadores que o MZ apresenta perfil farmacológico no SNC semelhante ao da cocaína (Ritz *et al.*, 1987) e da anfetamina (Gogerty *et al.*, 1975).

Um dos riscos com muitas drogas anoréticas comumente disponíveis é o seu potencial de abuso. Apesar dos esforços direcionados ao desenvolvimento de novos compostos com a eficácia anorética das anfetaminas, sem potencial de abuso, vários anoréticos com alto risco de dependência ainda estão clinicamente em uso. Geralmente o potencial de dependência de drogas é prognosticado pela sua capacidade de produzir efeito reforçador em animais de laboratório. Em geral, as drogas que são auto-administradas por animais são consumidas abusivamente por humanos (Griffths *et al.*, 1980).

O MZ é um bloqueador da recaptção de catecolaminas (Javitch *et al.*, 1983; Ritz *et al.*, 1987) que se liga com alta afinidade ao sítio da cocaína (Ritz *et al.*, 1987). A afinidade de ligação da cocaína e compostos relacionados ao sítio de recaptção da DA parece ser diretamente proporcional ao seu potencial de auto-administração em animais (Ritz *et al.*, 1987; Bergman *et al.*, 1989).

Alguns estudos demonstram que o MZ é auto-administrado por macacos rhesus e cachorros, sugerindo que a droga pode apresentar algum risco de abuso (Wilson e Schuster, 1976; Risner e Silcox, 1981; Corwin *et al.*, 1987). Entretanto, estudos em humanos indicam que o MZ apresenta baixo potencial de abuso (Chait *et al.*, 1987; Pickworth *et al.*, 1991). Apesar destas evidências, um recente estudo feito no Brasil, sobre o consumo de drogas anoréticas tipo anfetamina, demonstrou que o MZ foi uma das substâncias mais usadas (Nappo, 1992).

Outro possível correlato comportamental associado à estimulação da transmissão DAérgica, induzida pelos bloqueadores da recaptação da DA, é a sua capacidade de desenvolver preferência de lugar em animais. O teste de preferência condicionada de lugar (PCL) é um método simples e amplamente usado para o estudo do potencial reforçador das drogas de abuso. Neste experimento, um ambiente característico é repetidamente pareado com a administração da droga em estudo, e um outro ambiente é associado com a administração de solução controle. O posterior aumento do tempo de permanência no compartimento pareado com a droga, durante o teste de preferência é considerado como medida de reforço. Um fator positivo deste teste é que os efeitos reforçadores são avaliados na ausência da droga, sendo assim, ficam excluídos outros fatores que poderiam mascarar o desempenho do animal como, por exemplo, efeitos motores ou qualquer outro fator inespecífico (Mithani *et al.*, 1986; Lawley e Kantak, 1990; Calcagnetti e Schechter, 1992 e 1993).

O sistema DAérgico também desempenha importante função na geração do comportamento locomotor (Costal *et al.*, 1977; Fink e Smith, 1980). Pode-se supor que funções individuais específicas do mecanismo DAérgico estão relacionadas às diferenças interindividuais no nível de atividade motora em animais experimentais (Schumacher *et al.*, 1994).

Similar à cocaína e à anfetamina, o MZ é conhecido por induzir aumento da atividade locomotora, comportamento giratório e esteriotipado em animais de laboratório (Kruk e Zarrindast, 1976). Estudos realizados em nosso laboratório têm demonstrado que o MZ aumenta a atividade locomotora de maneira dose-dependente e que a sua administração repetida aumenta esta resposta em ratos (Zannin e Takahashi, 1994). Este modelo de estimulação do SNC é típico de psicoestimulantes potentes, como cocaína (Woolverton e Johnson, 1992), anfetamina (Gogerty *et al.*, 1975) e outros anorexígenos como dietilpropiona (Reimer *et al.*, 1995) e fencanfamina (Aizenstein *et al.*, 1990; Kuczenski *et al.*,

1991). Portanto, é provável que a estimulação locomotora induzida pelo MZ possa ser devida a sua ação sobre o terminal nervoso DAérgico.

Além das propriedades estimulantes e reforçadoras das drogas de abuso, estas substâncias também podem afetar o estado de ansiedade em animais de laboratório, efeito este que pode ser avaliado através do teste do labirinto em cruz elevado (LCE). Este teste tem sido usado como modelo animal simples e confiável para avaliar os efeitos ansiolíticos e/ou ansiogênicos de drogas (Lister, 1990). Sua base etológica é a aversão natural apresentada por roedores a espaços abertos e elevados. Diante da sua rapidez, da dispensa de treinamento prévio, equipamento barato, além da sensibilidade a compostos ansiolíticos e ansiogênicos, esse modelo animal de ansiedade tornou-se muito popular em poucos anos (Lister, 1990), e foi validado tanto para ratos (Pellow *et al.*, 1985), como para camundongos (Lister, 1987).

Embora existam evidências de que os psicoestimulantes como a anfetamina induzem propriedades ansiogênicas em camundongos testados no modelo do LCE (Lister, 1987), pouco se sabe em relação ao efeito do MZ neste teste. Na verdade, em recente estudo realizado neste laboratório foi verificado que o MZ não produz estímulos ansiogênicos em ratos submetidos ao teste do LCE, tanto após tratamento agudo, quanto com tratamento repetido (Zannin, 1994). De qualquer modo, é importante mencionar que, em humanos, o uso crônico ou a administração de altas doses de cocaína podem produzir efeitos ansiogênicos (Cohen, 1975; Resnick *et al.*, 1977). Também tem sido demonstrado que a cocaína pode precipitar episódios de ataques de pânico em alguns indivíduos (Anthony *et al.*, 1989; Aronson e Craig, 1986; Washton e Gold, 1984). Entretanto, em modelos experimentais, Rogério e Takahashi (1992, a,b) sugerem que a capacidade de a cocaína induzir propriedades ansiogênicas, tanto em ratos quanto em camundongos, pode depender, pelo menos em parte, do nível basal de ansiedade do animal. Além disso, foi verificado que os resultados sobre os efeitos ansiogênicos da cocaína em modelos animais são

limitados e confusos, e parecem ser consistentes com os relatos inconclusivos da correlação entre o abuso de cocaína e ansiedade em humanos (Welte, 1985).

Por outro lado, o consumo excessivo de álcool em todo o mundo também representa um grande problema social e de saúde pública, gerando sérias conseqüências fisiológicas e neurológicas aos usuários. Existem evidências convincentes que fatores genéticos podem contribuir à predisposição ao alcoolismo. Além disso, fatores psicológicos, sociais e culturais também estão relacionados à vulnerabilidade ao consumo do álcool (Monteiro, 1990). Assim, acredita-se que o alcoolismo seja uma doença multifatorial, na qual todos estes fatores desempenham um papel relativo de maior ou menor importância (Donovan, 1986; Schuckit, 1987).

Vários estudos têm sido desenvolvidos para elucidar os mecanismos neurobiológicos envolvidos com o consumo de álcool. Como exemplo destes estudos há o emprego de modelos animais induzidos ao consumo de EtOH, através de condicionamento comportamental ou manipulação farmacológica, ou ainda através de animais geneticamente selecionados por diferenças quanto à preferência e sensibilidade ao EtOH ou resistência às crises de abstinência (Nevo e Hamon, 1995).

Até 1960, a visão geralmente aceita era de que o EtOH exercia seus efeitos centrais via fluidificação não específica das membranas neuronais (Seeman, 1972), uma vez que considerava-se incerto a existência de um receptor específico para esta molécula, devido à sua estrutura química simples. Com uma melhor compreensão da função dos neurotransmissores e seus receptores, os trabalhos sobre as ações do EtOH no SNC passaram a demonstrar uma seletiva sensibilidade do EtOH a certos sistemas neurotransmissores centrais. Portanto, não há um único sistema neurotransmissor que possa ser selecionado como o responsável na mediação de todos os efeitos centrais do EtOH (Tabakoff e Hoffman, 1987; Nevo e Hamon, 1995). Dentre os vários sistemas afetados pelo EtOH, o que mais nos interessa no momento é o sistema DAérgico, pois a liberação da DA, particularmente na região mesolímbica, induzida agudamente pelo EtOH, está relacionada à sua propriedade

reforçadora, em analogia ao papel reforçador de outras drogas de abuso (Wise,1978; Koob,1992). Além disso, o EtOH quando administrado sistemicamente, pode agir através de outros neurotransmissores como o N-metil-D-aspartato (NMDA), ácido 5-gama-amino-butírico (GABA), serotonina (5-HT) e opióides, que vão influenciar os neurônios DAérgicos e conseqüentemente afetar a liberação de DA (Tabakoff *et al.*, 1991; Nevo e Hamon, 1995).

O EtOH apresenta uma variedade de efeitos comportamentais, muitos dos quais são dependentes da dose e da via de administração (Sanson e Harris,1992). Apesar de ser um depressor do SNC, o EtOH apresenta um efeito bifásico; o que significa dizer que, em doses baixas e moderadas, o EtOH apresenta efeito excitatório caracterizado por desinibição, aumento de sociabilidade e euforia, enquanto que em doses altas, desencadeia um efeito depressor com sedação e sonolência ou até o estado de coma. Este efeito bifásico tem sido demonstrado tanto em humanos quanto em camundongos (Ahlenius *et al.*, 1973; Dudek e Abbot, 1984; Frye e Breese, 1981; Masur *et al.*, 1989).

Também foi observado que o EtOH pode funcionar como efetivo reforçador em primatas, através do estudo de auto-administração usando o método de condicionamento operante (Meisch e Stewart,1994). Outro método para avaliar os efeitos positivos produzidos pelo EtOH, é a preferência condicionada de lugar. Embora muitas tentativas tenham falhado em demonstrar preferência de lugar induzida pelo EtOH, Bozarth (1990) demonstrou que a propriedade reforçadora do EtOH pode ser avaliada com este método. Além disso, também foi verificado através dos estudos de Lister (1988), que o EtOH induz aumento do número de entradas e do tempo de permanência nos braços abertos do LCE, em camundongos, bem como aumenta o número total de entradas, sem afetar a atividade locomotora, medida no “holeboard”. Estes resultados evidenciam uma resposta ansiolítica após tratamento com EtOH.

A partir da década de 60, as vias neurotransmissoras do cérebro de ratos foram mapeadas por microscopia de histofluorescência, sendo observado uma íntima relação entre os sítios positivos para a estimulação cerebral reforçadora e o sistema DAérgico mesotelencefálico. As células nervosas que liberam DA apresentam seus corpos celulares concentrados na substância nigra (SN - grupo A9), dando origem ao sistema nigroestriatal; e na área tegmental ventral (ATV - grupo A10), originando os sistemas mesolímbico e mesocortical. Suas fibras ascendem ao longo do feixe prosencefálico medial e distribuem-se para o bulbo olfatório, núcleo septal lateral, núcleo accumbens, núcleo do leito da estria terminal, complexo amigdalóide, córtex frontal e piriforme. Portanto, se o sistema DAérgico ascendente desempenha uma função crucial no reforço induzido pelas drogas, seria esperado que as substâncias de abuso agissem direta ou indiretamente como agonistas DAérgicos neste sistema (Dahlström e Fuxe, 1964; Ungerstedt, 1971; Moore e Bloom, 1978).

A função da DA sobre o comportamento tem sido investigada por dois métodos principais: um experimental envolvendo o estudo dos efeitos comportamentais da manipulação da transmissão DAérgica com drogas ou com lesões específicas dos neurônios DAérgicos com 6-hidroxidopamina (6-OHDA), e outro onde as mudanças na transmissão DAérgica são monitoradas em áreas específicas e relacionadas à atividade comportamental. Estes métodos, apesar de complementares, envolvem diferentes interações de metodologia de estudo e não necessariamente conduzem à mesma conclusão (Di Chiara, 1995).

De qualquer modo, através das técnicas de microdiálise ou voltametria eletroquímica *in vivo*, vários laboratórios têm demonstrado que as substâncias auto-administradas por animais de laboratório e consumidas abusivamente pelos humanos, produzem um aumento do nível extracelular de DA na projeção terminal da região mesotelencefálica do sistema DAérgico, sendo o núcleo accumbens (NAc) o principal e mais sensível sítio de ação dessas drogas (Gardner, 1992).

Os estudos dos efeitos dos bloqueadores de receptores DAérgicos para a investigação experimental da função da DA no comportamento têm confirmado que estas drogas não são reforçadoras e que bloqueiam esta propriedade de reforçadores típicos. Além disso, os neurolépticos induzem sedação e inibição motora com catalepsia, como resultado do bloqueio dos receptores DAérgicos pós-sinápticos (Imperato e Di Chiara, 1985).

Um achado interessante relatado há 30 anos por Stein e Ray (1960); Stein (1962) e comumente replicado por diferentes laboratórios (Franklin, 1978; Esposito *et al.*, 1981; Wise e Bozarth, 1982), é o estudo da inibição da estimulação elétrica cerebral reforçadora por antagonista DAérgicos. Através deste estudo observou-se um aumento do limiar reforçador em regiões associadas à DA. Estes achados, associados a estudos em que animais interrompem voluntariamente a infusão de antagonistas DAérgicos, são elementos importantes na teoria de que a estimulação elétrica cerebral reforçadora ativa o mesmo substrato DAérgico reforçador do cérebro que é ativado pela auto-administração de drogas; e que esses substratos incluem o sistema reforçador DAérgico mesolímbico na região do cérebro medial anterior.

Por outro lado, alguns pesquisadores têm encontrado que a propriedade reforçadora produzida pelas substâncias de abuso, incluindo compostos de diferentes classes químicas e farmacológicas, também pode ser significativamente atenuado pelos antagonistas opióides, como a naloxona (Seeger *et al.*, 1980; Nazzaro *et al.*, 1980 e 1981; Schad *et al.*, 1995). Além disso, a naloxona também é capaz de aumentar a inibição da estimulação cerebral reforçadora induzida pelos neurolépticos (Esposito *et al.*, 1981). Estes fatos parecem favorecer a existência de uma importante inter-relação anatômica e funcional entre as fibras DAérgicas do sistema reforçador e os peptídeos opióides endógenos, que é capaz de influenciar a estimulação cerebral reforçadora induzida por todas as substâncias de abuso (Gardner, 1992).

Confirmando esta hipótese da ocorrência de uma interação entre os sistemas neuronais opióide e DAérgico (Iwatsubo, 1980; Kuschinsky, 1981), pode-se citar que estudos usando técnicas de ligação com radioligantes ou com lesões específicas, têm indicado que os receptores opióides estão localizados sobre os corpos celulares e/ou dendritos de neurônios DAérgicos, bem como sobre os terminais nervosos GABAérgicos na SN (Llorens-Cortes *et al.*, 1979). Johnson *et al.*, (1980) têm demonstrado anatomicamente a presença de terminais e fibras de encefalinas em íntima relação com os neurônios DAérgicos da SN e ATV, os quais ascendem aos axônios que inervam o neostriado, NAc e outras estruturas límbicas e corticais.

A morfina, metadona e outros opióides são conhecidos por influenciarem a função dos sistemas DAérgicos centrais (Wood, 1983) e existe uma boa concordância sobre a noção de que opióides, como morfina, estimulam a síntese (Gunne, 1963; Clouet e Ratner, 1970; Hitzemann *et al.*, 1971; Smith *et al.*, 1972; Gauchy *et al.*, 1973; Garcia-Sevilla *et al.*, 1978; Alper *et al.*, 1980), o metabolismo (Lawerty e Sharman, 1965; Fukui e Takagi, 1972; Sasame *et al.*, 1972; Ahtee e Kaariainen, 1973; Kuschinsky e Hornykiewicz, 1973; Wood e Richard, 1982) e o “turnover” (Gunne *et al.*, 1969; Sugrue, 1974; Moleman e Bruinvels, 1976, 1979; Wood *et al.*, 1980; Attila e Ahtee, 1984; Yonehara e Clouet, 1984) da DA e a atividade de disparos dos neurônios DAérgicos (Iwatsubo e Clouet, 1977; Nowycky *et al.*, 1978; Gysling e Wang, 1983; Matthews e German, 1984).

Frente ao exposto, pode-se observar que embora existam evidências demonstrando os efeitos comportamentais induzidos pelo MZ e principalmente pelo EtOH, não existem dados publicados sobre os efeitos provocados pela combinação de EtOH e MZ. Tendo em vista o grau de semelhança no mecanismo de ação entre o MZ e a cocaína, e o consumo abusivo do MZ associado ao EtOH, a investigação dos efeitos comportamentais induzidos por estas drogas é de grande importância para a avaliação do perfil psicofarmacológico desta interação. Portanto, o presente estudo foi delineado com o objetivo de investigar os efeitos da interação de EtOH

com MZ em diferentes testes comportamentais, bem como avaliar o possível envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide nas ações induzidas por esta associação em camundongos.

2 - OBJETIVOS

- Avaliar o efeito da associação EtOH+MZ, e dessas drogas administradas isoladamente, sobre o comportamento locomotor de camundongos, medido em caixa de movimentação espontânea, bem como verificar o envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide sobre este parâmetro comportamental, através do pré-tratamento com haloperidol ou naloxona.
- Investigar a presença de propriedade reforçadora na associação EtOH+MZ, utilizando como modelo a preferência condicionada de lugar e também verificar o envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide neste comportamento, pelo uso de antagonistas específicos.
- Verificar se a associação EtOH+MZ tem alguma ação moduladora sobre o estado de ansiedade, através do teste do LCE, após tratamento agudo ou repetido.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Animais

Foram utilizados camundongos suíços, albinos, machos, com aproximadamente 3 meses de idade, pesando entre 30 e 40 g, provenientes do Biotério do Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais permaneciam alojados em grupos de 25 a 30, por gaiola (39 x 32 x 16 cm), mantidos em temperatura controlada ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), em ciclo claro e escuro de 12 horas (6:00 - 18:00 h), com livre acesso à água e à comida, exceto durante as sessões de teste.

3.2 - Drogas

Mazindol (Instituto Químico Campinas - IQC, São Paulo), haloperidol (Sigma Co. St Louis, MO. USA), ambos dissolvidos em solução de carboximetilcelulose a 0.025% na dose de 5 mg/kg e 0.075 mg/kg, respectivamente. EtOH PA (Merck, Rio de Janeiro) diluído a 12.5% v/v em salina e administrados nas doses de 1.2 a 2.8 g/kg. Naloxona (RBI, MA. USA) dissolvido em salina na dose de 1.0 mg/kg. A solução controle consistiu de uma mistura de salina e carboximetilcelulose em volumes equivalentes. Todas as drogas foram administradas por via intraperitoneal (i.p) em volumes fixos de 0.1 ml/10 g, exceto o EtOH cujo volume de injeção variou conforme a dose. Os animais tratados com solução controle, EtOH ou MZ isoladamente receberam uma injeção adicional de solução controle, para igualar ao número de injeções do grupo tratado com EtOH+MZ.

3.3 -Equipamentos e procedimentos

3.3.1- Teste de movimentação espontânea

A avaliação da atividade locomotora foi realizada em uma caixa de madeira medindo 40 x 12 x 20 cm, com três células fotoelétricas instaladas a 1cm de altura do chão em grade, espaçadas igualmente ao longo de sua extensão e acopladas a um contador digital que registra o número de vezes que o animal interrompe os feixes de luz (cada interrupção do feixe de luz constitui uma medida de atividade). Assim, os movimentos horizontais dos animais foram detectados pelas fotocélulas. O teste foi desenvolvido em ambiente com pouca iluminação, no período matutino (8 às 12 h). Neste experimento os animais foram individualmente colocados dentro das caixas de movimentação e os registros de medida de atividade foram efetuados por um período de 5 min. em diferentes intervalos de tempo (aos 15, 30, 45 e 60 min.) após as injeções de solução controle, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg. Após cada registro de atividade os animais retornavam à gaiola. Para avaliar um possível envolvimento dos sistemas DAérgico e/ou opióide sobre o comportamento locomotor induzido pelos tratamentos com EtOH, MZ ou a sua associação, grupos adicionais foram avaliados na presença ou ausência de haloperidol 0.075 mg/kg ou naloxona 1.0 mg/kg, seguindo o mesmo procedimento experimental.

3.3.2 - Teste de preferência condicionada de lugar - PCL

O teste de PCL foi efetuado em uma caixa, confeccionada em acrílico, composta por três compartimentos diferentes, separados por duas guilhotinas removíveis. A área central medindo 51 x 14 x 14.5 cm e pintada de bege era

considerada um ambiente neutro. As extremidades da caixa mediam cada uma 22 x 14 x 14.5 cm e eram distingüidas pelas seguintes características: uma clara com o chão liso e iluminada com luz branca e outra escura com o chão coberto com serragem e sem iluminação. Os experimentos foram conduzidos em ambiente com pouca iluminação no período da manhã (8 às 12 h). O método escolhido, adaptado ao estudo de Lawley e Kantak (1990), envolveu duas fases:

Fase 1 - condicionamento: O período de condicionamento foi efetuado em 4 dias consecutivos com dois ensaios diários. No primeiro ensaio, cada animal recebeu solução controle e foi imediatamente confinado em uma das extremidades da caixa de condicionamento (por um período de 5, 15 ou 30 min). No segundo ensaio os animais foram tratados com solução controle (grupo controle) e com EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg (grupos teste) e confinados na extremidade oposta da usada no primeiro ensaio, também pelo mesmo tempo (5, 15 ou 30 min). De maneira similar à movimentação, grupos adicionais foram utilizados para avaliar o possível envolvimento dos mecanismos DAérgicos e/ou opióides neste modelo experimental. Portanto oito grupos de animais foram pré-tratados com haloperidol (0.075 mg/kg) ou naloxona (1.0 mg/kg) ,enquanto outros quatro grupos receberam solução controle. Este pré-tratamento foi efetuado 30 min. antes do teste. Posteriormente, cada animal foi submetido ao procedimento experimental de condicionamento de lugar, como descrito acima.

Fase 2 - teste: O teste foi realizado no 5^o dia, sem tratamento, quando os animais foram individualmente colocados no compartimento neutro, com livre acesso para ambos os lados. O registro do tempo de permanência em cada compartimento foi efetuado por um período de 15 min.

Foi utilizada uma solução de etanol a 10% para limpar a caixa antes da colocação de cada animal.

3.3.3 - Teste do labirinto em cruz elevado - LCE

O aparelho para o teste do LCE, feito de acrílico, é constituído por dois braços abertos (30 x 5 cm) e dois braços fechados (30 x 5 x 15 cm) opostos entre si, e elevados a 38.5 cm do chão. Os braços abertos apresentam uma barra lateral de 0.5 cm como proteção, evitando a queda dos animais. Um campo aberto quadrado (40 x 40 x 30 cm), também fabricado em acrílico, foi utilizado antes do teste para adaptação do animal ao ambiente. Foi utilizada uma solução de etanol a 10% para limpar o labirinto e o campo aberto antes da colocação de cada animal. Os experimentos foram realizados no período matutino (8 às 12 h), em ambiente com baixa luminosidade. Os animais foram tratados com solução controle, EtOH e/ou MZ, 15 min. antes do teste em uma ante-sala. Dez minutos após as injeções, cada animal foi colocado individualmente no campo aberto por 5 min. e, em seguida, transferido diretamente para o centro do labirinto, com a face voltada para um dos braços fechados, onde permaneceu para avaliação por mais 5 min.

Para avaliar a resposta comportamental no labirinto em cruz elevado após um esquema de administração repetida, quatro grupos de animais foram tratados diariamente, de maneira similar ao aplicado no teste de PCL, com solução controle, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg, durante 4 dias consecutivos. No 5º dia, estes animais não receberam tratamento e foram submetidos ao mesmo procedimento experimental que o grupo agudo.

Os parâmetros comportamentais avaliados neste teste foram o número de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados do equipamento. Como medida de locomoção foi obtida a frequência total de entradas nos braços fechados. O número total de entradas foi obtido pela soma do número de entradas nos braços abertos e fechados. O percentual de entradas (aberto/total) foi calculado dividindo-se o número de entradas nos braços abertos pelo número total de entradas

e este índice multiplicado por 100. O percentual de tempo (aberto/total) também foi calculado de maneira semelhante: o tempo gasto nos braços abertos foi dividido pelo somatório do tempo de permanência em ambos os braços e o quociente obtido foi multiplicado por 100.

3.4 - Análise estatística

As comparações estatísticas entre as médias dos grupos foram inicialmente realizadas por análise de variância (ANOVA), adequadas ao protocolo experimental para a detecção de diferença significativa. Posteriormente, os grupos passaram a ser comparados entre si através do teste de Newman-Keuls ou Dunnet. No teste de preferência condicionada de lugar foi utilizado o teste “t” de Student para comparações entre dois grupos experimentais. Os dados foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m.) e a probabilidade aceita como indicativa da existência de diferenças estatisticamente significantes foi $p \leq 0.05$.

4 - RESULTADOS

4.1 - Experimento 1: Avaliação da atividade locomotora com diferentes doses de etanol.

Neste experimento cinco grupos de 10 animais foram tratados com EtOH (12.5% v/v) nas doses 1.2, 2.0, 2.4 e 2.8 g/kg ou solução controle e submetidos ao teste de movimentação espontânea aos 15, 30, 45 e 60 min, após as injeções, para o registro da atividade locomotora durante 5 min, conforme metodologia descrita anteriormente.

Os resultados da administração de diferentes doses de EtOH sobre a atividade locomotora de camundongos, em diferentes intervalos de tempo, estão ilustrados na Fig. 1. Nesta figura, as linhas verticais que representam o e.p.m não estão expressas para melhor clareza dos dados. A análise estatística efetuada pela ANOVA de uma via com medidas repetidas revelou efeito significativo dos tratamentos [$F_{19,180} = 12.804$, $p \leq 0.001$]. As doses de EtOH 2.0, 2.4 e 2.8 aumentaram a movimentação de forma significativa praticamente em todos os intervalos de tempo, quando comparadas aos animais do grupo controle. O EtOH (1.2 g/kg) induziu aumento significativo somente no primeiro intervalo, 15 min, teste de Newman-Keuls. Além disso foi verificado que o pico de ação se deu entre os 15 e 30 min do experimento. Os mesmos resultados também estão expressos após o

tempo total do experimento, 60 min. e confirmam que as três doses maiores de EtOH induzem aumento significativo da atividade motora, Fig. 1, ANOVA de uma via [$F_{4,45} = 15.324$, $p \leq 0.01$, Newman-Keuls]. A partir destes dados, a menor dose de EtOH (1.2 g/kg) foi selecionada para fazer a associação com MZ nos experimentos seguintes.

- CONTROLE
- EtOH 1.2 g/kg
- EtOH 2.0 g/Kg
- △ EtOH 2.4 g/Kg
- ▽ EtOH 2.8 g/Kg

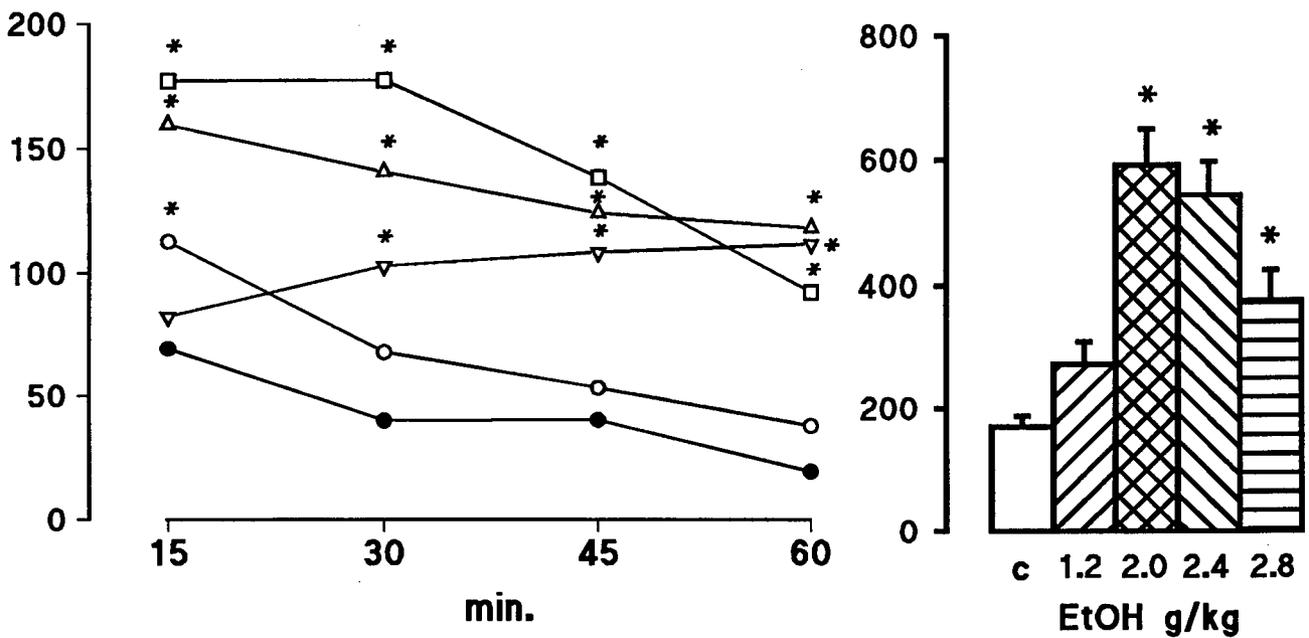


Figura 1: Avaliação do efeito do EtOH 1.2, 2.0, 2.4 e 2.8 g/kg, via i.p., sobre a atividade locomotora em camundongos, medida em diferentes intervalos de tempo (15, 30, 45 e 60 min.) ou cumulativamente, após 60 min. Dados expressos como a média de 10 animais. * indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle, (teste de Newman Keuls).

4.2- Experimento 2: Avaliação da atividade locomotora após a injeção de etanol e mazindol.

Após a seleção da dose de EtOH no experimento anterior (EtOH 1.2 g/kg), foi efetuada a avaliação da atividade locomotora após administração da associação EtOH+MZ, bem como destas drogas isoladamente, seguindo o mesmo procedimento experimental. A dose de MZ empregada para esta associação foi de 5.0 mg/kg, a qual foi baseada em experimentos prévios realizados em nosso laboratório. Para este experimento foram utilizados aproximadamente 50 animais, divididos em quatro grupos conforme o tratamento: solução controle, EtOH 1.2 g/kg, MZ 5.0 mg/kg e EtOH 1.2 g/kg + MZ 5.0 mg/kg.

Os efeitos do EtOH, MZ ou da combinação EtOH+MZ sobre a atividade locomotora em camundongos, em diferentes intervalos de tempo, estão ilustrados na Fig. 2. A análise estatística efetuada pela ANOVA de uma via com medidas repetidas revelou diferença significativa entre os tratamentos, [$F_{15,144} = 19.199$, $p \leq 0.001$]. O teste de Newman-Keuls subsequente demonstrou que o aumento da atividade locomotora induzida pela interação EtOH+MZ foi significativamente maior do que o efeito provocado pelas drogas administradas isoladamente, em todos os intervalos de tempo ($p \leq 0.05$). O grupo de animais tratados somente com MZ aumentou significativamente a atividade locomotora em relação ao grupo controle

aos 30, 45 e 60 min; enquanto não foi verificada diferença significativa entre os animais do grupo controle e os animais tratados com a dose selecionada de EtOH. Os resultados também estão expressos após o tempo total do experimento, 60 min, Fig. 2. A análise destes dados confirmam que o MZ e a associação EtOH+MZ causam nítido aumento da locomoção quando comparados ao grupo controle, ANOVA de uma via [$F_{3,36} = 25.048, p \leq 0.001$, Newman-Keuls].

- CONTROLE
- EtOH 1.2 g/kg
- MZ 5.0 mg/kg
- △ EtOH + MZ

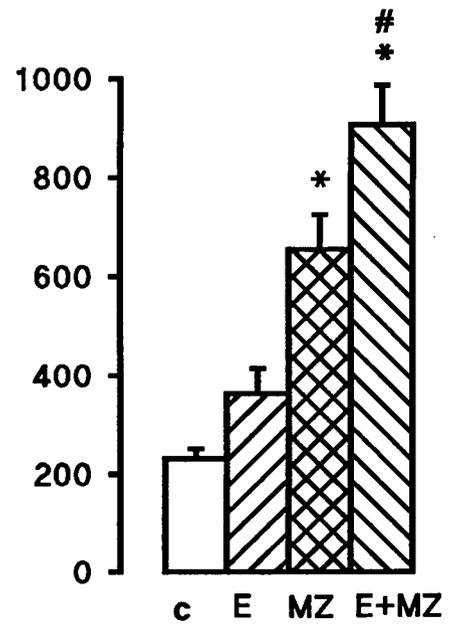
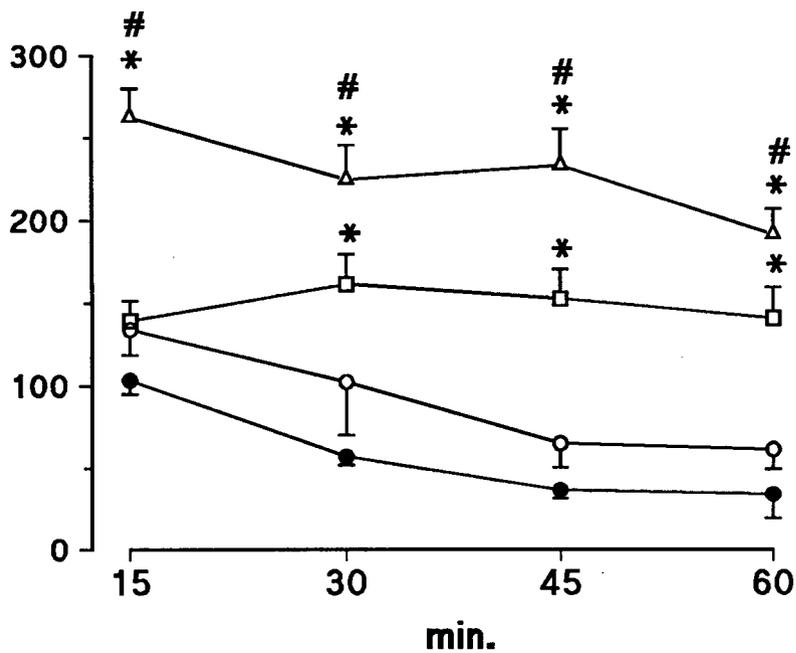


Figura 2: Avaliação da atividade locomotora após administração isolada e associada de EtOH 1.2 g/kg e MZ 5.0 mg/kg, via i.p. em camundongos, medida em diferentes intervalos de tempo (15, 30, 45 e 60 min) e cumulativamente após 60 min. Dados expressos como a média \pm e.p.m. de 10 animais. * indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle e # indica $p \leq 0.05$ em relação aos tratamento isolados com EtOH e MZ, (teste deNewman Keuls).

4.3 - Experimento 3: Avaliação do pré-tratamento com haloperidol na atividade locomotora induzida pela associação etanol+mazindol.

Neste protocolo experimental os animais foram divididos em oito grupos de 9 animais, os quais foram simultaneamente injetados com solução controle, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg na ausência e na presença de um antagonista DAérgico, haloperidol 0.075 mg/kg, e submetidos ao mesmo procedimento experimental de avaliação da atividade locomotora em diferentes intervalos de tempo, no decorrer de 1 hora.

A Fig. 3 apresenta o efeito da administração de todas as drogas utilizadas neste experimento, ao longo do tempo. Nesta ilustração, as linhas verticais que representam o e.p.m. não foram expressas para maior clareza da figura. Confirmando resultados anteriores, observa-se que os camundongos injetados com a associação EtOH+MZ ou com o MZ isoladamente apresentaram nítido aumento da locomoção em relação aos animais-controle [$F_{31,256} = 11.515, p \leq 0.001$] - ANOVA de uma via com medidas repetidas. É possível visualizar que o pré-tratamento com haloperidol antagonizou os efeitos induzidos tanto pela combinação EtOH+MZ quanto pelo MZ, administrado isoladamente (Fig. 3).

Na Fig. 4, pode-se observar melhor o efeito do haloperidol sobre os tratamentos com solução controle, EtOH, MZ ou a associação EtOH+MZ, a cada intervalo de tempo, isto é, aos 15, 30, 45 e 60 min. A análise estatística realizada pela ANOVA de

uma via separadamente, revelou diferenças significantes entre os tratamentos empregados [$F_{7,64} = 5.511$, $p \leq 0.001$, aos 15 min; $F_{7,64} = 7.826$, $p \leq 0.001$, aos 30 min; $F_{7,64} = 17.104$, $p \leq 0.001$, aos 45 min e $F_{7,64} = 14.903$, $p \leq 0.001$, aos 60 min]. Na seqüência os resultados foram analisados através do teste de Newman-Keuls, que revelou efeito significativo, como já esperado, da associação EtOH+MZ em relação ao grupo controle em todos os tempos avaliados ($p \leq 0.001$). O tratamento isolado com MZ também produziu efeito estatisticamente significativo em relação ao grupo controle aos 30, 45 e 60 min ($p \leq 0.05$), enquanto o grupo tratado com EtOH não apresentou diferença em relação ao grupo controle. Com respeito aos efeitos induzidos pelo pré-tratamento com haloperidol, foi verificado que este inibiu a estimulação locomotora provocada pela interação EtOH+MZ aos 30, 45 e 60 min ($p \leq 0.01$). O mesmo ocorreu com o grupo tratado com MZ, no qual o aumento da atividade locomotora induzida por esta droga foi significativamente atenuado na presença de haloperidol também aos 30, 45 e 60 min ($p \leq 0.05$). Por outro lado, a atividade locomotora do grupo tratado com EtOH não foi afetada pelo haloperidol em nenhum intervalo de tempo ($p > 0.05$).

Estes resultados demonstram que o haloperidol, em dose que não afeta a atividade locomotora do grupo controle, antagoniza a estimulação locomotora induzida pelo MZ ou a combinação EtOH+MZ, sugerindo a participação de mecanismos DAérgicos na ação destas drogas.

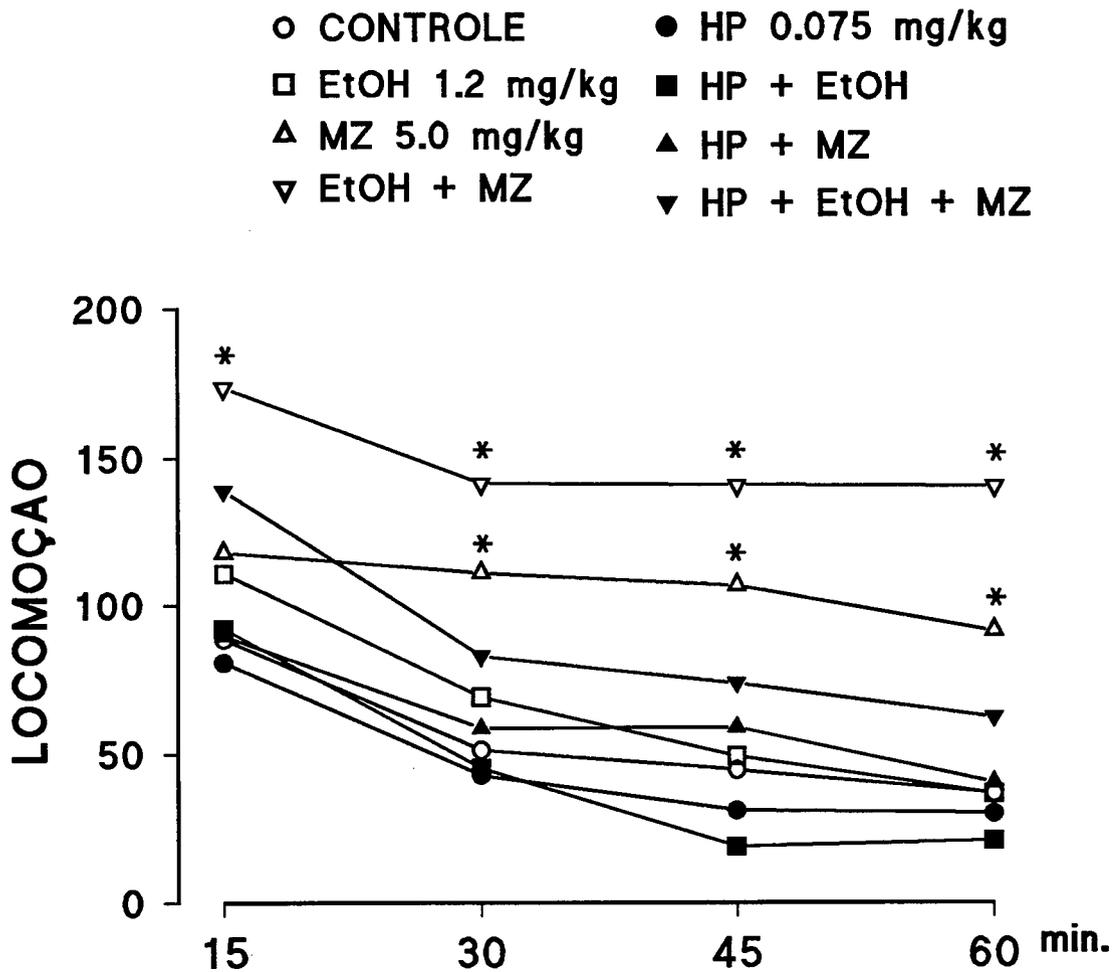


Figura 3: Curva tempo resposta do efeito do haloperidol 0.075 mg/kg sobre a atividade locomotora após a administração de EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg, via i.p, em camundongos. Dados expressos como a média de 9 animais. * Indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle, (teste de Newman Keuls).

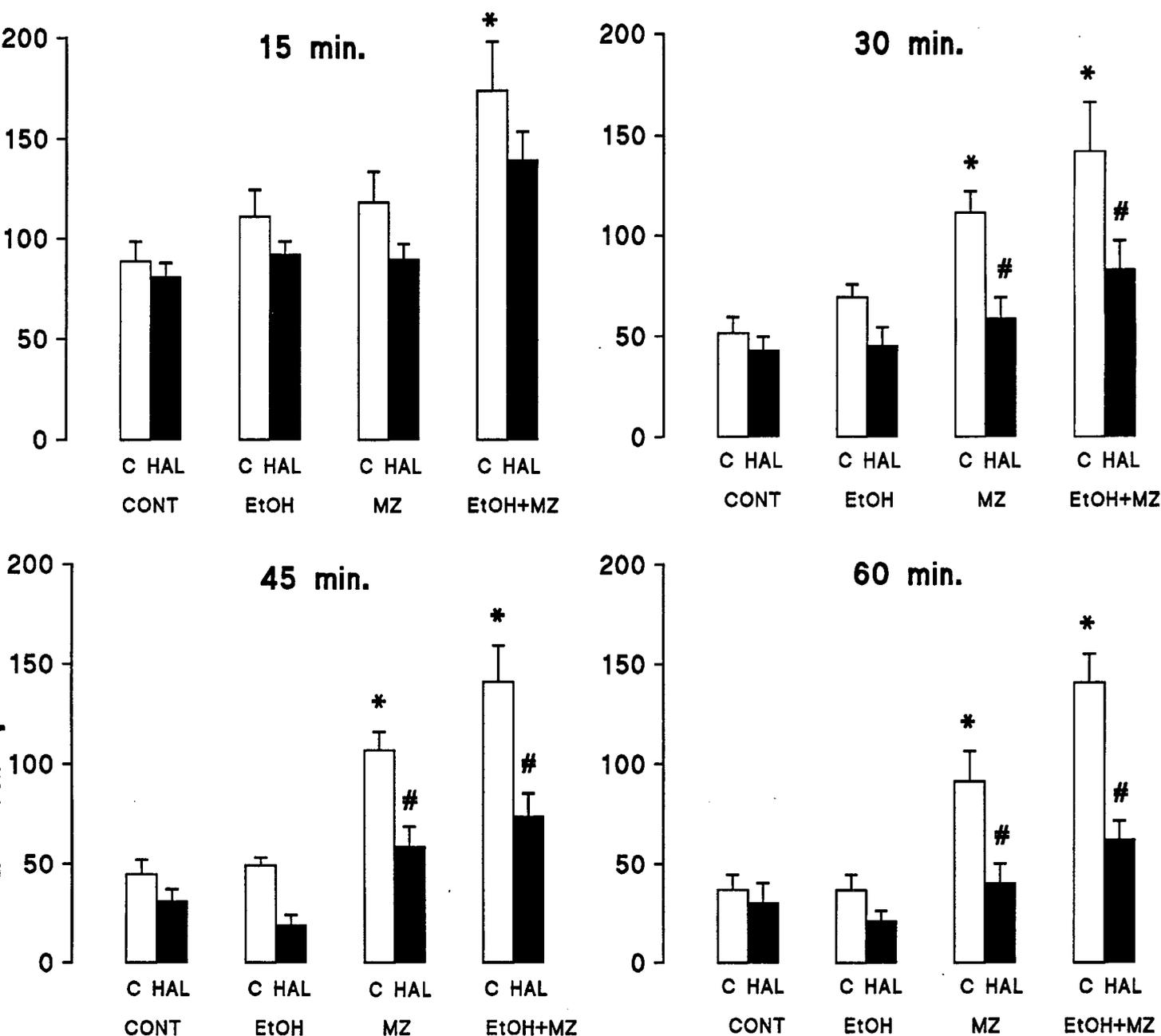


Figura 4: Avaliação do efeito do haloperidol 0.075 mg/kg sobre a atividade locomotora induzida por EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg, via i.p., em camundongos, aos 15, 30, 45 e 60 min. Dados expressos como a média \pm epm de 9 animais por grupo. * indica $p \leq 0.05$, em relação ao grupo controle e # indica $p \leq 0.05$ em relação ao controle do tratamento correspondente, (teste de Newman Keuls).

4.4 - Experimento 4: Avaliação do pré-tratamento com naloxona na atividade locomotora induzida pela associação etanol+mazindol.

O procedimento deste experimento foi semelhante ao anterior, no qual 8 grupos de 7 animais tratados com solução controle, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg na ausência e na presença de naloxona 1.0 mg/kg, foram avaliados nas caixas de movimentação espontânea aos 15, 30, 45 e 60 min., após o tratamento.

A Fig. 5 apresenta os dados de todos os tratamentos empregados como uma curva tempo-dependente. Novamente as linhas que expressam o e.p.m. foram abolidas para permitir uma melhor visualização dos resultados. Conforme dados já descritos, foi mais uma vez observado que a associação EtOH+MZ causa aumento significativo na locomoção em relação ao grupo controle em todos os intervalos de tempo [$F_{31,192} = 6.365$, $p \leq 0.001$] - ANOVA de uma via com medidas repetidas. Apesar de os camundongos tratados com MZ apresentarem uma tendência a aumentar a locomoção quando comparados aos animais-controle, estes efeitos não foram estatisticamente significantes [$F_{31,192} = 6.365$, $p > 0.05$] - ANOVA de uma via com medidas repetidas.

A Fig. 6, apresenta uma comparação do efeito da administração da naloxona em relação aos tratamentos com solução controle, EtOH, MZ ou a combinação EtOH+MZ, a cada intervalo de tempo (15, 30, 45 e 60 min). A análise estatística

efetuada através da ANOVA de uma via, a cada intervalo de tempo, indicou diferença significativa entre os tratamentos empregados [$F_{7,48} = 6.819$, $p \leq 0.001$ aos 15 min; $F_{7,48} = 4.927$, $p \leq 0.001$ aos 30 min; $F_{7,48} = 4.950$, $p \leq 0.001$ aos 45 min e $F_{7,48} = 5.435$, $p \leq 0.001$ aos 60 min]. Em seguida, estes resultados foram analisados pelo teste de Newman Keuls, que revelou aumento significativo da atividade locomotora induzida pela associação EtOH+MZ aos 15, 30, 45 e 60 min ($p \leq 0.05$) em relação ao grupo controle. Os grupos tratados com EtOH e MZ, isoladamente, não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle em todos os intervalos de tempo ($p > 0.05$). Na análise dos efeitos da naloxona em relação aos demais tratamentos, pode-se observar que a naloxona apesar de não afetar a atividade locomotora espontânea do grupo controle ($p > 0.05$), também não foi capaz de inibir a estimulação locomotora induzida pela associação EtOH+MZ ($p > 0.05$) em nenhum intervalo de tempo. Os grupos tratados com EtOH e MZ também não foram afetados pela administração simultânea de naloxona ($p > 0.05$). Estes resultados descartam um efeito predominante do sistema opióide no aumento da estimulação locomotora induzida pela associação EtOH+MZ.

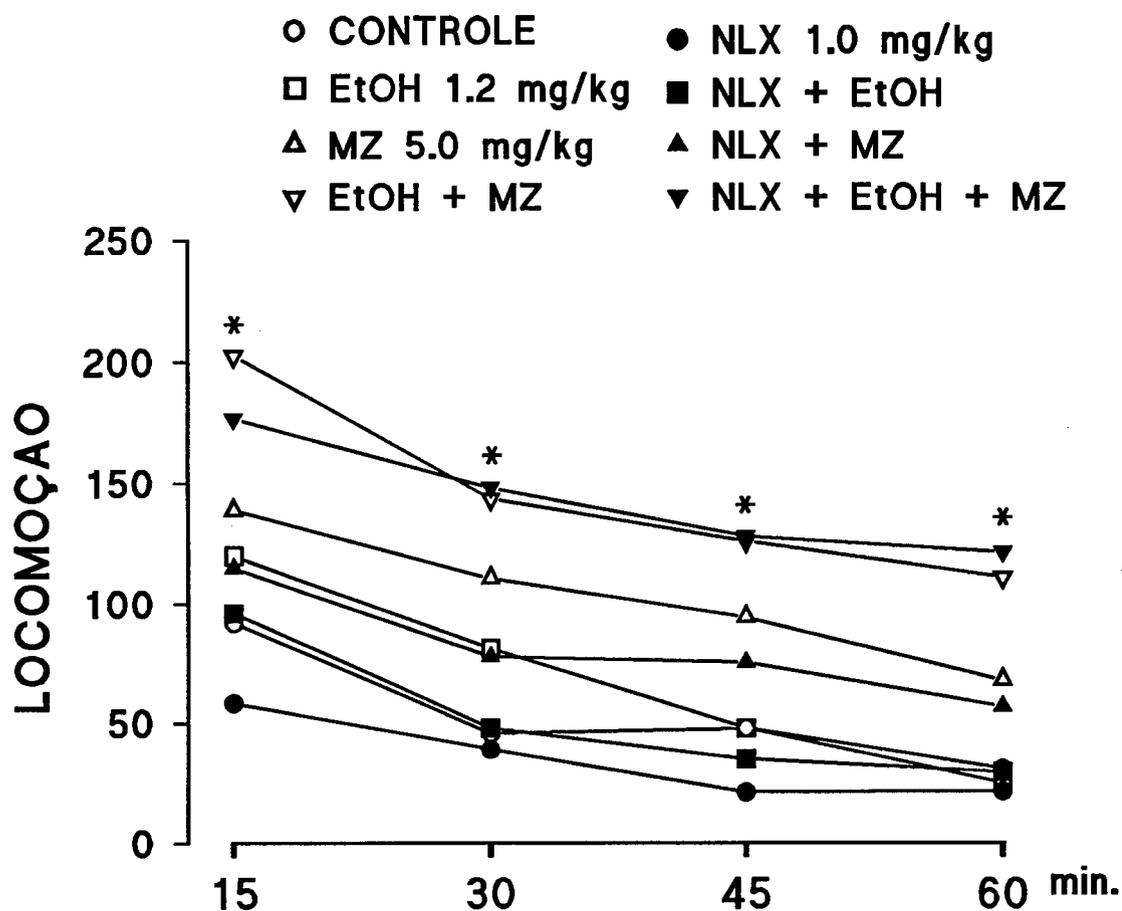


Figura 5: Curva tempo resposta do efeito da naloxona 1.0 mg/kg sobre a atividade locomotora induzida por EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg, via i.p., em camundongos. Dados expressos como a média de 7 animais. * indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle, (teste de Newman Keuls).

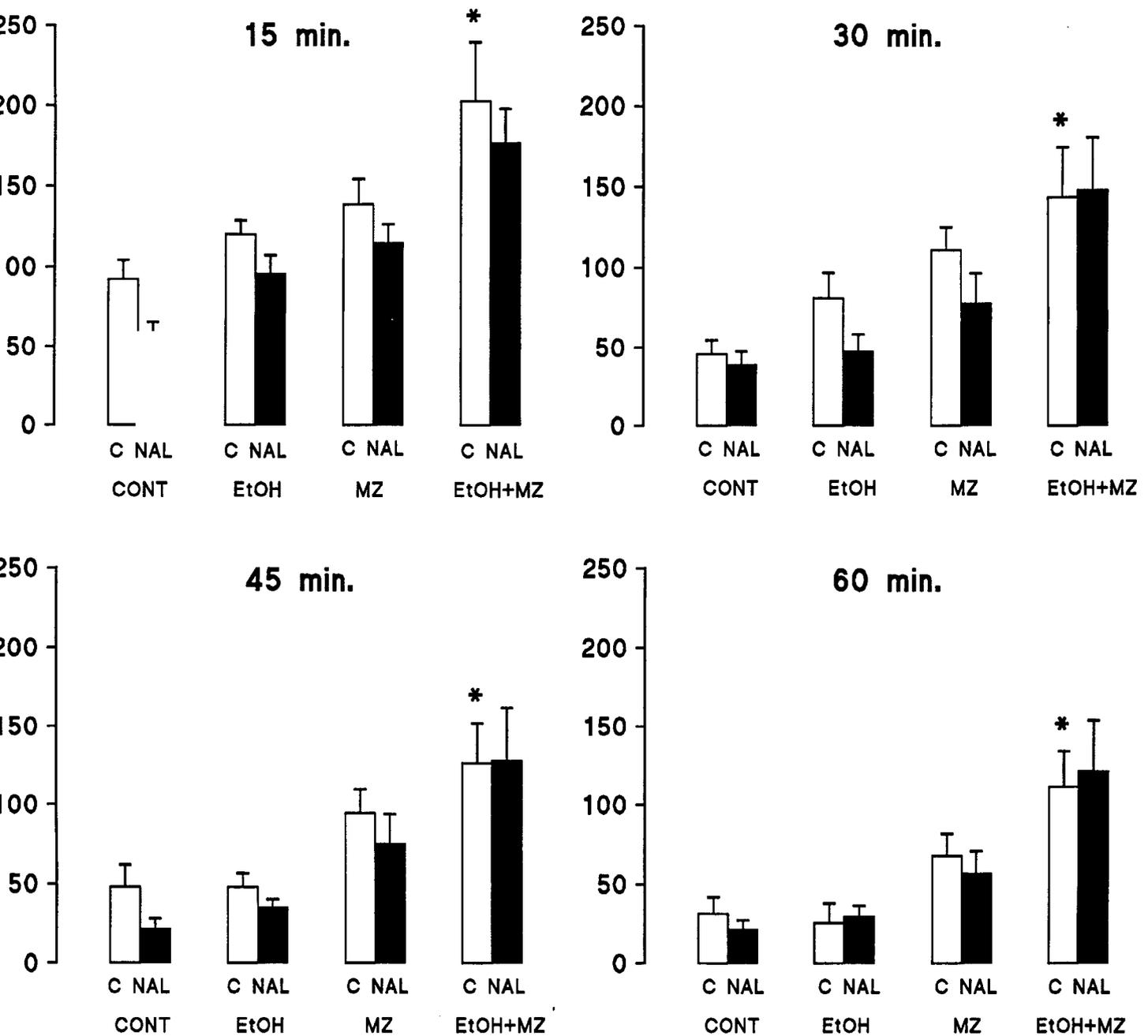


Figura 6: Avaliação do efeito da naloxona 1.0 mg/kg sobre a atividade locomotora induzida por EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg, via i.p., em camundongos, aos 15, 30, 45 e 60 min. Dados expressos como a média \pm epm de 7 animais por grupo. *Indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle, (teste de Newman Keuls).

4.5 - Experimento 5: Teste de preferência condicionada de lugar (PCL) com etanol+mazindol - influência do tempo de condicionamento.

Neste teste, quatro grupos de aproximadamente 40 animais, foram tratados respectivamente com solução controle, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg e submetidos ao teste de PCL para a avaliação do efeito reforçador dos tratamentos, seguindo o esquema abaixo.

GRUPOS	CONDICIONAMENTO 4 DIAS	TEMPO DE CONDICIONAMENTO	TESTE 5 ^o DIA
CONTROLE	1 ^a injeção - salina	5 min	15 min
		15 min	
	2 ^a injeção - salina	30 min	
EtOH 1.2 g/kg	1 ^a injeção - salina	5 min	15 min
		15 min	
	2 ^a injeção - EtOH	30 min	
MZ 5.0 mg/kg	1 ^a injeção - salina	5 min	15 min
		15 min	
	2 ^a injeção - MZ	30 min	
EtOH+MZ	1 ^a injeção - salina	5 min	15 min
		15 min	
	2 ^a injeção - EtOH+M	30 min	

Conforme descrito anteriormente nos procedimentos, a influência do tempo de condicionamento também foi avaliada condicionando-se os animais por 5, 15 ou 30 min, durante 4 dias consecutivos com dois ensaios diários, um pareado com solução

controle e outro pareado com a droga. A avaliação do efeito reforçador foi realizada no 5º dia, na ausência de tratamento, através do registro do tempo de permanência nos compartimentos da caixa de condicionamento.

Os resultados obtidos com o teste de preferência condicionada de lugar, com os diferentes tempos de condicionamento, indicam que os camundongos utilizados apresentam uma preferência significativa ($p \leq 0.05$, teste “t” de Student) pelo compartimento escuro da caixa de condicionamento, em todos os tempos empregados (Tabela 1).

A Fig. 7 apresenta a média \pm e.p.m. do tempo de permanência no compartimento menos preferido (lado claro) no teste de PCL aos 5, 15 e 30 min de condicionamento, após a administração de solução controle, EtOH, MZ e EtOH+MZ. Os resultados obtidos foram analisados, grupo a grupo, pelo teste “t” de Student. Como pode ser visto, os camundongos injetados com a associação EtOH+MZ apresentaram significativa preferência pelo compartimento pareado com o tratamento em todos os tempos de condicionamento [t (1,24)= 2.596 e p = 0.0153 aos 5 min; t (1,18)= 2.347 e p = 0.0306 aos 15 min; t (1,18)= 2.392 e p = 0.0286 aos 30 min]. Esses resultados parecem indicar uma preferência de lugar, possivelmente induzida pelo efeito reforçador da associação EtOH+MZ. Entretanto, com os tratamentos isolados, observa-se que nem o EtOH nem o MZ, exceto quando o tempo de condicionamento testado foi de 15 min [t (1,17)= 3.145 e p = 0.0059],

foram eficazes em relação ao grupo controle ($p > 0.05$). É importante ressaltar que não houve variação no tempo de permanência no compartimento menos preferido em relação aos diferentes tempos de condicionamento utilizados, sugerindo que o fator tempo não influenciou a obtenção dos resultados.

TABELA 1: MÉDIA \pm E.P.M. DO TEMPO DE PERMANÊNCIA NO COMPARTIMENTO PAREADO COM SALINA.

TEMPO DE CONDICIONAMENTO	TEMPO (s) LADO CLARO	TEMPO (s) LADO ESCURO
5 min.	134.4 \pm 11.6	295.8 \pm 32.1*
15 min.	174.1 \pm 21.1	276.0 \pm 46.1*
30 min.	168.7 \pm 17.9	263.7 \pm 22.1*

* Representa $p \leq 0.05$, em relação ao tempo de permanência no compartimento claro da caixa de condicionamento. Teste “t” de Student.

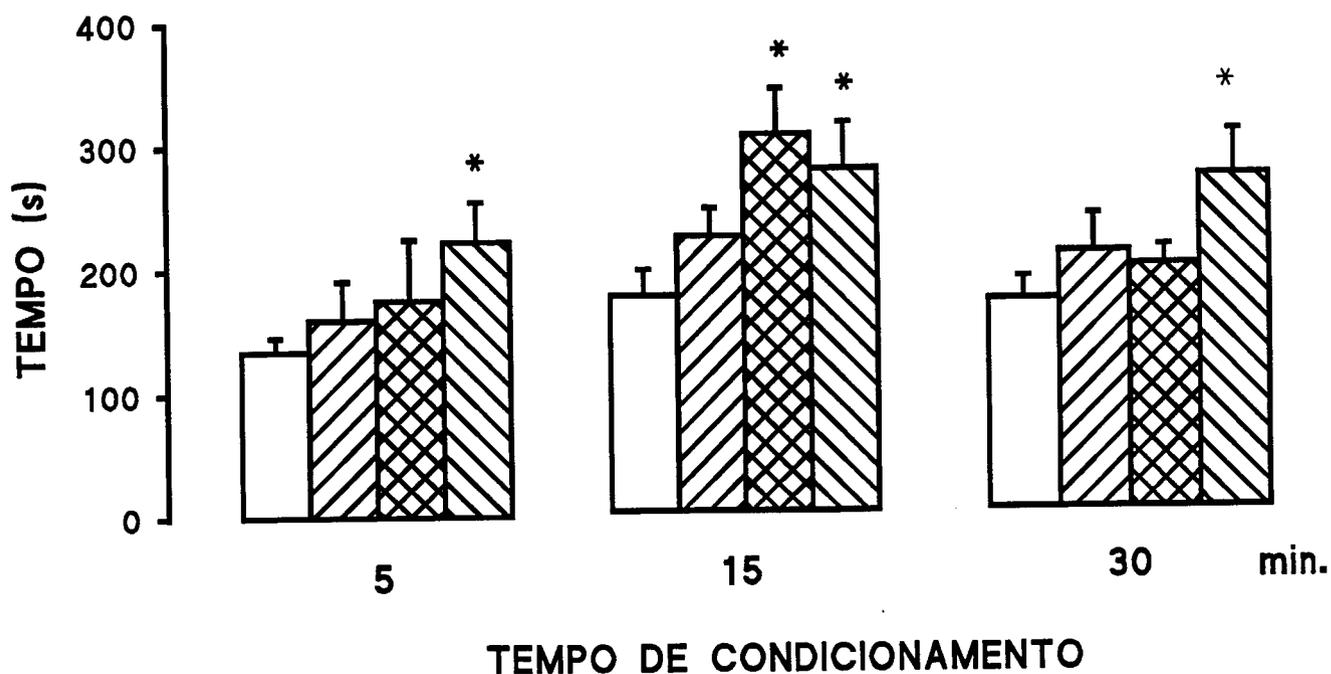
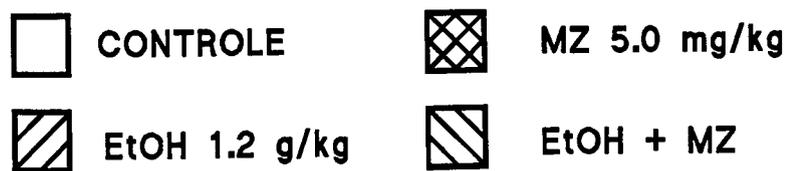


Figura 7: Média do tempo de permanência no compartimento pareado com a droga, na caixa de preferência condicionada de lugar, empregando-se diferentes tempos de condicionamento, 5, 15 e 30 min. Os valores representam a média \pm epm de pelo menos 9 animais. * indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle, (teste "t" de Student).

4.6 - Experimento 6: Efeito do pré-tratamento com haloperidol e com naloxona na preferência de lugar induzida pela associação etanol+mazindol.

De maneira similar ao estudo da movimentação espontânea, o possível envolvimento dos sistemas DAérgico e opióide, também foi avaliado no teste de PCL. O procedimento experimental deste teste foi semelhante ao anterior. Foram utilizados doze grupos com aproximadamente 7 animais, os quais foram divididos de acordo com o tratamento: para grupo controle, solução controle e para os grupos testes, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg na ausência e na presença de haloperidol 0.075 mg/kg ou naloxona 1.0 mg/kg. Tanto o haloperidol quanto a naloxona foram injetados 30 min antes das injeções de EtOH e MZ. Este tempo foi baseado tanto em dados da literatura quanto nos resultados do teste de movimentação espontânea, onde foi observado o início de ação destas drogas, neste intervalo de tempo. O tempo de condicionamento escolhido foi de 15 min. para todos os grupos.

Os resultados estão resumidos na Fig. 8, expressos como a média \pm e.p.m. do tempo de permanência, dos camundongos, no compartimento menos preferido (lado claro) da caixa de condicionamento, após a administração de solução controle, EtOH, MZ e EtOH+MZ. As comparações entre as médias dos diferentes grupos foram analisadas pelo teste "t". Os animais tratados com a associação EtOH+MZ apresentaram um significativo aumento no tempo de permanência no compartimento

pareado com a droga [$t(1,12) = 4.236$; $p = 0.0012$], quando comparados ao grupo controle. O tratamento com MZ também resultou em diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle, quanto ao tempo de permanência no compartimento menos preferido [$t(1,14) = 3.008$; $p = 0.0094$]. Esses resultados confirmam o desenvolvimento de preferência de lugar, induzida pelo efeito reforçador de ambos os tratamentos. O grupo tratado com EtOH na dose empregada, não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle. O pré-tratamento com haloperidol não foi capaz de antagonizar a preferência de lugar induzida tanto por MZ quanto pela combinação EtOH+MZ. O mesmo foi observado com o pré-tratamento de naloxona.

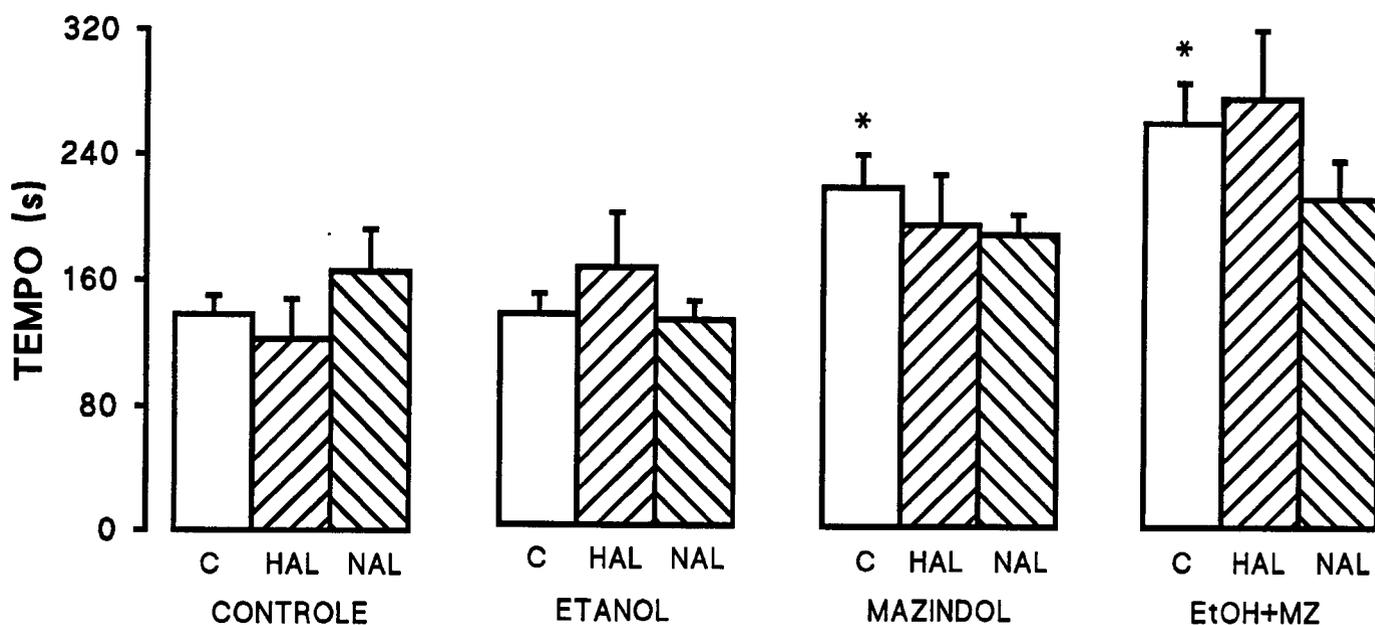


Figura 8: Média do tempo de permanência no compartimento pareado com a droga, após pré-tratamento com haloperidol 0.075 mg/kg e naloxona 1.0 mg/kg, na caixa de preferência condicionada de lugar, após 15 min. de condicionamento. Os valores representam a média \pm epm de pelo menos 7 animais. * Indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle-controle (C-CONTROLE). (Teste "t" de Student).

4.7 - Experimento 7: Efeito da associação etanol+mazindol no teste do labirinto em cruz elevado (LCE)

Para verificar se a associação EtOH+MZ, após tratamento agudo, apresenta alguma ação moduladora sobre o estado de ansiedade, os animais foram submetidos ao teste do LCE. Neste teste, quatro grupos de 10 animais foram tratados com solução controle, EtOH 1.2 g/kg e/ou MZ 5.0 mg/kg, respectivamente. Após 10 min. do tratamento, cada animal foi habituado ao ambiente experimental, no campo aberto, por 5 min.e, em seguida, transferido para o centro do labirinto, onde foi avaliado durante mais 5 min, registrando-se os parâmetros descritos em materiais e métodos.

Os efeitos dos tratamentos com EtOH, MZ ou a combinação EtOH+MZ sobre o percentual de frequência de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos, bem como, a frequência nos braços fechados do LCE estão esquematizados nas Figs. 9 e 10. Os resultados foram analisados através da ANOVA de uma via, revelando que não houve diferença significativa entre os tratamentos, em relação à frequência nos braços abertos [$F_{3,42} = 1.337$ e $p = 0.2752$], mas o percentual de tempo nos braços abertos e o número de entradas nos braços fechados apresentaram significância estatística entre os tratamentos [$F_{3,42} = 3.518$, $p = 0.0231$ e $F_{3,42} = 8.945$, $p = 0.0001$, respectivamente]. Em seguida os resultados foram avaliados pelo

teste de Dunnett, a partir do qual se pode observar que o grupo tratado com EtOH apresentou um aumento significativo no tempo dispensado nos braços abertos ($p \leq 0.05$) sem afetar o número de entradas nos braços fechados, confirmando sua ação ansiolítica descrita em outros estudos. Os animais tratados com a associação EtOH+MZ também apresentaram aumento significativo do tempo de permanência nos braços fechados ($p \leq 0.05$). Entretanto, este aumento foi possivelmente devido à estimulação da atividade locomotora apresentada por este grupo, representada pelo aumento do número de entradas ($p \leq 0.05$) nos braços fechados do LCE, Fig. 10. Por outro lado, o MZ não apresentou diferença, em relação ao grupo controle, nem na frequência nem no tempo gasto nos braços abertos, Fig. 9.

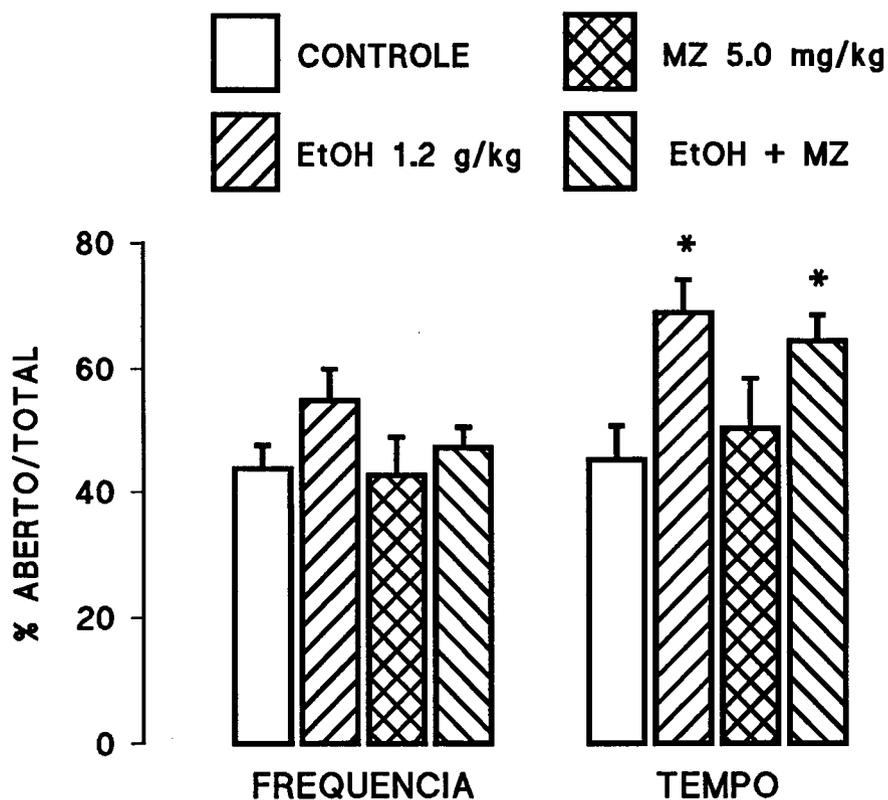


Figura 9: Efeito do EtOH 1.2 g/kg, MZ 5.0 mg/kg e sua associação sobre a frequência e o tempo de permanência nos braços abertos do labirinto durante 5 min. Dados expressos como a média \pm epm de 10 animais. * Indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle, (teste de Dunnett).

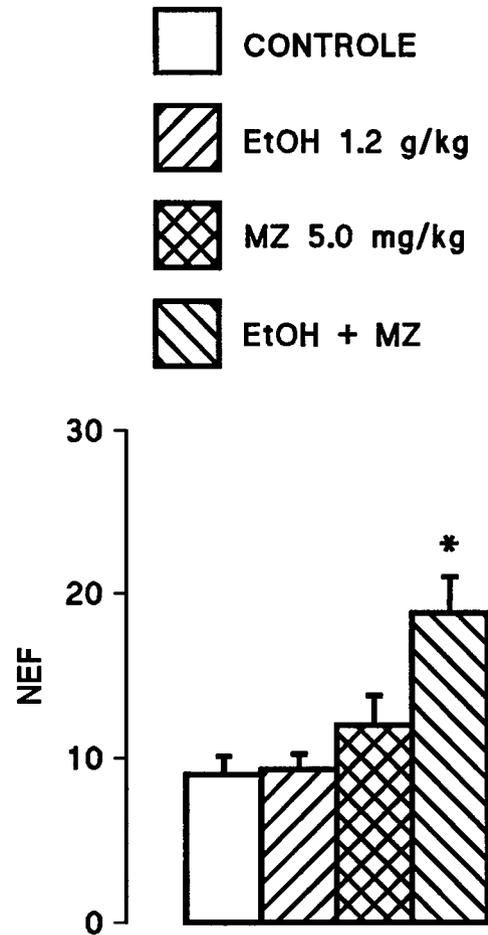


Figura 10: Efeito do EtOH 1.2 g/kg, MZ 5.0 mg/kg e da associação EtOH+MZ, em esquema agudo, sobre o número de entradas nos braços fechados (NEF) do labirinto em cruz elevado. Dados expressos como a média \pm epm de 10 animais. * Indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle. (teste de Dunnett).

4.8 - Experimento 8: Efeito da associação etanol+mazindol no labirinto em cruz elevado após tratamento repetido com etanol e/ou mazindol.

Para dissociar o aumento do tempo de permanência, no compartimento menos preferido, induzido pela interação EtOH+MZ no teste de PCL, de um possível efeito ansiolítico, quatro grupos de aproximadamente 10 animais foram tratados, de acordo com o esquema do teste de PCL, durante 4 dias consecutivos com solução controle, EtOH 1.2 g/kg, MZ 5.0 mg/kg e com a associação EtOH+MZ. No 5º dia, os animais não receberam nenhum tratamento e foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado para posterior avaliação comportamental, após prévia habituação ao ambiente experimental em um campo aberto, conforme o experimento anterior.

A influência da administração repetida de EtOH, MZ ou a combinação EtOH+MZ sobre os parâmetros comportamentais avaliados no LCE está ilustrada nas Figs. 11 e 12.

A Fig. 11 apresenta a média \pm e.p.m. do percentual da frequência e do tempo de permanência nos braços abertos do LCE. Esses resultados foram analisados através da ANOVA de uma via que indicou diferença significativa entre os tratamentos [$F_{3,38} = 3.543$, $p = 0.0234$ para frequência e $F_{3,38} = 3.610$, $p = 0.0218$ para o tempo]. Posteriormente, os resultados foram avaliados pelo teste de Dunnett, o qual demonstrou uma diminuição estatisticamente significativa tanto na frequência

quanto no tempo sobre os braços abertos, para o grupo tratado com MZ ($p \leq 0.05$), evidenciando um efeito ansiogênico para o MZ, após tratamento repetido neste modelo. O comportamento dos animais tratados com EtOH sobre o LCE não foi alterado em relação ao grupo controle. O mesmo ocorreu com o grupo tratado com a combinação EtOH+MZ.

Com relação ao número total de entradas nos braços fechados, Fig. 12, a análise estatística feita pela ANOVA de uma via, não indicou diferença significativa entre os tratamentos [$F_{3,38} = 0.2120$, $p = 0.8875$].

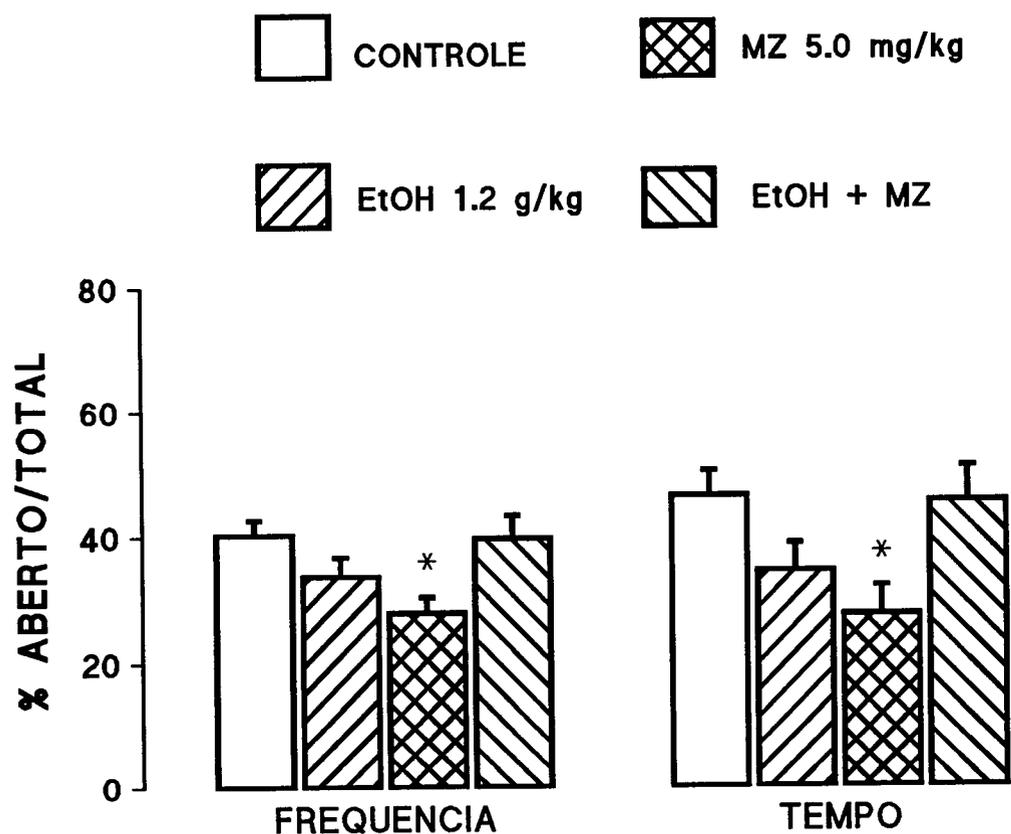


Figura 11: Efeito do tratamento repetido durante 4 dias, com EtOH 1.2 g/kg, MZ 5.0 mg/kg e sua associação, sobre a frequência e o tempo de permanência nos braços abertos do labirinto durante 5 min. Dados expressos como a média \pm epm de 10 animais. * Indica $p \leq 0.05$ em relação ao grupo controle. (teste de Dunnett).

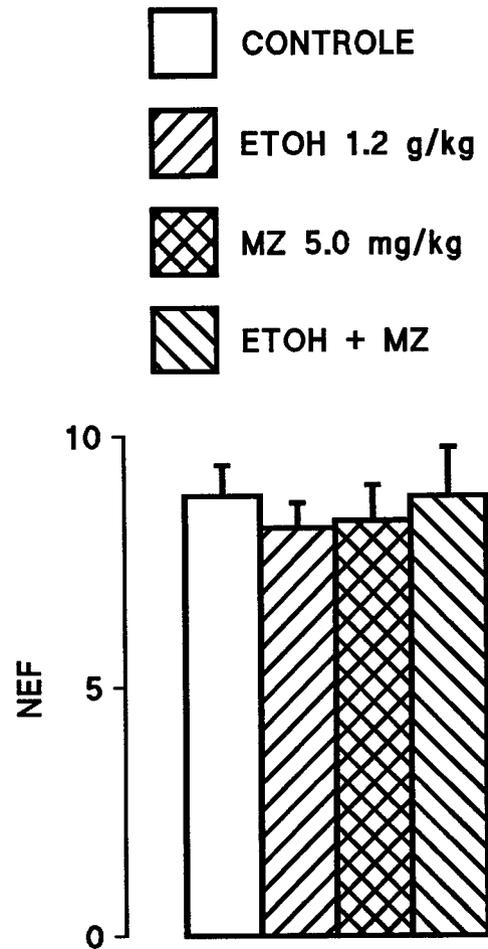


Figura 12: Efeito do tratamento repetido com EtOH 1.2 g/kg, MZ 5.0 mg/kg e sua associação, sobre o número de entradas nos braços fechados (NEF) do labirinto em cruz elevado. Dados expressos como a média \pm epm de 10 animais.

5 - DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo sugerem a existência de efeitos interativos entre o MZ e o EtOH em camundongos, uma vez que o efeito sobre a atividade locomotora e a preferência de lugar induzidas por esta associação de drogas foi maior do que o efeito provocado pelas drogas administradas isoladamente. O aumento da atividade locomotora após administração da associação EtOH+MZ provavelmente envolve o sistema DAérgico de neurotransmissão, pois o pré-tratamento com haloperidol bloqueou a estimulação locomotora. Por outro lado, o sistema opióide não parece exercer papel preponderante nos comportamentos avaliados, uma vez que o pré-tratamento com naloxona não alterou as respostas, tanto no teste de atividade locomotora quanto no de PCL. Confirmando relatos da literatura (Dickerson e Ferraro, 1976; Lister, 1988; Blanchard *et al.*, 1990), a administração isolada de EtOH mostrou propriedade ansiolítica no teste do LCE, efeito este que não foi detectado após a repetição do tratamento durante 4 dias utilizando o mesmo teste. Através deste modelo, foi ainda observado que o MZ, agudamente, não afetou os parâmetros medidos; porém com o tratamento repetido, por somente 4 dias, um nítido efeito ansiogênico do MZ foi detectado. Tal efeito foi bloqueado quando o anorexígeno foi associado com EtOH.

A seguir serão detalhados as possíveis implicações dos resultados conforme a seqüência do delineamento experimental efetuado: atividade locomotora, preferência de lugar e teste de ansiedade.

Como já mencionado, o efeito do EtOH sobre a atividade locomotora pode ser dividido em dois componentes: estimulação e depressão. Ou seja, o EtOH apresenta efeito bifásico, uma estimulação comportamental quando administrado em doses baixas e moderadas, e uma sedação quando administrado em altas doses em camundongos (Masur e Santos, 1988). Também tem sido demonstrado que este efeito bifásico do EtOH em camundongos, é dependente da idade, sendo que camundongos velhos demonstram uma ausência de ativação locomotora após administração de EtOH (Engel, 1985).

No presente estudo, não foi demonstrada a indução de efeito bifásico sobre a atividade locomotora após a injeção de diferentes doses de EtOH (1.2, 2.0, 2.4 e 2.8 g/kg), mas ficou bem caracterizado que o tratamento com estas doses aumentaram a atividade locomotora, confirmando o efeito estimulante do EtOH em camundongos. Estes resultados estão de acordo com um estudo feito por Masur e Santos (1988), no qual foi observado um aumento da atividade locomotora em camundongos tratados com EtOH (10% w/v, i.p.) nas doses 1.6, 2.0, 2.4 e 2.8 g/kg.

A administração isolada de MZ causou aumento significativo na atividade locomotora dos camundongos. Este resultado está de acordo com a citação feita anteriormente, de que o MZ apresenta perfil farmacológico semelhante ao da

cocaína e da anfetamina. De maneira similar, estudos efetuados em nosso laboratório demonstraram que o MZ, em esquema agudo, causa uma estimulação branda da locomoção em ratos de ambos os sexos (Zannin e Takahashi, 1994), confirmando parcialmente os relatos de Gogerty *et al.* (1975) de que o MZ, d-anfetamina e metanfetamina causam aumento dose-dependente na atividade locomotora em ratos.

Por outro lado, a combinação EtOH+MZ produziu uma potenciação do efeito locomotor em relação ao grupo controle e às drogas administradas isoladamente. Esta proeminente estimulação indica que a interação EtOH+MZ não apresenta um simples efeito aditivo das ações separadas do EtOH e do MZ, desde que a dose isolada de EtOH 1.2 g/kg não afetou a atividade locomotora. Resultados similares foram obtidos por Masur *et al.* (1989), demonstrando um aumento do efeito estimulante locomotor pela administração combinada de cocaína e álcool em camundongos. Além disso, também foi demonstrado por Farré *et al.* (1993) que a associação de EtOH e cocaína, em animais, atenua o efeito deletério do EtOH sobre o tempo de reação na execução de uma tarefa psicomotora. Também em um outro estudo com voluntários humanos, submetidos à execução de uma resposta psicomotora, foi demonstrado que a interação de EtOH e dextroanfetamina atenua o prejuízo da exatidão e do tempo de reação provocados pelo EtOH (Perez-Reyes *et al.*, 1992).

O efeito estimulante do EtOH se correlaciona com a ativação de projeções DAérgicas mesolímbicas, principalmente no NAc (Honkanen *et al.*, 1994), onde a

aplicação local de EtOH aumenta a liberação (Yoshimoto et al., 1991), bem como a estimulação da síntese, metabolismo e “turnover” de DA na ATV (Blanchard et al., 1993) e na SN (Verbank et al., 1990) induzidos por doses baixas e intermediárias de EtOH. Vários estudos também têm demonstrado que a estimulação locomotora, produzida pelos psicoestimulantes através de uma ação DAérgica direta ou indireta, indicam que este sistema é um importante mediador na geração do comportamento motor, como a locomoção (Costall *et al.*, 1977; Fink e Smith, 1980). Esta hipótese tem sido reforçada através de estudos com antagonistas DAérgicos, os quais atenuam a estimulação da atividade induzida pelas drogas psicoativas.

Embora a avaliação das principais vias de neurotransmissores subjacentes aos efeitos obtidos com a associação EtOH+MZ tenha sido efetuada de forma simplificada com apenas uma dose e um antagonista, é possível correlacioná-los com o sistema DAérgico pelas considerações abaixo.

No presente estudo foi constatado que o pré-tratamento com haloperidol, em dose que não afeta a atividade locomotora do grupo controle, bloqueou a estimulação locomotora, induzida tanto pelo MZ quanto pela associação EtOH+MZ. Este bloqueio da estimulação locomotora pelo haloperidol, provavelmente, está relacionado à ação específica desta droga sobre o sistema DAérgico pois, conforme citado anteriormente, o MZ parece afetar o processo de recaptação da DA, sendo inclusive utilizado como marcador deste sistema de transporte (Pögun *et al.*, 1991). Além disso, o antagonismo significativo causado pelo haloperidol na locomoção

induzida por MZ confirma os estudos das interações entre cocaína e antagonistas DAérgicos, os quais têm sugerido que a ação agonista DAérgica indireta é um importante mediador dos efeitos comportamentais da cocaína (Woolverton e Kleven, 1988). Por exemplo, vários estudos têm indicado que a estimulação locomotora produzida pela cocaína e seus análogos, pode ser revertida pela administração de antagonistas DAérgicos como o haloperidol ou pimozide (Schell-Krüger et al., 1977). Mithani *et al.*, (1986) também demonstraram que o haloperidol bloqueia a estimulação locomotora induzida pelo metilfenidato e pela anfetamina, em ratos. Planeta *et al.* (1995) demonstraram que a estimulação da atividade locomotora induzida pela fencanfamina, em ratos, pode ser bloqueada pelo pré-tratamento com SCH 23390, metoclopramida e pimozide. Além disso, o bloqueio de receptores DAérgicos por drogas que agem sobre os receptores D₁ e D₂, assim como, a diminuição do estoque vesicular de DA pela reserpina, ou o bloqueio da síntese de DA pela α -metil-p-tirosina, prejudicam o efeito locomotor estimulante produzidos pelos psicoestimulantes, bem como do EtOH em baixas doses (Beninger, 1983; Wise e Bozarth, 1987; Stolerman e Shoaib, 1991; Di Chiara e North, 1992).

O monitoramento combinado do comportamento motor e da liberação da DA no NAc de ratos através de estudos de diálises cerebrais indica que a estimulação da liberação da DA ocorre em baixas doses que são suficientes para a estimulação do comportamento (Imperato e Di Chiara, 1986; Di Chiara e Imperato, 1988). Estes resultados demonstram uma íntima correlação entre a estimulação comportamental e

o aumento da concentração sináptica de DA, e também são consistentes com a noção do NAc como o sítio da ação da DA na mediação do efeito estimulante locomotor das drogas de abuso (Wise e Bozarth, 1987; Koob, 1992).

Por outro lado, existem diversos estudos relacionando os sistemas DAérgico e opióide com o comportamento motor, os quais demonstraram que a naloxona, um antagonista opióide, bloqueou a ativação locomotora induzida pela anfetamina (Swedlow *et al.*, 1987), cocaína (Houdi *et al.*, 1989) e fencanfamina (Planeta *et al.*, 1995) em ratos. Entretanto, o presente estudo não verificou tal interação, já que a administração de 1.0 mg/kg de naloxona não bloqueou a estimulação locomotora induzida pela associação EtOH+MZ em nenhum dos intervalos de tempo avaliados. Estes resultados provavelmente descartam o envolvimento do sistema opióide, subtipo μ , na ativação provocada pela interação EtOH+MZ, ao menos em camundongos e na dose empregada.

Como já referido, as drogas de abuso podem servir como reforçadores (Griffiths *et al.*, 1979), sendo que a eficácia desta propriedade está relacionada ao seu potencial de abuso (Johanson e Schuster, 1981). A propriedade reforçadora de estimulantes psicomotores, opióides e álcool tem sido confirmada por uma variedade de procedimentos, que incluem testes de auto-administração (intracranial, intravenosa ou intracerebral), de PCL e de estímulos discriminativos, os quais apresentam particular importância na compreensão da função da DA na propriedade reforçadora das drogas de abuso.

A maioria das drogas de abuso servem como estímulo incondicionado para a aquisição da propriedade de incentivo por um estímulo neutro, expresso como aproximação do local pareado com a droga. A preferência de lugar é prontamente obtida com cocaína e anfetamina (Swerdlow *et al.*, 1987; Carr *et al.*, 1989; Hoffman, 1989). Estudos recentes têm demonstrado que os anorexígenos como fencanfamina (Planeta *et al.*, 1995) e dietilpropiona (Reimer *et al.*, 1995) também são capazes de induzir preferência de lugar em ratos. Assim, em nosso laboratório também foi verificado que ratos tratados com MZ permanecem por mais tempo no compartimento pareado com a droga (Zannin, 1994). Os estudos sobre o efeito reforçador do EtOH, a partir de modelos animais de PCL são mais dificilmente estabelecidos em relação aos dos psicoestimulantes.

Vale ressaltar que os resultados obtidos a partir do estudo da propriedade reforçadora de drogas com potencial de abuso, através do teste de PCL, podem diferir quanto à dose e à via de administração da droga, quanto à espécie animal e também quanto aos procedimentos utilizados, principalmente em relação ao número e ao tempo de ensaios de condicionamento. Estas diferenças metodológicas podem levar à obtenção de resultados divergentes, prejudicando a compreensão dos reais efeitos provocados pelas drogas. Portanto, no presente estudo, além de ter sido avaliado o efeito reforçador da associação EtOH+MZ no modelo de PCL, também foi verificado se diferentes tempos de condicionamento poderiam influenciar a obtenção dos resultados.

Os resultados obtidos a partir do teste de PCL confirmam a ocorrência de uma interação entre EtOH e MZ, uma vez que o efeito reforçador induzido por esta combinação foi maior do que o efeito produzido pelas substâncias isoladamente, e foi independente do tempo de condicionamento utilizado. Estes resultados sugerem que pode ocorrer um maior risco de abuso da associação EtOH+MZ, em relação ao uso isolado destas substâncias. De maneira similar, Lewis e June (1994) observaram sinergismo de efeito com EtOH e cocaína na diminuição do limiar da estimulação cerebral reforçadora, em ratos.

A ausência de efeito reforçador após a administração de EtOH, neste procedimento experimental, nos três tempos de condicionamento, pode ser devido à dose não estimulante de EtOH e/ou pela necessidade de um número maior de ensaios de condicionamento. Muitas tentativas para estabelecer PCL usando EtOH, não obtiveram sucesso (Asin *et al.*, 1985; Cunningham, 1981; Van Der Kooy *et al.*, 1983). Alguns estudos de PCL com EtOH têm resultado no desenvolvimento de aversão de lugar (Sherman *et al.*, 1988). Stewart e Grupp (1981) demonstraram preferência de lugar após injeção de EtOH, mas somente quando os ratos tinham comida disponível no compartimento pareado com o álcool. Bozarth (1990) demonstrou que a propriedade reforçadora do EtOH pode ser evidenciada pelo teste de PCL, após um extensivo ensaio de condicionamento. O autor explica que o fato de estudos similares não alcançarem o mesmo resultado pode ser devido ao reduzido número de ensaios de condicionamento.

O efeito reforçador do MZ foi observado somente no condicionamento de 15 minutos, confirmando estudos prévios realizados com ratos em nosso laboratório (Zannin, 1994). Resultados similares foram obtidos a partir de estudos comportamentais com dietilpropiona (10 mg/kg, i.p.), uma droga supressora do apetite, a qual demonstrou produção de preferência de lugar, sugerindo que esta droga apresenta propriedades reforçadoras semelhantes às da cocaína e da anfetamina (Reimer et al., 1995). Também foi sugerido que o MZ pode ser um efetivo reforçador a partir de estudos que verificaram sua auto-administração, tanto em macacos quanto em cachorros (Wilson e Schuster, 1976; Corwin et al., 1987; Risner e Silcox, 1981), sugerindo um potencial de abuso para esta droga. Entretanto, a administração de MZ (2 mg/kg) produziu efeitos subjetivos disfóricos e não foi auto-administrada em voluntários normais (Chait et al., 1987). Pickworth *et al.*, (1991) e Jasinski *et al.*, (1984) também observaram que o MZ não produz aumento de efeitos subjetivos associados com o potencial de abuso em humanos. Apesar do baixo risco de abuso do MZ em humanos, seu uso concomitante com EtOH constitui uma prática comum no Brasil.

Como pode ser visto, tanto o EtOH quanto os psicoestimulantes apresentam efeitos subjetivos que, indubitavelmente, desempenham significativo papel no abuso destas substâncias.

A constatação tanto da estimulação locomotora quanto da PCL, induzida pela associação EtOH e MZ, parece estar de acordo com a hipótese de Wise e Bozarth

(1987), sugerindo que os efeitos locomotores e os efeitos reforçadores positivos das drogas de abuso são derivados de um mecanismo neurobiológico comum.

O fato de as substâncias de abuso agirem pela facilitação de um substrato reforçador comum é confirmado pelos achados de que diferentes categorias de substâncias de abuso apresentam um efeito sinérgico sobre a estimulação cerebral reforçadora quando co-administradas (Seeger e Carlson, 1981; Hubner *et al.*, 1983). Ademais, Laye *et al.* (1993) acrescenta que a estimulação da ativação locomotora e o aumento da liberação de DA em áreas límbicas são efeitos que estão frequentemente associados às drogas reforçadoras.

Di Chiara e Imperato (1988) verificaram, através de estudos de diálise cerebral, que existe uma correlação entre a estimulação comportamental induzida por várias drogas de abuso em doses baixas, com o aumento da concentração de DA no NAc. Parece, portanto, que dentre as drogas que ativam o SNC, a capacidade de agir como estímulo reforçador, ativar o comportamento motor e aumentar a concentração sináptica de DA no sistema mesolímbico, estão de alguma maneira ligadas umas às outras. Então, a ativação do sistema DAérgico mesolímbico contribui tanto para o efeito reforçador quanto para a estimulação locomotora induzidos pelas drogas de abuso. Esta hipótese é confirmada por evidências experimentais sobre o papel do sistema DAérgico mesolímbico na propriedade estimulante locomotora, bem como na propriedade reforçadora da amfetamina (Fibiger e Phillips, 1979; Wise e Bozarth, 1982; Kelley *et al.*, 1975).

Como as drogas de abuso pertencem a diversas classes farmacológicas (depressoras e estimulantes centrais, analgésicos narcóticos, etc.), sugere-se que elas ajam através de vários mecanismos primários. Isto, entretanto, não exclui a possibilidade de que essas drogas possam, secundariamente, ativar uma via final comum que intervem em suas propriedades reforçadoras. A avaliação do envolvimento dos sistemas DAérgicos no efeito reforçador de psicoestimulantes também tem sido elucidada através de estudos com antagonistas específicos.

Apesar das extensivas evidências do envolvimento do sistema DAérgico na propriedade reforçadora das drogas de abuso, o presente estudo não confirmou totalmente tal efeito. O pré-tratamento com haloperidol no teste de PCL não bloqueou a preferência de lugar induzida tanto pelo MZ quanto pela interação EtOH+MZ. Estes resultados são consistentes com outros estudos que fizeram uso do haloperidol na avaliação reforçadora do metilfenidato (Mithani et al., 1986), cocaína (Spyraki et al., 1982), nomifensina (Martin-Iverson et al., 1985) ou EtOH (Risinger et al., 1992).

Embora a dose de haloperidol utilizada não tenha afetado a preferência de lugar induzida pelo MZ e pela interação EtOH+MZ, a mesma dose bloqueou a estimulação locomotora induzida por estas drogas. Isto demonstra que é possível obter preferência de lugar com uma droga em circunstâncias onde a sua estimulação locomotora foi bloqueada. Este resultado, portanto, não confirma a participação de um mecanismo comum entre a propriedade reforçadora e ativação locomotora

mencionada anteriormente. Entretanto, esta correlação não pode ser totalmente descartada, uma vez que apenas uma dose de antagonista foi avaliada.

O presente estudo também verificou a possibilidade do envolvimento do sistema opióide no efeito reforçador induzido pela interação EtOH+MZ, através da administração de um antagonista opióide, a naloxona. Entretanto, os resultados obtidos demonstraram que a naloxona, na dose empregada, não bloqueou a preferência de lugar induzida tanto pelo MZ quanto pela associação EtOH+MZ. Estes resultados sugerem que a ação do sistema opióide não é predominante na obtenção da resposta reforçadora induzida pelo MZ ou EtOH+MZ. Estes achados contrastam com alguns dados da literatura, onde foi observado que a naloxona é capaz de bloquear de maneira dose-dependente a preferência de lugar induzida pela anfetamina (Trujillo *et al.*, 1991) e pela cocaína (Gerrits *et al.*, 1995), em ratos. Também foi verificado que a naloxona pode diminuir a preferência de ingestão de EtOH, em ratos (Sandi *et al.*, 1988). Cabe ressaltar que, nos estudos mencionados, a espécie utilizada é diferente, ratos, e doses altas de naloxona foram utilizadas, enquanto no presente estudo apenas uma dose baixa do antagonista, 1.0 mg/kg, foi utilizada em camundongos.

Com respeito ao comportamento relacionado à ansiedade, os resultados obtidos em nossos experimentos no teste do LCE, demonstram a obtenção do efeito ansiolítico após tratamento agudo com EtOH (1.2 g/kg). Este efeito está de acordo com os resultados mencionados anteriormente sobre o efeito ansiolítico do EtOH em

diferentes testes comportamentais (Blanchard *et al.*, 1990; Dickerson *et al.*, 1976; Lister, 1988). Também confirmam os resultados experimentais obtidos, tanto com ratos quanto com camundongos no teste do LCE, os experimentos realizados por Pellow *et al.* (1985), Lister (1987), Durcan e Lister (1988) e Prunell *et al.* (1994); os quais demonstraram efetivo efeito ansiolítico do EtOH. Entretanto, este efeito não foi observado após o esquema de tratamento repetido durante 4 dias.

Por outro lado, o MZ não alterou o comportamento dos animais sobre o labirinto, após tratamento agudo. Resultados similares também foram observados por Zannin (1994), em ratos machos. Apesar de ser descrito que a cocaína apresenta efeito ansiogênico, Rogério e Takahashi (1992-a,b) demonstraram que esta propriedade da cocaína pode depender do estado emocional dos animais. Deste modo, animais com baixo nível basal de ansiedade desenvolvem comportamento ansiogênico, após tratamento com cocaína. Estes resultados podem contribuir para a ausência de efeito ansiogênico do MZ injetado agudamente. Enquanto isso, o tratamento repetido com MZ demonstrou evidente efeito ansiogênico, o que vai ao encontro com os dados já descritos.

A avaliação dos efeitos da interação EtOH+MZ, no modelo de ansiedade, parece demonstrar efeito ansiolítico, entretanto essa hipótese parece remota devido não só ao aumento da locomoção observada pelo número de entradas nos braços fechados do aparelho, como também ao nítido aumento da locomoção induzida por esta associação, medida nas gaiolas de atividade. Os resultados obtidos após

tratamento repetido com a associação EtOH+MZ, no teste do LCE, demonstraram que esta interação não afetou o comportamento dos animais avaliados no LCE, confirmando os resultados obtidos com tratamento agudo. Esse resultado pode sugerir que o comportamento ansiogênico induzido pelo MZ pode ser revertido quando essas drogas são administradas concomitantemente. Também sugere que a indução de preferência de lugar, pelo MZ ou a interação EtOH+MZ, independe de seus efeitos ansiolíticos e/ou ansiogênicos, como verificado pelo teste do LCE.

Em suma, os resultados do presente trabalho, obtidos a partir de diferentes procedimentos experimentais, demonstram pela primeira vez que a combinação EtOH+MZ pode produzir efeitos comportamentais mais marcantes em relação às drogas administradas isoladamente em camundongos. Estes achados são importantes para a compreensão da associação freqüentemente observada de ambas as drogas por humanos, confirmando que a combinação de EtOH e MZ aumenta as ações estimulantes do MZ.

Apesar de não se conhecer o mecanismo exato responsável pelos efeitos da associação EtOH+MZ, é provável que envolva, pelo menos em parte, a estimulação do sistema DAérgico de neurotransmissão em certas vias cerebrais produzida por ambas as drogas. Entretanto, deve ser ressaltado que o envolvimento de vários outros sistemas de neurotransmissores não foi avaliado, e mesmo a ocorrência de interações farmacocinéticas não podem ser descartadas, desde que no presente estudo as concentrações plasmáticas de EtOH e/ou MZ não foram medidas.

Estes resultados destacam a importância de estudos que avaliem os efeitos interativos entre duas ou mais substâncias, auxiliando a compreensão do perfil psicofarmacológico e de possíveis mecanismos envolvidos com estas interações. A ocorrência crescente de “policonsumo” em nosso meio, como o verificado no último levantamento realizado pelo CEBRID, ressalta a necessidade de estudos nesta área.

6 - CONCLUSÕES

As respostas comportamentais obtidas a partir do presente estudo, levam a concluir que:

- A associação EtOH+MZ produziu um aumento da atividade locomotora maior do que a administração isolada dessas drogas. Esta potenciação de efeito também foi observada no teste de preferência de lugar, onde a associação aumentou significativamente o tempo de permanência no compartimento menos preferido, independentemente do tempo de condicionamento.

- É provável que os efeitos produzidos pela associação EtOH+MZ envolvam o sistema de neurotransmissão DAérgico, uma vez que o haloperidol bloqueou a estimulação locomotora induzida por esta combinação de drogas. Por outro lado, o sistema opióide não parece exercer papel preponderante nos comportamentos avaliados, uma vez que a naloxona, na dose empregada, não afetou as respostas nos testes de atividade locomotora e de preferência de lugar.

- O tratamento agudo com EtOH+MZ exibiu efeito tipo ansiolítico no teste do LCE. Entretanto, este efeito parece estar associado ao aumento da atividade locomotora causada por esta associação. O mesmo tratamento, repetido por 4 dias, não afetou os parâmetros medidos no mesmo teste, sugerindo que a indução de preferência de lugar pela associação de drogas independe dos seus efeitos ansiolíticos e/ou ansiogênicos.

- Estes resultados demonstram a ocorrência de efeitos interativos entre o EtOH e o MZ, aumentando as respostas comportamentais observadas em camundongos. Além disso, os resultados também confirmam o uso popular desta associação e sugerem a possibilidade de um maior risco de abuso em relação ao uso isolada destas substâncias.

ABSTRACT

The combined anorectic-alcohol abuse is a prevalent problem in our society. Ethanol (EtOH) is often used in Brasil in combination with anorectic drugs such as mazindol (MZ). The prevalence of such combined usage may reflect the popular belief that by mixing alcohol and MZ an enhancement of the stimulatory action of MZ is reached. MZ is a catecholamine reuptake blocker that binds with higher affinity to the cocaine binding site than does cocaine. Recent studies in our laboratory have show that MZ increase locomotor activity in a dose-related manner. On the other hand, early studies have noted that EtOH depending upon the dose, exerts either a stimulant or a depressant effects in both humans and rodents. In order to better understand the interactive effects of EtOH and MZ, we examined the effects of EtOH (1.2 g/kg) and MZ (5.0 mg/kg) given alone or in combination, on the behavior of mice in the locomotor activity, in the place preference conditioning and in the plus-maze test of anxiety. The results indicate that the interaction EtOH plus MZ induces significantly greater increase in locomotor activity of mice than either constituent alone. In addition, mice receiving this drug combination provided evidence for its rewarding effects, but did not alter the behavior of mice on the plu-maze test of anxiety. Further, the effects induced by the drug interaction was not related to the time of conditioning used in the place preference test. It is likely that the increased behavioral effects seen following EtOH+MZ combination may be, at

least in part, from the enhanced dopaminergic activity in certain brain pathways, since the dopamine receptor antagonist, haloperidol (0.075 mg/kg) attenuated locomotor activity produced by EtOH and MZ. On the other hand, the endogenous opioid system has not been implicated in these behavioral effects, since the behavioral stimulation induced by combination EtOH+MZ was not blocked by pretreatment with the opioid antagonist, naloxone (1.0 mg/kg). These results provide evidence of increased behavioral effects in mice due to combinations of EtOH and MZ. Also, these laboratory findings suggest that a major determinant of combined anorectic-alcohol abuse may be increased stimulating effects produced by such combination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLENUS, S.; CARLSON, A.; ENGEL J.; SVENSSON, T.; SODERSTEN, P. Antagonism by alpha methyltyrosine of the ethanol-induced stimulation and euphoria in man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **14**: 586-591, 1973.
- AHTEE, L.; KAARIAINEN, I. The effect of narcotic analgesics on the homovanillic acid content of rat nucleus caudatus. *Eur. J. Pharmacol.*, **22**: 206-208, 1973.
- AIZENSTEIN, M.L.; SEGAL, D.S.; KUCZENSKI, R. Repeated amphetamine and fencamfamine: sensitization and reciprocal cross-sensitization. *Neuropsychopharmacol.*, **3**: 283-290, 1990.
- ALPER, R.H.; DEMAREST, K.T.; MOORE, K.E. Morphine differentially alters synthesis and turnover of dopamine in central neuronal system. *J. Neurol. Trans.*, **48**: 157-165, 1980.
- ANTHONY, J.C.; TIEN, A.Y.; PETRONIS, K.R. Epidemiologic evidence on cocaine use and panic attacks. *Am. J. Epidemiol.*, **129**: 543-549, 1989.
- ARONSON, T.A. ; CRAIG, T. J. Cocaine precipitation of panic disorder. *Am. J. Psychiatry.*, **143**: 643-645, 1986.
- ASIN, K.E.; WIRTSHAFTER, D.; TABAKOFF, B. Failure to establish a conditioned place preference with ethanol in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **22**: 169-173, 1985.
- ATTLA, L.M.; AHTEE, L. Retardation of cerebral dopamine turnover after morphine withdrawal and its enhanced acceleration by acute morphine administration in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **327**: 201-207, 1984.
- BENINGER, R.J. The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Res. Rev.* **6**: 173-196, 1983.
- BERGMAN, J.; MADRAS, B.K.; JOHNSON, S.E.; SPEALMAN, R.D. Effects of cocaine and related drugs in nonhuman primates, III self-administration by squirrel monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **251**: 150-155, 1989.
- BLANCHARD, B.A.; STEINDORF, S.; WANG, S.; GLICK, S.D. Sex differences in ethanol-induced dopamine release in nucleus accumbens and in ethanol consumption in rats. *Alcohol: Clin. Exp. Res.*, **17**: 968-973, 1993.
- BLANCHARD, R.J.; BLANCHARD, D.C.; WEISS, S.M. Ethanol effects in anxiety/defense test battery. *Alcohol*, **7**: 375-381, 1990.

- BOZARTH, M.A. Evidence for rewarding effects of ethanol using the conditioned place preference method. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **35**: 485-487, 1990.
- BRODIE, M.S.; SHEFER, S.A.; DUNWIDDIE, T.V. Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Res.*, **508**: 65-69, 1990.
- BUCHER, R. Drogas: O que é preciso saber. São Paulo, Fundo Social de Solidariedade do Estado da São Paulo, 1992.
- CALCAGNETTI, D. J.; SCHECHTER, M.D. Reducing the time needed to conduct conditioned place preference testing. *Prog. Neuro-Psychopharmacol ; Biol. Psychiat.*, **16**: 969-976, 1992.
- CALCAGNETTI, D.J.; SCHECHTER, M.D. Place preference for the psychostimulant cathinone is blocked by pretreatment with a dopamine release inhibitor. *Prog. Neuro-Psychopharmacol ; Biol. Psychiat.*, **17**: 637-649, 1993.
- CARBONI, E.; IMPERATO, A.; PEREZZANI, L.; Di CHIARA, G. Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neurosci.*, **28**: 653-661, 1989.
- CARR, G.D.; FIBIGER, H.C.; PHILLIPS, A.G. Conditioned place preference as a measure of drug reward. In: *The Neuropharmacological Basis of Reward* (Lirbman, J. m.; Cooper, S. J., eds.), Clarendon Press, Oxford, 264-319, 1989.
- CHAIT, L.D.; UHLENHUTH, E.H.; JOHANSON, C.E. Reinforcing and subjective effects of several anorectics in normal human volunteers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **242**: 777-783, 1987.
- CLOUET, D.H.; RATNER, H. Catecholamine biosynthesis on brains of rats treated with morphine. *Science*, **168**: 854-856, 1970.
- COHEN, S. Cocaine. *JAMA*, **231**: 74-75, 1975.
- CORWIN, R.L.; WOOLVERTON, W.L.; SCHUSTER, C.R. ; JOHANSON, C.E. Anorectics: Effects on food intake and self-administration in the rhesus monkeys. *Alcohol Drug Res.*, **7**: 351-361, 1987.
- COSTALL, B.; NAYLOR, J.; CANNON, J. G.; LEE, T. Differentiation of the dopamine mechanisms mediating stereotyped behavior and hyperactivity in the nucleus accumbens and caudate putamen. *J. Pharm. Pharmacol.*, **29**: 337-342, 1977.
- CUNNINGHAM, C.L. Spatial aversion conditioning with ethanol. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **14**: 263-264, 1981.

- DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system: I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurons. *Acta Physiol. Scand*, **62**: (suppl. 232), 1-80, 1964.
- Di CHIARA, D.; NORTH, R.A. Neurobiology of opiate abuse. *Trends Pharmacol. Sci.*, **13**: 185-193, 1992.
- Di CHIARA, G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug and Alcohol Dependence*, **38**: 95-137, 1995.
- Di CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**: 5274-5278, 1988.
- DICKERSON, L.L.; FERRARO, D.P. Effects of alcohol on specific and environmental fear. *Psychol. Rep.*, **39**: 1335-1342, 1986.
- DONOVAN, J. M. An etiologic model of alcoholism. *Am. J. Psychiatry*, **143**: 1-11, 1986.
- DUDEK, B.C.; ABBOTT, M.E. The relationship between ethanol-induced locomotor activation and narcosis in long-sleep and short-sleep mice. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **8**: 272-276, 1984.
- DURCAN, M.J.; LISTER, R.G. Time course of ethanol's effects on locomotor activity, exploration and anxiety in mice. *Psychopharmacol.*, **96**: 67-72, 1988.
- ENGEL, J. A. Influence of age and hormones on the stimulatory and sedative effects of ethanol. In: Rydberg U (ed) *Alcohol and developing brain*. Raven Press, New York, 55-67, 1985.
- ESPOSITO, R.V.; PERRY, W.; KORNETSKY, C. Chlorpromazine and brain-stimulation reward: potentiation of effects by naloxone. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **15**: 903-905, 1981.
- FARRÉ, M.; DE LA TORRE, R.; LLORENTE, M.; LAMAS, X.; UGENA, B.; SEGURA, J. ; CAMÍ, J. Alcohol and cocaine interactions in humans. *J. Pharmac. Exp. Ther.*, **226**: 1363-1373, 1993.
- FIBIGER, H.C.; PHILLIPS, A.G. Dopamine and the neural mechanisms of reinforcement. In: *The neurobiology of dopamine*, ed. by A. S. Horn; J. Korf and B. H. C. Westerink, pp. 597-615, Academic Press, New York, 1979.
- FINK, J.S.; SMITH, G.P. Mesolimbocortical dopamine terminal fields are necessary for normal locomotor and investigatory exploration in rats. *Brain Res.*, **199**: 359-384, 1980.
- FRANKLIN, K.B.J. Catecholamines and self-stimulation: reward and performance effects dissociated. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **9**: 813-820, 1978.

- FRYE, G.D.; BREESE, G.R. An evaluation of the locomotor stimulating action of ethanol in rats and mice. *Psychopharmacol.*, **75**: 372-379, 1981.
- FUKUI, K.; TAKAGI, H. Effects of morphine on the cerebral contents of metabolites of dopamine in normal and tolerant mice: its possible relation to analgesic action. *Br. J. Pharmacol.*, **44**: 45-51, 1972.
- GALDURÓZ, J.C.F.; D'ALMEIDA, V.; CARVALHO, V.; CARLINI, E. A. III Levantamento sobre o uso de drogas entre estudantes de 1º e 2º graus em 10 capitais brasileiras. Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas - CEBRID - Departamento de psicobiologia - Escola Paulista de Medicina. São Paulo, U. E., 1993.
- GARCIA-SEVILLO, J.A.; AHTEE, L.; MAGNUSSON, T.; CARLSSON, A. Opiate-receptor mediated changes in monoamine synthesis in rat brain. *J. Pharm. Pharmacol.*, **30**: 613-621, 1978.
- GARDNER, E.L. Brain reward mechanisms. In: Lowinson, J. H.; Ruiz, P.; Millman, R. B.; Langrod, J. D. (Ed). *Substance Abuse. A comprehensive textbook*, 2 ed., New York: W.W, 1992.
- GAUCHY, C.; AGID, Y.; GLOWINSK, J.; CHERAMY, A. Acute effects of morphine on dopamine synthesis and release tyrosine metabolism in the rat striatum. *Eur. J. Pharmacol.*, **22**: 311-319, 1973.
- GERRITS, M.A.F.M.; ZVARTAW, N.P.E.E.; VAN REE, J.M. Opioid blockade attenuates acquisition and expression of cocaine-induced place preference conditioning in rats. *Psychopharmacol.*, **119**: 92-98, 1995.
- GESSA, G.L.; MUNTONI, F.; COLLU, M.; VARGIU, L. E.; MEREU, G.P. Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res.*, **348**: 201-203, 1985.
- GIKOVATE, F. **Drogas: opção de perdedor**. São Paulo: Moderna, 1993.
- GOGERTY, J.H.; PENBERTHY, C.; IORIO, L.C.; TRAPOLD, J.H. Pharmacological analysis of a new anorexic substance: 5 - hidroxy - 5 - (4' - chlorophenil) - 2,3 - dihidroxy - 5 H - imidazo - (2, 1 - a) isoindole (Mazindol). *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **214**: 285-307, 1975.
- GRAEFF, F.G. **Drogas psicotrópicas e seu modo de ação**. São Paulo: Pedagógica e Universitária, 1990.
- GRIFFITHS, R.H.; BIGELOW, G.E.; HENNINGFIELD, J.E. Similarities in animal and human drug-taking behavior. In: Mello, N. K. ed. *Advances in substance abuse*. Greenwich, C. T: JAI Press, 1980.

- GRIFFITHS, R.R.; BRADFORD, L.D.; BRADY, J.V. Progressive ratio and fixed ratio schedules of cocaine-maintained responding in baboons. *Psychopharmacol.*, **65**: 125-136, 1979.
- GUNNE, L.H. Catecholamine and 5-hydroxytryptamine in morphine tolerance and withdrawal. *Acta Physiol. Scand.*, **58**: 1-91, 1963.
- GUNNE, L.M.; JONSSON, J.; FUXE, K. Effects of morphine intoxication on brain catecholamine neurons. *J. Eur. Pharmacol.*, **5**: 338-345, 1969.
- GYSLING, K.; WANG, R.Y. Morphine-induced activation of A₁₀ dopamine neurons in the rat. *Brain Res.*, **277**: 119-127, 1983.
- HABERMAN, P.W.; NOBLE, J.A.; DUFOUR, M.C. Alcohol use in combination with cocaine, heroin and methadone by medical examiner cases. *J. Studies on Alcohol*, **56**: 344-347, 1995.
- HITZEMANN, R.J.; LOH, H.H.; HO, A.K.S.; WAY, E.L. Effects of acute morphinization on the metabolism of ¹⁴C-tyrosine. *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, **14**: 91-99, 1971.
- HOFFMAN, D.C. The use of place conditioning in studying the neuropharmacology of drug reinforcement. *Brain. Res. Bull.*, **23**: 373-387, 1989.
- HONKANEN, A.; CHRAPUSTA, S.J.; KAROUM, F.; KORPI, R. Alterations in dopamine metabolism by intraperitoneal ethanol in rats selected for higher and low ethanol preference: a 3-methoxytyramine study. *Alcohol*, **4**: 323-328, 1994.
- HOUDI, A.A.; BARDO, M.T.; VAN LOON, G.R. Opioid mediation of cocaine-induced hyperactivity and reinforcement. *Brain. Res.*, **497**: 195-198, 1989.
- HUBNER, C.B.; BAIN, G.T.; KORNETSKY, C. Morphine and amphetamine: effects on brain stimulation reward. *Soc. Neurosci. Abstr.*, **9**: 893, 1983.
- IMPERATO, A.; Di CHIARA, G. Dopamine release and metabolism in awake rats after systemic neuroleptics as studied by trans-striatal dialysis. *J. Neurosci.*, **5**: 297-306, 1985.
- IMPERATO, A.; Di CHIARA, G. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **239**: 219-228, 1986.
- IWATSUBO, K. Narcotic analgesics and nigrostriatal dopaminergic neurons. *Trends Pharmacol. Sci.*, **3**: 64-66, 1980.
- IWATSUBO, K.; CLOUET, D. H. Effect of morphine and haloperidol on electrical activity of rat nigrostriatal neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **202**: 429-436, 1977.
- JASINSKI, D.R.; JOHNSON, R.E.; HENNINGFIELD, J.E. Abuse liability assessment in human subjects. *Trends Pharmacol. Sci.*, **5**: 196-200, 1984.

- JAVITCH, J.A.; BLAUSTEIN, R.O.; SNYDER, S.H. [H^3] mazindol binding associated with neuronal dopamine uptake sites in corpus striatum membranes. *Eur. J. Pharmacol.*, **90**: 461-462, 1983.
- JOHANSON, C.E.; SCHUSTER, C.R. Animal models of drug self-administration. In: *Advances in Substance Abuse: Behavioral and Biological Research* (Mello, N. K., ed.), AI Press. Greenwich, C. T., II: 219-297, 1981.
- JOHNSON, R.P.; SAR, M.; STUMPF, W.E. A topographic localization of enkephalin on the dopamine neurons of the rat substantia nigra e ventral temental area demonstrated by combined histofluorescence-immunocytochemistry. *Brain Res.*, **194**: 566-571, 1980.
- KELLEY, P.H.; SEVIOUR, IVERSEN, P.W.; Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens. *Brain Res.*, **94**: 507-522, 1975.
- KOOB, G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and the function of reward pathways. *Trends Pharmacol. Sci.*, **13**: 177-184, 1992.
- KRUK, Z.L.; ZARRINDAST, M.R. Mazindol anorexia is mediated by activation of dopaminergic mechanisms. *Br. J. Pharmacol.*, **58**: 367-372, 1976.
- KUCZENSKI, R.; SEGAL, D.S.; AIZENSTEIN, M.L. Amphetamine, cocaine, and fencamfamine: relationship between locomotor and stereotypy responses profiles and caudate and accumbens dopamine dynamics. *J. Neurosci.*, **11**: 2703-2712, 1991.
- KUSCHINSKY, K.; HORNYKIEWICZ, O. Morphine catalepsy in the rat: relation to striatal dopamine metabolism. *Eur. J. Pharmacol.*, **19**: 119-122, 1973.
- KUSCHINSKY, K. Psychic dependence on opioids: mediated by dopaminergic mechanisms in striatum? *Trends Pharmacol. Sci.*, **4**: 287-289, 1981.
- LAWERTY, R.; SHARMAN, F.D. Modification by drugs of the metabolism of 3,4-dihydroxyphenylethylamine, noradrenaline and 5-hydroxy-tryptamine in the brain. *Br. J. Pharmacol.*, **24**: 759-772, 1965.
- LAWLEY, S.I.; KANTAK, K.M. Postconditioning effects of magnesium on cocaine conditioned place preference in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **36**: 531-538, 1990.
- LAYE, R.T.; KADDIS, F.G.; WALLACE, L.J. The NMDA receptor antagonist MK-801 elicits conditioned place preference in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **44**: 245-247, 1993.
- LEWIS, M.J.; JUNE, H.L. Synergistic effects of ethanol and cocaine on brain stimulation reward. *J. Exp. An. Behav.*, **61**: 223-229, 1994.

- LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *pharmacol. Ther.*, **46**: 321-340, 1990.
- LISTER, R.G. Interactions of three benzodiazepine receptor inverse agonist with ethanol in a plus-maze test of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **30**: 701-706, 1988.
- LISTER, R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacol.*, **92**: 180-185, 1987.
- LLORENS-CORTES, C.; POLLARD, H.; SCHWARTZ, J.C. Localization of opiate receptors in substantia nigra evidenced by lesion studies, *Neurosci. Lett.*, **12**: 165, 1979.
- MACLAY, W.P.; WALLACE, M.G. A multi-centre general practice trial of mazindol in the treatment of obesity. *The Practitioner*, **218**: 431-434, 1977.
- MARTIN-IVERSON, M.T.; ORTMANN, F.; FIBIGER, H.C. Place preference conditioning with methylphenidate and nomifensine. *Brain. Res.*, **332**: 59-67, 1985.
- MASUR, J.; SANTOS, H.M.L.M. Response variability of ethanol-induced locomotor activation in mice. *Psychopharmacol.*, **96**: 547-550, 1988.
- MASUR, J.; FORMIGONI, M.L.O.S.; PIRES, M.L.N. Increased stimulatory effect by the combined administration of cocaine and alcohol in mice. *Alcohol*, **6**: 181-182, 1989.
- MATTHEWS, R.T.; GERMAN, D.C. Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine. *Neuroscience*, **11**: 617-625, 1984.
- MEISCH, R.A.; STEWART, R.B. Ethanol as a reinforcer: a review of laboratory studies of non-human primates. *Behav. Pharmacol.*, **5**: 425-440, 1994.
- MENDELSON, J.; JONES, R.T.; UPTON, R.; JACOB, P. Methamphetamine and ethanol interactions in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **57**: 559-568, 1995.
- MEREU, G.; YOON, K.W.P.; BOI, V.; GESSA, G.L.; NAES, L.; WESTFALL, T.C. Preferential stimulation of ventral tegmental area dopaminergic neurons by nicotine. *Eur. J. Pharmacol.*, **141**: 395-399, 1987.
- MITHANI, S.; MARTIN-IVERSON, M.T.; PHILLIPS, A.G.; FIBIGER, H.C. The effects of haloperidol on amphetamine- and methylphenidate-induced conditioned place preference and locomotor activity. *Psychopharmacol.*, **90**: 247-252, 1986.
- MOLEMAN, P.; BRUINVELS, J. Differential effect of morphine on dopaminergic neurons in frontal cortex and striatum of the rat. *Life Sci.*, **19**: 1277-1282, 1976.

- MOLEMAN, P.; BRUINVELS, J. Effects of dopaminergic neurons in the rat basal forebrain and striatum. *J. Neurol. Transm.*, **46**: 225-237, 1979.
- MONTEIRO, M.G. Bases genéticas do alcoolismo: visão geral. *Rev. Ass. Med. Brasil*, **36**: 78-82, 1990.
- MOORE, R.Y.; BLOOM, F.E. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the dopamine systems. *Ann. Rev. Neurosci.*, **1**: 129-169, 1978.
- NAPPO, S.A. Consumo de anorexígenos tipo-anfetamina (dietilpropiona, fenproporex, mazindol) e de fenfluramina no Brasil: prejuízo ou benefício para saúde. *J. Bras. Psiq.*, **41**: 417-421, 1992.
- NAZZARO, J.M.; SEEGER, T.F.; GARDNER, E.L. Morphine differentially affects ventral tegmental and substantia nigra brain reward thresholds. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **14**: 325-331, 1981.
- NAZZARO, J.M.; SEEGER, T.F.; GARDNER, E.L. Naloxone blocks phencyclidine's dose-dependent effects on direct brain reward threshold. In: *Proceeding of World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics*. London: British Pharmacological Society, 1980.
- NEVO, I.; HAMON, M. Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. *Neurochem. Int.*, **26**: 305-336, 1995.
- NOTO, A.R.; NAPPO, S.; GALDURÓZ, J.C.F.; MATTEI, R.; CARLINI, E.A. III Levantamento sobre o uso de drogas entre meninos e meninas de rua de cinco capitais brasileiras. Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas - CEBRID. Departamento de Psicobiologia - Escola Paulista de Medicina. São Paulo, U. E., 1993.
- NOWYCKY, M.C.; WALTERS, J.R.; ROTH, R.H. Dopaminergic neurons: effect of acute and chronic morphine administration on single cell activity and transmitter metabolism. *J. Neural. Transm.*, **42**: 99-116, 1978.
- PAULINO, W.R. **Drogas**. São Paulo: Ática, 1994.
- PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of closed:open arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods*, **14**: 149-167, 1985.
- PEREZ-REYES, M.; WHITE, W.R.; Mc DONALD, S.A.; HICKS, R.E. Interaction between ethanol and dextroamphetamine: effects on psychomotor performance. *Alcoholism: Clin. and Exp. Res.*, **16**: 75-91, 1992.

- PICKWORTH, W.B.; KLEIN, S.A.; BUNKER, E.B.; HENNINGFIELD, J.E. Assessment of mazindol for abuse liability. In: Problems of drug dependence, 1990, Proceedings of 52nd Annual Scientific Meeting, the committee on problems of drug dependence, Inc. ed. by L.S. Harris NIDA Research monograph, Department of Health and Human Services, Washington, DC, 1991.
- PLANETA, C.S.; AIZENSTEIN, M.L.; De LUCIA, R. Reinforcing properties of fencanfamine: involvement of dopamine and opioid receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **50**: 35-40, 1995.
- PÖGUN, S.; SCHEFFEL, U.; KUHAR, M.J. Cocaine displaces [³H] WIN 35,428 binding to dopamine uptake sites in vivo more rapidly than mazindol or GBR 12909. *Eur. J. Pharmacol.*, **198**: 203-205, 1991.
- PRUNELL, M.; ESCORIHUELA, R.M.; FERNÁNDEZ-TERUEL, A.; NÚÑEZ, J.F.; TOBEÑA, A. Differential interactions between ethanol and RO 15-4513 on two anxiety test in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **47**: 147-151, 1994.
- REIMER, A.R.; MARTIN-IVERSON, M.T.; URICHUK, L.J.; COUTTS, R.T.; BYRNE, A. Conditioned place preferences, conditioned locomotion, and behavioral sensitization occur in rats treated with diethylpropion. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **51**: 89-96, 1995.
- RESNICK, R.B.; KESTENBAUM, R.S.; SCHWARTZ, L.K. Acute systemic effects of cocaine in man: a controlled study of intranasal and intravenous routes of administration. In: Elliwood, E. H. Jr.; Kilbey, M. M. eds. Cocaine and other stimulants. New York: Plenum Press, 615-628, 1977.
- RISINGER, F.O.; DICKINSON, S.D.; CUNNINGHAM, C.L. Haloperidol reduces ethanol-induced motor activity stimulation but not conditioned place preference. *Psychopharmacol.*, **107**: 453-456, 1992.
- RISNER, M.E.; SILCOX, D.L. Psychostimulant self-administration by beagle dogs in a progressive-ratio paradigm. *Psychopharmacol.*, **75**: 25-30, 1981.
- RITZ, M.C.; LAMB, R.J.; GOLDBERG, S.R.; KUHAR, M.J. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science*, **237**: 1219-1223, 1987.
- ROGÉRIO, R.; TAKAHASHI, R.N. Anxiogenic action of acute but not repeated cocaine administration in handling habituated mice in the plus-maze test. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, **25**: 713-716, 1992, a.
- ROGÉRIO, R.; TAKAHASHI, R.N. Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **43**: 631-633, 1992, b.

- SANDI, C.; BORREL, J.; GUAZA, C. Naloxone decreases ethanol consumption within a free choice paradigm in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **29**: 39-43, 1988.
- SANSON, H.H.; HARRIS, R.A. Neurobiology of alcohol abuse. *Trends Pharmacol. Sci.*, **13**: 206-211, 1992.
- SASAME, H.A.; PEREZ CRUET, J.; Di CHIARA, G.; TAGLIAMONTE, A.; TAGLIAMONTE, P.; GESSA, G.L. Evidence that methadone blocks dopamine receptors in brain. *J. Neurochem.*, **19**: 1953-1957, 1972.
- SCHAD, C.A.; JUSTICE, J.B.; HOLTZMAN, S.G. Naloxone reduces the neurochemical and behavioral effects of amphetamine but not those of cocaine. *Eur. J. Pharmacol.*, **255**: 9-16, 1995.
- SHELL-KRUGER, J.; BRAESTRUP, C.; GOLEMBIOWSKA, K.; MOGILNICKA, E. Cocaine: discussion on the role of dopamine in the biochemical mechanisms of action. In: *Cocaine and other stimulants, Advances in Behavioral Biology* (Ellinwood, E. H.; Kilbey, M.M., eds.), Plenum Press, New York, 21: 373-407, 1977.
- SCHUCKIT, M.A. Biological vulnerability to alcoholism. *J. Cons. Clin. Psychol.*, **55**: 1-9, 1987.
- SCHUMACHER, H.E.; OEHLER, J.; JAEHEL, M. Individual motor activity-relationships to dopaminergic responses. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **48**: 839-844, 1994.
- SEEGER, T.F.; CARLSON, K.R. Amphetamine and morphine: additive effects on ICSS threshold. *Soc. Neurosci. Abstr.*, **7**: 974, 1981.
- SEEGER, T.F.; NAZZARO, J.M.; GARDNER, E.L. Selective inhibition of mesolimbic behavioral supersensitivity by naloxone. *Eur. J. Pharmacol.*, **65**: 435-438, 1980.
- SEEMAN, P. The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. *Pharmacol. Rev.*, **24**: 583-655, 1972.
- SHERMAN, J.E.; JORENBY, D.E.; BAKER, T.B. Classical conditioning with alcohol: acquired preferences and aversions, tolerance, and urges/craving. In: Chaudron, C. D.; Wilkenson, D. A. (ed.). *Theories on alcoholism. Addiction Res. Found.*, Toronto, 1988.
- SMITH, C.B.; SHELDON, M.I.; BEDNARKZYK, J.H.; VILLAREAL, J.E. Morphine-induced increase in the incorporation of [¹⁴C] tyrosine into [¹⁴C] norepinephrine in the mouse brain: antagonism by naloxone and tolerance. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **180**: 547, 1972.

- SPYRAKI, C.; FIBIGER, H.C.; PHILLIPS, A.G. Cocaine-induced place preference conditioning: lack effects of neuroleptics and 6- hydroxydopamine lesions. *Brain Res.*, **253**: 195-203, 1982.
- STEIN, L. Effects and interactions of imipramine, chlorpropazine, reserpine and amphetamine on self-stimulation: possible neurophysiological basis of depression. In: Wortis, J. ed. *Recent advances in biological psychiatry*, **4**: 297-311, 1962, New York, Plenum Perss.
- STEIN, L.; RAY, O.S. Brain stimulation reward "thresholds" self-determined in rat. *Psychopharmacol.*, **1**: 251-256, 1960.
- STEWART, R.B.; GRUPP, L.A. An investigation of the interaction between the reinforcing properties of food and ethanol using the place preference paradigm. *Prog. Neuropsychopharmacol.*, **5**: 609-613, 1981.
- STOLERMAN, I. Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends Pharmacol. Sci.*, **13**: 170-176, 1992.
- STOLERMAN, I.P.; SHOAB, M. The neurobiology of tobacco addiction. *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**: 467-473, 1991.
- SUGRUE, M.F. The effects of acutely administered analgesic regions of the rat brain. *Br. J. Pharmacol.*, **52**: 159-165, 1974.
- SWERDLOW, N.R.; AMALRIC, M.; KOOB, G.F. Nucleus accumbens opiate-dopamine interactions and locomotor activation in the rat: evidence for a pre-synaptic locus. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **26**: 765-769, 1987.
- TABAKOFF, B. ; HOFFMAN, P.L. Biochemical pharmacology of alcohol. In: Meltzer HY (ed) *Psychopharmacology- the third generation of progress*. Raven Press, New York, 1521-1526, 1987.
- TABAKOFF, B.; RABE, C.S.; HOFFMAN, P.L. Selective effects of sedative/hypnotic drugs on excitatory amino acid receptors in brain. *Ann. NY. Acad. Sci.* **625**: 488-495, 1991.
- TRUJILLO, K.A.; BELLUZZI, J.D.; STEIN, L. Naloxone blockade of amphetamine place preference conditioning. *Psychopharmacol.*, **104**: 265-274, 1991.
- UNGERSTEDT, U. Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand.* **82**: (suppl. 367), 1-48, 1971.
- VAN DER KOOY, D.; O'SHAUGHNESSY, M.; MUCHA, R.F.; KALANT, H. Motivational properties of ethanol in naive rats as studied by place conditioning. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **19**: 441-445, 1983.

- VERBANCK, P.; SEUTIN, V.; DRESSE, A.; SCUVEE, J.; MASSOTE, L.; GIESBERS, I.; KORNREICH, C. Electrophysiological effects of ethanol on monoaminergic neurons: an in vivo and in vitro study. *Alcohol: Clin. Exp. Res.*, **14**: 728-735, 1990.
- WALSH, D.C.; HINGSON, R.W.; MERRIGAN, D.M.; CUPPLES, L.A.; LEVENSON, S.; COFFMAN, G.A. Associations between alcohol and cocaine use in a sample of problem-drinking employees. *J. Studies on Alcohol*, **52**: 17-25, 1991.
- WASHTON, A.M.; GOLD, M.S. Chronic cocaine abuse: evidence for adverse effects on health and functioning. *Psychiatr. Ann.* **14**: 733-739, 1984.
- WELTE, J.W. Alcohol use and trait anxiety in the general population. *Drug and Alcohol Dependence*, **15**: 105-109, 1985.
- WESTERINK, B.H.; DAMSMAN, G.; ROLLEMA, H.; DE VRIES, J.B.; HORN, A.S. Scope and limitations of in vivo brain dialysis: a comparison of its application to various neurotransmitter systems. *Life Sci.*, **41**: 1763-1776, 1987.
- WILSON, M.C.; SCHUSTER, C.R. Mazindol self-administration in the rhesus monkey. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **4**: 207-210, 1976.
- WISE, R.A. Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain Res.*, **152**: 215-247, 1978.
- WISE, R.A.; BOZARTH, M.A. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol. Rev.*, **94**: 469-492, 1987.
- WISE, R.A.; BOZARTH, M.A. Action of drug of abuse on brain reward systems: An update with specific attention to opiate. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **17**: 239-243, 1982.
- WOOD, P.L. Opioid regulation of CNS dopaminergic: a review of methodology, receptor type, regional variations and species differences. *Peptide*, **4**: 595-601, 1983.
- WOOD, P.L.; RICHARD, S.W. Morphine and nigrostriatal function in the rat and mouse: the role of nigral and striatal opiate receptors. *Neuropharmacol.*, **21**: 1305-1310, 1982.
- WOOD, P.L.; STOTLAND, M.; RICHARD, J.W.; RACKLAM, A. Actions of mu, kappa, sigma, delta agonist/antagonist opiate on striatal dopaminergic function. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **215**: 697-703, 1980.
- WOOLVERTON, W.L.; JOHNSON, K.M. Neurobiology of cocaine abuse. *Trends Pharmacol. Sci.*, **13**: 193-200, 1992.

- WOOLVERTON, W.L.; KLEVEN, M.S. Multiple dopamine receptors and the behavioral effects of cocaine. In: Clouet, D.; Asghar, K.; Brow, r. (eds) Mechanisms of cocaine abuse and toxicity NIDA Res. Monogr. 88. US Government Printing office Washington (DHHS publication number (ADM) 88-1588), pp 160-184, 1988.
- YONEHARA, N.; CLOUET, D.H. Effects of delta and mu opioid peptides on the turnover and release of dopamine in rat striatum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **231**: 38-42, 1984.
- YOSHIMOTO, K.; Mc BRIDE, W.J.; LUMENG, L.E.; LI, T.K. Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol.*, **9**: 17-22, 1991.
- ZANNIN, M. Efeitos comportamentais induzidos pela administração aguda e prolongada de mazindol em ratos machos e fêmeas. **Dissertação de Mestrado.** Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1994.
- ZANNIN, M.; TAKAHASHI, R.N. Sex difference in sensitization to the locomotor effects of mazindol in rats. *Brain. Res. Bull.*, **34**: 385-387, 1994.