

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

JOÃO MARCOS DE MELLO BASTOS

**Reconsolidação da Memória: Efeito da Mudança do Estado Dopaminérgico na
Expressão do Condicionamento e da Sensibilização em um Modelo de
Dependência Química**

Campos dos Goytacazes
2014

JOÃO MARCOS DE MELLO BASTOS

**Reconsolidação da Memória: Efeito da Mudança do Estado Dopaminérgico na
Expressão do Condicionamento e da Sensibilização em um Modelo de
Dependência Química**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal e Linha de Pesquisa em Ensaios Farmacológicos, Afecções Clínicas e Cirúrgicas de Animais de Pequeno Porte.

ORIENTADORA: Prof.^a Marinete Pinheiro Carrera
CO-ORIENTADORA: Prof.^a Flávia Regina Cruz Dias

Campos dos Goytacazes
2014

JOÃO MARCOS DE MELLO BASTOS

**Reconsolidação da Memória: Efeito da Mudança do Estado Dopaminérgico na
Expressão do Condicionamento e da Sensibilização em um Modelo de
Dependência Química**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal e Linha de Pesquisa em Ensaios Farmacológicos, Afecções Clínicas e Cirúrgicas de Animais de Pequeno Porte.

Aprovada em 2014.

Membros da Comissão Examinadora:

Prof.^a Ana Bárbara Freitas Rodrigues
(DSc, Morfologia e Patologia dos Animais) – UENF

Prof. Enrrico Bloise
(PhD, Biotecnologia Médica) – UFRJ

Prof. Rodrigo Rodrigues de Oliveira
(DSc, Química de Produtos Naturais) – UENF

Prof.^a Marinete Pinheiro Carrera
(DSc, Psicobiologia) – UENF
(Orientadora)

A minha esposa Camila, pelo carinho, amor e compreensão.

A minha mãe Eloides, por estar sempre comigo em todas as etapas da minha vida.

As minhas irmãs Fabiana e Sarah e meu cunhado Helielson, pelo carinho e orações.

Ao Pastor Antônio, pela amizade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar sempre comigo, me suprimindo de todas as minhas necessidades.

Agradeço a minha orientadora, Marinete, pela dedicação e orientação na pesquisa.

Agradeço ao professor Rodrigo R. de Oliveira pela amizade e por ter me direcionado a entrar na área da pesquisa.

Agradeço o companheirismo e o aprendizado que obtive com os amigos de Laboratório Frederico e Victor Hugo.

Agradeço a professora Flávia pela amizade e pela a co-orientação da tese.

Agradeço a Joana do biotério Central da UENF pela gentileza ao entregar os animais.

Agradeço o profissionalismo e gentileza de Jovana Ferraz Cerqueira Campos, Conceição Custódio dos Santos e Olney Vieira da Motta da coordenação de pós-graduação em ciência animal.

Agradeço aos vigilantes Sebastião e Márcia.

Agradeço a UENF (Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro) e ao CCTA (Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias).

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de mestrado.

Agradeço aos professores que aceitaram participar da banca de análise dessa tese.

Não temas, porque eu sou contigo. Não
te assombres, porque eu sou o teu
Deus. Eu te fortaleço, e te ajudo e te
sustento com a minha destra fiel.

(Isaías, 41:10)

RESUMO

A dependência química é uma doença crônica, progressiva e recidivante que se caracteriza pela propensão permanente dos pacientes à recaída. Estudos mostram que o condicionamento e a sensibilização comportamental estão envolvidos na dependência química. O condicionamento é um tipo de aprendizagem associativa resultante da interação de um estímulo com o ambiente e a sensibilização é um processo caracterizado por um aumento progressivo de uma determinada resposta comportamental e/ou fisiológica quando a mesma dose de um psicoestimulante é administrada repetidamente. A dopamina é importante para o condicionamento e a sensibilização, pois o aumento da liberação de dopamina aumenta o efeito excitatório dos psicoestimulantes ocasionando o condicionamento e sensibilização. Com a finalidade de inibir ou atenuar esses processos de aprendizagem, o tratamento de reconsolidação da memória e o protocolo de contracondicionamento podem ser empregados para o tratamento da dependência. A reconsolidação da memória pode ser utilizada para modificar memórias já consolidadas, já que ao serem evocadas, as memórias passam de um estado consolidado para um estado vulnerável sujeito a modificação. O protocolo de contracondicionamento consiste em substituir um estímulo associado a uma determinada resposta comportamental inadequada por outro estímulo que atenua e/ou elimine essa resposta inadequada. O objetivo do presente trabalho foi verificar se a apomorfina na dose baixa de 0,05 mg/kg (autorreceptor) utilizada no protocolo de contracondicionamento e no tratamento de reconsolidação da memória produziria inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada produzida por apomorfina 2 mg/kg (dose que estimula os receptores dopaminérgicos D1 e D2 pós-sinápticos). Realizou-se 4 experimentos; nos experimentos 1 e 2 utilizou-se o protocolo de contracondicionamento e nos experimentos 3 e 4 utilizou-se o tratamento de reconsolidação da memória. Todos os experimentos tiveram fases comuns, como a fase de indução que um grupo recebeu apomorfina 2,0 mg/kg e um outro grupo recebeu veículo. Imediatamente após as administrações, os animais foram colocados em uma arena por 30 minutos, durante 5 dias consecutivos. Após um período de dois dias de retirada, houve o teste de condicionamento 1 no qual todos os animais receberam veículo e foram colocados na arena por 5 minutos. No dia posterior, ocorreu a reindução onde os animais receberam o mesmo tratamento

aplicado na fase de indução. Após essas fases comuns, os animais foram subdivididos e submetidos ao protocolo de contracondicionamento (experimentos 1 e 2) ou ao tratamento de reconsolidação (experimentos 3 e 4). No experimento 1, um grupo de animais recebeu apomorfina 0,05 mg/kg e outro grupo recebeu veículo e foram colocados imediatamente na arena por 5 minutos. O experimento 2 foi semelhante ao experimento 1 diferenciado-se somente que os animais foram colocados na arena 15 minutos após a administração dos tratamentos. No experimento 3, inicialmente os animais receberam veículo e foram colocados imediatamente na arena por 5 minutos (teste de reativação da memória). Imediatamente após o término do teste, um grupo de animais recebeu apomorfina 0,05 mg/kg e outro recebeu veículo como tratamento de reconsolidação. O experimento 4 foi semelhante ao experimento 3 diferenciado-se somente que o tratamento de reconsolidação foi aplicado 15 minutos após o teste de reativação da memória. No dia seguinte, houve o teste de condicionamento 2 e no dia seguinte ocorreu o teste de sensibilização no qual todos os animais receberam apomorfina 2 mg/kg, exceto o grupo veículo. Os resultados mostraram que na fase de indução houve um aumento progressivo da locomoção no grupo apomorfina 2,0 mg/kg o que caracteriza o desenvolvimento da sensibilização locomotora. Houve também a expressão de uma resposta locomotora condicionada nesse mesmo grupo. Os resultados dos experimentos de contracondicionamento mostraram que esse protocolo produziu o bloqueio da expressão da resposta locomotora condicionada, mas não bloqueou/atenuou a resposta locomotora sensibilizada. Os resultados mostraram que o tratamento de reconsolidação foi capaz de bloquear a expressão da resposta condicionada e sensibilizada quando o tratamento foi administrado imediatamente após o teste de reativação. Esses resultados sugerem que a reconsolidação da memória pode se tornar uma nova abordagem terapêutica não-invasiva no tratamento de memórias mal-adaptadas, especialmente aquelas relacionadas ao uso de psicoestimulantes.

Palavras-chave: Reconsolidação da Memória; Condicionamento; Sensibilização; Contracondicionamento; Apomorfina; Locomoção; Dopamina.

ABSTRACT

Drug abuse is a chronic, progressive and relapsing disease, characterized by the permanent risk of patient relapse. Studies have shown that conditioning and behavioral sensitization are involved in drug addiction. Conditioning is a type of associative learning which results from the interaction of a stimulus with the environment and behavioral sensitization is a process characterized by a progressive increase of a certain behavioral and/or physiological response when the same dose of a psychostimulant drug is chronically administered. Dopamine is important for conditioning and behavioral sensitization due to the increased release of dopamine increasing the excitatory effect of a psychostimulant, causing conditioning and sensitization. In order to inhibit or reduce these learning processes, memory reconsolidation and counter-conditioning protocols can be used for the treatment of addiction. Memory reconsolidation can be used to modify memories already consolidated, being evoked, memories pass from a consolidated to a vulnerable state, subject to modification. The counter-conditioning protocol consists of replacing a stimulus associated with a particular inadequate behavioral response with another stimulus used to mitigate and/or eliminate this inadequate response. The objective of this study was to determine whether a low dose of apomorphine 0,05 mg/kg (autoreceptor dose) used in the counter-conditioning protocol and treatment of memory reconsolidation could produce inhibition/attenuation of a conditioned and sensitized locomotor response produced by apomorphine 2,0 mg/kg (dose which stimulates the D1 and D2 postsynaptic dopaminergic receptors). In experiments 1 and 2 we used a counter-conditioning protocol; in experiments 3 and 4 we used a memory reconsolidation protocol. All experiments had common phases. Induction phase: when one group received Apomorphine 2,0 mg/kg and another group received vehicle. Immediately after administration, the animals were placed on an arena for 30 minutes for 5 consecutive days. After a period of two days of withdrawal, conditioning test 1 was performed, in which all animals received vehicle and were placed in the arena for 5 minutes. On the following day, reinduction occurred where animals received the same treatment applied to the induction phase. After these common phases, the animals were subdivided and subjected to a counter-conditioning protocol (experiments 1 and 2) or reconsolidation treatment (experiments 3 and 4). In the first experiment, one group of animals received apomorphine 0,05 mg/kg and

another group received vehicle and were immediately placed in the arena for 5 minutes. Experiment 2 was similar to experiment 1, the only difference being that the animals were placed in the arena 15 min after administration of the treatments. In experiment 3, initially the animals received vehicle and were immediately placed in the arena for 5 minutes (test reactivation of memory). Immediately after the test, a group of animals received apomorphine 0,05 mg/kg and the other group received vehicle as a reconsolidation treatment. The fourth experiment was similar to experiment 3, the only difference was that that treatment of reconsolidation was carried out 15 minutes after the memory reactivation test. On the following day, conditioning test 2 was carried out and the day after that, the sensitization test was carried out in which all animals received apomorphine 2,0 mg/kg, except the vehicle group. The results showed that in the induction phase there was a progressive increase in mobility in the apomorphine 2,0 mg/kg group, which characterizes the development of locomotor sensitization. The expression of a conditioned locomotor response was also observed in this group. The results of the experiments showed that the counter-conditioning protocol blocked the expression of a conditioned locomotor response, but did not block/attenuate the sensitized locomotor response. The results showed that treatment of reconsolidation was able to block the expression of the sensitized and conditioned response when treatment was administered immediately after the reactivation test. These results suggest that memory reconsolidation could be a new non-invasive therapeutic approach in the treatment of maladapted memories, especially those related to the use of psychostimulants.

Keywords: Memory Reconsolidation; Conditioning; Behavioral Sensitization; Counterconditioning; Apomorphine; Locomotion; Dopamine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Neurotransmissão dopaminérgica.....	26
Figura 2 - Representação das vias dopaminérgicas.....	27
Figura 3 - Estrutura química da apomorfina.....	29
Figura 4 - Timeline do experimento 1.....	44
Figura 5 - Timeline do experimento 2.....	46
Figura 6 - Timeline do experimento 3.....	48
Figura 7 - Timeline do experimento 4.....	50
Figura 8 - EthoVision.....	53
Figura 9 - Habituação.....	54
Figura 10 - Fase de Indução do experimento 1.....	56
Figura 11 - Tratamento de contracondicionamento.....	59
Figura 12 - Fase de Indução do experimento 2.....	61
Figura 13 - Tratamento de contracondicionamento do experimento 2.....	64
Figura 14 - Fase de Indução do experimento 3.....	66
Figura 15 - Tratamento de reconsolidação do experimento 3.....	69
Figura 16 - Fase de Indução do experimento 4.....	71
Figura 17 - Tratamento de reconsolidação do experimento 4.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Procedimento experimental geral.....	41
Tabela 2 - Grupos e tratamentos do experimento 1.....	46
Tabela 3 - Grupos e tratamentos do experimento 2.....	48
Tabela 4 - Grupos e tratamentos do experimento 3.....	50
Tabela 5 - Grupos e tratamentos do experimento 4.....	52

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 O CONDICIONAMENTO CLÁSSICO OU PAVLOVIANO	19
2.2 A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL	22
2.3 O SISTEMA DOPAMINÉRGICO	25
2.4 APOMORFINA	28
2.5 CONSOLIDAÇÃO E RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA	29
2.6 CONTRACONDICIONAMENTO	34
3. OBJETIVOS	39
3.1 OBJETIVO GERAL	39
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4. MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 SUJEITOS.....	40
4.2 AMBIENTE EXPERIMENTAL	40
4.3 FÁRMACO	41
4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	41
4.4.1 Fase de Habituação (1º - 3º dia).....	42
4.4.2 Tratamento Farmacológico (4º - 8ª dia)	42
4.4.3 Fase de Retirada (9º - 10º dia)	42
4.4.4 Teste de Condicionamento 1 (11º dia)	43
4.4.5 Re-indução (12º dia).....	43
4.4.6 Tratamento de contracondicionamento e Tratamento de reconsolidação da Memória (13º dia)	43
4.4.7 Teste de Condicionamento 2 (14º dia)	44
4.4.8 Teste de Sensibilização (15º dia).....	44

4.5 EXPERIMENTO 1: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg IMEDIATAMENTE ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	44
4.6 EXPERIMENTO 2: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg, ADMINISTRADA 15 MINUTOS ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	46
4.7 EXPERIMENTO 3: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg ADMINISTRADA IMEDIATAMENTE APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	48
4.8 - EXPERIMENTO 4: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg 15 MINUTOS APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	50
4.9 ANÁLISE COMPORTAMENTAL.....	52
4.10 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	53
5. RESULTADOS	54
5.1 FASE DE HABITUAÇÃO.....	54
5.2 EXPERIMENTO 1: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg IMEDIATAMENTE ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA.....	55
5.3 EXPERIMENTO 2: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg ADMINISTRADA 15 MINUTOS ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	60
5.4 EXPERIMENTO 3: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg ADMINISTRADA IMEDIATAMENTE	

APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA.....	65
5.5 EXPERIMENTO 4: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg 15 MINUTOS APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	70
6. DISCUSSÃO	75
6.1 PERÍODO DE HABITUAÇÃO.....	75
6.2 FASE DE INDUÇÃO	75
6.3 TESTE DE CONDICIONAMENTO 1	76
6.4 RE-INDUÇÃO.....	78
6.5 EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRA-CONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg, IMEDIATAMENTE E 15 MINUTOS ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA, SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA PREVIAMENTE CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	78
6.6 EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg IMEDIATAMENTE E 15 MINUTOS APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA PREVIAMENTE CONDICIONADA E SENSIBILIZADA	84
7. CONCLUSÕES	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
ANEXO	115
ARTIGO - Drug memory substitution during re-consolidation: A single inhibitory autoreceptor apomorphine treatment given during psychostimulant memory re-consolidation replaces psychostimulant conditioning with conditioned inhibition and reverses psychostimulant sensitization	115

1. INTRODUÇÃO

A dependência química é uma doença crônica progressiva, recidivante, caracterizada pela propensão permanente dos indivíduos dependentes à recaída, sendo um transtorno da função cerebral ocasionado pelo consumo de substâncias psicoativas. Essas substâncias afetam processos cerebrais como o senso de percepção, processos emocionais e motivacionais, de modo que quando o consumo da droga é interrompido e a substância não está mais presente no corpo, há uma motivação forte para a retomada do consumo, mesmo após meses ou anos sem a sua administração.

Estudos sugerem que dois fatores estão envolvidos e contribuem para o quadro de dependência química. Um fator é o processo de sensibilização comportamental, que é caracterizado pelo aumento progressivo de uma determinada resposta comportamental, quando a mesma dose da droga é administrada. A sensibilização se constitui em um modelo de neuroplasticidade, no qual as alterações comportamentais produzidas pela droga, podem estar ligadas às adaptações neurobiológicas e moleculares permanentes produzidas pelo uso crônico da mesma. Os estudos sobre como a sensibilização contribui para o comportamento dos usuários de drogas, não está claro, mas as adaptações neuroplásticas relacionadas à sensibilização comportamental acarretariam no desenvolvimento do comportamento compulsivo de ingestão, desejo e recaída por drogas.

O outro fator é o condicionamento, que é uma aprendizagem associativa, ou seja, um tipo de aprendizagem na qual uma mudança comportamental apresentada pelo indivíduo é resultado da sua interação com o ambiente. O condicionamento se estabelece quando os efeitos das substâncias psicoativas são associados ao ambiente, fazendo com que as lembranças ambientais do local se tornem associadas ao uso da droga e seus efeitos. O processo de condicionamento pode ocorrer por um estímulo condicionado que é associado com um ambiente específico, ou estímulo incondicionado que é associado com a administração de uma droga ou um fármaco psicoativo.

A propensão permanente de um dependente químico à recaída sugere que não são somente os efeitos prazerosos ou os efeitos da abstinência que mantêm o

uso das drogas. Uma teoria da dependência proposta por EVERITT e colaboradores (EVERITT et al., 2001; EVERITT e ROBBINS, 2005) sugere que a propensão permanente para a recaída seja em consequência da formação de memórias associadas à droga, as quais podem manter os comportamentos de busca e consumo de drogas e essas memórias também podem precipitar o comportamento de procura pela droga no período de abstinência. Assim, o bloqueio e/ou atenuação do desenvolvimento do condicionamento e sensibilização são objetivos altamente desejáveis na terapia da dependência química.

Pesquisas recentes relatam que as memórias formadas ou consolidadas podem se tornar lábeis e susceptíveis a interrupções quando evocadas, por processos conhecidos como reativação, recordação, lembrança ou recuperação. Quando ocorre o processo de evocação, as memórias consolidadas retornam ao seu estado vulnerável e precisam passar por um novo processo de estabilização, que depende da síntese protéica e de outros mecanismos moleculares, chamado de processo de reconsolidação.

Outro processo possível de ser utilizado para o tratamento da dependência química é o protocolo de contracondicionamento. Este protocolo consiste em condicionar uma resposta contrária àquela produzida pelo estímulo condicionado, em outras palavras, consiste em produzir uma resposta comportamental diferente da resposta apresentada inicialmente por um indivíduo diante de alguma situação de medo ou desejo. Conseqüentemente produzirá uma nova associação e será gerada uma nova aprendizagem. O protocolo de contracondicionamento é utilizado para eliminar respostas condicionadas indesejáveis (BRENDAN et al., 2012; SCHWECKENDIEK et al., 2013) como fobias de aranhas (JONG et al., 2000) e o medo de cães a tempestades, objetos e barulhos como os de fogos de artifício (LEVINE et al., 2011).

Trabalhos recentes do nosso laboratório utilizando um modelo experimental de dependência de drogas utilizando o agonista direto de receptores dopaminérgicos D1 e D2, apomorfina, mostraram que essa substância psicomotora na dose de 2,0 mg/kg produz tanto uma resposta locomotora condicionada quanto sensibilizada (BLOISE et al., 2007; BRAGA et al., 2009a, b; MATOS et al., 2010; DIAS et al., 2010; CARRERA et al., 2011; CARRERA et al., 2012; CARRERA et al., 2013). Trabalhos recentes do nosso grupo de pesquisa mostraram que uma dose baixa de apomorfina (0,05 mg/kg), mas não uma dose elevada (2,0 mg/kg) diminuiu a

resposta locomotora condicionada (CARRERA et al., 2011) e sensibilizada (CARRERA et al., 2012) quando administrada em um protocolo de reconsolidação da memória.

Sendo a dopamina um neurotransmissor envolvido na expressão dos processos de condicionamento e sensibilização será que uma mudança no estado dopaminérgico poderia afetar a expressão destes processos? Para responder esta hipótese o objetivo do presente trabalho foi verificar se a apomorfina 0,05 mg/kg (autorreceptor) utilizada no protocolo de contracondicionamento administrado imediatamente e 15 minutos antes da exposição dos animais à arena experimental (teste de reativação da memória) produziria a inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada produzida por apomorfina 2,0 mg/kg. Além disso, verificou-se também o efeito do tratamento de reconsolidação da memória com apomorfina 0,05 mg/kg, administrado imediatamente ou 15 minutos após o teste de reativação da memória, sobre o condicionamento e a sensibilização comportamental.

A apomorfina em doses baixas (<0,1 mg/kg) atua preferencialmente em auto-receptores D2 produzindo uma diminuição da atividade locomotora, não produzindo o desenvolvimento de uma resposta condicionada e nem sensibilização comportamental (BRAGA et al., 2009a). Assim, acredita-se que o protocolo de contracondicionamento produza o bloqueio da resposta locomotora condicionada, mas não da resposta locomotora sensibilizada. Por outro lado, acredita-se que o tratamento de reconsolidação com apomorfina 0,05 mg/kg administrado imediatamente após o teste de reativação da memória, mas não o administrado 15 minutos após o teste de reativação, atenua a expressão do condicionamento e da sensibilização locomotora.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O CONDICIONAMENTO CLÁSSICO OU PAVLOVIANO

O condicionamento constitui um modelo de aprendizagem, no qual, ocorre o processo de modificação comportamental dos indivíduos, resultantes de suas

interações com o ambiente (BEAVER, 2001), ocorrendo uma incorporação de novas informações, que possivelmente podem passar pelo processo de consolidação na memória (LENT, 2002).

O condicionamento difere-se em dois tipos, o condicionamento pavloviano clássico e o condicionamento operante. O condicionamento pavloviano clássico é um processo que reflete a capacidade de estímulos ambientais originalmente neutros adquirirem propriedades motivacionais positivas após serem apresentados repetidamente na presença de um outro estímulo ou substância com potencial de abuso (SANCHIS e SPANALGEL, 2006). O condicionamento operante ou instrumental reflete um aumento na probabilidade de recorrência de um determinado comportamento, quando a resposta esperada é positiva, ou seja, a ocorrência da administração ativa da cocaína pelo próprio usuário devido à obtenção subsequente de um reforçador subjetivamente prazeroso (BARDO e BEVINS, 2000), sendo negativa, além de diminuir a probabilidade de sua ocorrência futura, gera outros efeitos colaterais (SKINNER, 1982).

O condicionamento clássico foi desenvolvido pelo fisiologista russo Ivan Petrovitch Pavlov no início do século XX para um estudo de aprendizado. Seu experimento foi desenvolvido através de observações do comportamento de um cão diante da apresentação de um som de uma sineta e de um alimento (CATANIA, 1999). Em seu experimento, Pavlov observou a quantidade de saliva produzida pelo cão de acordo com a qualidade do alimento apresentado. Acidentalmente descobriu que outros estímulos além da comida também estavam produzindo salivação no cão, como os sons de suas pegadas ao chegar ao laboratório ou simplesmente a aproximação da hora em que os experimentos eram realizados (MOREM e MEDEIROS, 2007).

Basicamente em seu experimento Pavlov utilizou o método da associação, ou seja, apresentar um estímulo e logo em seguida apresentar outro para o cão, a carne (estímulo que naturalmente eliciava a resposta de salivação) e o som da sineta (estímulo que não eliciava a resposta de salivação), medindo a quantidade de gotas de saliva produzidas (resposta) quando os estímulos eram apresentados. O som da sineta era incapaz de promover a salivação é denominado de estímulo neutro, pois não evoca a salivação logo de início. Uma vez que o estímulo neutro começa a eliciar uma resposta condicionada, chama-se estímulo condicionado (EC). Na segunda fase do experimento ocorreu a colocação de uma pequena quantidade

de pó de carne na boca do animal, que imediatamente começa a salivar. A quantidade de pó de carne é denominada de estímulo incondicionado (EI) e a resposta de salivação é denominada de resposta incondicionada (RI). A terceira fase do experimento buscou estabelecer a associação entre o estímulo neutro e o estímulo incondicionado, de modo que os dois estímulos começam a ser apresentados simultaneamente, sendo o som da sineta apresentado um pouco antes do alimento, para levar o cão a aprender que o som e a comida vinham juntos (ATINKSON, 1995; MOREM e MEDEIROS, 2007).

Após executar cerca de 60 emparelhamentos dos estímulos (carne e som da sineta), Pavlov apresentou para o cão apenas o som da sineta, e mediu a quantidade de saliva produzida. Ele observou que o som da sineta havia eliciado no cão a resposta de salivação, ou seja, o cão havia aprendido um reflexo de salivar ao ouvir o som da sineta, houve a associação do som da sineta com a comida (MOREM e MEDEIROS, 2007).

Em um experimento posterior, Pavlov utilizou uma droga, a apomorfina, como estímulo incondicionado. Foram realizadas administrações por via subcutânea, em cães, após dois ou três minutos decorridos da administração da droga, um som era emitido. Os efeitos fisiológicos causados pela apomorfina nos cães eram inquietações, salivação excessiva e tendência à êmese, classificando assim as respostas fisiológicas produzidas pelos efeitos da droga, como respostas incondicionadas. Após várias associações entre o som (estímulo condicionado) e a administração de apomorfina (estímulo incondicionado), Pavlov verificou que somente apresentação do som já era capaz de produzir os efeitos gerados pela droga, também denominados efeitos condicionados, pois foram adquiridos por meio de um processo de aprendizagem associativa (PAVLOV, citado por MCKIM, 2000).

O processo de condicionamento exerce um grande poder sobre os dependentes químicos, uma vez que os estímulos contextuais apresentados continuamente são transformados em estímulos condicionados, de modo que estes estímulos podem reforçar e motivar o comportamento viciante (ROBINSON e BERRIDGE, 1993; ROBINSON e BERRIDGE, 2001). Após várias associações entre o ambiente e os efeitos das drogas, o ambiente por si só é capaz de eliciar efeitos similares aos produzidos pelas drogas (BROWN et al., 1992; FONTANA et al., 1993).

A exposição de um estímulo condicionado (dicas ambientais) sem a presença da droga é suficiente para eliciar um desejo intenso de consumo da droga que

frequentemente leva ao quadro de recaída (SELF e NESTLER, 1998). Atualmente, vários experimentos têm demonstrado que os efeitos psicomotores estimulantes de drogas agonistas dopaminérgicas de ação indireta (cocaína e anfetamina) e agonistas dopaminérgicas de ação direta (apomorfina) podem tornar-se associadas com os estímulos ambientais, levando ao desenvolvimento do processo de condicionamento (FEIFEL e PRIEBEM, 2002; CAREY e GUI, 1997; DIAS et al., 2006). A utilização de uma droga psicoestimulante como a apomorfina, por exemplo, foi utilizada em uma dosagem de 2,0 mg/kg associada a um contexto ambiental, produzindo um aumento da atividade locomotora, em testes de induções utilizando um modelo animal (CAREY et al., 2008; BRAGA et al., 2009; CARRERA et al., 2011).

No experimento realizado por BRAGA e colaboradores (2009a, 2009b), a apomorfina foi à droga de escolha para induzir respostas comportamentais condicionadas e sensibilizadas utilizando um protocolo de condicionamento pavloviano. No protocolo pavloviano, o tratamento utilizando a mesma droga é administrado a grupos diferentes, com tratamentos pares ou ímpares para o teste no ambiente. Tem sido relatado (BRAGA et al., 2009a,b; DIAS et al., 2010) que o efeito de hiperlocomoção da apomorfina é expressada com uma resposta condicionada ou com uma resposta sensibilizada, ocorrendo apenas nos grupos de tratamento associados ao ambiente.

A administração repetida de agonistas de dopamina, num contexto ambiental, consiste em resultados de condicionamento clássico da ativação locomotora para o ambiente, a ativação locomotora pode ser subsequêntemente induzida pela administração de uma droga biologicamente inerte (por exemplo, solução salina) que é administrado em mesmo contexto ambiental (MATTINGLY e GOTSICK, 1989). A atividade locomotora induzida por agonista da dopamina (KELLY et al., 1975; CARR e WHITE, 1987), são mediadas pela transmissão de dopamina aumentada na via mesolímbica (SWERDLOW et al., 1990). Estímulos variados, como cor, textura, tamanho ou odores podem ser usados na obtenção de um condicionamento contextual (BARDO e BEVINS, 2000), tendo sido evidenciado em quase sua totalidade em roedores. (BARDO e BEVINS, 2000; WEERTS et al., 2007).

É incontestável a influência do contexto ambiental na modulação dos efeitos comportamentais produzidas por drogas psicomotoras (ROBINSON et al., 1998).

2.2 A SENSIBILIZAÇÃO COMPORTAMENTAL

O processo de sensibilização comportamental é conceituado como um aumento progressivo de uma determinada resposta comportamental quando a mesma dose de uma droga psicoestimulante ou psicomotora é administrada repetidamente (ROBINSON e BECKER, 1986; KALIVAS e STEWART, 1991). Pode ser verificado neste processo características como um aumento da atividade locomotora, comportamento rotacional e comportamento estereotipado, devido à administração repetida de drogas de abuso (ROBINSON e BERRIDGE, 2000).

A ativação psicomotora ocorre em grande parte pela sobreposição das vias neurais que a controlam, com as vias dopaminérgicas responsáveis pelos efeitos das substâncias psicoestimulantes, incluindo a via mesocorticolímbica. Uma vez que essas vias se sobrepõem, pode-se avaliar o efeito das substâncias psicoativas através do comportamento locomotor (WISE, 1987). Evidências demonstram que a sensibilização comportamental envolve alterações duradouras nos circuitos de recompensa relacionados ao núcleo acumbens (ROBINSON e BERRIDGE, 2000), e resulta em adaptações neuroquímicas na via mesocorticolímbica sendo classicamente demonstrado que a sensibilização da atividade locomotora está relacionada ao aumento da liberação de dopamina no núcleo acumbens em resposta às substâncias psicoativas (WOLF et al., 1993; ZAPATA et al., 2003). O processo de sensibilização comportamental compõe em um modelo de neuroplasticidade no qual alterações comportamentais produzidas por um psicoestimulantes podem estar ligadas às adaptações neurobiológicas e moleculares (ROBINSON e BECKER, 1986; KALIVAS e STEWART, 1991).

As adaptações neuroplásticas relacionadas ao processo de sensibilização comportamental segundo SEGAL e KUCZENSKI (1991), ocasionariam o desenvolvimento do comportamento compulsivo de ingestão, desejo e recaída por drogas. Uma teoria proposta por ROBINSON e BERRIDGE (1993) mostrou que a sensibilização representaria um incentivo para o uso abusivo de drogas, assinalando que o desejo de buscar a droga seria um estado de incentivo resultante da liberação de dopamina por neurônios dopaminérgicos, sensibilizados pela exposição repetida a drogas psicoestimulantes, principalmente, em áreas mesocorticolímbicas. Por

exemplo, a sensibilização comportamental à cocaína relaciona-se a um aumento nos níveis extracelulares de dopamina no núcleo acumbens (KALIVAS e DUFFY, 1991), sendo visto como um dos principais mecanismos subjacentes aos efeitos comportamentais e fisiológicos observados da cocaína. Este aumento leva a uma ativação da via mesocorticolímbica dopaminérgica conhecida como uma via do sistema de recompensa/prazer (CANNON e BSEIKRI, 2004).

Estudos sugerem que receptores de dopamina estão envolvidos no desenvolvimento da sensibilização comportamental quando ocorre a administração de agonistas dopaminérgicos (PERIS e ZAHNISER, 1989; UJIKE et al., 1989; HAMAMURA et al., 1991; BRAGA et al., 2009; CARRERA et al., 2011), pois a administração de antagonistas de receptores dopaminérgicos inibe o desenvolvimento da sensibilização comportamental (VEZINA e STEWART, 1989; VEZINA, 1996, DIAS et al., 2010). As drogas como anfetaminas, apomorfina, cocaína, opióides, podem produzir sensibilização comportamental, que pode ser persistente, assim como a dependência, podendo persistir por meses ou anos após a interrupção do tratamento (KARLER et al., 1990, PAULSON, CAMP e ROBINSON, 1991; CASTNER e GOLDMAN-RAKIC, 1999, HOPE et al., 2006).

A apomorfina é classificada como uma droga agonista dopaminérgico de ação direta em receptores dopaminérgicos do tipo D1 e D2, é frequentemente utilizada em estudos do comportamento associados ao sistema dopaminérgico (ESTRELLA et al., 2002; ELLENBROEK e COOLS, 2002).

Trabalhos realizados em nosso grupo de pesquisa mostraram que administrações repetidas de apomorfina em dose elevada (2,0 mg/kg) produziram o desenvolvimento da sensibilização comportamental e condicionamento, ocasionando uma alteração comportamental nos animais caracterizado pelo aumento da atividade locomotora dos animais. Esses efeitos são em decorrência da ação da apomorfina, que na dose de 2 mg/Kg, atua preferencialmente em receptores dopaminérgicos do tipo D1 e D2 pós-sinápticos (BRAGA et al., 2009ab; CAREY et al., 2008; DE MATOS et al., 2011; CARRERA et al., 2011, 2012, 2013; BASTOS et al., 2013).

Quando uma droga é administrada repetidamente em um determinado ambiente, o estímulo ambiental, através de sua história de associação com a exposição à droga, promoverá a expressão tanto dos efeitos comportamentais, quanto dos efeitos bioquímicos da droga (DREW e GLICK, 1988). O contexto ambiental e histórico de exposição às drogas modula os efeitos das drogas; tanto

efeitos comportamentais quanto de expressão gênica e plasticidade neural. Um contexto ambiental pode promover comportamento de busca pela droga mesmo após longos períodos de abstinência (CAPRIOLI et al., 2007; BADIANI e ROBINSON, 2004).

O processo de aprendizado associativo (associação dos efeitos da droga com determinado contexto) pode modular a sensibilização neural e consequentemente o comportamento (ANAGNOSTARAS e ROBINSON, 1996; ROBINSON et al., 1998). Quando animais desenvolvem a sensibilização comportamental somente no ambiente em que receberam a droga, diz-se que a sensibilização é específica ao contexto (PERT, POST e WEISS, 1990; ANAGNOSTARAS e ROBINSON, 1996). Segundo TODTENKOPF e CARLEZON (2006), a dose da droga e o tempo que os animais permaneceram no ambiente experimental influenciaram a magnitude da resposta comportamental em longo-prazo em ratos que receberam anfetamina e cocaína repetidamente.

Estudos realizados por ANAGNOSTARAS e ROBINSON (1996), observaram que a sensibilização induzida pela anfetamina desenvolveu o comportamento rotacional quando o animal era colocado em um ambiente no qual se desenvolveu a sensibilização anteriormente, entretanto, esse fenômeno não ocorre em um ambiente não associado. Os fatores extra-farmacológicos são responsáveis, em grande parte, pela modulação dos efeitos de desenvolvimento e de expressão da sensibilização comportamental (BADIANI e ROBINSON, 1995).

A sensibilização comportamental não é um simples fenômeno farmacológico segundo ROBINSON e BERRIDGE 1995, a indução como a expressão da sensibilização pode ser modulada por fatores não farmacológicos, incluindo dicas ambientais associadas à administração da droga.

2.3 O SISTEMA DOPAMINÉRGICO

A dopamina é um neurotransmissor que desempenha sua ação no sistema nervoso central, onde também ocorre sua síntese, entretanto, ocorre uma pequena produção na porção medular das glândulas adrenais, podendo também ser detectada em alguns tecidos não-neuronais, como no pâncreas e na hipófise

anterior (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001). Pertence a classe das catecolaminas endógenas, tendo influência em várias atividades celulares, como por exemplo, nas atividades comportamentais, síntese e liberação de hormônios, pressão sanguínea e controle motor (CAVALLOTTI et al., 2004), e pode atua em receptores dopaminérgicos pré e pós sinápticos (GRAEFF e GUIMARAES, 2001).

A síntese da dopamina (DA) inicia-se a partir da tirosina, um aminoácido aromático essencial (figura 1). Esse aminoácido, no entanto, pode ser sintetizado a partir da fenilalanina no fígado. A tirosina entra no neurônio por meio de um mecanismo sódio-dependente, onde a sua conversão para dopamina depende da ação de duas enzimas: a) tirosina hidroxilase (TH) e b) aminoácido aromático descarboxilase (DCC), que catalisam a formação da dihidroxifenilalanina (LDOPA) e da dopamina, respectivamente (TARAZI et al., 2004).

A DA é, então, translocada para vesículas secretórias para armazenagem, proteção e secreção. A fusão das vesículas secretórias com a membrana plasmática resulta na liberação de dopamina na fenda sináptica ou no espaço extracelular, como é o caso de neurônios dopaminérgicos tubero-hipofisários (BOULTON e EISENHOFER,1998). O neurotransmissor liga-se, assim, aos receptores de membrana acoplados à proteína G, com o início dos efeitos intracelulares nas células alvo. Na fenda sináptica, a dopamina que não se liga nos receptores é recaptada pelos transportadores de dopamina (DTA), localizados na membrana plasmática dos neurônios pré-sinápticos (ABRAHAM, 2003).

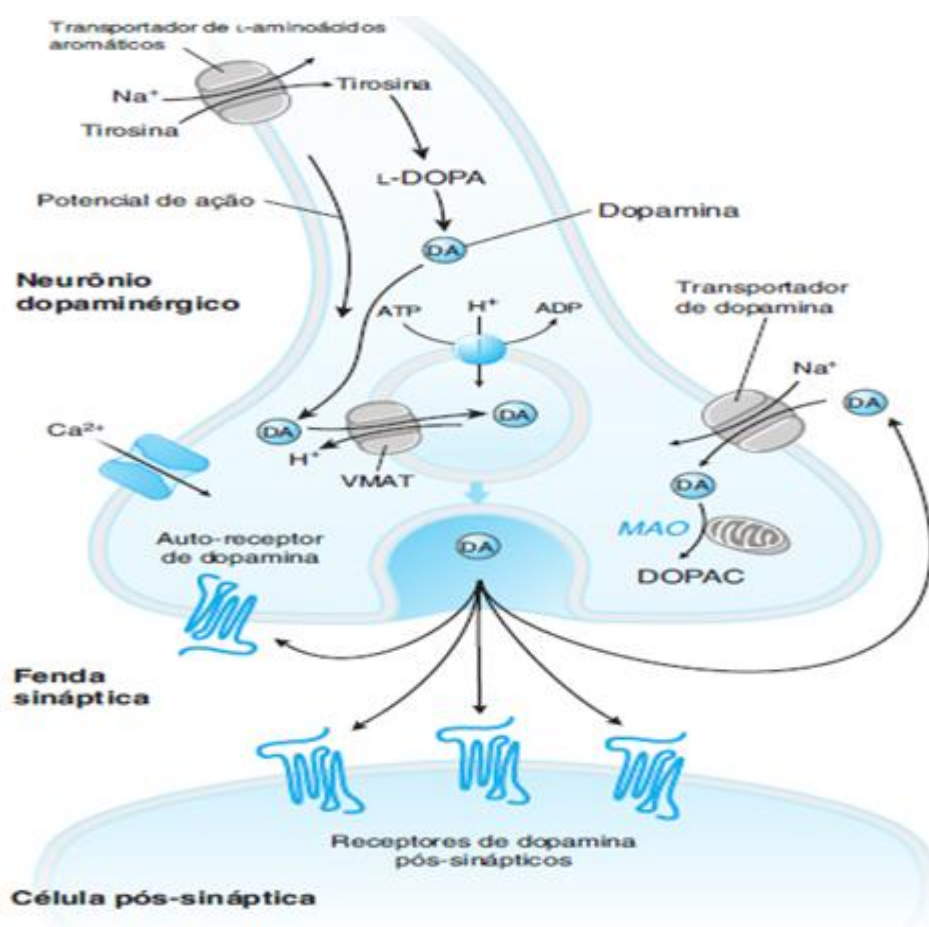


Figura 1: Neurotransmissão dopaminérgica. A dopamina (DA) é sintetizada no citoplasma e transportada em vesículas secretoras pela ação de um antiportador de prótons não seletivo de monoaminas (VMAT), que é impulsionado pelo gradiente eletroquímico criado por uma ATPase de prótons. Com estimulação da célula nervosa, a DA é liberada na fenda sináptica, onde o neurotransmissor pode estimular receptores dopaminérgicos pós-sinápticos e auto-receptores dopaminérgicos pré-sinápticos. A DA é transportada para fora da fenda sináptica pelo transportador de dopamina (DAT) seletivo acoplado ao Na⁺. A DA citoplasmática é retransportada para dentro das vesículas secretoras pelo VMAT ou degradada pela enzima monoamina oxidase (MAO). STANDAERT, G.D; GALANTER, J.M. **Farmacologia da Neurotransmissão Dopaminérgica**, cap.12, p.168, 2002.

Um grande número de doenças como a Doença de Parkinson, esquizofrenia e as psicoses, podem incidirem quando acontecem alterações no sistema dopaminérgico. No eixo neuroendócrino, disfunções da dopamina hipotalâmica ou nos receptores hipofisários levam à hiperprolactinemia e a distúrbios reprodutivos, já que a dopamina é a principal reguladora da expressão do gene e da secreção de prolactina (BENJONATHAN e HNASKO, 2001).

Existem cinco principais sistemas dopaminérgicos centrais onde são também conhecidos como as vias dopaminérgicas (figura 2). A primeira via é a mesolímbico-

mesocortical que se projeta dos corpos celulares próximos da substância negra para o sistema límbico e o neocórtex. A segunda via é a nigroestriatal que consiste dos neurônios que se projetam da substância negra até os núcleos caudado e putâmem (corpo estriado). A terceira via é a túbero-infundibular que liga os núcleos arqueados e neurônios periventriculares ao hipotálamo e à hipófise posterior. A quarta via do sistema dopaminérgico é a medular-periventricular formada pelos neurônios no núcleo motor do vago, cujas projeções ainda não estão bem definidas. A quinta via é a incerta-hipotalâmica que estabelece conexões entre a zona incerta medial, o hipotálamo e a amígdala (BRANDÃO, 1993; GREENSPAN e GARDNER, 2004; COSENZA, 2005; KATZUNG, 2005; VOLKOW et al., 2011).

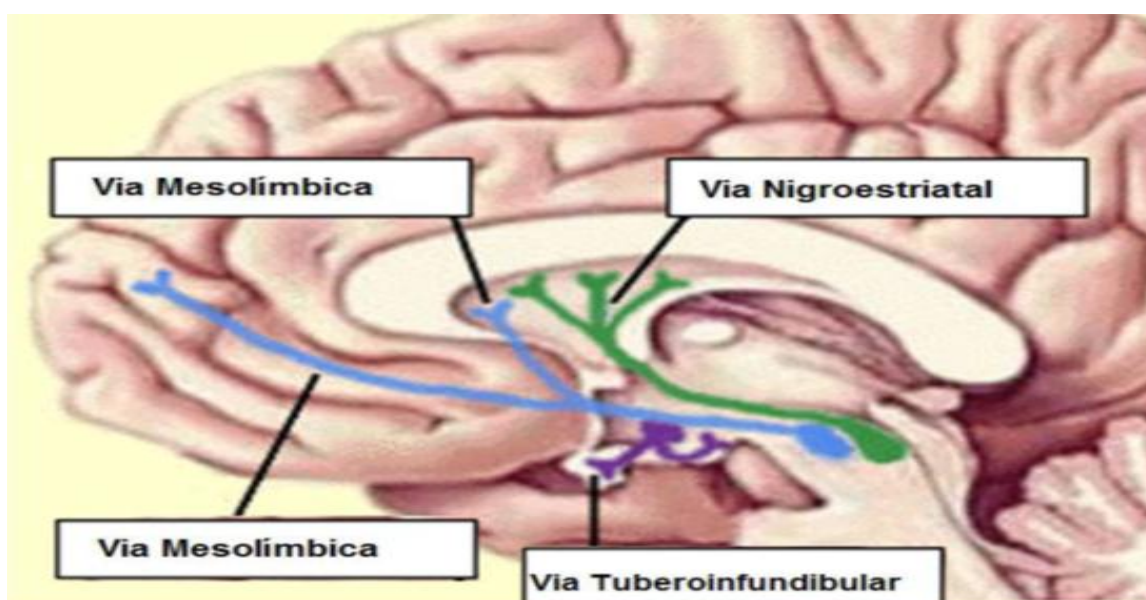


Figura 2: Representação das vias dopaminérgicas principais relacionadas à dependência química. Gravura modificada extraída da página eletrônica:
<http://dameunsilbidito.wordpress.com/2009/12/21/dopamina-esa-gran-desconocida/>

A ativação dos receptores dopaminérgicos resulta na expressão de genes imediatos, no entanto, a própria expressão genética, também modula a ação da dopamina e sua sinalização (MISSALE et al., 1998). Os receptores de dopamina são expressos amplamente em neurônios pelo cérebro e em certas populações de células neuronais (TOMÉ, 2004). São classificados como metabotrópicos, tendo características estruturais, com a presença de sete segmentos alfa-helicoidais, que os torna membros de uma família de proteínas receptoras com sete domínios

transmembrana acoplados a proteínas G (MISSALE et al., 1998). Podem ser encontrados em neurônios pré-sinápticos e em neurônios pós-sinápticos, esta classe de receptores são subdivididos em cinco tipos distintos de receptores dopaminérgicos de membrana, agrupados em duas subfamílias, de acordo com as propriedades bioquímicas e farmacológicas: a) ligados ao D1 “like”, que incluem os receptores D1 e D5, e b) os ligados ao D2 “like”, que incluem D2, D3, D4 (VALLONE, PICETTI, BORRELLI, 2000; BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001; GOODMAN e GILMAN, 2007; DALL'IGNA et al., 2005; DZIEDZICKA et al., 2006). A atividade desses receptores está acoplada à proteína G, na membrana plasmática, sendo que a) D1, ligado à subunidade excitatória (Gs), aumenta a concentração intracelular do AMP-cíclico (AMPC) e b) D2, ligado à inibitória (Gi), reduz a concentração do AMPC intracelular (VALLONE et al., 2000; GOODMAN e GILMAN, 2007; HOENICKA e ARAGU, 2007).

Os receptores D1 e D2 estão presentes em grande quantidade no caudado, putâmen, nos núcleos acumbentes e no tubérculo olfatório. O hipotálamo possui quantidade moderada dos dois receptores e, dessa forma, a dopamina pode desempenhar papel fisiológico como um neurotransmissor hipotalâmico no controle da termo regulação (COX et al., 1980). Os receptores D2 também estão presentes na substância negra, área tegumentar ventral e hipocampo, enquanto a amígdala contém principalmente receptores D1 e poucos D2. Os lobos anterior e intermediário da hipófise possuem expressão elevada de RNAm do receptor D2 (MANSOUR et al., 1990 e O'CONNELL, 1996).

Os receptores D1 tem um papel importante nas funções da memória e na adição de fármacos para tratamentos de enfermidades neuropsiquiátricas. Não é possível determinar a localização neuroanatomica exata de receptores D1a e D1b a qual o receptor D1 se divide, pois não existe um antagonista seletivo que permita fazer esta diferenciação (CAVALLOTTI, 2004).

Em comparação com os receptores D1 e D2, os receptores D3 são menos abundantes e concentram quase exclusivamente em regiões límbicas do cérebro, tais como o núcleo acumbens, tubérculo olfatório. Estas regiões são associadas com as funções emocionais, comportamentais, cognitivas, mecanismos de recompensas e envolvimento na esquizofrenia, doença de Parkinson e dependência de drogas, sendo que estas regiões estão sendo alvo de estudos para o desenvolvimento terapêutico promissor, para o tratamento de tais distúrbios, onde existem pesquisas

que estão trabalhando para desenvolver potentes ligantes e seletivos para os receptores D3 (VARADY e SHAOMENG, 2006).

A expressão dos receptores D4 é mais elevada nas regiões corticais e límbica do cérebro humano, com diferentes níveis no cerebelo e no tálamo, sendo que possui uma quantidade substancialmente mais baixa nos gânglios basais (TARAZI et al., 2004), e os receptores D5 apresentam uma distribuição esparsa e são expressos em baixos níveis, principalmente no hipocampo, tubérculo olfatório e hipotálamo, codificados por um gene no cromossoma quatro, e também produzem acréscimos na concentração de AMP cíclico (HOLLISTER, 1998).

2.4 APOMORFINA

A apomorfina é um alcalóide cristalino pertencente à classe dibenzoquinolona, uma droga bastante hidrossolúvel e susceptível à oxidação pelo ar e luz. Através do aquecimento da morfina num ambiente ácido obtém-se a apomorfina e, apesar de ser um derivado da morfina, não detém propriedades narcóticas (LE WITT, 2004). Quando a apomorfina passa por um processo de metabolização por N-demetilação, leva à formação de norapomorfina, e quando passa por um processo de autooxidação, leva a formação de semiquinonas e quinonas (EL-BACHÁ et al., 2000; DELEU et al., 2002; GARRIDO et al., 2002).

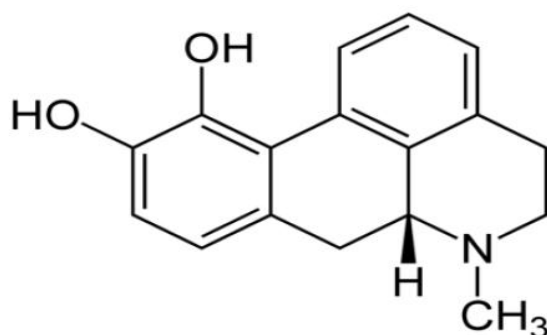


Figura 3: Estrutura química da apomorfina. Gravura extraída da página eletrônica: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/9f/Apomorphine_Structural_Formulae.png.

As ações farmacológicas da apomorfina são resultantes da amina terciária e policíclica presentes em sua estrutura que apresenta homologia com a molécula de dopamina. Devido a esta homologia, a apomorfina exerce uma potente atividade dopaminérgica nos receptores dopaminérgicos (LE WITT, 2004). Devido a suas características estruturais, a apomorfina é classificada como um agonista dopaminérgico D1/D2, que prontamente entra no cérebro e se acumula no estriado (núcleos caudado e putâmen) (BIANCHI e LANDI, 1985; DELEU et al., 2002).

Em comparação com fármacos agonista indiretos que ativam todos os receptores dopaminérgicos, os agonistas diretos são mais seletivos e incluem agonistas D2 tal como bromocriptina (HOFFMAN e WISE, 1993), e agonista D1 e D2 tal como apomorfina (MATTINGLY e GOTSICK 1989; BRAGA et al., 2009a,b).

A apomorfina apresenta um alto metabolismo hepático de primeira passagem, o que o torna ineficaz se administrada por via oral, devido este fator a via subcutânea é a rota de administração parenteral mais utilizada, tendo-se o início do efeito da apomorfina em sete a dez minutos e sua duração por mais de noventa minutos em pacientes parkisonianos (LE WITT, 2004).

A apomorfina, sendo um agonista dopaminérgico, é frequentemente utilizada em estudos comportamentais, associados ao sistema dopaminérgico (DAVIES et al., 1974; ICHIHARA et al., 1988; DALLEY et al., 2002; ESTRELLA et al., 2002; ELLENBROEK e COOLS, 2002). Em experimentos comportamentais, utilizando a apomorfina, foi observado que quando utilizada em doses mais altas, o alvo da apomorfina são os receptores D1/D2 pós-sinápticos e o efeito comportamental é o estímulo da atividade locomotora (BLOISE et al., 2007; BRAGA et al., 2009a), sendo que, quando utilizada em uma dose baixa, a apomorfina atua em receptores dopaminérgicos pré-sinápticos do tipo D2, onde seu efeito pode ser demonstrado pelo enfraquecimento da resposta condicionada e sensibilizada, caracterizada pela diminuição da atividade locomotora (CARRERA et al., 2013).

As pesquisas realizadas por BRAGA e Colaboradores (2009a) mostram que os efeitos da apomorfina 2,0 mg/kg, administrada por via subcutânea em ratos wistar imediatamente antes de ir para o ambiente experimental, são vistas entre 7,5 e 10 minutos dentro dos 20 primeiros minutos após a administração.

A apomorfina em doses de 2,0 mg/kg tem sua atividade em receptores de pós-sinápticos, aumentando a atividade locomotora em ratos, e a dose de 0,05 mg/Kg tem sua atividade localizada em receptores pré-sinápticos, diminuindo a

atividade locomotora nos animais (BRAGA et al., 2009; DIAS et al., 2010; Carrera et al., 2011). A apomorfina pode induzir dois tipos diferentes de comportamentos estereotipados observados em ratos, um comportamento é caracterizado pela ação repetitiva do animal de farejar e o outro comportamento é caracterizado pela ação de autolimpeza (lamber) (GERMEYER et al., 2002).

Após ser distribuída sistemicamente, a apomorfina possui uma elevada porcentagem de ligação às proteínas plasmáticas. Seu metabolismo ocorre através de várias vias enzimáticas, incluindo oxidação, n-desmetilação, sulfatação, glicuronidação e metabolismo pela COMT (catecol-o-metil-transferase), assim como, por oxidação não enzimática (LE WITT, 2004).

2.5 CONSOLIDAÇÃO E RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA

A memória é a função cognitiva mais amplamente solicitada na maior parte de nossos atos. Ela intervém para registrar ou lembrar informações diversas, como um número de telefone, aquilo que fizemos no último fim de semana, um encontro, o lugar em que deixamos as chaves, o nome de um utensílio ou de uma pessoa apresentada há pouco (SCHWOB, 2005).

A memória é a capacidade que os indivíduos possuem de adquirir, conservar e evocar informações, ou seja, sua capacidade mnemônica (TOMAZ, 1993; SQUIRE e KANDEL, 2003). É um processo evolucionário que permite aos animais adquirir, reter e evocar diversos tipos de informações que conferem alguma vantagem por comparar situações presentes com experiências prévias (SHERRY e SCHACTER, 1987). Funciona como um arcabouço que armazena nossa história pessoal, que torna possível que crescamos e mudemos ao longo da vida (KANDEL et al., 2000).

A aprendizagem transforma as experiências em memórias e é o processo pelos quais os humanos e outros animais captam conhecimentos (KANDEL et al., 2000). Ao invés de ser um processo simples e unitário, a memória é um conjunto de sistemas de memória e subsistemas interconectados de diversas formas e com assinaturas moleculares, celulares e sistêmicas (GOSHEN e GOTTSTEIN, 2001; SZAPIRO et al., 2002; NADER, 2003).

As memórias podem ser classificadas quanto ao seu tempo de retenção. A memória ultra-rápida é aquela que dura fração de segundos ou alguns segundos, também conhecida como memória sensorial. A memória de curta duração pode durar minutos ou horas e garante o sentido da continuidade do presente. As memórias de longa duração duram horas, dias e anos, garantindo o registro do passado autobiográfico e dos conhecimentos dos indivíduos (IZQUIERDO e MACGAUGH, 2000; SQUIRE e KANDEL, 2003).

De acordo com seu conteúdo, a memória é classificada como declarativa ou explícita e não declarativa ou implícita (SQUIRE e ZOLA, 1996). As memórias explícitas são adquiridas conscientemente e podem ser divididas em memórias episódicas e semânticas. As episódicas são referentes a eventos que se assiste ou participa, e as memórias semânticas são referentes a conhecimentos gerais. As memórias implícitas, por outro lado, são adquiridas de maneira inconsciente e englobam as memórias de procedimentos, de habilidades motoras e a informação obtida a partir de aprendizados simples (ROSSATO et al., 2007).

A formação desses dois tipos de memória depende de estruturas encefálicas diferentes. As explícitas requerem a integridade de algumas estruturas do lobo temporal medial, que compreende o hipocampo e o córtex entorrinal. As implícitas envolvem estruturas como a amígdala, os gânglios da base e o cerebelo (SQUIRE et al., 2007). Após aquisição, a informação é armazenada no sistema de memória de curto prazo e para que perdure, deve ser consolidada, isto é, transferida para o sistema de memória estável ou a longo prazo (SARA, 2000).

As memórias de curta duração persistem poucos minutos ou horas, não requerem síntese de mRNA (ácido ribonucléico mensageiro) e proteínas (ALBERINI, 2006), as memórias de longa duração necessitam de síntese de RNAm (ácido ribonucléico mensageiro) de síntese de proteínas, e necessitam também da participação de várias vias de sinalização metabólicas celulares vinculadas a esses processos (ALBERINI, 2006). As memórias de curta e longa duração utilizam as mesmas estruturas cerebrais para seu processamento, como hipocampo, córtex entorrinal e amígdala, mas envolvem mecanismos moleculares independentes (ABEL e KANDEL, 1998).

O período em que ocorre a formação da memória de longa duração, ou seja, o armazenamento das informações recém-adquiridas é chamado de consolidação. Biologicamente, o processo de consolidação consiste em um conjunto de complexo,

altamente regulado pelas reações bioquímicas interdependentes que ocorrem em neurônios de algumas regiões cerebrais, levando a uma progressiva estabilização pós-aquisição das memórias de longa duração (DUDAI, 2004). As informações recém-adquiridas dependem de um tempo para que passem pelo processo de estabilização e permaneçam armazenadas. Durante o período de estabilização, a nova informação fica vulnerável, podendo ser apagada por diversos agentes amnésicos, como por exemplo, proteínas e inibidores de síntese, indicando que neste período o traço de memória encontra-se no estado lábil (MCGAUGH, 2000; SQUIRE e KANDEL, 2003; LATAL et al., 2007).

Portanto, uma vez que o traço de memória é considerado imune à interferência e estável, compreende-se que ele consolidou-se (MCGAUGH, 2000 e DUDAI, 2004). O processo de consolidação necessita de uma nova síntese de proteínas e de uma ativação de cascatas contínua de eventos moleculares e inúmeros sistemas de sinalização, pois estes eventos são fundamentais para que ocorra a estabilização das mudanças moleculares onde uma vez foram desestabilizadas devido ao processo da aquisição de uma nova informação (DUDAI, 2004 e SWEATT, 2004), e este processo pode ser modulado por fatores endógenos ou neuro hormonais em animais, como o nível de estresse (MCGAUGH, 2006, ROOZENDAL et al., 2010).

O sistema de consolidação possui um tempo limitado para que ocorra o armazenamento da memória declarativa no hipocampo (ALVAREZ et al., 1995 e BADDELEY et al., 2000). Por reações sucessivas na rede cortical hippocampal, são presumidas as novas memórias, onde são gradualmente integradas com as memórias preexistentes tornando-as independentes no hipocampo (MCCLELLAND et al., 1995 e ANAGNOSTARAS et al., 2001).

O processo de consolidação era considerado um processo unidirecional, no qual o traço mnemônico, uma vez consolidado, tornava-se permanente e resistente a intervenções, não podendo sofrer modificações (NADER, 2003), estudos, porém, tem modificado este conceito (JUDGE e QUARTERMAIN, 1982). Estudos recentes demonstram que memórias já consolidadas tornam-se novamente lábeis e susceptíveis a interrupções quando evocadas, processo este conhecido como reativação, recordação, lembrança ou recuperação (NADER, 2003). Após a evocação, memórias já estabilizadas retornam ao seu estado vulnerável e precisam passar por um novo processo de estabilização, que depende da síntese protéica e

de outros mecanismos moleculares, chamado de processo de reconsolidação (HUPBACH et al., 2007).

Os primeiros estudos relacionados com o processo de reconsolidação propuseram que quando ocorria à reativação da memória já consolidada, ocasionava a desestabilização desta memória, tornando-a lábil e ocasionando novos eventos celulares (PRZYBYSŁAWSKI e SARA 1997; NADER et al., 2000), pois o processo de reconsolidação ocasiona mudanças nos substratos moleculares, inclusive a degradação de proteínas pós-sinápticas (LEE, 2008; JAROME et al., 2011), sendo fundamental a síntese de novas proteínas (NADER et al., 2000; DUDAI e EISENBERG, 2004; RUDY, 2008b; MONFILS et al., 2009), no qual este processo permite a atualização das memórias já consolidadas (MORRIS et al., 2006; LEE, 2010). Estudos indicam que alguns fatores de transcrição são ativados apenas durante o processo de reconsolidação da memória (HALL et al., 2001; LEE et al., 2004).

A reconsolidação pode fornecer uma janela de oportunidades para a manutenção e o fortalecimento do traço mnemônico evocado (NADER et al., 2000b). Muitos tratamentos que bloqueiam a consolidação são capazes de prejudicar a reconsolidação, o que levou à hipótese de que a reconsolidação envolve a recapitulação dos acontecimentos moleculares que ocorrem durante a consolidação (SARA, 2000). Porém, mesmo com algumas semelhanças, a consolidação e reconsolidação não são processos idênticos (ALBERINI, 2005).

Segundo TRONSON e TAYLOR (2007), muitas pesquisas para a compreensão dos mecanismos de extinção e reconsolidação da memória estão se intensificando nos últimos anos, sendo importante a diferenciação entre esses dois processos. A extinção é definida como um processo de aprendizagem que produz uma redução na frequência ou intensidade das respostas aprendidas a estímulos condicionados pelas drogas (FRANKEN et al., 1999). Essa distinção permite saber quando um tratamento farmacológico pode estar afetando o traço de memória original ou novo traço de memória original ou um novo traço paralelo ao produto de extinção. Diferentes abordagens comportamentais permitiram estabelecer a importância do tempo de reativação para determinados caminhos que vai seguir a memória (PEREZ-CUESTA e MALDONADO, 2009; SCHILLER e JOHANSEN, 2009).

Reativações curtas ativam mecanismos de degradação protéica associados com o processo chamado de “labilização” que permitiria a memória voltar para um estado lábil e suscetível a modificações, precisando posteriormente de uma estabilização que seria a reconsolidação propriamente dita (BEVILAQUA et al., 2008). No caso das reativações de longa duração, é gerado um processo de extinção que envolve um novo aprendizado que permite o estabelecimento de circuitos inibitórios que tem por função suprimir a atividade da memória original (IZQUIERDO et al., 2004). Contrário ao processo de extinção, tratamentos que visam inibir o processo de reconsolidação tem um efeito amnésico persistente (DUVARCI e NADER, 2004), ou seja, a memória não sofre recuperação espontânea ou renovação, resultado que permite concluir que a modificação foi sobre o traço de memória original. Alguns agentes podem ser utilizados no tratamento clínico com o intuito de prejudicar o processo de reconsolidação, desde que sejam administrados sistemicamente (MILTON et al., 2008b). O estudo de NADER et al., 2000, mostrou uma redução drástica da memória do medo em modelo animal, onde bloqueou a síntese de proteína no momento do processo de reconsolidação do animal, injetando a anisomicina na amígdala basolateral do rato.

Trabalhos do nosso laboratório utilizando uma droga psicomotora (apomorfina) de ação direta em receptores dopaminérgicas D1 e D2 em um modelo experimental de dependência de drogas, mostraram que a apomorfina na dose de 2,0 mg/kg produziu tanto uma resposta locomotora condicionada quanto sensibilizada (BLOISE et al., 2007; BRAGA et al., 2009a, b; DE MATOS et al., 2010; DIAS et al., 2010, CARRERA et al., 2011; CARRERA et al., 2012; CARRERA et al., 2013). Com o objetivo de verificar se o tratamento de reconsolidação seria capaz de atenuar ou abolir a expressão da sensibilização comportamental e do condicionamento, nosso grupo de pesquisa realizou uma série de experimentos nos quais utilizou a apomorfina nas doses de 0,05 e 2,0 mg/kg como tratamento de reconsolidação. A apomorfina em doses baixas (<0,1 mg/kg) atua preferencialmente nos auto-receptores D2, produzindo uma diminuição da atividade locomotora, não produzindo o desenvolvimento de uma resposta condicionada e nem sensibilização comportamental (BRAGA et al., 2009a). Os resultados mostraram que o tratamento de reconsolidação com apomorfina 2,0 mg/kg exacerbou a sensibilização locomotora e não bloqueou o condicionamento. Já o tratamento de reconsolidação com apomorfina na dose de 0,05 mg/kg aboliu a sensibilização e o condicionamento.

Esses resultados sugerem que a ativação dos sistemas dopaminérgicos pela dose elevada de apomorfina reforçou a associação droga-ambiente ao passo que a inibição da atividade da dopamina pela dose baixa (dose de auto-receptor) eliminou essa associação (CARRERA et al., 2011, CARRERA et al., 2012, CARRERA et al., 2013). Recentemente o trabalho desenvolvido em nosso laboratório por BASTOS e colaboradores (2013) mostrou que o tratamento de reconsolidação da memória, mas não o tratamento com um protocolo de contracondicionamento, foi eficaz para atenuar a expressão do condicionamento e da sensibilização. Esses resultados apontam para o tratamento de reconsolidação da memória como um possível paradigma, para modificar a sensibilização e o condicionamento produzidos por substância psicoestimulantes (BASTOS et al., 2013).

2.6 CONTRACONDICIONAMENTO

É um tipo de terapia com base nos princípios do condicionamento clássico que tenta substituir respostas emocionais ruins ou desagradáveis provocadas por um estímulo, por respostas positivas (BAEYENS et al., 1992; JANOVA, 2013). Em outras palavras, o contracondicionamento consiste em condicionar uma resposta contrária, àquela apresentada inicialmente, por exemplo, se um determinado estímulo inicialmente promove uma resposta de ansiedade, o protocolo de contracondicionamento consiste em associar esse estímulo que promove a ansiedade a um outro estímulo que vai produzir o relaxamento (MOREIRA e MEDEIROS, 2007). Esta substituição do estímulo produzirá uma nova associação e conseqüentemente, será gerada uma nova aprendizagem (BOUTON, 2004). Diferente do contracondicionamento, o processo de extinção ocorre após a remoção do estímulo incondicionado, que reforçava a aprendizagem no ambiente condicionado (FRANKEN et al., 1999) de modo que a extinção pode ser definida pela perda da resposta ao estímulo condicionado que ocorre em consequência da exposição ao estímulo condicionado sozinho (BOUTON, 2004).

Um estudo de RAES e RAEDT (2012) realizado com setenta estudantes escolhidos de forma aleatória demonstrou a eficácia do contracondicionamento em relação ao processo de extinção. Neste estudo, todos os estudantes, dos quais doze

eram homens, passaram por etapas de habituação, onde receberam estímulos condicionados, sendo mostradas imagens de rostos humanos sem ruído. Na fase de condicionamento os participantes foram informados de que uma das duas faces que tinham sido mostradas durante a fase anterior, a partir de agora poderia ser seguida por um ruído (estímulo incondicionado), enquanto que a outra face nunca seria seguida de ruído. Na fase de pós-condicionamento, os estudantes não receberam nenhuma informação quanto à presença de ruídos. Foram divididos em três grupos, dos quais o primeiro que recebeu o tratamento de extinção apenas viu as fotos sem ouvir nenhum ruído, o segundo grupo recebeu um estímulo de contracondicionado positivo, pois a imagem do rosto humano vinha seguida de um som de risadas de bebê, o terceiro grupo recebeu um estímulo contracondicionado negativo, ouvindo um ruído neutro logo após visualizar a imagem do rosto humano. Os resultados mostraram que o contracondicionamento (ambos os estímulos neutros e positivos), em contraste com a extinção, reduziu com êxito as respostas avaliativas, os dados sugerem que os procedimentos de contracondicionamento podem ser promissores na diminuição da aprendizagem no contexto de condicionamento de medo.

Dados do experimento realizado por GUCHT et al., (2010) sugerem que o contracondicionamento foi eficaz no tratamento da prevenção da recaída. Foi apresentada uma dica associada ao consumo de chocolate, o processo de extinção se deu apresentando apenas a dica sem o consumo de chocolate e o processo de contracondicionamento foi realizado oferecendo a dica, associada a um líquido de sabor muito desagradável. O contracondicionamento demonstrou ser eficaz na interrupção do desejo de consumir chocolate e estes efeitos perduraram por uma semana.

O contracondicionamento é um método eficaz, utilizado para eliminar respostas condicionadas indesejáveis (BRENDAN et al., 2012; SCHWECKENDIEK et al., 2013) como fobias de aranhas (JONG et al., 2000) e o medo de cães a tempestades, objetos e barulhos como os de fogos de artifício (LEVINE et al., 2011), e é promissor para o tratamento de desejos incontroláveis, como os relacionados ao uso de drogas (DE MATOS et al., 2011). O trabalho de DE MATOS et al., 2011, estudou o efeito de um protocolo de contracondicionamento sobre a expressão de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada por apomorfina 2,0 mg/kg. No protocolo de contracondicionamento, em uma primeira etapa, fase de indução, os animais receberam apomorfina 2,0 mg/kg por 5 dias seguidos. Após,

passaram por um teste de condicionamento e sensibilização. Os resultados mostraram que a dose de 2,0 mg/kg produziu ativação locomotora e expressão dos processos de condicionamento e sensibilização locomotora. Em uma fase posterior, fase reversa, os animais passaram a receber apomorfina 0,05 mg/kg. Os resultados demonstraram que a ativação locomotora produzida pela dose de 2,0 mg/kg de apomorfina durante a fase de indução foi substituída pela inibição locomotora gerada pela dose de 0,05 mg/kg de apomorfina na fase reversa. Ademais, o procedimento de contracondicionamento foi capaz de bloquear a expressão da resposta condicionada, mas a locomoção sensibilizada por apomorfina 2,0 mg/kg foi insensível a essa manipulação.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar se o tratamento com apomorfina na dose de 0,05 mg/kg (autorreceptor) utilizada no protocolo de contracondicionamento e no tratamento de reconsolidação da memória produziria a inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada produzida por apomorfina 2,0 mg/kg.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Verificar se a administração da apomorfina na dose de 2,0 mg/kg produziria uma resposta condicionada e sensibilizada.
- b) Verificar se a apomorfina na dose de 0,05 mg/kg administrada 15 minutos antes da exposição à arena experimental produziria a inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada (protocolo de contracondicionamento).
- c) Verificar se a apomorfina na dose de 0,05 mg/kg administrada imediatamente antes da exposição à arena experimental produziria a inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada (protocolo de contracondicionamento).
- d) Verificar se a apomorfina na dose de 0,05 mg/kg administrada imediatamente após a exposição dos animais à arena experimental produziria a inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada (tratamento de reconsolidação da memória).

- e) Verificar se a apomorfina na dose de 0,05 mg/kg administrada 15 minutos após a exposição dos animais à arena experimental produziria a inibição/atenuamento de uma resposta locomotora condicionada e sensibilizada (tratamento de reconsolidação da memória).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SUJEITOS

Foram utilizados ratos machos, albinos, Wistar, pesando entre 200-250g, provenientes do Biotério Central da UENF, Campos dos Goitacazes, RJ. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de plástico com acesso livre à água e à ração padronizada de laboratório. As gaiolas ficaram em uma sala do setor de farmacologia do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA), com umidade e temperatura controladas (22 ± 2.0 C) e com ciclo de luz claro e escuro de 12 em 12 horas (luz das 7 às 19 horas). O experimento foi conduzido na fase clara, no horário entre 9:00 e 14:00 horas. Os animais foram manipulados individualmente por um único indivíduo por 5 minutos diários durante 7 dias antes do início do procedimento experimental.

4.2 AMBIENTE EXPERIMENTAL

O presente experimento foi desenvolvido em três salas experimentais (3 x 2m) contendo iluminação vermelha, temperatura controlada (22 ± 2.0 C) e o som de um ventilador em cada sala como ruído de fundo. Cada sala continha uma arena quadrada medindo 60 x 60 x 45 cm, com paredes e assoalhos pintados na cor preta. Para o registro do comportamento locomotor, foram utilizadas câmeras que estavam posicionadas a 60 cm de altura acima da arena. As câmeras estavam acopladas a um computador PC compatível, contendo o sistema de análise de imagens

EthoVision (Noldus) que estava localizado fora das salas de experimento, a qual quantificava a atividade locomotora em distância percorrida (m).

4.3 FÁRMACO

A apomorfina-Hcl (Sigma, ST. Louis, Mo, USA) foi utilizada nas doses de 0.05 mg/Kg e 2,0 mg/kg dissolvida numa solução 0,1% m/v de ácido ascórbico e foi administrada por via subcutânea (volume de administração: 1 ml/kg). A solução de ácido ascórbico 0,1% m/v foi utilizada como veículo.

4.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram conduzidos segundo o protocolo experimental utilizado por CARRERA e colaboradores (2013) com algumas modificações. A tabela 1 mostra o procedimento experimental geral.

Tabela 1: Procedimento Experimental Geral.

Habituação	Tratamento Farmacológico	Retirada de Droga	Teste de Condicionamento 1	Re-indução	Contracondicionamento / Reconsolidação	Teste de Condicionamento 2	Teste de Sensibilização
1 - 3 dia	4 - 8 dia	9-10 dia	11º dia	12º dia	13º dia	14º dia	15º dia
Salina	APO-2 VEI		VEI	APO-2 VEI	APO-0,05 mg/kg VEI	VEI	APO-2,0 mg/kg VEI
Arena:30 min.	Arena: 30 min.		Arena: 5 min.	Arena: 30 min.	Arena: 5 min.	Arena: 5 min.	Arena: 30 min.

APO-2=apomorfina 2,0 mg/kg; VEI=veículo; APO-0,05=apomorfina 0,05mg/kg.

O protocolo experimental foi constituído das seguintes fases:

4.4.1 Fase de Habituação (1º - 3º dia)

O objetivo dessa fase foi habituar os animais ao ambiente experimental e aos procedimentos de aplicação de injeção. Os animais foram administrados com salina e imediatamente foram colocados na arena experimental por 30 minutos, sendo a atividade locomotora registrada. Essa fase teve a duração de 3 dias consecutivos.

4.4.2 - Tratamento Farmacológico (4º - 8ª dia)

Os animais receberam seus respectivos tratamentos farmacológicos e imediatamente após o tratamento foram colocados na arena experimental por 30 minutos, sendo então registrada a atividade locomotora. Essa fase teve uma duração de 5 dias consecutivos e os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

- Apomorfina (n=48): os ratos foram administrados com apomorfina.
- Veículo (n=72): os ratos receberam veículo da apomorfina.

4.4.3 - Fase de Retirada (9º - 10º dia)

Terminada a fase farmacológica, todos os animais foram submetidos a um período de retirada de drogas de dois dias consecutivos, durante os quais os animais permaneceram em suas caixas-viveiro, sem receber tratamento farmacológico ou manipulação comportamental. Esse período permitiu a dissipação dos efeitos dos tratamentos farmacológicos.

4.4.4 - Teste de Condicionamento 1 (11º dia)

Os animais receberam veículo da apomorfina e imediatamente foram colocados nas arenas experimentais para o registro de sua atividade locomotora durante 5 minutos.

4.4.5 - Re-indução (12º dia)

Nesta fase os animais receberam novamente seus respectivos tratamentos farmacológicos e foram colocados imediatamente na arena experimental por 30 minutos.

4.4.6 – Tratamento de contracondicionamento e Tratamento de reconsolidação da Memória (13º dia)

A partir dessa etapa, os grupos veículo e apomorfina foram divididos e receberam os seguintes tratamentos: a) Contracondicionamento, no qual os animais receberam os tratamentos farmacológicos e foram colocados imediatamente (experimento 1) ou 15 minutos após a administração (experimento 2) na arena experimental e, b) Reconsolidação da memória, no qual os animais receberam os tratamentos farmacológicos imediatamente (experimento 3) ou 15 minutos (experimento 4), após a exposição à arena experimental.

4.4.7 - Teste de Condicionamento 2 (14º dia)

Os animais receberam veículo da apomorfina e foram imediatamente colocados na arena experimental, para o registro de sua atividade locomotora durante 5 minutos.

4.4.8 - Teste de Sensibilização (15º dia)

No teste de sensibilização comportamental todos os grupos experimentais receberam apomorfina 2,0 mg/kg, exceto o grupo veículo que recebeu veículo.

4.5 - EXPERIMENTO 1: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg IMEDIATAMENTE ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

Utilizou-se o protocolo experimental descrito no item 3.4. A Fig. 4 mostra o “timeline” do experimento 1.

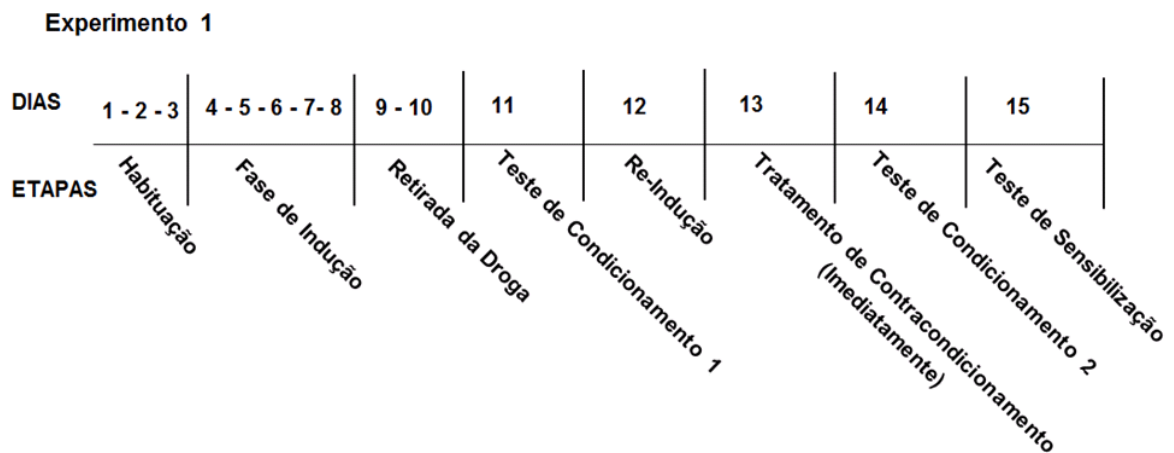


FIG. 4: “Timeline” do experimento 1.

Na etapa de contracondicionamento, os animais foram divididos e a designação dos grupos obedeceu a seguinte ordem: tratamento recebido durante a fase de indução + o tratamento de contracondicionamento. Assim, os grupos foram os seguintes:

- VEI+VEI-I-Pré (n=12): Os animais receberam veículo (VEI) e foram colocados imediatamente (I) na arena (Pré);
- VEI+APO-0,05-I-Pré (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) e foram colocados imediatamente (I) na arena (Pré);
- APO-2,0+VEI-I-Pré (n=6): Os animais receberam veículo (VEI) e foram colocados imediatamente (I) na arena (Pré);
- APO-2,0+APO-0,05-I-Pré (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) e foram colocados imediatamente (I) na arena (Pré).

No teste de sensibilização, todos os animais receberam apomorfina 2,0 mg/kg, exceto o grupo VEI+VEI que foi subdividido, sendo que um subgrupo recebeu veículo e o outro recebeu apomorfina 2,0 mg/kg. Assim, a denominação final dos grupos obedeceu a seguinte ordem: tratamento da fase de indução + tratamento de contracondicionamento + tratamento no teste de sensibilização. Os grupos finais foram os seguintes:

- VEI+VEI-I-Pré+VEI (n=6)
- VEI+VEI-I-Pré+APO-2,0 (n=6)
- VEI+APO-0,05-I-Pré+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+VEI-I-Pré+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+APO-0,05-I-Pré+APO-2,0 (n=6)

A tabela 2 mostra os grupos finais do experimento 1.

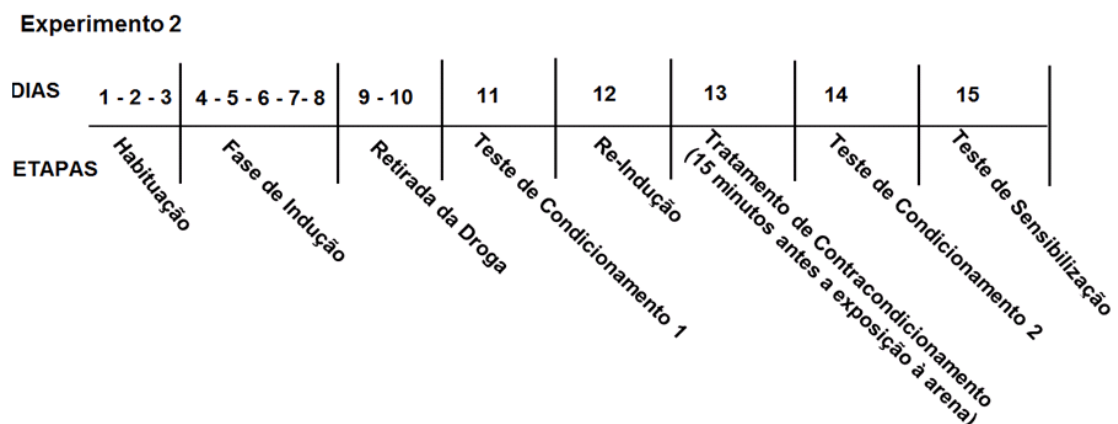
Tabela 2: Grupos e tratamentos do experimento 1.

GI	TF	TC 1	RE-I	CONTRA		TC 2	TS	Grupos Finais
				Pré Arena	Pós Arena			
VEI (n=18)	VEI	VEI	VEI	VEI VEI APO-0,05	VEI VEI VEI	VEI VEI VEI	VEI APO-2 APO-2	VEI+VEI-I-Pré+VEI (n=6) VEI+VEI-I-Pré+APO-2,0 (n=6) VEI+APO-0,05-I-Pré+APO-2,0 (n=6)
APO (n=12)	APO-2	VEI	APO-2	VEI APO-0,05	VEI VEI	VEI VEI	APO-2 APO-2	APO-2,0+VEI-I-Pré+APO-2,0 (n=6) APO-2,0+APO-0,05-I-Pré+APO-2,0 (n=6)

GI=grupos iniciais; TF=tratamento farmacológico; TC1=teste de condicionamento 1; RE-I=re-indução; CONTRA=tratamento de contracondicionamento; TC2=teste de condicionamento 2; TS= teste de sensibilização; APO-2=apomorfina 2,0 mg/kg; APO-0,05=apomorfina 0,05 mg/kg; VEI=veículo; I-Pré=imediatamente antes da arena.

4.6 - EXPERIMENTO 2: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDICIONAMENTO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg, ADMINISTRADA 15 MINUTOS ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

Utilizou-se o protocolo experimental descrito no item 3.4. A Fig. 5 mostra o “timeline” do experimento 2.

**FIG. 5:** “Timeline” do experimento 2.

Na etapa de contracondicionamento, os animais foram divididos e a designação dos grupos obedece a ordem dos tratamentos recebidos durante a fase de indução + o tratamento de contracondicionamento. Assim, os grupos foram os seguintes:

- VEI+VEI-15'-Pré (n=12): Os animais receberam veículo (VEI) e após 15 minutos (15') foram colocados na arena (Pré);
- VEI+APO-0,05-15'-Pré (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) e após 15 minutos (15') foram colocados na arena (Pré);
- APO-2,0+VEI-15'-Pré (n=6): Os animais receberam veículo (VEI) e após 15 minutos (15') foram colocados na arena (Pré);
- APO-2,0+APO-0,05-15'-Pré (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) e após 15 minutos (15') foram colocados na arena (Pré).

No teste de sensibilização, todos os animais receberam apomorfina 2,0 mg/kg, exceto o grupo VEI+VEI que foi subdividido, sendo que um subgrupo recebeu veículo e o outro recebeu apomorfina 2,0 mg/kg. Assim, a denominação final dos grupos obedece a seguinte ordem: tratamento da fase de indução + tratamento de contracondicionamento + tratamento no teste de sensibilização. Os grupos finais foram os seguintes:

- VEI+VEI-15'-Pré+VEI (n=6)
- VEI+VEI-15'-Pré+APO-2,0 (n=6)
- VEI+APO-0,05-15'-Pré+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+VEI-15'-Pré+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+APO-0,05-15'-Pré+APO-2,0 (n=6)

A tabela 3 mostra os grupos do experimento 2.

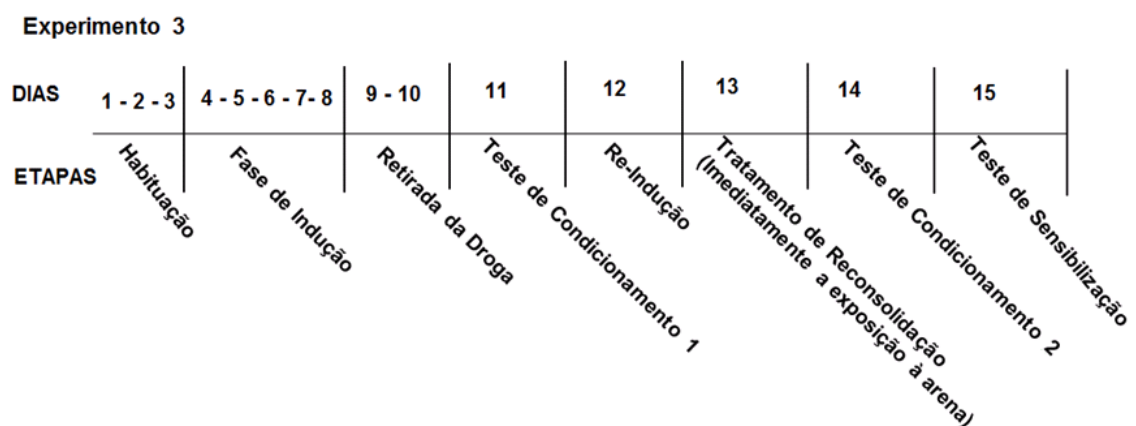
Tabela 3: Grupos e tratamentos do experimento 2.

IN	TF	TC 1	RE-I	CONTRA		TC 2	TS	Grupos Finais
				Pré Arena	Pós Arena			
VEI (n=18)	VEI	VEI	VEI	VEI-15' VEI-15' APO-0,05-15'	VEI VEI VEI	VEI VEI VEI	VEI APO-2 APO-2	VEI+VEI-Pré-15'+VEI (n=6) VEI+VEI-Pré-15'+APO-2,0 (n=6) VEI+APO-0,05-Pré-15'+APO-2,0 (n=6)
APO (n=12)	APO-2	VEI	APO-2	VEI-15' APO-0,05-15'	VEI VEI	VEI VEI	APO-2 APO-2	APO-2,0+VEI-Pré-15'+APO-2,0 (n=6) APO-2,0+APO-0,05-Pré-15'+APO-2,0 (n=6)

IN=grupos iniciais; TF=tratamento farmacológico; TC1=teste de condicionamento 1; RE-I=re-indução; CONTRA=tratamento de contracondicionamento; TC2=teste de condicionamento 2; TS= teste de sensibilização; APO-2=apomorfina 2,0 mg/kg; APO-0,05-15'=apomorfina 0,05 mg/kg administrada 15 minutos antes da arena; VEI-15'=veículo administrado 15 minutos antes da arena.

4.7 - EXPERIMENTO 3: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg ADMINISTRADA IMEDIATAMENTE APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

Utilizou-se o protocolo experimental descrito no item 3.4. A Fig. 6 mostra o “timeline” do experimento 3.

**Fig. 6:** “Timeline” do experimento 3.

Na etapa de reconsolidação, os animais foram divididos e a designação dos grupos obedeceu a ordem dos tratamentos recebidos durante a fase de indução + o tratamento de reconsolidação. Para essa fase, os animais receberam veículo e foram imediatamente colocados na arena por 5 minutos (teste de reativação). Imediatamente (I) após o final do teste (Pós), os animais receberam o tratamento de reconsolidação. Os grupos foram os seguintes:

- VEI+VEI-I-Pós (n=12): Os animais receberam veículo (VEI) como tratamento de reconsolidação;
- VEI+APO-0,05-I-Pós (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) como tratamento de reconsolidação;
- APO-2,0+VEI-I-Pós (n=6): Os animais receberam veículo (VEI) como tratamento de reconsolidação;
- APO-2,0+APO-0,05-I-Pós (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) como tratamento de reconsolidação.

No teste de sensibilização, todos os animais receberam apomorfina 2,0 mg/kg, exceto o grupo VEI+VEI que foi subdividido, sendo que um subgrupo recebeu veículo e o outro recebeu apomorfina 2,0 mg/kg. Assim, a denominação final dos grupos obedece a seguinte ordem: tratamento da fase de indução + tratamento de reconsolidação + tratamento no teste de sensibilização. Os grupos finais foram os seguintes:

- VEI+VEI-I-Pós+VEI (n=6)
- VEI+VEI-I-Pós+APO-2,0 (n=6)
- VEI+APO-0,05-I-Pós+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+VEI-I-Pós+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+APO-0,05-I-Pós+APO-2,0 (n=6)

A tabela 4 mostra os grupos do experimento 3.

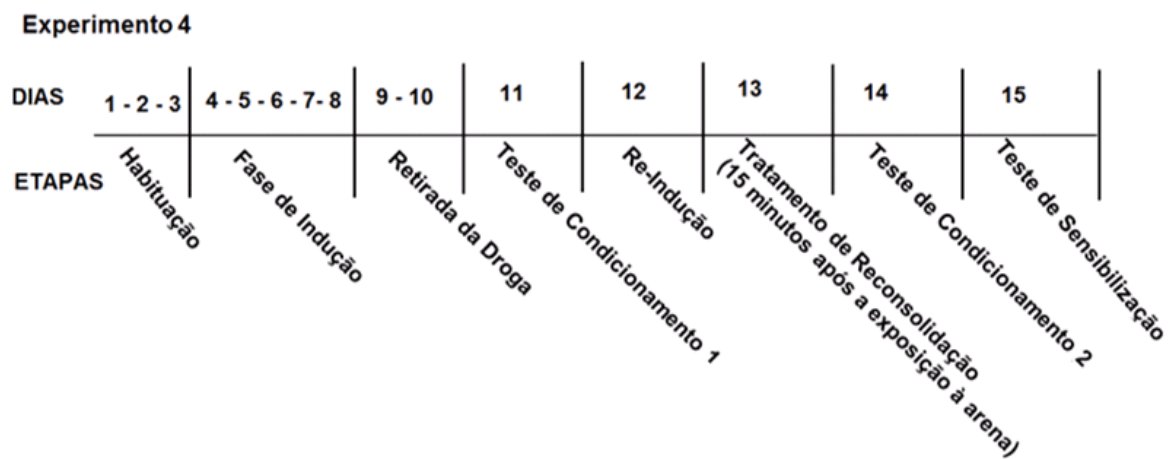
Tabela 4: Grupos e tratamentos do experimento 3.

IN	TF	TC 1	RE-I	RECON.		TC 2	TS	Grupos Finais
				Pré Arena	Pós Arena			
VEI (n=18)	VEI	VEI	VEI	VEI VEI VEI	VEI VEI APO-0,05	VEI VEI VEI	VEI APO-2 APO-2	VEI+VEI-Pós+VEI (n=6) VEI+VEI-Pós+APO-2,0 (n=6) VEI+APO-0,05-Pós+APO-2,0 (n=6)
APO (n=12)	APO-2	VEI	APO-2	VEI VEI	VEI APO-0,05	VEI VEI	APO-2 APO-2	APO-2,0+VEI-Pós+APO-2,0 (n=6) APO-2,0+APO-0,05-Pós+APO-2,0 (n=6)

IN=grupos iniciais; TF=tratamento farmacológico; TC1=teste de condicionamento 1; RE-I= re-indução; RECON=tratamento de reconsolidação da memória; TC2=teste de condicionamento 2; TS= teste de sensibilização; APO-2=apomorfina 2,0 mg/kg; APO-0,05-Pós=apomorfina 0,05 mg/kg administrada imediatamente após a exposição à arena; VEI-Pós=veículo administrado imediatamente após a exposição à arena.

4.8 - EXPERIMENTO 4: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg 15 MINUTOS APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

Utilizou-se o protocolo experimental descrito no item 3.4. A Fig. 7 mostra o “timeline” do experimento 4.

**Fig. 7:** “Timeline” do experimento 4.

Na etapa de reconsolidação, os animais foram divididos e a designação dos grupos obedeceu a ordem dos tratamentos recebidos durante a fase de indução + o tratamento de reconsolidação. Para essa fase, os animais receberam veículo e foram imediatamente colocados na arena por 5 minutos (teste de reativação). Quinze minutos (15') após o final do teste (Pós), os animais receberam o tratamento de reconsolidação. Os grupos foram os seguintes:

- VEI+VEI-15'-Pós (n=12): Os animais receberam veículo (VEI) como tratamento de reconsolidação;
- VEI+APO-0,05-15'-Pós (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) como tratamento de reconsolidação;
- APO-2,0+VEI-15'-Pós (n=6): Os animais receberam veículo (VEI) como tratamento de reconsolidação;
- APO-2,0+APO-0,05-15'-Pós (n=6): Os animais receberam apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05) como tratamento de reconsolidação.

No teste de sensibilização, todos os animais receberam apomorfina 2,0 mg/kg, exceto o grupo VEI+VEI que foi subdividido, sendo que um subgrupo recebeu veículo e o outro recebeu apomorfina 2,0 mg/kg. Assim, a denominação final dos grupos obedece a seguinte ordem: tratamento da fase de indução + tratamento de reconsolidação + tratamento no teste de sensibilização. Os grupos finais foram os seguintes:

- VEI+VEI-15'-Pós+VEI (n=6)
- VEI+VEI-15'-Pós+APO-2,0 (n=6)
- VEI+APO-0,05-15'-Pós+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+VEI-15'-Pós+APO-2,0 (n=6)
- APO-2,0+APO-0,05-15'-Pós+APO-2,0 (n=6)

A tabela 5 mostra os grupos do experimento 4.

Tabela 5: Grupos e tratamentos do experimento 4.

IN	TF	TC 1	RE-I	RECON		TC 2	TS	Grupos Finais			
				Pré Arena	Pós Arena						
VEI (n=18)	VEI	VEI	VEI	VEI	VEI-15'	VEI	VEI	VEI+VEI-15'POS+VEI (n=6)			
				VEI	VEI-15'				VEI	APO-2	VEI+VEI-15'POS+APO-2,0(n=6)
				VEI	APO-0,05-15'				VEI	APO-2	VEI+APO-0,05-15'POS+APO-2,0(n=6)
APO (n=12)	APO-2	VEI	APO-2	VEI	VEI-15'	VEI	APO-2	APO-2,0+VEI-15'POS+APO-2,0 (n=6)			
				VEI	APO-0,05-15'				VEI	APO-2	APO-2,0+APO-0,05-15'POS+APO-2,0(n=6)

IN=grupos iniciais; TF=tratamento farmacológico; TC1=teste de condicionamento 1; RE-I=re-indução; RECON=tratamento de reconsolidação da memória; TC2=teste de condicionamento 2; TS= teste de sensibilização; APO-2=apomorfina 2,0 mg/kg; APO-0,05-Pós=apomorfina 0,05 mg/kg administrada imediatamente após a exposição à arena; VEI-Pós'=veículo administrado imediatamente após a exposição à arena.

4.9 - ANÁLISE COMPORTAMENTAL

A atividade locomotora foi quantificada em termos de distância em metros percorrida pelo animal, avaliada por meio do sistema de análise comportamental EthoVision (Noldus).

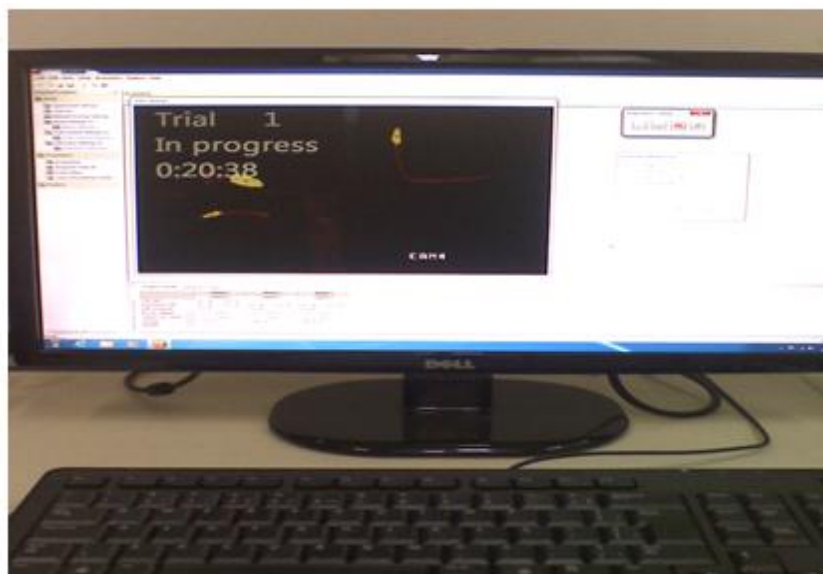


Figura 8: EthoVision quantificando a distância em metros percorrido pelo animal (amarelo).

4.10 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados da fase de habituação, do teste de condicionamento, do contracondicionamento, da reconsolidação e do teste de sensibilização foram analisados utilizando a Análise de Variância (ANOVA) de um fator. Para a análise da fase de tratamento farmacológico (fase de indução), utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA) de dois fatores, sendo os dias de administração usados como componentes dentro do grupo, enquanto os grupos experimentais utilizados como componentes entre os grupos. Nas análises onde se obteve valores de F de acordo com os critérios estatísticos de $p < 0,05$, as possíveis diferenças entre os grupos foram testadas através do teste de comparações múltiplas de Duncan.

5 - RESULTADOS

5.1 - FASE DE HABITUAÇÃO

Antes do início dos experimentos todos os animais passaram por um procedimento de habituação na arena durante três dias consecutivos. A figura 9 mostra a atividade locomotora dos animais neste período. A Análise de Variância (ANOVA) de um fator (dias) mostrou que houve efeito dos dias [$F(2,359) = 10,46$; $p < 0,01$] e o teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que no primeiro dia de habituação a atividade locomotora foi maior do que nos demais dias ($p < 0,05$); no segundo dia de habituação a locomoção foi maior que o terceiro dia ($p < 0,05$). Esses resultados mostraram que a atividade locomotora diminuiu com a repetição do teste, mostrando que houve o desenvolvimento do processo de habituação a um ambiente novo (CERBONE; SADILE, 1994).

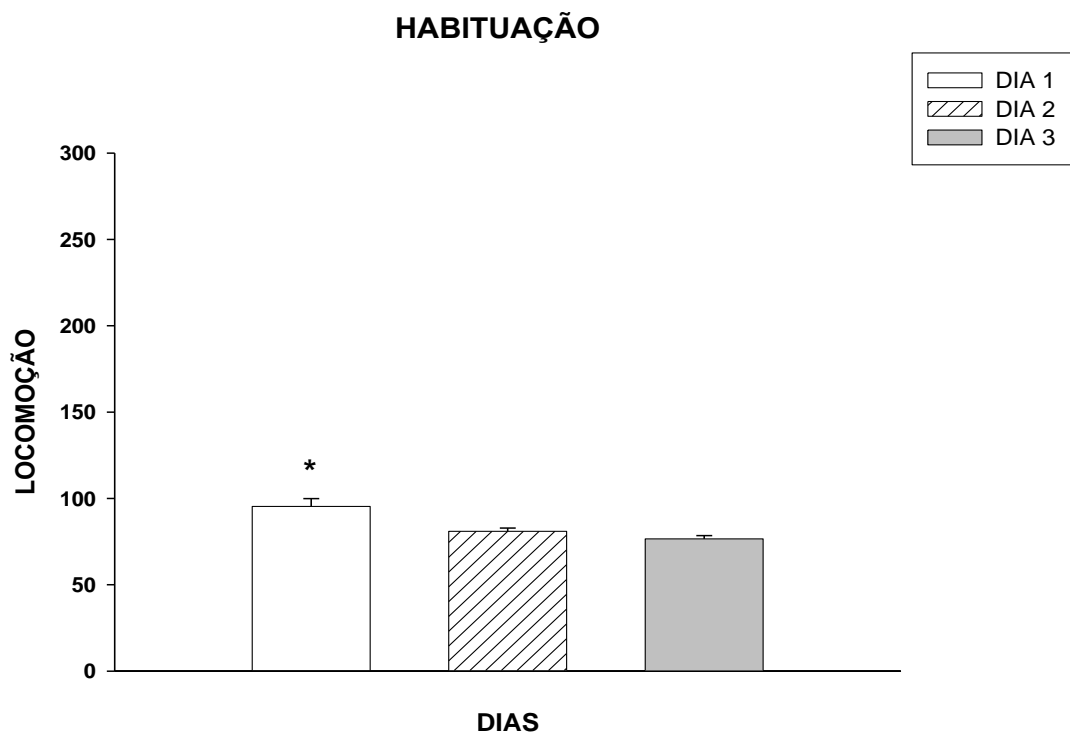


Figura 9: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M.) da locomoção no período de habituação. *Indica locomoção maior do que nos demais dias. ($p < 0,05$; ANOVA de um fator, seguida do teste de Duncan).

5.2 - EXPERIMENTO 1: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDIÇÃO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg IMEDIATAMENTE ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

A figura 10 mostra os resultados do tratamento farmacológico, no qual animais receberam veículo ou apomorfina (2,0 mg/kg) durante 5 dias consecutivos. A análise de variância (ANOVA) por medidas repetidas mostrou interação grupo X dias [$F(16, 100) = 12,80; p < 0,01$], efeito dos grupos [$F(4, 25) = 17,80; p < 0,01$] e um efeito dos dias de tratamento [$F(4, 100) = 31,80, p < 0,01$]. A ANOVA de um fator seguido pelo teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que do 1º ao 5º dia, os grupos que receberam apomorfina apresentaram atividade locomotora (APO-2,0+APO-0,05-I-PRÉ+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-I-PRÉ+APO-2,0) mais elevada do que os outros grupos ($p < 0,05$). Pertinente com o desenvolvimento da sensibilização locomotora, uma análise (ANOVA de um fator seguido pelo teste de Duncan) foi feita para os grupos que receberam uma administração com apomorfina no decorrer dos dias mostrou uma maior atividade locomotora nos dias 4 e 5 comparando com os dias 1 e 2 ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 1 - Tratamento de contracondicionamento imediatamente antes da arena

Fase de Indução

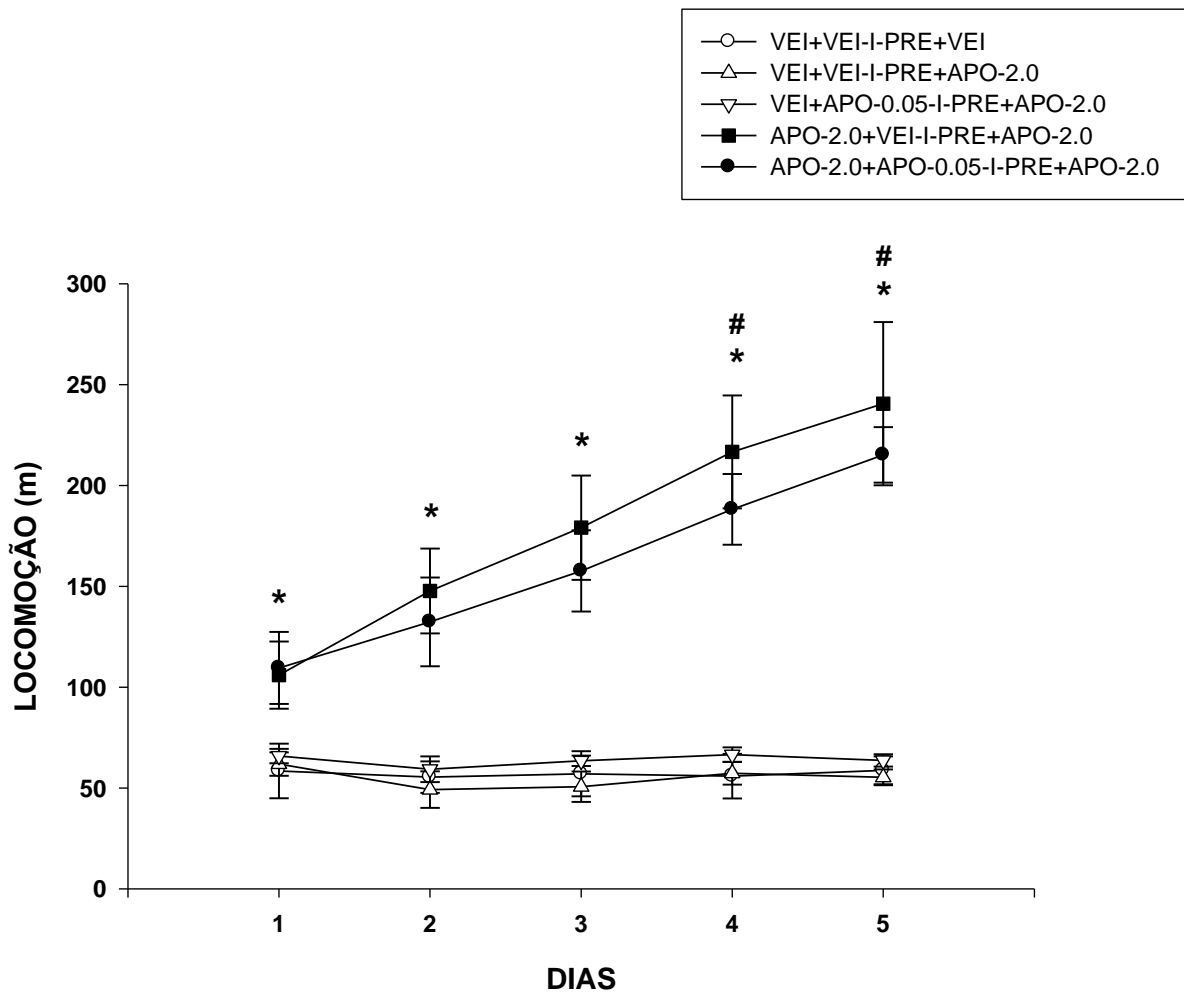
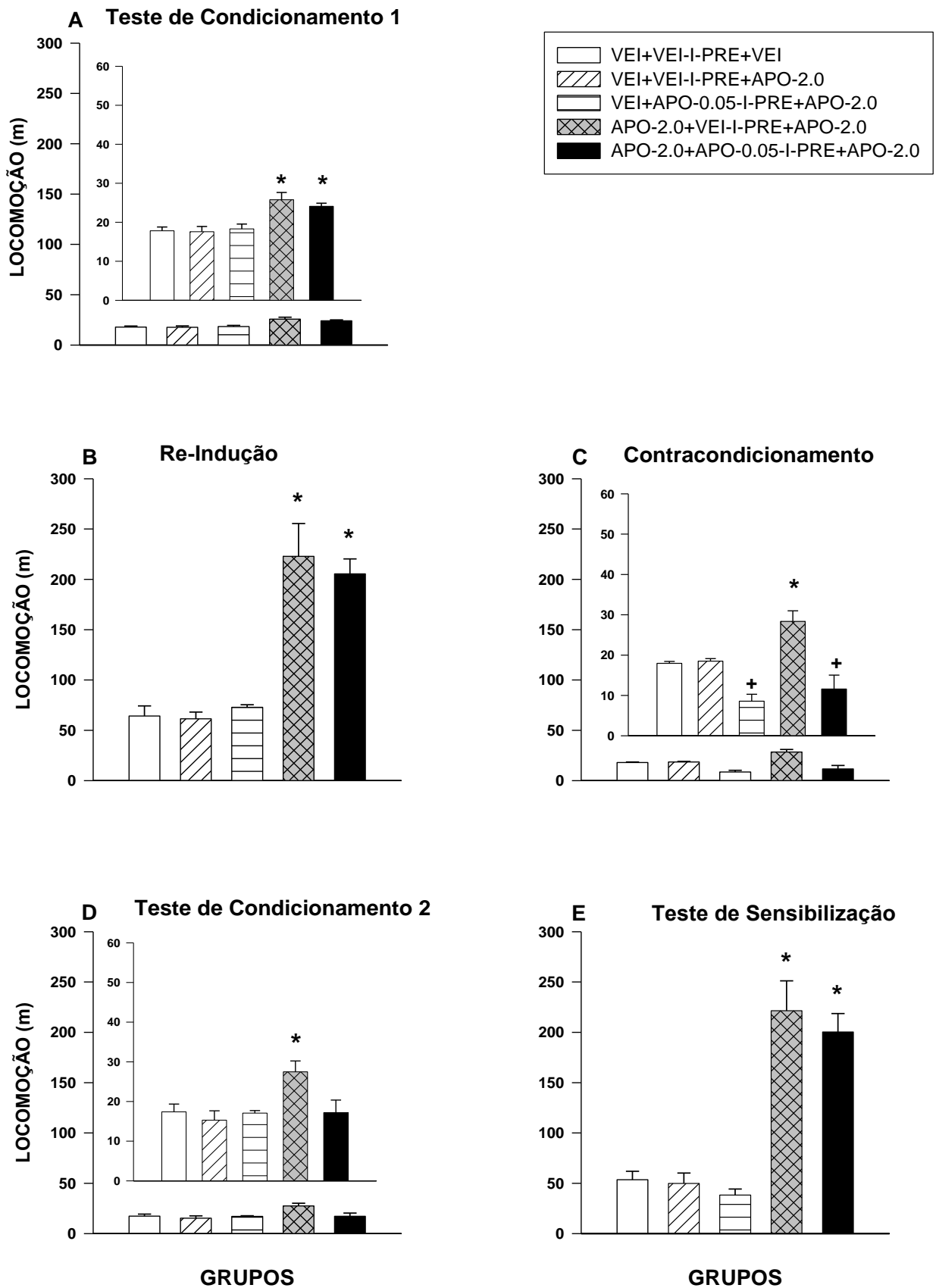


FIGURA 10: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M) do efeito da apomorfina e veículo na atividade locomotora de ratos. * Indica maior locomoção no mesmo dia experimental. # Indica maior locomoção para o grupo APO-2,0 quando comparado ao 1º e 2º dia experimental (ANOVA seguida do teste de Duncan).

A figura 11 apresenta a atividade locomotora durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de contracondicionamento (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). Para o teste de condicionamento 1 (Fig. 11A), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [$F(4, 25) = 8,9, p < 0,01$] e o teste de comparações múltipla de Duncan mostrou que os grupos apomorfina (APO-2,0 + APO-0,05-I-PRÉ + APO-2,0 e APO-2,0+VEI-I PRÉ+APO-2,0) apresentaram atividade locomotora mais elevada do que os outros grupos ($p < 0,05$). Para a re-indução (Fig. 11B), a ANOVA de um fator mostrou que houve uma diferença entre os grupos experimentais [$F(4, 25) = 19,54, p < 0,01$] e o teste de Duncan mostrou que os grupos que receberam apomorfina apresentaram atividade locomotora maior do que todos os outros grupos ($p < 0,05$). Para o tratamento de contracondicionamento (Fig. 11C), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [$F(4, 25) = 13,0, p < 0,01$] e o teste de Duncan mostrou que o grupo APO-2,0+VEI-I-PRÉ+APO 2,0 apresentou atividade locomotora superior a todos os grupos ($p < 0,05$). Os resultados também mostraram que os grupos APO-2,0+APO-0,05-I-PRÉ+APO 2,0 e VEI+APO-0,05-I-PRÉ+APO-2,0 apresentaram atividade locomotora baixa, quando comparados aos outros grupos ($p < 0,05$). Para o Teste de Condicionamento 2 (Fig. 11D), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferenças entre os grupos [$F(4, 25) = 4,34, p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que o grupo APO-2,0+VEI-I-PRÉ+APO-2,0 apresentou atividade locomotora semelhante comparado aos outros grupos ($p < 0,05$). Para o teste de sensibilização (Fig. 11E), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [$F(4, 25) = 27,93, p < 0,01$] e o teste comparações múltiplas Duncan mostrou que os grupos de apomorfina (APO-2,0+APO-0,05-I PRÉ +APO-2,0 e APO-2,0+VEI-I-PRÉ+APO-2,0) apresentaram locomoção maior do que os outros grupos ($p < 0,05$).

Figura 11: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M.) durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de contracondicionamento (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). * Indica atividade locomotora maior do que os demais grupos. + Indica atividade locomotora menor do que os demais grupos (ANOVA seguida pelo teste de Duncan).

EXPERIMENT 1 - Tratamento de contracondicionamento imediatamente antes da arena



5.3 - EXPERIMENTO 2: EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRACONDIÇÃO COM APOMORFINA 0,05 mg/kg ADMINISTRADA 15 MINUTOS ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

A figura 12 mostra os resultados durante a fase de indução. A ANOVA por medidas repetidas mostrou interação grupo X dias [$F(16, 100) = 9.65; p < 0.01$], efeito dos grupos [$F(4, 25) = 40.80; p < 0.01$] e efeito dos dias de tratamento [$F(4, 100) = 24.06; p < 0.01$]. A ANOVA de um fator seguido pelo teste de Duncan mostrou que do 1º dia ao 5º dia os grupos apomorfina (APO-2,0+APO-0,05-15'-PRÉ+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-15'-PRÉ+APO-2,0) apresentaram uma atividade locomotora elevada do que os outros grupos ($p < 0,05$). Os resultados também mostram que a locomoção foi maior nos dias 4 e 5 ($p < 0,05$) do que os dias 1 e 2, para os grupos que receberam apomorfina ($p < 0,05$).

EXPERIMENT 2 - Tratamento de contracondicionamento 15 minutos antes da arena

Fase de Indução

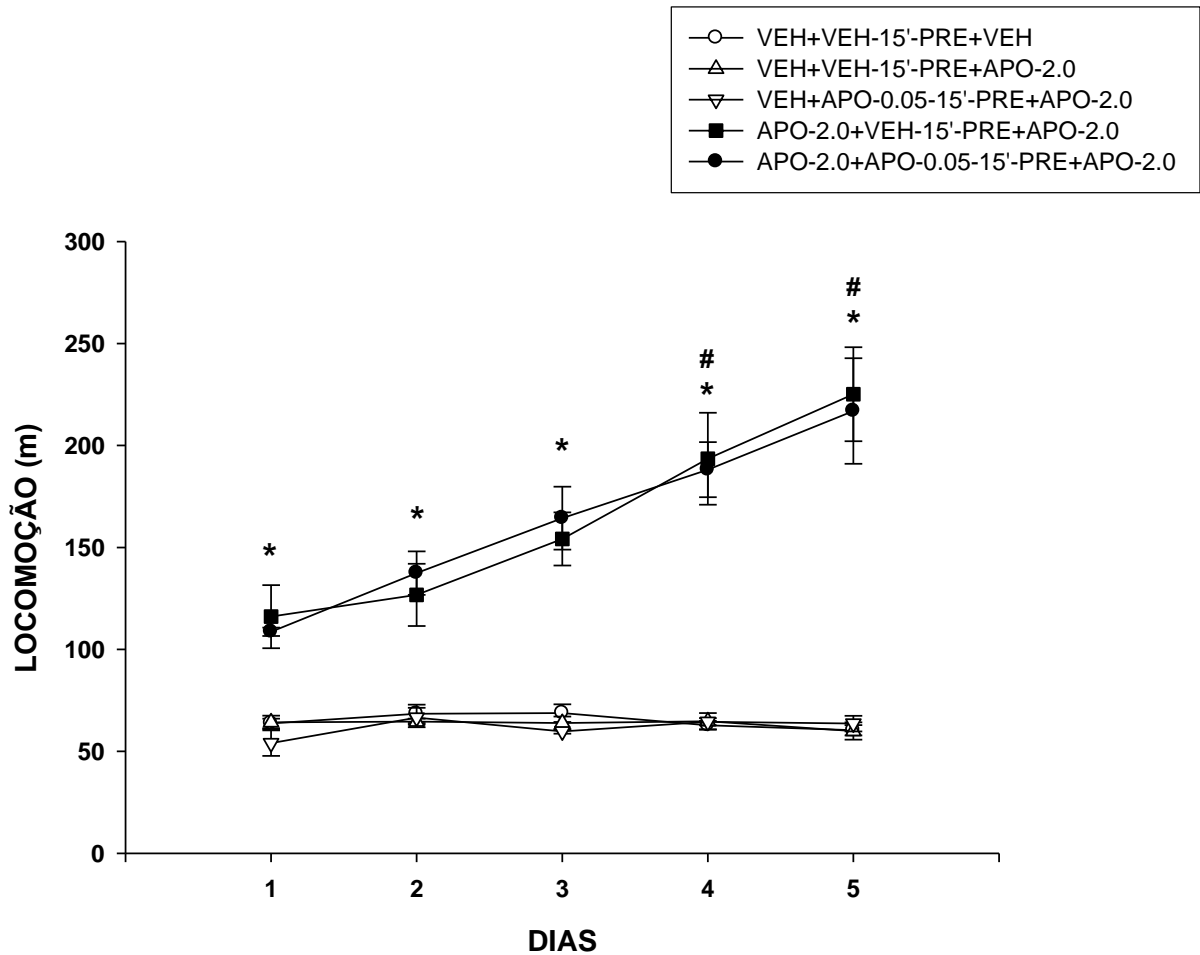
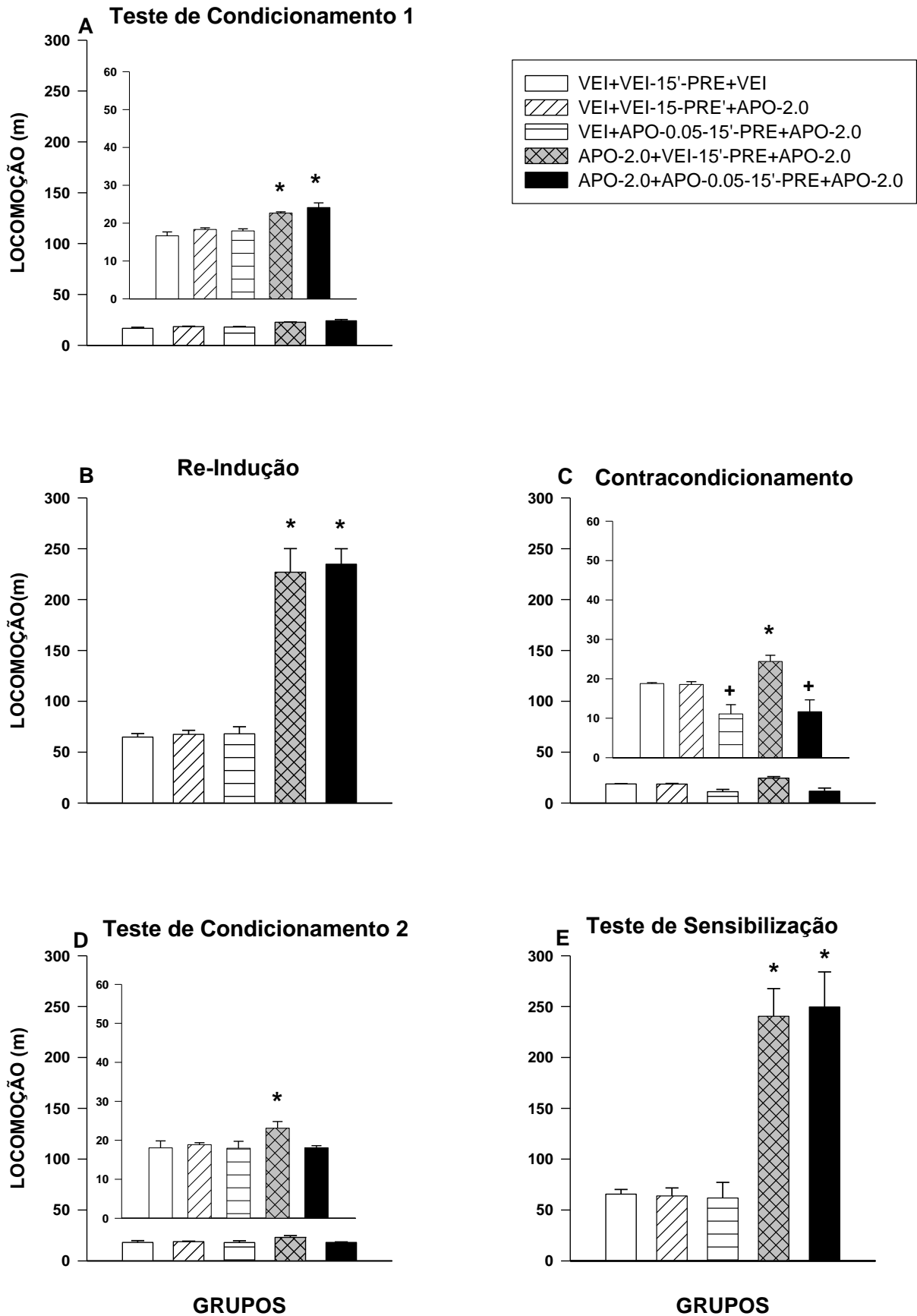


Figura 12: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M) do efeito da apomorfina e veículo na atividade locomotora de ratos durante a fase de indução. * Indica maior locomoção no mesmo dia experimental. # Indica maior locomoção para o grupo APO-2,0 quando comparado ao 1º e 2º dia experimental (ANOVA seguida do teste de Duncan).

A figura 13 apresenta a atividade locomotora durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de contracondicionamento (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). Para o teste de condicionamento 1 (Fig. 13A), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito de grupos [F (4, 25) = 16,83; $p < 0,01$], e o teste de comparações múltiplas de Duncan, mostrou que os grupos apomorfina (APO-2,0+APO-0,05-15'-PRÉ+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-15'-PRÉ+APO-2,0) apresentaram locomoção mais elevada do que os outros grupos ($p < 0,05$). Para o dia da re-indução (Fig. 13B), a ANOVA de um fator mostrou que houve uma diferença entre os grupos experimentais [F (4, 25) = 47,46; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que os grupos apomorfina apresentaram atividade locomotora maior do que todos os outros grupos ($p < 0,05$). Para o tratamento de contracondicionamento administrado o tratamento 15 minutos antes da exposição à arena experimental (Fig. 13C), a ANOVA de um fator mostrou que houve uma diferença entre os grupos [F (4, 25) = 8,73; $p < 0,01$] e o teste de Duncan mostrou que o grupo APO-2,0+VEI-15'-PRÉ+APO-2,0 apresentou atividade locomotora superior a todos os grupos ($p < 0,05$), os resultados mostraram também que os grupos APO-2,0+APO-0,05-15'-PRÉ+APO-2,0 e VEI+APO-0,05-15'-PRÉ+APO-2,0 apresentaram atividade locomotora mais baixa que os outros grupos ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 2 (Fig. 13D), a ANOVA de uma fator mostrou que houve diferenças entre os grupos [F (4, 25) = 2,50; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que o grupo APO-2.0+VEH-15' PRE+APO-2.0 apresentou uma atividade locomotora maior que os outros grupos ($p < 0,05$). Para o teste de sensibilização (Fig. 13E), a ANOVA de um fator mostrou que houve um efeito dos grupos [F (4, 25) = 22,04; $p < 0,01$], e o teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que os grupos apomorfina APO-2,0+APO-0,05-15'-PRÉ+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-15'-PRÉ+APO-2,0 apresentaram locomoção maior do que os outros grupos ($p < 0,05$).

Figura 13: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M.) durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), contracondicionamento (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). * Indica atividade locomotora maior do que os demais grupos. + Indica atividade locomotora menor do que os demais grupos (ANOVA seguida pelo teste de Duncan).

EXPERIMENTO 2 - Tratamento de contracondicionamento 15 minutos antes da arena



5.4 - EXPERIMENTO 3: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg ADMINISTRADA IMEDIATAMENTE APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

A figura 14 mostra os resultados do tratamento farmacológico para os grupos veículo e apomorfina (2,0 mg/kg) durante 5 dias consecutivos no experimento 3. A ANOVA por medidas repetidas mostrou interação grupo X dias [$F(16, 100) = 15,93$; $p < 0,01$], um efeito dos grupos [$F(4, 25) = 157,40$; $p < 0,01$], efeito dos dias de tratamento [$F(4, 100) = 41,51$; $p < 0,01$]. A ANOVA de um fator seguido pelo teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que do 2º ao 5º dia, os grupos apomorfina APO-2,0+APO-0,05-I-POS+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-I-POS+APO-2,0 apresentaram atividade locomotora elevada do que os outros grupos ($p < 0,05$). Os resultados também mostram que a atividade locomotora foi maior nos dias 4 e 5 ($p < 0,05$), quando comparando aos dias 1 e 2 para os grupos que receberam apomorfina (ANOVA de um fator seguido pelo teste de Duncan).

EXPERIMENTO 3 - Tratamento de reconsolidação imediatamente após a arena

Fase de Indução

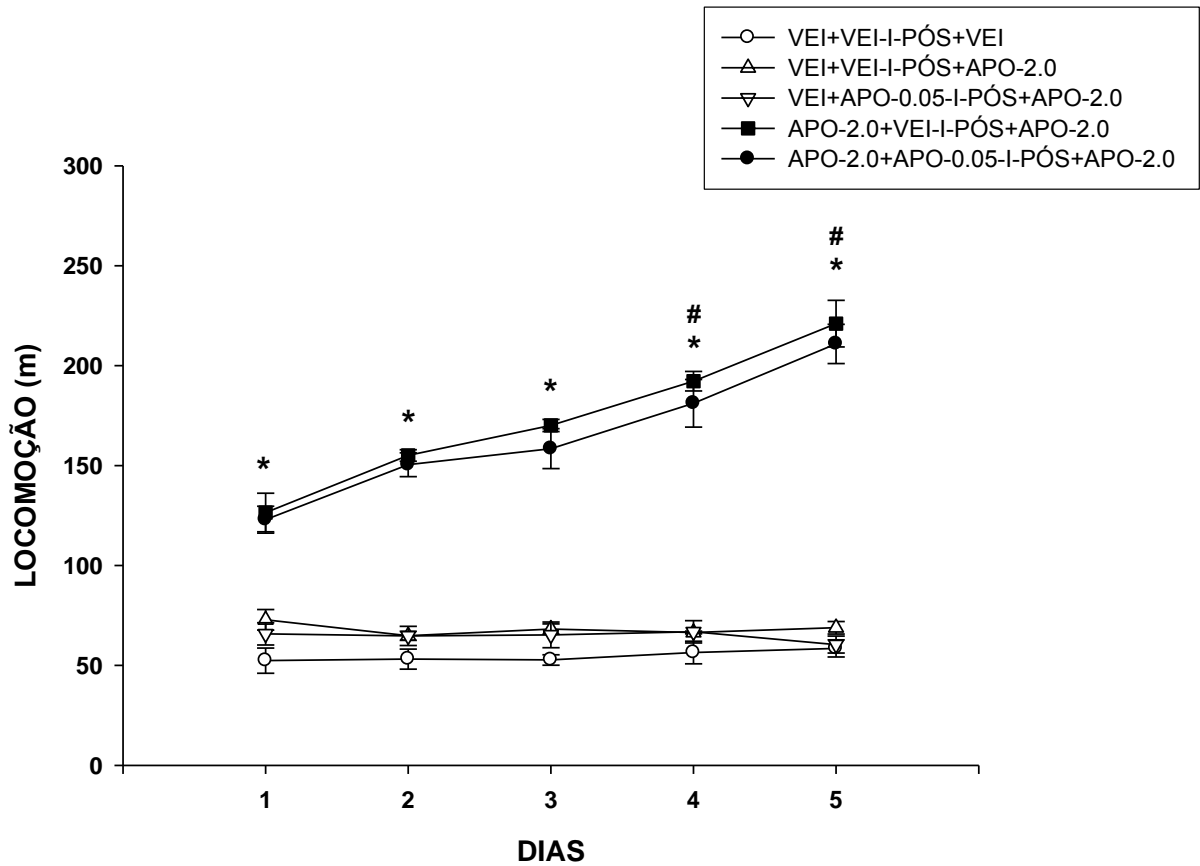
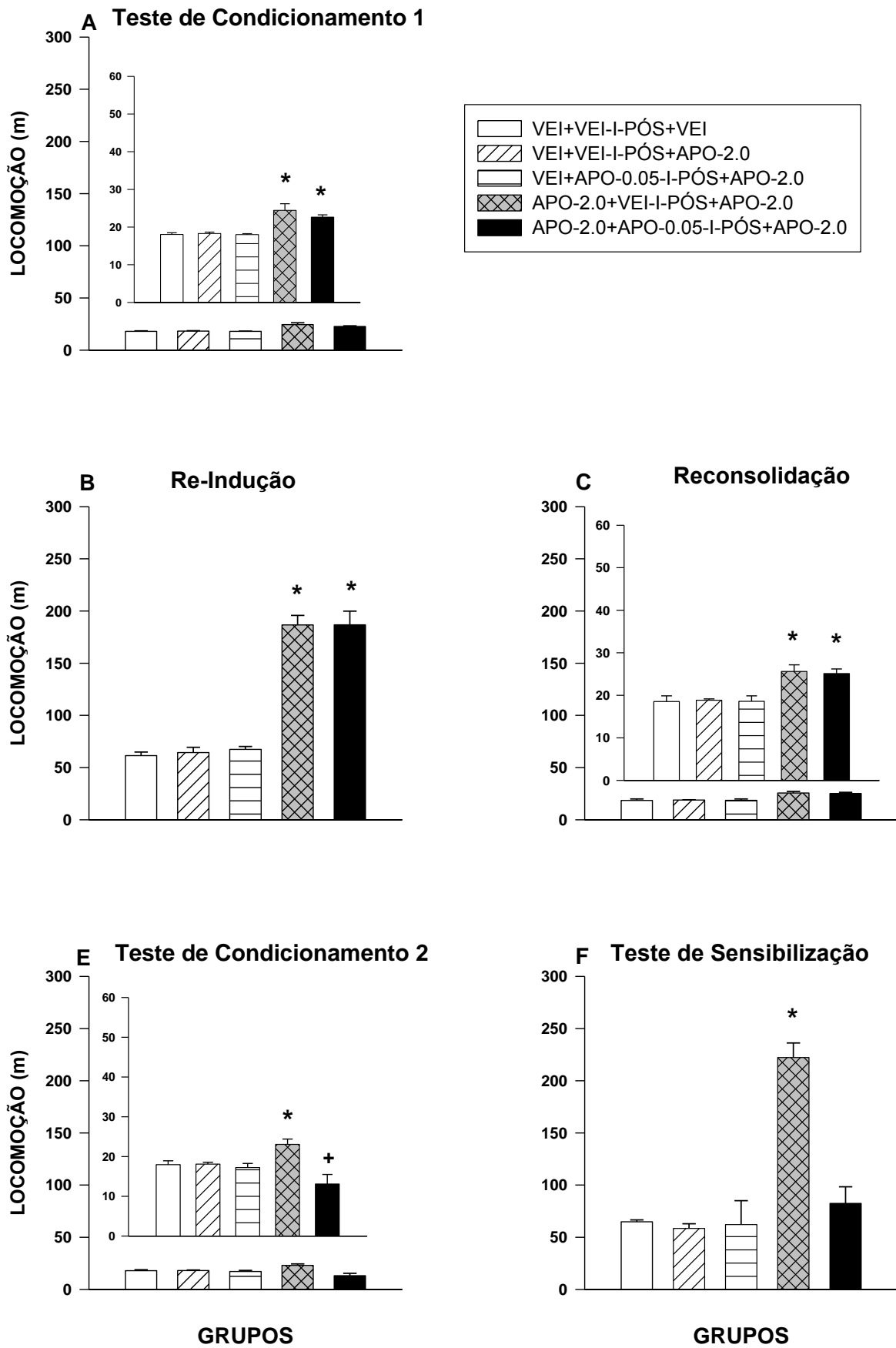


Figura 14: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M) do efeito da apomorfina e veículo na na locomoção durante a fase de indução. * Indica maior locomoção no mesmo dia experimental. # Indica maior locomoção para o grupo APO-2,0 quando comparado ao 1º e 2º dia experimental (ANOVA seguida do teste de Duncan).

A figura 15 apresenta a atividade locomotora durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de contracondicionamento (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). Para o teste de condicionamento 1 (Fig. 15A), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito de grupos [F (4, 25) = 11,90; $p < 0,01$], e o teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que os grupos apomorfina (APO-2,0+ APO-0,05-I-POS+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-I-POS+APO-2,0) apresentaram atividade locomotora mais elevada comparado aos outros grupos ($p < 0,05$). Para o dia da re-indução (Fig 15B), ANOVA de um fator mostrou que houve uma diferença entre os grupos experimentais [F (4, 25) = 73,92; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que os grupos que receberam apomorfina apresentaram atividade locomotora maior do que outros grupos ($p < 0,05$). Para o tratamento de reconsolidação administrado imediatamente após a exposição à arena experimental (Fig. 15C), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [F (4, 25) = 9,13; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que os grupos APO-2,0+APO-0,05-I-POS+APO-2,0 e APO-2,0+VEI-I-POS+APO-2,0 apresentaram atividade locomotora superior a todos os outros grupos ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 2 (Fig. 15D) a ANOVA de um fator mostrou que houve diferenças entre os grupos [F (4, 25) = 6,44; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que o grupo APO-2,0+VEI-I-POS+APO-2,0 apresentou atividade locomotora maior, quando comparado aos outros grupos ($p < 0,05$). Os resultados também mostraram que o grupo APO-2,0+APO-0,05-I-POS+APO-2,0 teve o menor nível de atividade locomotora ($p < 0,05$). Para o teste de sensibilização (Fig. 15E), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [F (4, 25) = 24,71; $p < 0,01$] e o teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que o grupo apomorfina (APO-2,0+VEI-I-POS+APO-2,0) obteve níveis de locomoção maior do que os outros grupos ($p < 0,05$).

Figura 15: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M.) durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de reconsolidação (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). * Indica atividade locomotora maior do que os demais grupos. + Indica atividade locomotora menor do que os demais grupos (ANOVA seguida pelo teste de Duncan).

EXPERIMENTO 3 - Tratamento de reconsolidação imediatamente após à arena



5.5 – EXPERIMENTO 4: EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg 15 MINUTOS APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

A figura 16 mostra os resultados do tratamento farmacológico para os grupos veículo e apomorfina (2,0 mg / kg) durante 5 dias consecutivos. A ANOVA por medidas repetidas mostrou interação grupo X dias [$F(16, 100) = 7,41; p < 0,01$], efeito dos grupos [$F(4, 25) = 22,09; p < 0,01$] e efeito dos dias de tratamento [$F(4, 100) = 14,91; p < 0,01$]. A ANOVA de um fator seguido pelo teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que do 1º ao 5º dia os grupos apomorfina (APO-2,0+APO-0,05-15'-POS+APO-2,0 e APO-2,0+VEIC-15'-POS+APO-2,0) apresentaram atividade locomotora elevada, comparado a outros grupos ($p < 0,05$). Os resultados também mostram que a atividade locomotora foi maior nos dias 4 e 5 ($p < 0,05$) quando comparando aos dias 1 e 2 para os grupos que receberam apomorfina (ANOVA de um fator seguido pelo teste de Duncan).

EXPERIMENTO 4 - Tratamento de reconsolidação 15 minutos após a arena

Fase de Indução

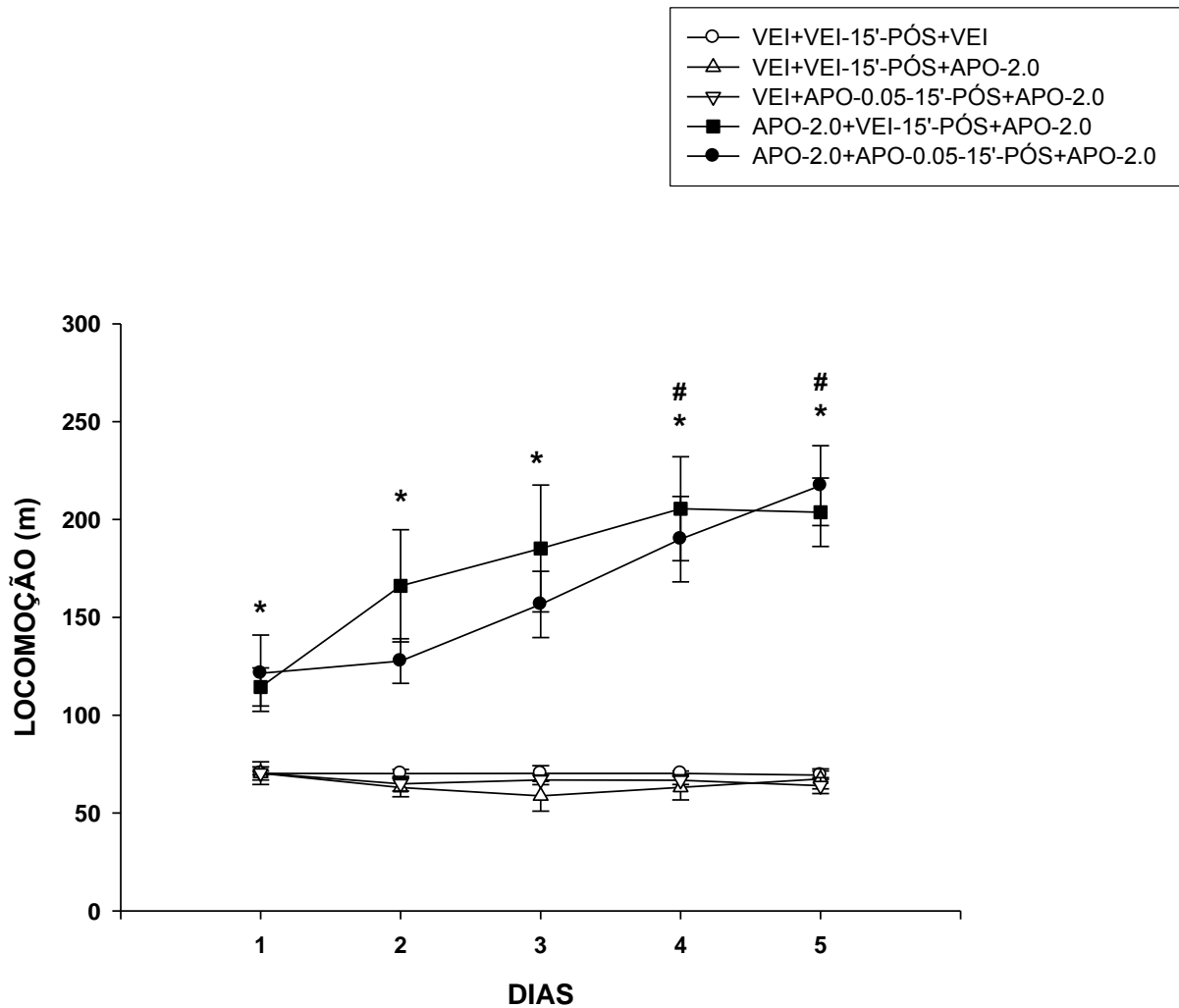
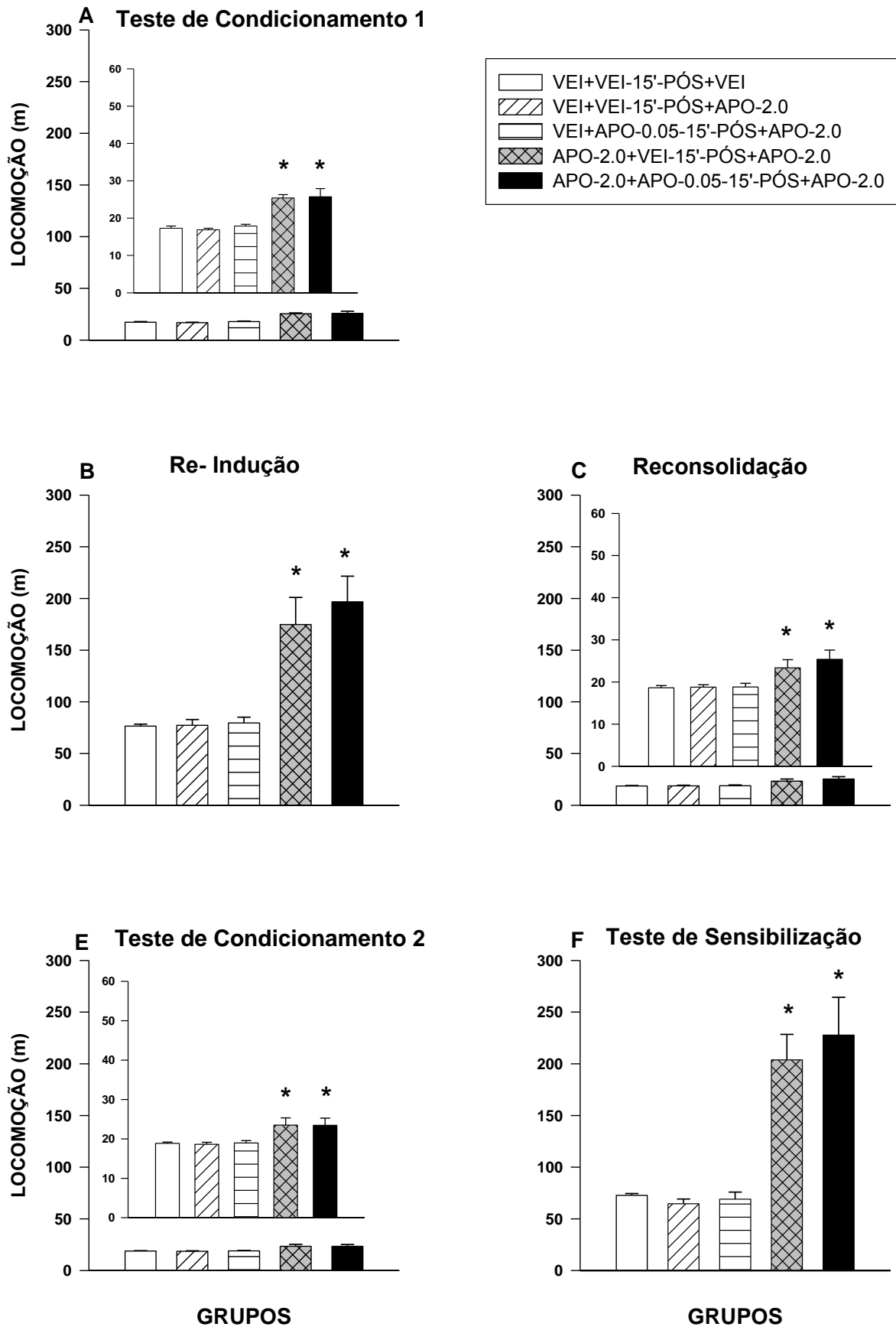


Figura 16: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M) do efeito da apomorfina e veículo na atividade locomotora de ratos. * Indica maior locomoção no mesmo dia experimental. # Indica maior locomoção para o grupo APO-2,0 quando comparado ao 1º e 2º dia experimental (ANOVA seguida do teste de Duncan).

A figura 17 apresenta a atividade locomotora durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de contracondicionamento (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). Para o teste de condicionamento 1 (Fig. 17A), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito de grupos [$F(4, 25) = 16,50$; $p < 0,01$] e o teste de múltiplo de Duncan mostrou que os grupos apomorfina (APO-2,0 + APO-0,05-15'-POS + APO-2,0 e APO-2,0 + VEI-15'-POS + APO-2,0) apresentaram locomoção mais elevadas que comparados aos outros grupos ($p < 0,05$). Para dia da re-indução (Fig. 17B) a ANOVA de um fator mostrou que houve uma diferença entre os grupos experimentais [$F(4, 25) = 13,05$; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que os grupos apomorfina apresentaram atividade locomotora maior, em relação aos outros grupos ($p < 0,05$). Para o tratamento de reconsolidação administrado, o tratamento 15 minutos depois da exposição à arena experimental (Fig. 17C), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos [$F(4, 25) = 5,06$; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que os grupos APO-2,0 + APO-0,05-15'-POS + APO-2,0 e APO-2,0 + VEI-15'-POS + APO-2,0 apresentaram atividade locomotora superior a todos os grupos ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 2 (Fig. 17D) a ANOVA de uma fator mostrou que houve diferenças entre os grupos [$F(4, 25) = 4,50$; $p < 0,01$], e o teste de Duncan mostrou que os grupos APO-2,0 + APO-0,05-15'-POS + APO-2,0 e APO-2,0 + VEI-15'-POS + APO-2,0 apresentou maior atividade locomotora do que os outros grupos ($p < 0,05$). Para o teste de sensibilização (Fig. 17E), a ANOVA de um fator mostrou que houve um efeito nos grupos [$F(4, 25) = 16,30$; $p < 0,01$] e o teste de comparações múltipla de Duncan mostrou que os grupos apomorfina APO-2,0 + APO-0,05-15'-POS + APO-2,0 e APO-2,0 + VEI-15'-POS + APO-2,0 apresentaram locomoção maior do que os outros grupos ($p < 0,05$).

Figura 17: Média e Erro Padrão da Média (E.P.M.) durante o teste de condicionamento 1 (A), re-indução (B), tratamento de reconsolidação (C), teste de condicionamento 2 (D) e teste de sensibilização (E). * Indica atividade locomotora maior do que os demais grupos. + Indica atividade locomotora menor do que os demais grupos (ANOVA seguida pelo teste de Duncan).

EXPERIMENTO 4 - Tratamento de reconsolidação 15 minutos após a arena



6. DISCUSSÃO

Como o período de habituação, fase de indução, teste de condicionamento 1 e re-indução foram procedimentos semelhantes aos 4 experimentos, optou-se por fazer a discussão junto de cada etapa dos experimentos.

6.1 – PERÍODO DE HABITUAÇÃO

Antes do início dos experimentos todos os animais passaram por um procedimento de habituação ao ambiente experimental (arena) durante três dias consecutivos. Os resultados do presente estudo mostraram que houve uma diminuição da atividade locomotora ao longo dos dias nesse período. Conforme trabalhos na literatura, estes resultados mostraram que a atividade locomotora diminuiu com a repetição da exposição do animal à arena, como é esperado quando ocorre o desenvolvimento da habituação a um ambiente novo. Portanto, esses resultados asseguram que antes do início dos experimentos não houve diferenças entre os animais que constituíram os grupos experimentais. (CERBONE e SADILE, 1994, BRAGA et al., 2009a; DE MATOS et al., 2010; CARRERA et al., 2011; DIAS et al., 2012; CARRERA et al., 2013).

6.2 – FASE DE INDUÇÃO

O objetivo dessa fase foi produzir o desenvolvimento dos processos de condicionamento e de sensibilização comportamental. Para isso, administrou-se apomorfina na dose de 2,0 mg/kg e veículo em grupos independentes de animais durante 5 dias consecutivos e a atividade locomotora foi registrada durante 30 minutos.

Os resultados mostraram que os grupos de animais que receberam apomorfina apresentaram aumento progressivo da atividade locomotora, quando

comparados aos animais que receberam veículo. Esse aumento da locomoção também foi observado ao longo dos dias de administração, mostrando que houve o desenvolvimento de uma resposta locomotora sensibilizada. Esses resultados corroboram dados da literatura e do nosso grupo de pesquisa, que demonstraram que a apomorfina em dose elevadas, ou seja, em dose que atua preferencialmente em receptores dopaminérgicos pós-sinápticos, produziu sensibilização locomotora (DAMIANOPOULOS e CAREY, 1993; BLOISE et al., 2007; BRAGA et al., 2009a e DE MATOS et al., 2010; CARRERA et al., 2011; CARRERA et al., 2013).

Está bem estabelecido na literatura que os efeitos comportamentais de drogas psicoestimulantes, agonistas dopaminérgicos indiretos como a cocaína e anfetamina, e agonista direto como a apomorfina, aumentam após a administração repetida (KALIVAS e STEWART, 1993; ROBINSON e BECKER, 1986; BADIANI e STEWART, 1993). Este fenômeno é conhecido como sensibilização comportamental, que possui como características, por exemplo, um aumento comportamental da atividade locomotora e estereotipia (ANAGNOSTARAS e ROBINSON, 1996; LIENAU e KUSCHINSKY 1997; MATTINGLY et al., 1997; ACERBO et al., 2005; BLOISE et al., 2007).

A sensibilização comportamental é um dos eventos que emergem no decurso temporal das adaptações no sistema nervoso central, que levam à farmacodependência e está relacionada com o aumento da vulnerabilidade ao abuso de drogas (ROBINSON e BERRIDGE, 1993; NESTLER e AGHAJANIAN, 1997; PIAZZA e LE MOAL, 1998). Recentemente, COVINGTON III e MICZEK (2001) sugeriram que a sensibilização comportamental é a gênese do uso compulsivo das drogas.

Assim, os resultados do presente trabalho corroboram os dados da literatura, mostrando que a apomorfina 2,0 mg/kg produz sensibilização comportamental observada por meio da indução de uma resposta locomotora sensibilizada.

6.3 – TESTE DE CONDICIONAMENTO 1

Esse teste teve como objetivo verificar a expressão de uma resposta locomotora condicionada, desenvolvida durante a fase de indução. Para isso, os

animais foram administrados com veículo e foram colocados imediatamente na arena experimental durante 5 minutos, sendo a atividade locomotora registrada.

Os resultados mostraram que os animais que receberam apomorfina durante a fase de indução apresentaram uma atividade locomotora maior que os animais que receberam veículo, mostrando a expressão de uma resposta locomotora condicionada. Esses resultados demonstraram que durante a fase de indução, houve uma associação entre os efeitos da apomorfina, com a arena experimental de modo que, uma rápida exposição à arena experimental (5 minutos) foi capaz de produzir nos animais um comportamento locomotor semelhante ao produzido pela apomorfina. Assim, os animais que receberam apomorfina na fase de indução apresentaram níveis de atividade locomotora elevados devido ao processo de aprendizagem associativa, no qual o ambiente experimental (estímulo incondicionado) foi associado aos efeitos da apomorfina (estímulo condicionado) e, com o decorrer das associações, o estímulo incondicionado adquiriu a capacidade de produzir uma resposta condicionada semelhante à resposta produzida pela apomorfina (resposta incondicionada).

Estes resultados estão de acordo com dados da literatura que mostraram que administrações de apomorfina produzem o desenvolvimento da atividade locomotora condicionada (CAREY, 1989; MATTINGLY e GOTSICK, 1989; BRAGA et al., 2009ab; CARRERA et al., 2013). Vários trabalhos mostram que as substâncias de abuso como cocaína e anfetamina também produzem condicionamento (CAREY et al., 2007). A ação das drogas de abuso, a cocaína, por exemplo, nos circuitos de recompensa tem sido central para explicar a dependência à cocaína (GOLD, 1990; VOLKOW, 2000; SPANAGEL, 2005). No entanto, só os efeitos positivos produzidos por essa substância por si só não explicam o complexo fenômeno da dependência.

A dependência ultrapassa os limites neuroquímicos e, estudos apontam a importância dos processos associativos, como o condicionamento, na dependência química (O'BRIEN, 1992). O condicionamento clássico possui relevância clínica nos processos de abuso e dependência de drogas, pois pistas contextuais associadas com a administração e, principalmente, com os efeitos de uma droga psicoativa podem atuar como um estímulo condicionado e evocar efeitos semelhantes aos produzidos pela droga (SELF e NESTLER, 1998).

6.4 – RE-INDUÇÃO

O objetivo deste experimento foi assegurar que um breve teste de condicionamento não produzisse uma extinção do comportamento locomotor sensibilizado previamente. Para isso, os animais experimentais foram administrados com os seus respectivos tratamentos farmacológicos que receberam durante a fase de indução.

Os resultados mostraram que os grupos tratados com apomorfina na dose de 2,0 mg/kg apresentaram níveis de atividade locomotora elevada quando comparados aos grupos veículo. Esses resultados são semelhantes aos resultados obtidos na fase de indução e asseguram que uma breve exposição ao ambiente experimental realizada no teste de condicionamento 1, na ausência da droga, não acarretou em um prejuízo na expressão da sensibilização. Estes resultados estão de acordo com CARRERA e colaboradores (2013), que mostraram que os resultados obtidos com a apomorfina no dia de re-indução foram semelhantes aos resultados obtidos na fase de indução.

6.5 – EFEITOS DO TRATAMENTO DE CONTRA-CONDICIONAMENTO COM A POMORFINA 0,05 MG/KG, IMEDIATAMENTE E 15 MINUTOS ANTES DA EXPOSIÇÃO À ARENA, SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA PREVIAMENTE CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

O presente experimento teve como objetivo verificar se o tratamento de contracondicionamento utilizando-se a apomorfina na dose de 0,05 mg/Kg administrada nos animais imediatamente e 15 minutos antes de serem colocados no ambiente experimental (arena) modificaria a expressão de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada.

Os tempos utilizados no presente estudo (imediatamente e 15 minutos) foram escolhidos com base na literatura científica, que mostrou que os efeitos da apomorfina ocorrem imediatamente após a sua administração tendo um pico

máximo em torno de 15 a 20 minutos quando utilizada por via subcutânea LEWITT, 2004; BRAGA et al., 2009c).

Nesse experimento, os grupos veículo (VEI) e apomorfina (APO) foram subdivididos em dois grupos cada, as quais receberam veículo ou apomorfina 0,05 e foram colocados imediatamente ou após 15 minutos na arena teste. A fim de verificar o efeito do tratamento de contracondicionamento sobre os processos de condicionamento e sensibilização, os animais foram submetidos a um segundo teste de condicionamento e a um teste de sensibilização comportamental.

Os resultados do contracondicionamento mostraram que os animais que receberam apomorfina 0,05 mg/kg apresentaram uma atividade locomotora menor que os demais grupos. Essa atividade locomotora diminuída foi independente se o animal recebeu previamente apomorfina 2,0 mg/kg ou veículo durante a fase de indução. Também, verificou-se que a atividade locomotora durante o dia de contracondicionamento foi independente se o animal foi colocado na arena imediatamente ou 15 minutos após a administração dos tratamentos.

Os resultados verificados com a apomorfina na dose de 0,05 mg/kg estão de acordo com a literatura, que mostra que a administração de agonistas dopaminérgicos em doses baixas resulta em uma diminuição da atividade locomotora, sedação e diminuição do comportamento de levantamento (DI CHIARA et al., 1976; MATRES et al., 1977; COSTAL et al., 1981; KENDLER et al., 1982). Outros trabalhos presentes na literatura (CARRERA et al., 2011; CARRERA et al., 2012; CARRERA et al., 2013), relatam que a apomorfina na dose de 0,05 mg/kg tem uma ação preferencial em receptores dopaminérgicos pré-sinápticos (auto-receptores) do tipo D2, desempenhando um efeito inibitório. MOLLER e colaboradores (1987) também verificaram que baixas doses de apomorfina (0,07 mg/kg) causaram uma diminuição na atividade locomotora induzida por apomorfina. Segundo ROTH, 1984 e STOREY e colaboradores (1995), a função desses auto-receptores nas terminações nervosas é modular a síntese e a liberação de dopamina e, nos corpos celulares, modular a taxa de disparo de dopamina por meio de redução da atividade da enzima tirosina hidroxilase.

Um resultado interessante desse dia (contracondicionamento), foi o fato que os animais que receberam a apomorfina durante a fase de indução e que receberam veículo como tratamento de contracondicionamento mostraram uma atividade locomotora elevada quando comparados aos demais grupos. Foi interessante

observar que o tratamento de contracondicionamento não funcionou como um teste de extinção para esses animais, mas sim como um outro teste de condicionamento.

No teste de condicionamento 2, quando todos os animais receberam veículo, foi verificado que o grupo que recebeu apomorfina durante a fase de indução, e veículo como tratamento de contracondicionamento (APO+VEI) apresentou maior locomoção do que os demais grupos. Os grupos que receberam apomorfina 0,05 mg/kg como tratamento de contracondicionamento administrada imediatamente ou 15 minutos (VEI+APO-0,05 e APO+APO-0,05), apresentaram atividade locomotora semelhante ao grupo VEI+VEI. Os resultados obtidos do grupo APO+APO-0,05 mostraram que o tratamento contracondicionamento com apomorfina 0,05 mg/kg bloqueou a expressão da resposta locomotora previamente condicionada.

O bloqueio da expressão da resposta condicionada se deve ao uso do protocolo de contracondicionamento. Nesse protocolo, um determinado estímulo condicionado é associado a um estímulo incondicionado levando a formação de uma resposta condicionada. Então, uma etapa subsequente ao estímulo condicionado, é mantido enquanto que o estímulo incondicionado é substituído por outro diferente do anterior. Com essa mudança, o efeito do estímulo incondicionado utilizado nessa segunda fase substitui o efeito do estímulo incondicionado utilizado na primeira fase, produzindo uma nova resposta condicionada. Esta substituição do estímulo incondicionado produz uma nova associação e conseqüentemente é gerada uma nova aprendizagem. (BOUTON, 2004). O contracondicionamento é um método utilizado amplamente para eliminar respostas condicionadas indesejáveis (VAN GUCHT et al., 2010; BRENAN et al., 2012; SCHWECKENDIEK et al., 2013).

O contracondicionamento é um método que pode ser empregado no tratamento da farmacodependência. Nesse tratamento, o estímulo condicionado original pode estar presente, mas a droga utilizada pode alterar substancialmente os estímulos interoceptivos, para que o contexto exteroceptivo já não evoque o traço de memória anteriormente produzido. Em seu trabalho BREDAN e colaboradores (2010), verificaram que o contracondicionamento foi efetivo em reduzir a procura por cocaína em ratos. Primeiramente, os animais foram condicionados a auto-administração de cocaína associada com uma luz. A luz foi utilizada como estímulo condicionado e a cocaína como estímulo incondicionado. Sendo estabelecida associação, os animais receberam o estímulo luminoso juntamente com um estímulo aversivo, o choque nas patas. Os resultados mostraram que a associação formada

pela luz na busca por cocaína, que fazia com que os animais procurassem mais a droga, foi substituída por um estímulo aversivo que reduziu o desejo de busca pela cocaína.

No presente trabalho, na fase de indução foi utilizada a apomorfina 2,0 mg/kg produzindo estimulação dos receptores pós-sinápticos e ativação dopaminérgica, esse foi o estímulo incondicionado original. Os efeitos da apomorfina foram associados à arena experimental, que atuou como o estímulo condicionado, produzindo uma resposta locomotora condicionada observada no teste de condicionamento 1. No dia do tratamento de contracondicionamento ocorreu uma alteração no estímulo incondicionado original, a dose de apomorfina utilizada foi de 0,05 mg/kg que produz efeitos opostos à dose de 2,0 mg/kg, pelo fato de ativar os receptores pré-sinápticos, causando uma inibição dopaminérgica. No procedimento de contracondicionamento ocorreu uma modificação no estímulo interoceptivo apomorfina, o que fez com que o contexto exteroceptivo arena não evocasse o traço de memória anteriormente formado. Assim, resultando na não expressão da resposta locomotora condicionada, como foi observado no teste de condicionamento 2. Tem sido verificado que a ativação dopaminérgica acentua a importância das pistas contextuais e promove a formação de uma associação entre as pistas contextuais e o comportamento. Por outro lado, o bloqueio dopaminérgico atuaria diminuindo a probabilidade da formação de uma associação entre o efeito da droga e as pistas contextuais (CAREY et al., 2005).

No grupo que experimentou os efeitos estimulantes da apomorfina 2,0 mg/kg na arena experimental, as pistas do contexto ambiental possuem grande importância e valores excitatórios. Assim, quando estes animais receberam a dose inibitória de 0,05 mg/kg de apomorfina no protocolo de contracondicionamento e foram colocados na arena experimental, a importância do ambiente experimental mudou devido a inibição do sistema dopaminérgico. Então, esta inversão no valor das pistas ambientais causada pela dose baixa de apomorfina, enfraqueceu o peso das pistas contextuais que mantinham e sustentavam a atenção e os valores excitatórios anteriormente adquiridos com a dose elevada de apomorfina. Ademais, os resultados obtidos com o protocolo de contracondicionamento com a dose baixa de apomorfina sugeriram que esta dose atuou bloqueando a resposta condicionada (RC) (DE MATOS et al., 2011).

Em um protocolo de condicionamento pavloviano, a resposta condicionada induzida por drogas atinge o pico máximo de expressão no início da apresentação do estímulo condicionado (EC). No presente trabalho, os grupo que receberam a apomorfina 2,0 mg/kg durante a fase de indução e como tratamento de contracondicionamento recebeu a apomorfina 0,05 mg/Kg (APO+APO-0,05) experimentou os efeitos de uma inibição da RC, pois o bloqueio da ativação da RC produzido pela dose baixa de apomorfina acarretou em um menor estado de excitação dopaminérgica e em uma menor relevância dos estímulos associados as pistas do ambiente teste. Por outro lado, o grupo apomorfina que recebeu veículo (APO+VEI) no protocolo de contracondicionamento, experimentou os efeitos da resposta condicionada excitatória. Assim, nesse dia de teste de condicionamento 2, a expressão da resposta locomotora condicionada não foi bloqueada, indicando que apesar do tratamento com veículo pudesse acarretar em extinção da resposta condicionada, o mesmo não ocorreu.

Estes resultados corroboram o trabalho de DE MATOS e colaboradores (2011), que estudou o efeito de um protocolo de contracondicionamento sobre a expressão de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada por apomorfina 2,0 mg/kg. No protocolo de contracondicionamento, em uma primeira etapa, fase de indução, os animais receberam apomorfina 2,0 mg/kg por 5 dias seguidos, seguido de um teste de condicionamento e sensibilização. Os resultados mostraram que a dose de 2,0 mg/kg produziu ativação locomotora e expressão dos processos de condicionamento e sensibilização locomotora. Em uma fase posterior, fase reversa, os animais passaram a receber apomorfina 0,05 mg/kg. Os resultados mostraram que a ativação locomotora produzida pela dose de 2,0 mg/kg durante a fase de indução foi substituída pela inibição locomotora gerada pela dose de 0,05 mg/kg na fase reversa. Os resultados mostraram que, o procedimento de contracondicionamento foi capaz de bloquear a expressão da resposta condicionada, mas a locomoção sensibilizada por apomorfina 2,0 mg/kg foi insensível a essa manipulação.

Por outro lado, OLIVEIRA-LIMA e colaboradores (2007) investigaram os efeitos do tratamento de Contracondicionamento utilizando, o antipsicótico, ziprasidona sobre a resposta locomotora condicionada e a sensibilização induzida por cocaína. Seu protocolo experimental desenvolveu-se em quatro fases. A primeira fase foi a de indução, com duração de 15 dias utilizando salina e cocaína

tendo como resultado uma resposta sensibilizada dos animais que receberam a cocaína. Na segunda fase foi utilizado o tratamento de contracondicionamento, utilizando veículo e a ziprasidona (5,0 mg/kg), em um período de 7 dias observou-se que o grupo de animais que receberam a ziprasidona apresentaram uma atividade locomotora reduzida na terceira fase, que foi o de teste de condicionamento. A quarta fase foi o teste de sensibilização utilizando veículo e cocaína. Os resultados mostraram um enfraquecimento da resposta sensibilizada dos animais que foram tratados previamente com a cocaína. Esses resultados podem ser explicados pelo fato do uso prolongado crônico da ziprasidona no protocolo de contracondicionamento, pois a droga atua bloqueando os receptores de dopamina D2, podendo ter ocasionado efeitos de neuroadaptações. DIAS e colaboradores (2013) verificaram que o uso do antipsicótico olanzapina por 10 dias causou uma dessensibilização nos receptores D2 o que acarretou uma inibição dopaminérgica e consequentemente um enfraquecimento do condicionamento e da sensibilização.

No teste de sensibilização, os resultados do presente trabalho mostraram que os grupos que receberam apomorfina (VEI+APO-0,05-Pré+APO-2,0; APO-2,0+APO-0,05-Pré+APO-2,0; VEI+APO-0,05-Pré-15'+APO-2,0; APO-2,0+APO-0,05-Pré-15'+APO-2,0) exibiram uma expressão significativa da resposta locomotora sensibilizada. Estes resultados mostraram que o tratamento de contracondicionamento realizado com administração de apomorfina 0,05 mg/kg não foi suficiente para modificar a expressão da resposta sensibilizada desenvolvida durante a fase de indução. Os resultados do presente trabalho sugerem que o condicionamento não contribui para o desenvolvimento da sensibilização, pois no teste de condicionamento 2 houve a expressão do condicionamento locomotor somente em um grupo apomorfina (APO-2,0+VEI-Pré+APO-2,0), e no teste de expressão da sensibilização houve a expressão em ambos os grupos apomorfina (APO-2,0+APO-0,05-Pré+APO-2,0; APO-2,0+VEI-Pré+APO-2,0). Os resultados obtidos nesse dia de teste mostraram que o condicionamento não contribuiu para a expressão da sensibilização, pois apresentou expressão da sensibilização independente do fato de não haver condicionamento.

Alguns trabalhos sugerem que o condicionamento participa da gênese da sensibilização pois a sensibilização perde a magnitude, ou é suprimida quando o contexto-teste é modificado (MICHEL e TIRELLI, 2003), porém, há trabalhos que

mostram que existe uma dissociação entre estes fenômenos (CROMBRAG et al., 2000; HOTSENPILLER e WOLF, 2002).

Esses resultados confirmam relatos da literatura que mostram que o condicionamento pavloviano pouco contribui ou não contribui para o processo de sensibilização comportamental, já que em termos de magnitude da resposta condicionada, o condicionamento pavloviano induzido por drogas psicomotoras representa uma fração pequena, quando comparada à magnitude da resposta sensibilizada (TIRELLI et al., 2005; ANAGNOSTARAS et al., 2002; CROMBRAG et al., 2000; CAREY; GUI, 1998; ANAGNOSTARAS; ROBINSON, 1996; HOTSENPILLER e WOLF, 2002).

Tomados juntos os resultados do experimento 1 e 2 sugerem que o protocolo de contracondicionamento enfraquecem o condicionamento, mas não a expressão da resposta locomotora sensibilizada, demonstrando que a expressão do processo de sensibilização não foi dependente do condicionamento.

6.6 – EFEITOS DO TRATAMENTO DE RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA COM APOMORFINA 0,05 mg/kg IMEDIATAMENTE E 15 MINUTOS APÓS A EXPOSIÇÃO À ARENA SOBRE A EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA LOCOMOTORA PREVIAMENTE CONDICIONADA E SENSIBILIZADA

O presente experimento teve como objetivo verificar se o tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg administrado imediatamente ou 15 minutos após a exposição à arena (tratamento de reconsolidação da memória), modificaria a expressão de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada.

Após o desenvolvimento do condicionamento e sensibilização, os animais foram submetidos ao teste de reativação da memória no qual receberam veículo e imediatamente foram colocados na arena. Imediatamente ou 15 minutos após o término dessa exposição, os animais receberam os tratamentos de reconsolidação, que consistiram em veículo e apomorfina 0,05 mg/kg. Após houve um outro teste de condicionamento e um teste de sensibilização para se verificar o efeito do tratamento de reconsolidação da memória sobre esses processos.

Os resultados do teste de ativação da memória mostraram que os animais do grupo APO-2,0 tiveram uma atividade locomotora elevada, quando comparada com o grupo veículo. Esses resultados mostraram que houve a expressão da locomoção condicionada no grupo que recebeu apomorfina 2,0 mg/kg durante a fase de indução. Esses resultados corroboram os achados de CARRERA e colaboradores (2013), que mostraram que no teste de condicionamento 2 os animais que haviam sido tratados com apomorfina 2,0 mg/kg na fase de indução apresentaram uma atividade locomotora elevada quando comparada com o grupo veículo.

Os resultados do teste de condicionamento 2 mostraram que os animais do grupo APO que receberam apomorfina 0,05 mg/kg como o tratamento de reconsolidação da memória imediatamente após ter sido expostos a arena experimental, mostraram uma atividade locomotora menor do que os demais grupos. Por outro lado, o grupo APO-2,0 que recebeu o tratamento de reconsolidação da memória com veículo, imediatamente após serem expostos à arena experimental, mostrou uma locomoção maior que todos os grupos. Os animais do grupo veículo que receberam apomorfina 0,05 mg/kg mostraram uma atividade locomotora semelhante aos animais do grupo VEI que receberam veículo.

Os resultados verificados no grupo APO-2,0 que recebeu a dose de 0,05 mg/kg imediatamente após a exposição à arena podem ser explicados em termos da teoria da reconsolidação da memória. Segundo esta teoria as memórias já consolidadas tornam-se novamente lábeis e susceptíveis a interrupções quando evocadas (PRZYBYSLAWSKI e SARA, 1997; DEBIEC et al., 2002), processo este conhecido como reativação, recordação, lembrança ou recuperação (NADER, 2003). Após a evocação, memórias já estabilizadas retornam ao estado vulnerável e precisam passar por um novo processo de estabilização, que depende da síntese protéica e outros mecanismos moleculares, processo chamado de reconsolidação da memória. De acordo com a teoria da reconsolidação, uma informação já consolidada, quando é evocada (reativada), novamente tornar-se lábil, capaz de se modificar e recompor se nesse momento for introduzida uma nova informação ou algum tratamento farmacológico (NADER et al., 2003 e 2004; SARA, 2000; DUDAI, 2002, TRONSON et al., 2006).

No presente experimento foi utilizada inicialmente a dose elevada de apomorfina (2,0 mg/kg) para a indução dos processos de condicionamento e sensibilização, nessa dose a apomorfina produziu uma intensa ativação locomotora.

Esta ativação dopaminérgica produzida pela dose de 2,0 mg/kg provavelmente facilitou a aprendizagem e memória, e criou uma forte associação entre os efeitos estimulantes da apomorfina e o contexto ambiental. Quando foi realizado o tratamento de reconsolidação com a dose de 0,05 mg/kg, no grupo APO, ocorreu então uma diminuição da atividade dopaminérgica. Esta súbita inibição da dopamina não somente alterou a reconsolidação, mas também gerou a ocorrência de uma inibição da resposta locomotora condicionada. Estes resultados sugerem que a inibição dopaminérgica substituiu a associação da ativação dopaminérgica às pistas contextuais no sistema de memória.

Os resultados do trabalho de CARRERA e colaboradores (2012) corroboram com os resultados presentes neste trabalho, pois mostraram que os animais que receberam a apomorfina 0,05 mg/kg como tratamento de reconsolidação da memória apresentaram uma atividade locomotora inferior aos outros grupos. Ademais, no trabalho de CARRERA e colaboradores (2012), no qual administrou-se apomorfina 0,05 mg/kg e 2,0 mg/kg 2 horas após o término do teste de ativação, foi verificado no teste de condicionamento 2, que estes tratamentos não alteraram a atividade locomotora dos grupos apomorfina previamente sensibilizados. Os resultados de CARRERA e colaboradores (2012), sugeriram que o tratamento de reconsolidação só foi eficiente quando foi administrado imediatamente e não 2 horas após o teste de reativação da memória. Diferentemente do trabalho produzido por CARRERA e colaboradores (2012), o presente trabalho mostrou que um único tratamento de reconsolidação foi capaz de bloquear o processo de condicionamento, enquanto que no trabalho de CARRERA colaboradores (2012), foram utilizados três dias de tratamento de reconsolidação.

Semelhante aos resultados de CARRERA colaboradores (2012), os resultados do presente trabalho mostraram que o tratamento de reconsolidação só foi eficiente em bloquear o processo de condicionamento no grupo que recebeu o tratamento de reconsolidação com a apomorfina 0,05 mg/kg imediatamente após os animais serem expostos à arena experimental. Quando o tratamento de reconsolidação foi administrado 15 minutos mais tarde, não foi observado o condicionamento. Esses resultados corroboram com dados da literatura que mostram que para que o processo de reconsolidação da memória funcione, este tratamento deve ser realizado imediatamente após uma breve exposição ao contexto

ambiental (NADER et al., 2000; MATOS et al., 2011; CARRERA et al., 2011; CARRERA et al., 2012; CARRERA et al., 2013).

Segundo DAVIS e SQUIRE (1984), tratamentos que utilizam inibidores de síntese de proteína prejudicam a consolidação de novas recordações quando estes são administrados durante um tempo específico. O trabalho de BERNARDI e LATTAL (2007) sugere que para que ocorra uma alteração no processo de reconsolidação da memória, tem que se levar em consideração o tempo de evocação. Esses autores utilizando a anisomicina (inibidor de síntese de proteína) como tratamento de reconsolidação mostraram que o tratamento administrado imediatamente após um teste de reexposição com duração de 5 minutos, bloqueou uma resposta condicionada previamente desenvolvida pela cocaína, mas quando o mesmo protocolo foi administrado 25 minutos após do teste de reexposição, não houve diferença entre os grupos cocaína e veículo. Os autores concluíram que o tempo decorrido entre a reativação da memória e o tratamento de reconsolidação exerce uma forte influência no processo de reconsolidação.

Os resultados verificados no teste de sensibilização realizados mostraram a influência do tratamento de reconsolidação sobre a expressão da sensibilização. Os animais do grupo APO-2,0 que receberam veículo, o tratamento de reconsolidação, imediatamente após os animais terem sido expostos à arena experimental apresentaram uma locomoção maior que todos os grupos, mostrando a expressão da sensibilização comportamental. Por outro lado o grupo APO que recebeu apomorfina 0,05 mg/kg como tratamento de reconsolidação apresentou locomoção equivalente ao grupo veículo, mostrando um bloqueio da sensibilização. Esses resultados mostram o papel da dopamina na expressão dos processos de sensibilização e de condicionamento, pois quando houve uma inibição dopaminérgica produzida pela dose de 0,05 mg/kg de apomorfina no protocolo de reconsolidação, ocorreu uma substituição da aprendizagem, isto é, os animais passaram a apresentar uma hipolocomoção ao invés de hiperlocomoção. Assim, a resposta locomotora sensibilizada excitatória foi substituída por uma resposta inibitória (CARRERA et al., 2013; DE MATOS et al., 2011).

Os resultados do teste de sensibilização para os animais dos grupos APO que receberam o tratamento reconsolidação da memória 15 minutos, após terem passado pela arena experimental, mostraram que tanto o grupo APO-2,0 que recebeu o tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg, quanto os grupo APO-2,0 que

recebeu veículo, apresentaram uma atividade locomotora maior que todos os grupos VEI. Esses resultados mostraram a expressão da sensibilização para ambos os grupos APO-2,0. Entre os grupos VEI não houve diferença na atividade locomotora. Estes resultados confirmam os dados na literatura que mostram que para que o processo de reconsolidação da memória influencie o processo de sensibilização, este tratamento deve ser realizado imediatamente após uma breve exposição ao contexto ambiental (CARRERA et al., 2013; BERNARDI e LATTAL, 2007).

Com esse experimento, concluiu-se que o protocolo de reconsolidação utilizando a apomorfina 0,05 mg/kg administrada imediatamente após a exposição dos animais à arena experimental foi eficaz de bloquear a expressão do condicionamento e sensibilização. Por outro lado, este mesmo protocolo, quando administrado 15 minutos após, não produziu alteração no condicionamento e na sensibilização.

A dependência química, hoje em dia, é considerada multifatorial na qual estão incluídos fatores neurobiológicos relacionados com mecanismos de neuroplasticidade produzido pelo uso repetido da droga (sensibilização comportamental) e fatores ambientais estabelecidos pela associação entre determinados estímulos (sons, imagens, lugares) e o prazer gerado pela droga. O estudo desses fatores, o condicionamento e a sensibilização, são de fundamental importância para o entendimento e o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para a droga-dependência. A reconsolidação é um fenômeno no qual as memórias, ao serem evocadas (lembradas), se tornam lábeis novamente, isto é, possíveis de sofrer modificações. Esta teoria abre uma porta para uma nova abordagem terapêutica não-invasiva, no tratamento de distúrbios envolvendo memórias mal-adaptativas, como o estresse pós-traumático, fobias, ansiedade, abuso e dependência de drogas.

7. CONCLUSÕES

- O protocolo de contracondicionamento bloqueou o condicionamento, mas não foi eficiente para bloquear a sensibilização comportamental;
- O protocolo de reconsolidação realizado imediatamente após o teste de ativação da memória bloqueou tanto o condicionamento, quanto a sensibilização comportamental;
- O protocolo de reconsolidação realizado 15 minutos após a exposição dos animais à arena experimental não afetou a expressão do condicionamento e da sensibilização comportamental;
- O tratamento de reconsolidação ao bloquear tanto o condicionamento quanto a sensibilização poderia atuar como uma estratégia terapêutica mais eficiente para a dependência de drogas do que o protocolo de contracondicionamento.
- A dopamina é um neurotransmissor que está envolvido nos processos de condicionamento e sensibilização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, T.; KANDEL, E. Positive and negative regulatory mechanisms that mediate long-term-memory storage. **Brain Research**, v. 26, p. 360-378, 1998.

ACERBO. M.J.; VYBOH. P; KOSTAL.L.; KUBIKOVA. L.; DELIUS. J.D. Repeated apomorphine administration alters dopamine D1 and D2 receptor densities in pigeon basal telencephalon. **Exp Brain Research**, v. 160, p. 533–537, 2005.

ADAMS, J.U.; JASON, M.C.; TOBY, R.; EFFEREN, J.R. Conditioned locomotor stimulant effects of cocaine in rats do not result from interference with habituation. **Psychopharmacology**, v. 15, p. 13-18, 2000.

ALBERINI, C.M. Mechanisms of memory stabilization: Are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? **Trends in Neurosciences**, v. 28, p. 51-56, 2006.

ALBERINI, C.M. The role of reconsolidation and the dynamic process of long-term memory formation and storage. **Frontiers Behavioral Neurosciences**, v. 5, p.12, 2011.

ALEXINSKY, T. Differential effect of thalamic and cortical lesions on memory systems in the rat. **Behavioral Brain Research**, v.122, p. 175–191, 2001.

ALVAREZ, P.; ZOLA-MORGAN, S.; SQUIRE, L.R. Damage limited to the hippocampal region produces long-lasting memory impairment in monkeys. **Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 3796–3807,1995.

ANAGNOSTARAS, S.G.; ROBINSON, T.E. Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: modulation by associative learning. **Behavioral Neurosciences**, v. 110, p. 1397-414, 1996.

ANAGNOSTARAS, S.G.; GALE, G.D.; FANSELOW, M.S. Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. **Hippocampus** v. 11, p. 8–17, 2001.

ANAGNOSTARAS, S.G.;SCHALLERT ,T.; ROBINSON, T.E. Memory processes governing amphetamine induced psychomotor sensitization. **Neuropsychopharmacology**,v. 26, p. 703-15, 2002.

ANTELMAN, S.M.; EICHLER, A.J.; BLACK, C.A.; KOCAN, D. Interchangeability of stress and amphetamine in sensitization. **Science**, v. 18, p. 329-331, 1980.

BADDELEY, A.; BUENO, O; CAHILL, L.; FUSTER, J.M.; IZQUIERDO, I.; MCGAUGH, J.L.; MORRIS, R.G.; NADEL, L; ROUTTENBER, G.A; XAVIER,G.; DA CUNHA, C. The brain decade in debate: I. Neurobiology of learning and memory. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p. 993-1002, 2000.

BADIANI, A.; STEWART, J. Enhancement of the Prophagic but Not of the Antidipsogenic Effect of U-50,488H After Chronic Amphetamine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 44, p. 77-86, 1993.

BADIANI, A.; OATES, M.M.; FRAIOLI, S.; BROWMAN, K.E.; OSTRANDER, M.M.; XUE, C.J.; LOBO, M.E.; ROBINSON, T.E. Environmental modulation of the response to amphetamine: dissociation between changes in behavior and changes in dopamine and glutamate overflow in the rat striatal complex. **Psychopharmacology**, v. 151, p. 166-74, 2000.

BADIANI, A.; OATES, M.M.; ROBINSON, T.E. Modulation of morphine sensitization in the rat by contextual stimuli. **Psychopharmacology**, v. 151, p. 273-82, 2000.

BADIANI, A.; ROBINSON, T.E. Drug-induced neurobehavioral plasticity: the role of environmental context. **Behavioral Pharmacology**, v. 15, p. 327-39, 2004.

BALAS, M.; NETSER, S.; GILADI, N.; KARNI, A. Interference to consolidation phase gains in learning a novel movement sequence by handwriting: dependence on

laterality and the level of experience with the written sequence **Brain Behavior Research**, v. 180, p. 237–246, 2007.

BARDO, M.T.; BEVINS, R.A. Conditioned place preference: what does it add to our understanding of preclinical reward. **Psychopharmacology**, v. 153, p. 31-43, 2000.

BASSAREO. V.; MUSIO. P.; DI CHIARA. G. Reciprocal responsiveness of nucleus accumbens shell and core dopamine to food and drugconditioned stimuli. **Psychopharmacology**, v. 214, p. 687–697, 2011.

BAEYENS, F; EELEN, P.; VAN DEN BERGH, O; CROMBEZ, G. The content of learning in human evaluative conditioning. Acquired valence is sensitive to USrevaluation. **Learning and Motivation**, v. 23, p. 200–224, 1992.

BEAVER, B.V. Comportamento canino de origem sensorial e nervosa. In: BEAVER, B.V. (ed.) **Comportamento canino: um guia para veterinários**. 1ª ed. São Paulo. Editora Roca Ltda. 2001, p. 55-132.

BEN-JONATHAN, N.; HNASKO, R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. **Endocrine Reviews**, v. 22, p. 724-763, 2001.

BERNARDI.R.E and LATTAL.M.K. Anisomycin Disrupts a Contextual Memory Following Reactivation in a Cocaine-Induced Locomotor Activity Paradigm. **Behavioral Neuroscience**, v. 121, nº. 1, p. 156-163, 2007.

BERRIDGE, K. C.; ROBINSON, T. E. The mind of an addicted brain: neural sensitization of wanting versus liking. **Current Direct Psychology Science**, v.4, p. 71-76, 1995.

BEYLIN, A.V.; SHORS, T.J. Stress enhances excitatory trace eyeblink conditioning and opposes acquisition of inhibitory conditioning. **Behavioral Neuroscience**, v. 112, p. 1327-1338, 1998.

BRENDAN. J.; TUNSTALL.; ANDREY .V.; DAVID. N. K. A Comparison of Therapies for the Treatment of Drug Cues: Counterconditioning vs. Extinction in Male Rats. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v.20, nº. 6, p. 447- 453, 2012.

BIANCHI, G.; LANDI, M. Determination of apomorphine in rat plasma and brain by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, **Journal of Chromatography**, v. 338, p. 230-235, 1985.

BLISS, T.V.; COLLINGRIDGE, G.L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. **Nature**, v. 361, p. 31–39, 1993.

BORGEN, L.A.; OKERHOLM, R.; MORRISON, D.; LAI, A. The influence of gender and food on the pharmacokinetics of sodium oxybate oral solution in healthy subjects. **Journal Clinic Pharmacology**, v. 43, p. 59-65, 2003.

BOULTON, A.A.; EISENHOFER, G. Catecholamine metabolism. From molecular understanding to clinical diagnosis and treatment: overview. **Advances in Pharmacology**, v.42, p. 273–292, 1998.

BOUTON, M.E. Context and behavioral processes in extinction. **Learning Memory**, v. 1, p. 485-494, 2004.

BLOISE, E.; CAREY, R.J.; CARRERA, M.P. Behavioral sensitization produced by a single administration of apomorphine: implications for the role of Pavlovian conditioning in the mediation of context-specific sensitization. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 86, p. 449-57, 2007.

BRAGA, P.Q.; DIAS, F.R.; CAREY, R.J.; CARRERA, M.P. Low dose apomorphine induces contextspecific sensitization of hypolocomotion without conditioning: support for a new state dependent retrieval hypothesis of drug conditioning and sensitization. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 93, p. 128-33, 2009a.

BRAGA, P.Q, DIAS, F.R.; CAREY, R.J.; CARRERA, M.P. Behavioral sensitization to dopaminergic inhibitory and stimulatory effects induced by low vs. high dose

apomorphine treatments: a nonconventional dose and response reversal sensitization challenge test reveals sensitization mechanisms. **Behavioral Brain Research**, v. 204, p. 169-74, 2009b.

BRAGA, P.Q.; GALVANHO, J.P.; BLOISE, E.; CAREY, R.J.; CARRERA, M.P. The expression of locomotor sensitization to apomorphine is dependent on time interval between injection and testing. **Pharmacology Biochemistry Behavior**. 2009c; 91:278–82.

CANNON, C.M.; BSEIKRI, R. Is dopamine required for natural reward? Claire, M; Mustafa, R. **Psychopharmacology and Behavioral**, v. 81, p. 741-48, 2004.

CAPRIOLI, D.; CELENTANO, M.; PAOLONE, G.; BADIANI, A. Modeling the role of environment in addiction. **Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 31, p. 1639-53, 2007.

CARRERA, M.P.; CAREY, R.J.; DIAS, F.R.C.; MATOS, L.W. Reversal of apomorphine locomotor sensitization by a single post-conditioning trial treatment with a low autoreceptor dose of apomorphine: A memory re-consolidation approach. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 99, p. 29–34, 2011.

CARRERA, M.P.; CAREY, R.J.; DIAS, F.R.C.; MATOS, L.W. Memory re-consolidation and drug conditioning: an apomorphine conditioned locomotor stimulant response can be enhanced or reversed by a single high versus low apomorphine post-trial treatment. **Psychopharmacology**, v. 220, p. 281–291, 2012.

CARRERA, P.M.; CAREY, R.J.; DIAS, F.R.C.; SAMPAIO, F.S.; MATOS, L.W. Post trial apomorphine at an autoreceptor dose level can eliminate apomorphine conditioning and sensitization: Support for the critical role of dopamine in re-consolidation. **Behavioural Brain Research**, v. 236, p. 244–250, 2013.

CAREY, R.J. Stimulant drugs as conditioned and unconditioned stimuli in a classical conditioning paradigm. **Drug Research Development**, v. 16, p. 305-15, 1989.

CAREY, R.J.; GUI, J. Cocaine conditioning and cocaine sensitization: what is the relationship? **Behavioral Brain Research**, v. 92, p. 67–76, 1998.

CAREY, R.J.; DAMIANOPOULOS, E.N. Conditioned cocaine induced hyperactivity: An association with increased medial prefrontal cortex serotonin. **Behavioral Brain Research**, v. 62, p. 177–185, 1994.

CAREY, R.J.; DE PALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E.; HOPKINS, A.; SHANAHAN, A.; MULLER, C.P.; HUSTON, J.P. Dopaminergic and serotonergic autoreceptor stimulation effects are equivalent and additive in the suppression of spontaneous and cocaine induced locomotor activity. **Brain Research**, v. 1019, p. 134–143, 2004.

CAREY, R.J.; DEPALMA, G.; DAMIANOPOULOS, E.N.; SHANAHAN, A. Stimulus gated cocaine sensitization: interoceptive drug cue control of cocaine locomotor sensitization. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 82, p. 353-60, 2005.

CAREY, R.J.; DAMIANOPOULOS, E.N.; SHANAHAN, A.B. Cocaine conditioned behavior: a cocaine memory trace or an anti-habituation effect. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 90, p. 625–31, 2008a.

CARR, G.D.; WHITE, N.M. Effects of systemic and intracranial amphetamine injections on behavior in the open field: a detailed analysis. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 27, p. 113-122, 1987.

CASTNER, S. A.; GOLDMAN-RAKIC, P. S. Long-lasting psychotomimetic consequences of repeated low-dose amphetamine exposure in rhesus monkeys. **Neuropsychopharmacology**, v. 20, p.10–28, 1999.

CATANIA, A. C. Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição Porto Alegre: Artmed, 1999. Capítulo 12: **Comportamento Respondente: Condicionamento**.

CAVALLOTTI, C.; FRATI, A.; CAVALLOTTI, D.; TRANQUILLI, F.M. Dopaminergic Receptors In Rat Dura Mater: Pharmacological Characteristics. **Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology**, v. 31,190-194, 2004.

CERBONE, A.; SADILE, A.G. Behavioral habituation to spatial novelty: interference and noninterference studies. **Neuroscience Biobehavior Reviews**, v. 18, p. 497-518, 1994.

COX, B.; KERWIN, R.W.; LEE, T.F.; PYCOCK, C.J. A dopamine-5 hydroxytryptamine link in the hypothalamic pathways which mediate heat loss in the rat. **The Journal of Physiology**, v. 303, p. 9-21, 1980.

COSENZA, R.M. **Fundamentos da neuroanatomia**. Rio de Janeiro: 3.ed., Guanabara Koogan.2005. p.147.

COSTAL, B.; LIM, S.K.; NAYLOR, R.J. Characterization of the mechanisms by which purported dopamine agonists reduce spontaneous locomotor activity in mice. **European Journal Pharmacology**, v. 73, p. 175-188, 1981.

CROMBAG, H.S.; BADIANI, A.; MAREN, S.; ROBINSON, T.E. The role of contextual versus discrete drug-associated cues in promoting the induction of psychomotor sensitization to intravenous amphetamine. **Behavioral Brain Research**, v. 116, p.1-22, 2000.

CROMBAG, H.S.; BADIANI, A.; CHAN, J.; DELL'ORCO, J.; DINEEN, S.P.; ROBINSON, T.E. The ability of environmental context to facilitate psychomotor sensitization to amphetamine can be dissociated from its effect on acute drug responsiveness and on conditioned responding. **Neuropsychopharmacology**, v. 24, p. 680-689, 2001.

DAMIANOPOULOS, E.N.; CAREY, R.J. Apomorphine sensitization effects: evidence for environmentally contingent behavioral reorganization processes. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 45, p.655-663, 1993.

DALLEY, J.W.; CHUDASAMA, Y.; THEOBALD, D.E.; PETTIFER, C.L.; FLETCHER, C.M.; ROBBINS, T.W. Nucleus accumbens dopamine and discriminated approach

learning interactive effects of 6-hydroxydopamine lesions and systemic apomorphine administration, **Psychopharmacology**, v. 161, p. 425-433, 2002.

DALL'IGNA, O.P.; TORT, A.B.; SOUZA, D.O.; LARA, D.R. Cinnarizine has an atypical antipsychotic profile in animal models of psychosis. **Journal Psychopharmacology**, v. 19, p.342-6, 2005.

DAVIS, H.P.; SQUIRE, L.R. Protein synthesis and memory: a review. **Psychological Bulletin**, v. 96, p. 518–59, 1984.

DEBIEC, J.; LEDOUX, J.E.; NADER, K. Cellular and systems reconsolidation in the hippocampus. **Neuron**, v. 36, p. 527-38, 2002.

DE JONG, P. J.; VORAGE, I.; VAN DEN HOUT, M. A. Counterconditioning in the treatment of spider phobia: Effects on disgust, fear and valence. **Behaviour Research and Therapy**, v. 38, p. 1055-1069, 2000.

DELAMATER, A.R. Issues in the extinction of specific stimulus-outcome associations in Pavlovian conditioning. **Behavioural Processes**, p. 11, 2012.

DELEU, D.; NORTHWAY, M.G.; HANSSSENS, Y. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of drugs used in the treatment of Parkinson's disease. **Clinic Pharmacokinet**, v. 41, p. 261-309, 2002.

DE VRIES, T.J.; SCHOFFELMEER, A.N.; BINNEKADE, R.; MULDER, A.H.; VANDERSCHUREN, L.J. Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. **Journal of Neuroscience**, v. 10, p. 3565-3571, 1998.

DIAS, F.R.; CAREY, R.J.; CARRERA, M.P. Apomorphine-induced context specific behavioural sensitization is prevented by the D1 antagonist SCH-23390 but potentiated and uncoupled from contextual cues by the D2 antagonist sulpiride. **Psychopharmacology**, v. 209, p. 137-157-1, 2010.

DI, C.P.; EVERITT, B.J. Conditioned reinforcing properties of stimuli paired with self-administered cocaine, heroin or sucrose: implications for the persistence of addictive behavior. **Neuropharmacology**, v. 47, p. 202–213, 2004a.

DI CHIARA, G.; PORCEDDU, M. L.; VARGIN, L.; ARGIOLAS, A.; GESSA, G. L. Evidence for dopamine receptors mediating sedation in the mouse brain. **Nature**, v. 264, p. 564-567, 1976.

DI CHIARA. G.; BASSAREO. V.; FENU. S.; DE LUCA MARIA. A.; SPINA. L; CADONI C.; ACQUAS. E.; CARBONI. E.; VALENTINI.V.; LECCA. D. Dopamine and drug addiction:the nucleus accumbens shell connection. **Neuropharmacology**, v.47, p. 227-241, 2004.

DUDAI, Y. Reconsolidation: the advantage of being refocused. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 16, p. 174-178, 2004.

DUDAI Y. The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? **Annual Review of Psychology**, v. 55, p. 51-86, 2004.

DUDAI, Y.; EISENBERG, M. Rites of passage of the engram: Reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. **Neuron**, v. 44, p. 93-100, 2004.

DZIEDZICKA, W.M.; FARON, G.A.; ANDRECKA, J. Fluorescence Studies Reveal Heterodimerization of Dopamine D1 and D2 Receptors in the Plasma Membrane. **Biochemistry**, v. 45, p. 8751-8759, 2006.

EL-BACHÁ, R.S.; LECLERC, S.; NETTER, P; MAGDALOU, J; MINN. A. Glucuronidation of apomorphine. **Life Sciences**, v. 67, p. 1763-1745, 2000.

ELLENBROEK, B.A.; COOLS, A.R. Apomorphine susceptibility and animal models for psychopathology: genes and environment. **Behavior Genetics**, v. 32, p. 349-361, 2002.

EISENBERG, M.; DUDAI, Y. Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in medaka: old fears don't die. **European Journal of Neuroscience**, v. 20, p. 3397-3403, 2004.

ERNEST, DIAS. **Como Conservar e Desenvolver sua Memória** /Marc Schword; tradução: Irene.- Rio de Janeiro:Ediouro. 2005. Pag,13.

ESTRELLA, C.R.; BREGONZIO, C.; CABRERA, R.J. Differential responses in central dopaminergic activity induced by apomorphine in IPL nude rat. **Behavioural Brain Research**, v. 133, p. 143-148, 2002.

EVERITT, B.J.; DICKINSON, A.; ROBBINS, T.W. The neuropsychological basis of addictive behaviour. **Behavioural Brain Research**, v. 36, p. 129–138, 2001.

EVERITT, B.J.; ROBBINS, T.W. Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. **Nature Neuroscience**, v. 8, p. 1481–1489, 2005.

FEIFEL, D.; KRISTIANNE, P.; ELIZABETH, J.M.; CHRISTOPHER, J.M. Sensorimotor gating effects produced by repeated dopamine agonists in a paradigm favoring environmental conditioning. **Psychopharmacology**, v. 162, p. 138-146, 2002.

FLAGEL, S.B.; CLARK, J.J.; ROBINSON, T.E.; MAYO, L.; CZUJ, A.; WILLUHN, I; AKERS, C.A.; CLINTON, S.M.; PHILLIPS, P.E.; AKIL, H. A selective role for dopamine in stimulus-reward learning. **Nature**, v. 469, p. 53-57, 2011.

FRANKEN, I.H.; DE HAAN, H.A.; VAN DER MEER, C.W.; HAFFMANS, P.M.; HENDRIKS, V.M. Cue reactivity and effects of cue exposure in abstinent Posttreatment drug users. **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 16, p. 81-5, 1999.

FRANKLAND, P.W.; BONTEMPI, B. The organization of recent and remote memories. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, p. 119-210, 2005.

FRANKLIN,T.R.; DRUHAN,J.P. Involvement of the nucleus accumbens and medial prefrontal cortex in the expression of conditioned hyperactivity to a cocaine-associated environment in rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 23, p. 633-644, 2002.

FOLEY, T.E; FLESHNER, M. Neuroplasticity of dopamine circuits after exercise: implications for central fatigue. **Neuromolecular Medicine**, v. 10, p. 67-80, 2008.

GALE, G.D.; YAZDI, R.D.; KHAN, A.H.; LUSIS, A.J.; DAVIS, R.C.; SMITH, D.J. A genome-wide panel of congenic mice reveals widespread epistasis of behavior quantitative trait loci. **Molecular Psychiatry**, v. 14, p. 631-645, 2009.

GARRIDO, J.M.P.J.; DELERUE, M. C.; BORGES, M.F.M.; MACEDO, T.R.A; OLIVEIRA, B.A.M. Oxidative behaviour of apomorphine and its metabolites. **Bioelectrochemistry**, v. 55, p.113-114, 2002.

GAZI, L.; NICKOLLS, S.; STRANGE, P. Functional Coupling of the Human Dopamine D2 receptor with Gi1, Gi2, Gi3 and Go proteins; evidence for agonist regulations of G protein Selectivity. **British Journal of Pharmacology**, v. 138, p. 775-786, 2003.

GERMEYER, S.; BIRKE, A.; SCHMITT, U.; DAHMEN, N.; HIEMKE, C; HAVEMANN, R,U. New dopamine D2 receptor polymorphisms in rats and association with apomorphine-induced stereotypies, **Brain Research**, v. 926, p. 1-9, 2002.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw - Hill, 2007. 1821p.

GOSHEN-GOTTSTEIN,Y.; KEMPINSKY H. Probing memory Whit conceptual cues at multiple retention intervals: a comparison of forgetting rates on implicit and explicit tests. **Psychonomic Bulletin e Review**, v. 8, p. 139-146, 2001.

GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. 1ª. São Paulo (SP): Atheneu; 1998.

GRAEFF, F. G.; GUIMARAES, F.S. **Fundamentos de Psicofarmacologia**. São Paulo. Ed. Atheneu. 2001, 238pp.

GREENSPAN, F.S.; GARDNER, D.G. **Basic and clinical endocrinology**. 7^o ed. New York: McGraw-Hill, 2004.

HALL, J.; THOMAS, K.L.; EVERITT, B.J. Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: Selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. **Neurosciences**, v. 21, p. 2186-2193, 2001.

HOENICKA, J.; ARAGU, M.; PONCE, G. From Dopaminergic Genes To Psychiatric Disorders. **Neurotoxicity Research**, v. 11, p. 61-71, 2007.

HOFFMAN, D.C.; WISE, R.A. Lack of cross-sensitization between the locomotor-activating effects of bromocriptine and those of cocaine or heroin. **Psychopharmacology**, v. 110, p. 402-408, 1993.

HOPE, B.T.; SIMMONS, D.E.; MITCHELL, T.B.; KREUTER, J.D.; MATTSON, B.J. Cocaine-induced locomotor activity and Fos expression in nucleus accumbens are sensitized for 6 months after repeated cocaine administration outside the home cage. **Journal of Neuroscience**, v. 24, p. 867-875, 2006.

HOTSENPILLER, G.; WOLF, M.E. Conditioned locomotion is not correlated with behavioral sensitization to cocaine: an intra-laboratory multi-sample analysis. **Neuropsychopharmacology**, v. 27, p. 924-9, 2002.

HUPBACH, A.; GÓMEZ, R.; HARDT, O; NADEL, U.L. Reconsolidation of episodic memories: a subtle reminder triggers integration of new information. **Learning and Memory**, v. 14, p. 47-53, 2007.

INDA, M.C.; MURAVIEVA, E.V.; ALBERINI, C.M. Memory retrieval and the passage of time: from reconsolidation and strengthening to extinction. **Journal of Neuroscience**, v. 31, p. 635-1643, 2011.

IKRAM, H.; HALEEM D.J. Attenuation of apomorphine-induced sensitization by buspirone. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 99, p. 444-450, 2011.

IZQUIERDO, I.; MCGAUGH, J.L. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. **Behavioral Pharmacology**, v. 11, p. 517-34, 2000.

JAROME, T.J.; WERNER, C.T.; KWAPIS, J.L.; HELMSTETTER, F.J. Activity dependent protein degradation is critical for the formation and stability of fear memory in the amygdala. **PLoS One**, v. 6(9), p. 24349, 2011.

JOHN, W.; SONS, I.N.C. Nervous Systems Agents. Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery. **NewYork**, Edited by Donald J. A. 6 ed. v.6, 2003.

JUDGE, M. E.; QUATERMAIN, D. Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. **Physiology and Behavior**, v. 28, p. 585-590, 1982.

KALIVAS, P.W.; DUFFY, P. Similar effects of daily cocaine and stress on mesocorticolimbic dopamine neurotransmission in the rat. **Biological Psychiatry**, v. 25, p. 913-928, 1991.

KALIVAS, P.W.; PIERCE, R.C.; CORNISH, J.; SORG, B.A. A sensitization paper in desire and relapse in the addiction in cocaine. **Journal Psychopharmacology**, v. 12, p. 49-53, 1998.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. **Fundamentos da neurociências e do comportamento**. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000.

KARLER, R.; CHAUDHRY, I.A.; CALDER, L.D.; TURKANIS, S.A. Amphetamine behavioral sensitization and the excitatory amino acids. **Brain Research**, v. 537, p. 76-82, 1990.

KELLY, P.H.; SEVIOUR, P.W.; IVERSEN, S.D. Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. **Brain Research**, v. 94, p. 507–522, 1975.

KENDLER, K. S.; BRACHA, H. S.; DAVIS, K. L. Dopamine autoreceptor and post synaptic receptor blocking potency of neuroleptics. **European Journal Pharmacology**, v. 79, p. 217-223, 1982.

KOOB, G.F; SANNA, P.P; BLOOM, F.E. Neuroscience of addiction. **Neuron**, v. 21, p. 467-476, 1998.

LATTAL, K.M.; BERGER, G. Anisomycin disrupt a contextual memory following reactivation in a cocaine induce locomotor activity paradigm. **Behavioral Neuroscience**, v. 121, p. 156-163, 2006.

LEDOUX, J.E. Emotion circuits in the brain. **Annual Reviews Neuroscience**, v. 23, p. 155-184, 2000.

LEDOUX, J.E.; SCHILLER, D. The human amygdala. Insights from other animals. In: Whalen PJ, Phelps EA (Editors), The human amygdala. **New York**: Guilford; 2009. p 43-60.

LEE, J.L.; EVERITT, B.J.; THOMAS, K.L. Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. **Science**, v. 304, p. 839-843, 2004.

LEE, J.L. Memory reconsolidation mediates the updating of hippocampal memory content. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 4, p. 168, 2010.

LEE, J.L. Memory reconsolidation mediates the strengthening of memories by additional learning. **Nature Neuroscience**, v. 11, p. 1264-1266, 2008.

LE WITT, P.A. Subcutaneously administered apomorphine pharmacokinetics and metabolism. **Neurology**, v. 62, p. 8-11, 2004.

LENT, R. As bases neurais da memória e aprendizagem. In: LENT, R. **Cem Bilhões de Neurônios** (Conceitos Fundamentais de Neurociência). 2002. 1a ed. Editora Atheneu, pp. 587-617.

LEVINE, E.D.; RAMOS, D.; MILLS, D.S. A prospective study of two self-help CD based desensitization and counter-conditioning programmes with the use of Dog Appeasing Pheromone for the treatment of firework fears in dogs (*Canis familiaris*). **Applied Animal Behaviour Science**, v. 105, p. 311-329, 2007.

LIENAU, A.K and KUSCHINSKY, K. Sensitization after repeated administration of cocaine or D-amphetamine in rats: associative and non-associative mechanisms and the role of dopamine in the striatum. **N-S Arch Pharmacol**, v. 355, p. 531-537, 1997.

LIN, L.; NAN, J. X.; XIN, G.; WEN, Y.; WEN, J. S.; GANG, P.; LAN, M. Reactivation of morphine conditioned place preference by drug priming: role of environmental cues and sensitization. **Psychopharmacology**, v.159, p . 125-132, 2002.

MARTRES, M.P.; CONSTENTIN, J.; BAUDRY, M.; MARCAIS, H.; PROTAIS, P.; SCHWARTZ, J.C. Long-term changes in the sensitivity of pré- and postsynaptic dopamine receptors in mouse striatum evidenced by behavioral and biochemical studies. **Brain Research**, v. 136, p. 319-337, 1977.

MCGAUGH, J.L. Memory - a century of consolidation. **Science**, v. 287, p. 248-251, 2000.

MCGAUGH, J.L.; ROOZENDAAL, B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 12, p. 205-210, 2002.

MCCLELLAND, J.L.; MCNAUGHTON, B.L.; O'REILLY, R.C. Why there are complementary learning systems in the hippocampus and neocortex: insights from

the successes and failures of connectionist models of learning and memory. **Psychological Review**, v. 102, p. 419–457, 1995.

MCKENZIE, S.; EICHENBAUM, H. Consolidation and reconsolidation: Two lives of memories? **Neuron**, v. 71, p. 224–233, 2011.

MANDEVILLE, J.B.; CHOI, J.K.; JARRAYA, B.; ROSEN, B.R.; JENKINS, B.G.; VANDUFFEL, W. FMRI of cocaine self-administration in macaques reveals functional inhibition of basal ganglia. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, p.1187-1198, 2011.

MANSOUR, A.; MEADOR, W. J.H.; BUNZOW, J.R.; CIVELLI, O.; AKIL, H.; WATSON, S.J. Localization of dopamine D2 receptor mRNA and D1 and D2 receptor binding in the rat brain and pituitary: an in situ hybridization-receptor autoradiographic analysis. **The Journal of Neuroscience**, v. 10, p. 2587–2600, 1990.

MATTINGLY, B.A.; GOTSICK, J.E. Conditioning and experiential factors affecting the development of sensitization to apomorphine. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, p. 1311-7, 1989.

MATTINGLY, B.A.; KOCH, C.; OSBORNE, F.H.; GOTSICK, J.E. Stimulus and response factors affecting the development of behavioral sensitization to apomorphine. **Psychopharmacology**, v. 130, p. 109-16, 1997.

MATYNIA, A.; ANAGNOSTARAS, S.G.; WILTGEN, B.J.; LACUESTA, M.; ; FANSELOW, M.S.; SILVA, A.J. A high through-put reverse genetic screen identifies two genes involved in remote memory in mice. **PLoS One**, v. 3, p. 2121, 2008.

MATOS, L.W.; CAREY, R.J.; CARRERA, M.P. Apomorphine conditioning and sensitization: the paired/unpaired treatment order as a new major determinant of drug conditioned and sensitization effects. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 96, p. 317–24, 2010.

MERLO, E.; FREUDENTHAL, R.; MALDONADO, H.; ROMANO, A. Activation of the transcription factor NF- κ B by retrieval is required for long-term memory reconsolidation. **Learn memory**, v. 12, p. 23-29, 2005.

MICHEL, A.; TAMBOUR, S.; TIRELLI, E. The magnitude and the extinction duration of the cocaine-induced conditioned locomotion-activated response are related to the number of cocaine injections paired with the testing context in C57BL/6J mice. **Behavioural Brain Research**, v. 145, p. 113-123, 2003.

MISSALE, H.G.; NASH, S. R.; ROBINSON, S.W.; JABER, M.; CARON, M.G. Dopamine Receptors: from structure to function. **Physiological Reviews**, v. 78, p. 189-225, 1998.

MONFILS, M.H.; COWANSAGE, K.K.; KLANN, E.; LEDOUX, J.E. Extinction reconsolidation boundaries: Key to persistent attenuation of fear memories. **Science**, v. 324, p. 951–955, 2009.

MÖLLER, H.G.; NOWAK, K.; KUSCHINSKY, K. Studies on interactions between conditioned and unconditioned behavioural responses to apomorphine in rats. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol**, v. 335, p. 673-679, 1987.

MOREM, M.B.; MEDEIROS, C.A. **Princípios Básicos de Análise do Comportamento**. Ed. Artmed, 2007, p. 30-46.

MORRIS, R.G.; INGLIS, J.; AINGE, J.A.; OLVERMAN, H.J.; TULLOCH, J.; DUDAI Y.; KELLY, P.A. Memory reconsolidation: Sensitivity of spatial memory to inhibition of protein synthesis in dorsal hippocampus during encoding and retrieval. **Neuron**, v. 50, p. 479-489, 2006.

NADER, K.; SCHAFE, G.E.; LEDOUX, J.E. The labile nature of consolidation theory. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 1, p. 216-219, 2000.

NADER, K.; SCHAFE, G.E.; LEDOUX, J.E. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. **Nature**, v. 406, p. 722–726, 2000.

NADER, K. Neuroscience: re-recording human memories. **Nature**, v. 598, p. 412-427, 2003.

NADER, K. Neuroscience: re-recording human memories. **Nature**, v. 425, p. 571-572, 2003b.

NADER, K.; HARDT, O. A single standard for memory: The case for reconsolidation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, p. 224–234, 2009.

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

NEWMAN-TRANCREDI, A.; CUSSAC, D. Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor: agonist and antagonist properties at subtypes of dopamine D2-like receptor and alpha1/alpha2–adrenoceptor. **Journal of Pharmacology, Experimental Therapeutics**. v. 303, p. 805-814, 2002.

O'BRIEN, C.P.; CHILDRESS, A.R.; MCLELLAN, A.T.; EHRMAN, R. Classical conditioning in drug-dependent humans. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 654, p. 400-415, 1992.

O'CONNELL, D.P. Expression of newly cloned brain dopamine receptors in peripheral organs. **Biochemical Society Transactions**, 24: 169–172, 1996.

PARSONS, R.G.; GAFFORD, G.M.; BARUCH, D.E.; RIEDNER, B.A.; HELMSTETTER, F. Long-term stability of fear memory depends on the synthesis of protein but not mRNA in the amygdala. **European Journal of Neuroscience**, v. 23, p. 1853-1859, 2006.

PAULSON, P. E.; CAMP, D. M.; ROBINSON, T. E. The time course of transient behavioral depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats. **Psychopharmacology**, 1991. v. 103, p. 480–492, 1991.

PERIS, J.; ZAHNISER, N.R. Persistent augmented dopamine release after acute cocaine requires dopamine receptor activation. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 32, p. 71-76, 1989.

PERT, A.; POST, R.; WEISS, S. R. Conditioning as a critical determinant of sensitization induced by psychomotor stimulants. In: Eeinoff, L. (ed.). *Neurobiology of Drugs Abuse: learning and memory*. **Research Monography**, p. 208-241, 1990.

PIAZZA, P.V. .; LE MOAL, M. The role of stress in drug self-administration. v. 19, **Trends in pharmacological sciences**, v. 2, p. 67-74, 1998.

PICKENS, R.; DOUGHERTY, J. Conditioning of the activity effects of drugs. In T. Thompson and C. Schuster (Eds.). *Stimulus Properties of Drugs*, Appleton-Century-Crofts. **New York.**, p. 39–50, 1971.

PORRINO, L.J.; LYONS, D.; MILLER, M.D.; SMITH, H.R.; FRIEDMAN, D.P; DAUNAIS, J.B. Metabolic mapping of the effects of cocaine during the initial phases of self-administration in the nonhuman primate. **Journal of Neuroscience**, v. 22, p. 7687-7694, 2002.

PRZYBYSLAWSKI, J.; SARA S. J. Reconsolidation of memory after its reactivation. **Behavioural Brain Research**. v. 84, p. 241-6, 1997.

RAES, A.K; RUDI, D.R. The Effect of Counterconditioning on Evaluative Responses and Harm Expectancy in a Fear Conditioning Paradigm. **Behavior Therapy**, v. 43, p. 757-767, 2012.

REIJMERS, L.G; COATS,J.K; PLETCHER ,M.T; WILTSHIRE,T; TARANTINO, L.M; MAYFORD ,M. A mutant mouse with a highly specific contextual fear-conditioning deficit found in an N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) mutagenesis screen. **Learning and Memory**, v. 13, p. 143-149, 2006.

ROBBINS. T.W.; ERSCHKE, K.D.; EVERITT. B.J. Drug addiction and the memory systems of the brain. . **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1141, p.1-21, 2008.

ROBINSON, T. E.; BECKER J. B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Research Reviews**, v. 11, p. 157-189, 1986.

ROBINSON, T.E; BROWMAN, K.E; CROMBAG, H.S; BADIANI, A. Modulation of the induction or expression of psychostimulant sensitization by the circumstances surrounding drug administration. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**., v. 22, p. 347–354, 1998.

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

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

ROBLEDO, P; MALDONADO, L.R; KOOB. G.F. Role of dopamine receptors in the nucleus accumbens in the rewarding properties of cocaine. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 654, p. 509–12, 1992.

ROOZENDAAL, B; MCEWEN, B.S; CHATTARJI, S. Stress, memory and the amygdala. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, p. 423-433, 2009.

ROTH, R.H. CNS dopamine autoreceptors: distribution, pharmacology and function. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 430, p. 27-53, 1984

SANCHIS-SEGURA, C.; SPANAGEL, R. Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. **Addiction Biology**, v. 11, p. 2–38, 2006.

SARA, S. J. Retrieval and reconsolidation: Towards a neurobiology of remembering. **Learning and Memory**, v. 7, p. 73-84, 2000.

SARA, S.J. Reactivation, retrieval, replay and reconsolidation in and out of sleep: Connecting the dots. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 4, p. 185, 2010.

SELF, D.W.; NESTLER, E.J. Relapse to drug-seeking: neural and molecular mechanisms. **Drug Alcohol Depend**, v. 51, p. 49-60, 1998.

SHAHAM, Y.; ERB, S.; STEWART, J. Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: A review. **Brain Research Reviews**, v. 33, p. 13-33, 2000.

SHERRY, D.F.; SCHACTER, D.L. The Evolution of Multiple Memory Systems **Psychological Review**, v. 94, p. 439-454, 1987.

SHIN, L.M; LIBERZON, I. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, p. 169-191, 2010.

SCHWARTING. R.; CAREY. R.J. Deficits in inhibitory avoidance after neurotoxic lesions of the ventral striatum are neurochemically and behaviorally selective. **Behavioral Brain Research**, v. 18, p. 279-285, 1985.

SCHWECKENDIEK, J.; KLUCKEN.T.; MERZ, C.J.; KAGERER.S.; WALTER.B; VAITL. D; STARK. RUDOLF. Learning to like disgust: neuronal correlates of counterconditioning. **Front Hum Neurosci**, v. 7, p. 346, 2013.

SQUIRE, L.R.; ZOLA, S.M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. **The National Academy of Sciences of the USA**, v. 93, p. 13515-13522, 1996.

SQUIRE, L.R.; KANDEL, E.R. **Memória: da mente às moléculas**. Tradução de Carla DALMAZ e Jorge A. QUILLFELDT. Porto Alegre: Artmed. 2003.

SPANAGEL, R.; HEILIG, M. Addiction and its brain science. **Addiction**, v. 100, p. 1813-1822, 2005.

STEWART, J.; EIKELBOOM, R. Conditioned drug effects. **Plenum Press, New York**, p. 1, 1987.

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

STOREY, V. J.; MIDDLEMISS, D. N.; REAVILL, C. Effect of haloperidol and (-) sulpiride on dopamine agonist-induced hypoactivity. **Neuropharmacology**, v. 4, p. 449-4551, 1995.

SWEATT, J.D. Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 14, p. 311-317, 2004.

SZAPIRO, G.; JULIETA, M.G.; BARROS, D.M.; STEIN, M.LEVI.; VIANNA, M.R.M; IZQUIERDO, L. A.; IZQUIERDO, I.; MEDINA, J.H. Molecular mechanisms of memory retrieval. **Neurochemical Research**, v. 27, no.11, p. 1491-1498, 2002.

SWERDLOW, N.R; MANSBACH, R.S.; GEYER, M.A.; KOOB, G.F, BRAFF, D.L. Amphetamine disruption of prepulse inhibition of acoustic startle is reversed by depletion of mesolimbic dopamine. **Psychopharmacology**, v. 100, p. 413-416, 1990.

TARAZI, F.; ZHANG, K.; BALDESSARINI, R. Dopamine D4 Receptors: Beyond Schizophrenia. **Journal of Receptors And Signal Transduction**, v. 24, p. 131–147, 2004.

TAUBENFELD, S.M.; MILEKIC, M.H.; MONTI, B.; ALBERINI, C.M. The consolidation of new but not reactivated memory requires hippocampal C/EBP β . **Nature Neuroscience**, v. 4, p. 813-818, 2001.

TODTENKOPF, M.S.; CARLEZON, W.A. Contribution of drug does and conditioning periods to psychomotor stimulant sensitization. **Psychopharmacology**, v. 185, p. 451-458, 2006.

TOMÉ, M; JIMÉNEZ, A; RICHTER, H; VIO, K; BERMÚDEZ, S. J. The Subcommissural Organ Expresses D2, D3, D4, And D5 Dopamine Receptors. **Cell Tissue Res**, v. 317, p. 65–77, 2004.

TOMAZ, C. Amnésia. In: GRAEFF, F.G.; BRANDÃO, M.L. (eds.). **Neurobiologia das Doenças mentais**. 2º ed. Lemos Editorial e Gráficos Ltda. 1993. p.175-184.

TRONSON, N.C.; WISEMAN, S.L.; OLAUSSON, P.; TAYLOR, J.R. Bidirectional behavioral plasticity of memory reconsolidation depends on amygdalar protein kinase A. **Nature Neuroscience**, v. 9, p. 167–169, 2006.

TRONSON, N.C.; TAYLOR, J.R. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 8, p. 262–275, 2007.

TZSCHENTKE, T.M. Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. **Addiction Biology**, v. 12, p. 227-462, 2007.

UJIKE, H.; ONOUNE, T.; AKIYAMA, K.; HAMAMURA, T.; OTSUKI, S. Effects of selective D-1 and D-2 dopamine antagonists on the development of methamphetamine - induced behavioral sensitization. **Psychopharmacology**, v. 98, p. 89-92, 1989.

VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 24, p. 125-132, 2000.

VAN GUCHT, D.; BAEYENS, F.; VANSTEENWEGEN, D.; HERMANS, D; BECKERS, T. Counterconditioning reduces cue-induced craving and actual cue-elicited consumption. **Emotion**, v.10, p. 688-695, 2010.

VAN-HAM, I.; BANIHASHEMI, B.; WILSON, A.; JACOBSEN, K. Differential signaling of dopamine-D2S and -D2L receptors to inhibit ERK1/2 phosphorylation. **Journal of Neurochemistry**, v. 102, p. 1796-1804, 2007.

VARADY, H.J.; SHAOMENG, W. Computational Elucidation Of The Structural Basis Of Ligand Binding To The Dopamine 3 Receptor Through Docking And Homology Modeling. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 4470-4476, 2006.

VRIES, D. T. J. et al. Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. **Journal of Neuroscience**, v. 10, p. 3565-3571, 1998.

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

VEZINA, P. D1 dopamine receptor activation is necessary for the induction of sensitization by amphetamine in the ventral tegmental area. **Journal of Neuroscience**, v. 16, p. 2411-2420, 1996.

VOLKOW, D.N.; WANG, G.JACK.; FISCHMAN, M.W.; FOLTIN, R.; JOANNA S. F.; MAJA F.; JEAN, L.; SAMUEL, J.G.; CHRISTOPHER, W.; YU-SHIN, D.; ROBERT. H.; NAOMI, P. Efeitos da via de administração de cocaína induziu bloqueio transportador de dopamina no cérebro humano. **Life Sciences**, v. 67, p. 1507-1515, 2000.

ZAPATA, A.; CHEFER, V.I.; ATOR, R.; SHIPPENBERG, T.S.; ROCHA, B.A. Behavioural sensitization and enhanced dopamine response in the nucleus accumbens after intravenous cocaine self-administration in mice. **Journal of Neuroscience**, v. 17, p. 590-596, 2003.

WALKER, M.P.; BRAKEFIELD, T.; HOBSON, J.A.; STICKGOLD, R. Dissociable stages of human memory consolidation and reconsolidation. **Nature**, v. 425, p. 616–620, 2003.

WANG, S.H.; MORRIS, R.G. Hippocampal–neocortical interactions in memory formation, consolidation, and reconsolidation. **Annual Review of Psychology**, v.61, p. 49-79, 2010.

WEERTS, E.; FANTERGROSSI, W.E.; GOODWIN, A.K. The Value of Nonhuman Primates in Drug Abuse Research. **American Psychological Association**, v. 15, p. 309-327, 2007.

Wise, R.A and Bozarth. M.A. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Physiological Reviews**, v. 94. P. 469-492, 1987.

WISE, R.A. Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. **Neuron**, v. 36, p. 229-240, 2002.

WISE, R.A. Dopamine learning and motivation. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, p. 483-494, 2004.

WOLF, M.E.; WHITE, F.J.; NASSAR, R; BROODERSON, R.J; KHANSA, M.R. Differential development of autoreceptor subsensitivity and enhanced dopamine release during amphetamine sensitization. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 264, p. 249-255, 1993.

ANEXO

ARTIGO PUBLICADO DA TESE - Drug memory substitution during re-consolidation:
A single inhibitory autoreceptor apomorphine treatment given during psychostimulant memory re-consolidation replaces psychostimulant conditioning with conditioned inhibition and reverses psychostimulant sensitization.