

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROPECUÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

JOAQUIM BARBOSA LEITE JUNIOR

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE APOMORFINA NO PERÍODO DE
RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA NA EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA
LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA PRODUZIDA POR
MORFINA

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

2019

JOAQUIM BARBOSA LEITE JUNIOR

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE APOMORFINA NO PERÍODO DE
RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA NA EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA
LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA PRODUZIDA POR
MORFINA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Área de Concentração da Sanidade Animal e Psicofarmacologia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marinete Pinheiro Carrera

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

2019

JOAQUIM BARBOSA LEITE JUNIOR

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE APOMORFINA NO PERÍODO DE
RECONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA NA EXPRESSÃO DE UMA RESPOSTA
LOCOMOTORA CONDICIONADA E SENSIBILIZADA PRODUZIDA POR
MORFINA

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Área de Concentração da Sanidade Animal e Psicofarmacologia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em 1 de abril de 2019

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Marinete Pinheiro Carrera
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF
(Orientadora)

Prof. Dr. Enrrico Bloise
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Prof^a. Dr^a. Maria de Fátima dos Santos Sampaio
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP/USP

Prof^a. Dr^a. Rosemary Bastos
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me manter firme em todos os momentos;
Agradeço à minha família, ao meu pai, Joaquim, à minha mãe Carla, ao meu irmão Jhean, pelo amor e apoio incondicionais;

Ao meu avô, Sílvio e vó Morena, que sempre adubaram as esperanças para o meu futuro;

Agradeço à minha namorada, Mariana, por todo o amor, carinho e companheirismo;

Agradeço à Professora, Marinete Carrera, pela oportunidade, conhecimento, confiança, apoio e atenção;

Agradeço à UENF, pela oportunidade e toda a estrutura;

Agradeço à Pós-Graduação em Ciência Animal, pelo apoio e oportunidade;

Agradeço a todos os membros do nosso grupo do Laboratório de Farmacologia, pela amizade, pelos conhecimentos e pela atenção;

Agradeço à Professora Fernanda, pelo apoio e ajuda com os fármacos usados no experimento;

Agradeço a todos os meus amigos da Graduação e da Pós-graduação pela amizade;

Agradeço ao CNPq, por todo o apoio financeiro;

Agradeço ao João Marcos, pela parceria na execução dos experimentos;

Agradeço ao Professor Richard, pela ajuda com materiais usados nos experimentos;

Agradeço aos Professores membros da banca examinadora, Maria de Fátima dos Santos Sampaio, Enrrico Bloise e Rosemary Bastos pela contribuição e conhecimentos.

RESUMO

Joaquim Barbosa Leite Junior, Médico Veterinário, filho de Joaquim Barbosa Leite e Carla Aparecida Torres Leite e irmão de Jhean Torres Leite, nasceu na cidade de Bom Jesus do Itabapoana – RJ, em 15 de junho de 1990. Morou em Carabuçu (4º distrito de Bom Jesus do Itabapoana) até 2009. Ingressou na Universidade Estadual do Norte Fluminense - RJ em 2010. Desde 2010 mora em Campos dos Goytacazes.

A dependência química atualmente é considerada um grave e complexo problema de saúde pública. Trata-se de uma doença crônica e progressiva, induzida pelo uso de substâncias psicoativas e se caracteriza pela tendência constante à recaída, mesmo após um longo período de abstinência e que envolvem alterações biológicas e comportamentais. Dentre as diferentes substâncias psicoativas tem-se a morfina, uma substância analgésica com crescente taxa de abuso entre os medicamentos lícitos. Em altas doses, a morfina provoca liberação de dopamina e ativação da via dopaminérgica. A dopamina é uma substância neurotransmissora excitatória com participação considerável na memória e aprendizado relacionados às drogas, para gerar os efeitos excitatórios como o prazer. No entanto, dois processos são importantes para a manutenção da dependência, a sensibilização e o condicionamento, pois amplificam os efeitos da substância química. A sensibilização é um processo em que se tem aumento da resposta inicial, de forma progressiva, com a mesma dose do fármaco. O condicionamento é o processo pelo qual um estímulo inicialmente neutro se torna um estímulo incondicionado, devido a constantes pareamentos. Dessa maneira, para o estudo da dependência química dois modelos são comumente usados, o condicionamento de traço e o condicionamento de atraso. A hipótese deste trabalho, é que os tratamentos com apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) administrados imediatamente após o teste experimental dentro da janela de reconsolidação da memória, provocam diminuição da locomoção, sugerindo diminuição da resposta previamente condicionada e sensibilizada por morfina na dose de 10 mg/kg. O trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg, durante o período de reconsolidação da memória na expressão de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada, produzida por morfina 10 mg/kg, usando o condicionamento de atraso em que a administração do fármaco é feita imediatamente antes do teste na arena experimental e com um período prévio de habituação à arena. Para tanto, foram desenvolvidos dois experimentos para verificar (1) o efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg no período de reconsolidação da memória (período lábil da memória), em ratos previamente sensibilizados e condicionados por morfina 10 mg/kg, (2) o efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg fora do período de reconsolidação da memória (período não lábil da memória), em ratos sensibilizados e condicionados por morfina 10 mg/kg. Como principais resultados, houve indução de sensibilização quanto à hiperlocomoção condicionada nos animais tratados com morfina 10 mg/kg de forma associada. Além disso, a apomorfina em dose baixa 0,05 mg/kg eliminou o condicionamento por morfina 10 mg/kg, quando administrada durante o período de reconsolidação da memória. Entretanto, uma dose igual de apomorfina,

administrada após o período de reconsolidação da memória, não teve efeito no condicionamento por morfina 10 mg/kg. Portanto, a interferência nos mecanismos da reconsolidação da memória representa uma estratégia promissora para o enfraquecimento de memórias mal adaptadas relacionadas à dependência química.

Palavras-chave: Dependência Química; Morfina; Doença Crônica; Apomorfina; Sensibilização; Condicionamento;

ABSTRACT

Joaquim Barbosa Leite Junior, Veterinarian, son of Joaquim Barbosa Leite and Carla Aparecida Torres Leite and brother of Jhean Torres Leite, was born in the city of Bom Jesus do Itabapoana - RJ, on June 15, 1990. He lived in Carabuçu (4th district of Bom Jesus do Itabapoana) until 2009. He joined the Universidade Estadual do Norte Fluminense - RJ in 2010. Since 2010 he lives in Campos dos Goytacazes.

Chemical dependency is currently considered a serious and complex public health problem. It is a chronic and progressive disease, induced by the use of psychoactive substances and characterized by the constant tendency to relapse, even after a long period of abstinence and involving biological and behavioral changes. Among the different psychoactive substances is morphine, an analgesic substance with an increasing rate of abuse among licit drugs. At high doses morphine causes dopamine release and activation of the dopaminergic pathway. Dopamine is an excitatory neurotransmitter substance with considerable participation in drug-related memory and learning to generate excitatory effects such as pleasure. However, two processes are important for maintaining dependence, sensitization and conditioning as they amplify the effects of the chemical. Sensitization is a process in which the initial response is increased gradually with the same dose of the drug. Conditioning is the process by which an initially neutral stimulus becomes an unconditioned stimulus, due to constant pairings. Thus, for the study of chemical dependence two models are commonly used, cued conditioning and delay conditioning. The hypothesis of this work is that low dose apomorphine (0.05 mg / kg) administered immediately after the experimental test within the memory reconsolidation window causes a decrease in locomotion, suggesting a decrease in the previously conditioned response and sensitized by morphine at the dose of 10 mg / kg. The aim of the study was to evaluate the effect of apomorphine treatment 0.05 mg / kg during the period of memory reconsolidation in the expression of a previously conditioned and sensitized locomotor response produced by morphine 10 mg / kg, using the delay conditioning in which administration of the drug is done immediately before the test in the experimental arena and with a previous period of habituation to the arena. For this purpose, two experiments were carried out to verify (1) the effect of apomorphine treatment 0.05 mg / kg in the period of memory reconsolidation (memory labile period) in rats previously sensitized and conditioned by morphine 10 mg / kg, (2) the effect of apomorphine treatment 0.05 mg / kg outside the period of memory reconsolidation (non-labile period of memory) in rats sensitized and conditioned by morphine 10 mg / kg. As main results, there was induction of sensitization regarding conditioned hyperlocomotion in animals treated with morphine 10 mg / kg in an associated manner. In addition, low dose apomorphine 0.05 mg / kg eliminated morphine conditioning 10 mg / kg when administered during the period of reconsolidation of memory. However, an equal dose of apomorphine administered after the memory reconsolidation period had no effect on 10 mg / kg morphine conditioning. Therefore, interference in the mechanisms of memory reconsolidation represents a promising strategy for the weakening of

ill-adapted memories related to chemical dependence.

Keywords: Chemical dependence; Morphine; Apomorphine; Chronic disease; Awareness; Conditioning;

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	5
2.1 Gerais.....	5
2.2 Específicos.....	5
3. REVISÃO DE LITERATURA	6
3.1 Dependência química.....	6
3.2 Morfina.....	8
3.3 Condicionamento pavloviano e morfina.....	11
3.4 Sensibilização e morfina.....	13
3.5 Vias dopaminérgicas.....	15
3.6 Reconsolidação da memória.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS	19
4.1 Sujeitos.....	19
4.2 Ambiente experimental.....	19
4.3 Fármacos.....	20
4.4 Procedimento experimental.....	20
4.4.1 Fase de habituação (1° - 3° dia).....	20
4.4.2 Fase de indução (4° - 8° dia).....	20
4.4.3 Fase de retirada (9° - 10° dia).....	21
4.4.4 Teste de condicionamento 1 (11° dia).....	21
4.4.5 Reindução (12° dia).....	22
4.4.6 Teste de condicionamento (2 – 5) + tratamento farmacológico após a sessão experimental (13°-16° dia).....	22
4.4.7 Teste de sensibilização (17° dia).....	22
4.5 EXPERIMENTO 1: Efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg imediatamente após a fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico	24

4.6 EXPERIMENTO 2: Efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg, 15 minutos após a fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico.....	27
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	29
5. RESULTADOS	30
5.1 Resultado da habituação.....	30
5.2 Experimento 1.....	31
5.3 Experimento 2.....	38
6. DISCUSSÃO	45
6.1 Habituação.....	45
6.2 Experimento 1.....	45
6.3 Experimento 2.....	50
7. CONCLUSÃO	53
8. ANEXO	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Procedimento Experimental Geral.....	21
Tabela 2 – Experimento 1 – Tratamento imediatamente pós-arena.....	24
Tabela 3 – Experimento 2 – Tratamento 15 minutos pós-arena.....	26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fórmula estrutural da morfina.....	8
Figura 2 – Metabolismo da morfina e os seus metabólitos.....	10
Figura 3 – Linha do tempo do procedimento experimental geral.....	21
Figura 4 – Período de habituação.....	28
Figura 5 – Experimento 1: Fase de indução.....	30
Figura 6 – Experimento 1: Teste de condicionamento 1.....	31
Figura 7 – Experimento 1: Reindução.....	32
Figura 8 – Experimento 1: Teste de condicionamento + tratamento farmacológico.....	34
Figura 9 – Experimento 1: Teste de sensibilização.....	35
Figura 10 – Experimento 2: Fase de indução.....	36
Figura 11 – Experimento 2: Teste de condicionamento 1.....	38
Figura 12 – Experimento 2: Reindução.....	39
Figura 13 – Experimento 2: Teste de condicionamento + tratamento farmacológico.....	41
Figura 14 – Experimento 2: Teste de sensibilização.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS

Ácido gama-aminobutírico (GABA)
Análise de variância (ANOVA)
Apomorfina 0,05 mg/kg (APO-0,05)
Área tegumentar ventral (VTA)
Associada (A)
Classificação internacional de doenças (CID)
Cloreto de sódio (NaCl)
Córtex pré-frontal (CPF)
Delay (D)
Enzima UDP-glucuronosiltansferase 2B7 (UGT2B7)
Estímulo (E)
Estímulo condicionado (EC)
Estímulo incondicionado (EI)
Estímulo neutro (EN)
Imediatamente (I)
Metabólito morfina-3-glucoronideo (M3G)
Metabólito morfina-6-glucuronideo (M6G)
Monofosfato cíclico de adenosina (AMPC)
Morfina 10 mg/kg (MOR-10)
Não associada (NA)
Núcleo accumbens (NAc)
Organização mundial de saúde (OMS)
Preferência condicionada por lugar (PCL)
Proteína inibitória (Gi)
Receptor dopaminérgico tipo 1 (DA₁)
Receptor dopaminérgico tipo 2 (DA₂)
Receptor opioide do tipo delta (δ)
Receptor opioide do tipo kappa (κ)

Receptor opioide do tipo mi (μ)

Receptor opioide do tipo sigma (σ /OP1)

Resposta (R)

Resposta condicionada (RC)

Resposta incondicionada (RI)

Sistema nervoso central (SNC)

Teste de condicionamento (TC)

Veículo (VEÍ)

Via subcutânea (SC)

I-INTRODUÇÃO:

A dependência química é uma doença crônica progressiva, recidivante e que se caracteriza pela tendência à recaída, que ocorre mesmo após o desaparecimento de qualquer sintoma de abstinência ou privação da droga (HYMAN, 1995). A dependência e o alto risco à recaída acompanham o indivíduo por toda sua vida (O'BRIEN *et al.*, 1998; WISE, 2000). Atualmente, corresponde a um fenômeno amplamente divulgado e discutido em todo o mundo, uma vez que o uso abusivo de substâncias psicoativas se tornou um grave problema social e de saúde pública. As drogas psicoativas (ex: álcool, maconha e cocaína), produzem alterações no cérebro e uma mudança notável das funções psicológicas, como a atenção, a memória e a percepção sensorial. Dentre as substâncias psicoativas usadas de forma abusiva, observa-se, nos últimos anos, um aumento da utilização de opioides, como exemplo: a morfina.

A ONU qualifica atualmente a epidemia do uso de opioides como uma epidemia mortal. No cenário atual, os opioides já contabilizam 76% das mortes envolvendo distúrbios relacionados ao uso de drogas no mundo (UNODC, 2018). Só em 2017 ocorreram mais de 70 mil mortes por overdose nos EUA, 45,2% maior quando comparado ao ano de 2016, sendo mais da metade (47,6 mil) delas envolvendo opioides (SCHOLL, 2019). Segundo dados do UNODC 2018, a produção mundial de ópio aumentou 65% somente entre 2016 – 2017, passando de 6.825 toneladas para atuais 10.500 toneladas, aproximadamente.

Dados do Relatório Mundial sobre Drogas em relação ao uso de opioides, tanto para uso médico quanto para recreativo como droga de abuso, indica o Brasil como o maior mercado consumidor da América do Sul, com cerca de 600 mil usuários. Esse número corresponde a 0,4% da população com idade entre 12 e 65 anos, e com o maior índice de prevalência anual (uso pelo menos uma vez ao ano). Cabe ressaltar que a prevalência anual do uso de heroína é baixa (0,05% da população adulta) devido ao valor alto da droga, sendo que a maior parte dos indivíduos faz uso de opioides sintéticos como o fentanil, que tem ação semelhante à da morfina (UNODC, 2013).

Nesse contexto, o desenvolvimento da dependência química ocorre devido a uma complexa interação entre fatores sociais, biológicos e genéticos

(ROBBINS e EVERITT, 1999). O dependente, na ausência da droga, quando interrompe o uso, sente forte motivação para recobrar o consumo, mesmo depois de passados meses e até mesmo anos do último uso. A recaída é um momento em que o dependente volta ao consumo depois de algum tempo de abstinência.

Atualmente, sabe-se que a recaída é mantida, não apenas pela sensação de prazer ou ainda pela tentativa de evitar os possíveis efeitos da abstinência da droga, mas sim pelos mecanismos que envolvem aprendizagem de longa duração, ou seja, a memória associada às drogas (NESTLER, 2001). Para a dependência química, o desejo resultante da associação entre os estímulos ambientais e os efeitos subjetivos da droga (particular a cada indivíduo) estão amplamente ligados aos fatores de risco de longa duração para a recaída (HYMAN e MALENKA, 2001). As alterações comportamentais geradas pelo uso de drogas de forma crônica produzem adaptações neurobiológicas e moleculares permanentes, instituindo um importante modelo de neuroplasticidade (ROBINSON e KOLB, 1999; EISCH *et al.*, 2000).

Dentre os processos relacionados com a gênese e manutenção da dependência, dois processos são fundamentais. O primeiro consiste em uma forma de aprendizagem associativa estabelecida entre os efeitos da droga (estímulo farmacológico) e a interação com o ambiente (objetos, lugares, som), conhecido como processo de condicionamento. O segundo é uma forma de aprendizagem não associativa, denominada sensibilização comportamental, e se caracteriza pelo aumento progressivo de uma determinada resposta comportamental, quando se administra a mesma dose da droga repetidas vezes (ROBINSON e BERRIDGE, 1993). Dessa forma, o estudo do condicionamento e sensibilização comportamental é de grande importância para o entendimento dessa doença. Os dois processos explicam os comportamentos compulsivos de desejo, ingestão e recaída presentes na dependência química.

Já se encontra bem aceito na literatura científica que a característica comum a todas as substâncias de abuso é a ativação do sistema dopaminérgico (SCHULTZ *et al.*, 1993). Entretanto, o fator de maior importância compartilhado por essas substâncias é a transformação dos estímulos contextuais contíguos (próximos) em estímulos condicionados e estímulos de

incentivo, os quais podem motivar e manter os comportamentos relacionados à dependência (ROBBINS e EVERITT, 2002).

Para se estudar a dependência química, um dos processos essenciais é a reconsolidação da memória. A reconsolidação é importante para que ocorra a atualização de memórias existentes. Algumas memórias, quando evocadas ou lembradas, adquirem uma forma lábil e podem ser modificadas, esse processo de reconsolidação é bem rápido e dura de segundos a poucos minutos (IZQUIERDO *et al.*, 2006). Estados endógenos particulares concomitantes com a reconsolidação da memória poderiam influenciar o armazenamento e a futura expressão da memória, dessa forma, são um caminho para o tratamento da dependência química. As catecolaminas, como a dopamina, atuam no circuito de recompensa no SNC e são importantes para a aquisição de memórias de longo prazo, pois variações nos seus níveis circulantes estão envolvidas na modificação do aprendizado, tornando o aprendizado prazeroso ou não (ORDOÑEZ, 2012). Níveis altos de dopamina facilitam o aprendizado, contribuindo para a consolidação de memórias mal adaptadas como é o caso da dependência química. Por outro lado, níveis baixos de dopamina podem contribuir para a reconsolidação da memória e assim serem usados como estratégia para o tratamento do dependente químico (NODA *et al.*, 1998; NODA e NABESHIMA, 2004).

Trabalhos do nosso laboratório (CARRERA *et al.*, 2012; DE MELLO BASTOS *et al.*, 2014; SANTOS *et al.*, 2018) utilizando uma metodologia com apomorfina nas doses de 0,05 mg/kg (dose que estimula os receptores dopaminérgicos DA₂ pré-sinápticos) e 2,00 mg/kg (dose que estimula os receptores dopaminérgicos DA₁ pós-sinápticos), mostraram que houve interação da apomorfina no processo de reconsolidação da memória quando a apomorfina foi administrada em dose baixa (0,05 mg/kg), imediatamente após a saída da arena experimental, em que houve diminuição da locomoção, sugerindo redução da resposta condicionada e sensibilizada produzida por apomorfina em dose alta (2,00 mg/kg). Os resultados mostraram também que a dose de 2,0 mg/kg de apomorfina produziu efeitos opostos, ou seja, acentuou tanto a resposta locomotora condicionada quanto a resposta locomotora sensibilizada, houve aumento da locomoção.

A morfina é uma droga psicoativa capaz de gerar dependência química e

se assemelha com a apomorfina, pois as duas substâncias têm a capacidade de aumentar os níveis circulantes de dopamina quando usadas em doses altas (SHOBLOCK *et al.*, 2005). A hipótese do presente trabalho é que os tratamentos com apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg), administrados imediatamente após o teste experimental dentro da janela de reconsolidação da memória, provocam diminuição da locomoção, sugerindo diminuição da resposta previamente condicionada e sensibilizada por morfina, na dose de 10 mg/kg.

II-OBJETIVOS:

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg, durante o período de reconsolidação da memória na expressão de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada, produzida por morfina 10 mg/kg.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Verificar a administração de morfina na dose de 10 mg/kg no desenvolvimento de uma resposta condicionada e sensibilizada: utilizando-se, para tanto, um protocolo de condicionamento pavloviano de atraso;
- b) Verificar a administração de apomorfina 0,05 mg/kg, imediatamente após a arena experimental (no período de reconsolidação da memória), na atenuação e/ou bloqueio de uma resposta locomotora previamente condicionada e sensibilizada por morfina 10 mg/kg;
- c) Verificar a administração de apomorfina 0,05 mg/kg, 15 minutos após o término da sessão experimental (fora do período de reconsolidação da memória) na atenuação e/ou bloqueio de uma resposta locomotora, previamente condicionada e sensibilizada por morfina 10 mg/kg;

III-REVISÃO DE LITERATURA:

3.1 Dependência Química

A dependência química é uma doença crônica que tem como característica a tendência recorrente à recaída e pode ser entendida dessa forma como um problema complexo e contínuo, sendo classificada entre os transtornos psiquiátricos (CID10, F19).

A dependência é uma forma de aprendizado que ocorre devido ao consumo de substâncias psicoestimulantes que provocam alterações do sistema nervoso central como o aumento de dopamina, tendo ação estimulatória das atividades de vigília e da atenção, ela pode ser separada da dependência física, na qual o organismo do dependente apresenta distúrbios físicos quando se faz a interrupção do uso da droga. A dependência ainda pode ser entendida por dependência psicológica, em que o uso tem por objetivo o bem-estar e os efeitos iniciais da droga (RIBEIRO e MINAYO, 2015).

A dependência pode ser tratada e controlada objetivando a diminuição dos sintomas, sendo por vezes de difícil controle (PÉREZ-CAJARAVILLE *et al.*, 2005). Os indivíduos toxicodependentes tendem a ter uma rejeição por atividades que não estejam ligadas ao consumo da droga, pois ocorre diminuição da sensação de prazer (NERY FILHO *et al.*, 2009).

Por muito tempo, a dependência foi entendida como sendo desvio de caráter, falta de personalidade ou de força de vontade e, por isso, o dependente era tratado por nomes pejorativos. Somente em 1964 foi que a Organização Mundial da Saúde (OMS) introduziu o termo “dependência” em modificação de “vício” e “habituação” que eram os termos usados até então, assim o problema passou a ser entendido como uma doença (DUPONT, 2005).

O consumo de substâncias psicoestimulantes é bem antigo e, de certa maneira, contemporâneo ao próprio nascimento das civilizações (NUNES e JÓLLUSKIN, 2007). No princípio, os homens consumiam drogas em cerimônias religiosas como parte da celebração, depois o consumo de drogas mudou de contexto e passou a ser feito com a finalidade de diminuir o sofrimento, diminuir a dor, o cansaço e, também, para se alcançar sensações prazerosas (MARTINS e CORRÊA, 2004).

Dois fatos históricos ocorridos no século XIX contribuíram bastante para que a dependência química se tornasse, pela primeira vez, um grave problema social; o primeiro em que China e Inglaterra travaram uma guerra pelo abastecimento mundial de ópio e o segundo durante a Guerra Civil Americana nos EUA (ARAÚJO e MOREIRA, 2006). Nesses dois conflitos, os soldados feridos em combate usaram morfina de forma oral e subcutânea, e isso provocou um enorme número de casos de dependência química na Europa e EUA (BARAKA, 2000; DUARTE, 2005).

O abuso ou uso nocivo seria um momento intermediário entre o uso recreativo (de baixo risco, não sendo caracterizado como um problema médico) e a dependência. Já há prejuízo decorrente do consumo da substância, mas ainda há algum controle do indivíduo quanto à quantidade consumida e à duração dos efeitos (TAMELINI e MARTINS, 2007).

Alguns pontos são importantes para entender os limites entre o uso recreativo, o abuso e a dependência de substâncias psicoativas. Postula-se que sejam fenômenos que ocorrem em conjunto com parâmetros, orientando a transição de um estágio para o outro, como o impacto funcional no trabalho e na família, as consequências e restrições decorrentes do consumo da substância, assim como o desenvolvimento de mecanismos fisiológicos de adaptação à presença da substância, como tolerância e abstinência. Tolerância é a diminuição dos efeitos esperados de uma droga por exposição excessiva do dependente ao seu princípio ativo, enquanto a abstinência é a privação do uso da droga e de suas sensações prazerosas, podendo causar perturbações fisiológicas no organismo como: irritabilidade, depressão, ansiedade, suores, enjoos, dores de cabeça (RAITH e HOCHHAUS, 2004).

As drogas ativam o circuito da recompensa na via mesocorticolímbica, liberando neurotransmissores responsáveis por uma sensação de bem-estar e prazer como a dopamina e o glutamato, como consequência, o desejo por repetir a experiência se mantém. Na dependência química, o comportamento de busca ativa da droga é no sentido de reequilibrar o sistema de recompensa (FERREIRA *et al.*, 2001).

3.2 Morfina

A morfina é um opioide analgésico. A droga foi isolada pelo alemão Friedrich Serturmer em 1806, mas teve sua difusão somente em 1853, após a invenção da agulha hipodérmica (PATHAN e WILLIAMS, 2012). Sendo o primeiro fármaco narcótico derivado do ópio (*Papaver somniferum*) e usado, frequentemente, na intervenção clínica de doenças como a dor crônica. A morfina pode ser administrada por via oral, subcutânea, intramuscular, intravenosa, epidural e ainda pelas vias transdérmica e intranasal. Quando usada pelas vias intramuscular e subcutânea, o pico de ação se dá aos 15-20 minutos, por via intravenosa, o pico do efeito analgésico é obtido aos 20 minutos. Caso seja em bolus epidural ou intratecal, o pico ocorre de 5 a 10 minutos após a administração, a duração da ação analgésica é de 4 a 5 horas. Quando administrada por via oral, a morfina tem seu pico de ação em 30-90 minutos, com 6 horas de duração da ação analgésica (STEIN, 2015; GLARE e WALSH, 1991; LUGO e KERN, 2002). A droga consegue ultrapassar a placenta e a barreira hematoencefálica e sua excreção ocorre na maior parte pela via renal, apenas uma pequena parte é excretada por via biliar. A Figura 1 mostra a fórmula estrutural da morfina (SJOGREN *et al.*, 1994).

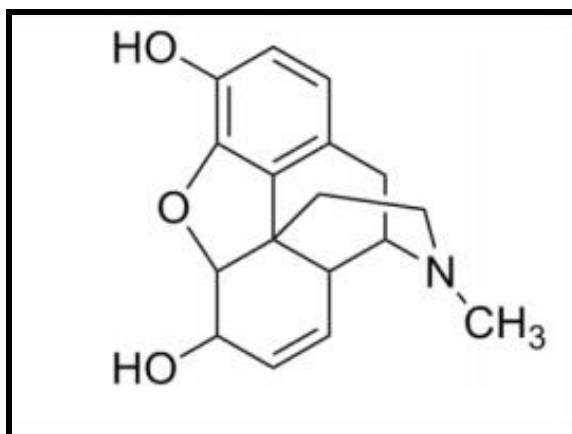


Figura 1: Fórmula estrutural da morfina (7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorphinan-3,6-diol). Adaptado de TRESKOT *et al.* (2008).

Os receptores dos opioides são classificados em 4 tipos: μ (Mi), κ (Kappa), δ (Delta) e σ (sigma), esses receptores fazem parte da família de receptores ligados à proteína G no mecanismo de analgesia. A nível

celular, a morfina age como agonista total nos receptores μ acoplados à proteína G do tipo inibitória (Gi), impedindo a ação da enzima adenilato ciclase. Essa enzima é responsável pela transformação de ATP (adenosina trifosfato) em AMPc (Monofosfato cíclico de adenosina), dessa forma, não serão feitas novas sínteses de AMPc (importante mensageiro intracelular), como resultado há a diminuição das respostas celulares (PETROFF, 2002).

Outro ponto de destaque é o aumento do efluxo de potássio, ou seja, ocorre a passagem dos íons potássio para o exterior da célula, devido à abertura dos canais de potássio e fechamento dos canais que levam sódio para a porção interior da célula (COHEN, 1979). No exterior celular, essa elevação da concentração de potássio aumenta o limiar do potencial de ação celular, tornando a célula hiperpolarizada, esse aumento no potencial de ação tem efeito inibitório, pois impede o impulso nervoso (SCHROLL e HAMKER, 2013).

A nível de sistema nervoso central, a morfina tem sua ação nos receptores do tipo μ (Mi) dos neurônios gabaérgicos, onde ocorre uma diminuição da produção do GABA e posterior aumento da dopamina circulante devido à excitação dos neurônios dopaminérgicos e ativação do sistema de recompensa das vias mesolímbica e mesocortical, duas vias simpáticas. Essa excitação do sistema nervoso central pelo aumento da dopamina é responsável por causar a dependência química (YAMAKAGE e NAMIKI, 2002).

Com a diminuição da fração de mensageiros celulares e neurotransmissores inibitórios em circulação no interior da célula e sistema nervoso central, respectivamente, somado a um aumento da liberação do neurotransmissor Glutamato nos neurônios glutamatérgicos, ocorre uma importante excitação neuronal com ativação da via mesolímbica e mesocortical (GOLDBERG *et al.*, 2013). Tais ações provocam redução da liberação de importantes neurotransmissores inibitórios, responsáveis pelo humor, como a glicina e o ácido gama-aminobutírico (GABA) (WATANABE *et al.*, 2002).

Estes receptores opioides estão localizados em neurônios de diversas áreas do cérebro como o córtex pré-frontal, tálamo, hipocampo, bulbo olfatório, núcleos pontinos, substância gelatinosa na medula espinhal, nos nervos periféricos, substância cinzenta periaquedutal e no sistema nervoso entérico. A ativação desses receptores é feita pelos opioides endógenos, como as endorfinas e as encefalinas que são neurotransmissores semelhantes à

morfina (HEMMINGS e JEVTOVIC-TODOROVIC, 2013).

A morfina atuando nos receptores μ (Mi) tem as seguintes ações: analgesia, miose, bradicardia, depressão respiratória e indiferença aos estímulos do meio circulante. Quando em atuação nos receptores δ (Delta), ocorre primariamente a analgesia, mas também, a modulação de funções cognitivas e de dependência física, enquanto os receptores κ (Kappa) regulam a nocicepção, a termorregulação, o controle de diurese, a secreção neuroendócrina e a redução da atividade motora e reflexos (MARTINS *et al.*, 2012). Os receptores do tipo OP1 ou σ (sigma) estimulam as funções simpáticas provocando taquicardia, hipertensão, midríase, náuseas e vômitos, e, também, podem causar alucinações. Os receptores σ (sigma) são parcialmente opioides, depois de reanalisados por alguns pesquisadores, foi visto que eles interagem com uma variedade de drogas psicoativas e seu ligante endógeno não é conhecido (embora eles possam reagir com certos esteroides endógenos), chegou-se à conclusão de que seriam, na verdade, decorrentes do bloqueio de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA (PERT e SNYDER, 1973; BROWNSTEIN, 1993; MARTINS *et al.*, 2012).

A morfina é metabolizada no fígado, essencialmente pela UDP-glucuronosiltansferase 2B7 (UGT2B7). A partir daí são obtidos dois metabólitos principais: a morfina-6-glucuronideo (M6G), que é um metabólito ativo e responsável por efeitos clínicos da morfina como a analgesia (LÖTSCH e GEISLINGER, 2001), e a morfina-3-glucuronideo (M3G), que em excesso pode levar a hiperalgesia (sensibilidade aumentada a dor), através da reação de fase II (glucoronidação) do grupo alcoólico 6-OH e do grupo fenólico 3-OH (figura 2) (DAHAN *et al.*, 2008; SMITH, 2000).

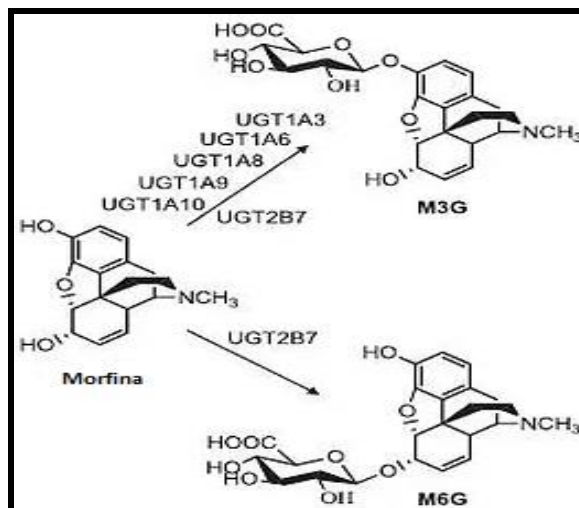


Figura 2: Metabolismo da morfina e os seus metabólitos M6G e M3G. Adaptado de WAHLSTRÖM *et al.* (1988).

3.3 Condicionamento Pavloviano e Morfina

Rehman e Rehman (2018) descrevem que o condicionamento clássico é um método de aprendizado inconsciente, uma forma direta, através da qual, os animais podem aprender. O condicionamento clássico é o processo em que uma resposta automática e condicionada é emparelhada com estímulos específicos.

O condicionamento pode ser segmentado em dois tipos, o primeiro tipo é o condicionamento operante ou instrumental, em que se manifesta um aumento na probabilidade de ocorrência de um determinado comportamento, por exemplo, se a consequência for reforçadora, aumenta a probabilidade de se repetir, se for punitiva, pode diminuir ou extinguir a probabilidade de sua ocorrência futura (STADDON e CERUTTI, 2003). O segundo tipo é o condicionamento pavloviano clássico, que é o processo pelo qual um estímulo ambiental neutro adquire funções similares às de um estímulo incondicionado através de emparelhamentos, com drogas de abuso ou outro estímulo, de forma prévia e repetida (SCHULTZ e SCHULTZ, 1992; BARDO e BEVINS, 2000).

O condicionamento clássico foi postulado por Ivan Pavlov, através de trabalhos com cães. Em seu experimento mais conhecido, ele tocava um sino,

Estímulo Neutro (EN), que ocasionava uma Resposta Inespecífica e Neutra (RN), antes de apresentar comida aos cães, a comida sendo um Estímulo Incondicionado (EI) e que gerava uma Resposta Incondicionada (RI), que era a sialorreia. Após consecutivos pareamentos entre Estímulo Incondicionado e Estímulo Neutro, os cães passaram a salivar, Resposta Incondicionada (RI), ao som do sino sozinho, nesse caso tendo uma Resposta Condicionada (RC). O Estímulo que originalmente era um Estímulo Neutro se torna um Estímulo Condicionado (EC) (PAVLOV, 1927).

Segundo Catania (1999), o condicionamento clássico pode ser diferido em relação a sua programação temporal, em dois tipos: atraso e traço. No condicionamento de atraso, o tratamento farmacológico é administrado antes da colocação do animal no ambiente onde ele será testado. Desse modo, a resposta ao fármaco vai ocorrer concomitantemente com o estímulo do ambiente de testes. O outro tipo, o condicionamento de traço, tem-se o Estímulo Condicionado terminando antes do início da administração do fármaco, ou seja, o animal recebe a administração do fármaco após a saída da arena experimental e, para tanto, o intervalo entre os dois estímulos precisa ser breve. No condicionamento de traço, o animal vivencia os estímulos de forma separada, ou seja, primeiro ele experimenta os efeitos causados pela permanência na arena experimental, imediatamente depois, ele vai experimentar os efeitos provocados pelo fármaco (CAREY *et al.*, 2014).

Sabe-se que a morfina, assim como outras drogas psicoativas, por exemplo, anfetamina e cocaína, causa mudanças permanentes no Sistema Nervoso Central (SNC), e que essa neuroplasticidade, após uso repetido, está envolvida com a dependência química (JACOBS *et al.*, 2003). Para tanto, os seus estímulos incondicionados podem ser facilmente condicionados a estímulos presentes em ambientes experimentais (SIEGEL, 2001).

Trabalhos de Walter e Kuschinsky (1989), usando três grupos de ratos: o primeiro grupo (associado) foi condicionado 8 vezes com morfina 15 mg/kg, na presença de vários estímulos condicionados definidos (auditivo, olfativo e tátil). O segundo grupo (não-associado) foi exposto ao mesmo esquema de tratamento de morfina e estímulos, mas sem associação positiva entre droga e os estímulos. Um terceiro grupo (veículo) foi tratado com solução salina NaCl 0,9% e exposto aos mesmos estímulos que os outros dois grupos. Todos os

grupos foram testados para respostas condicionadas na presença dos estímulos condicionados. Uma série de experimentos foi realizada com solução salina, depois de um intervalo de dois dias dos testes de condicionamento, uma segunda série foi testada com soro fisiológico após um intervalo de 7 dias, uma terceira série com morfina 15 mg/kg após um intervalo de 2 dias, uma quarta série com a mesma dose de morfina após um intervalo de 7 dias. Os resultados mostraram que quando a morfina foi usada após um intervalo de 2 dias, a tolerância farmacodinâmica "clássica", mas não os fenômenos condicionantes, poderia explicar a mudança de comportamento, enquanto que nos outros três protocolos descritos, alguns efeitos comportamentais condicionados puderam ser observados na presença ou na ausência de morfina, nos parâmetros utilizados (ativação locomotora, melhora das funções motoras, cheirar, roer). Conseqüentemente, o condicionamento contribui para a mudança de comportamento após a administração repetida de morfina.

3.4 Sensibilização e Morfina

A sensibilização é um processo onde se tem o aumento progressivo da atividade locomotora, compulsão, comportamento de fuga (WELLS e WELLS, 1971), e ocorre após a administração repetitiva de psicoestimulantes, usando-se a mesma dose da substância química. Também conhecida como tolerância reversa, a sensibilização comportamental é essencial no processo de dependência química. A administração de drogas causa mudanças a nível cerebral, na via dopaminérgica mesolímbica associada ao *núcleo accumbens* (Nac), provocando sensibilização neural. Como consequência, esses sistemas se tornam hipersensíveis aos efeitos da droga e, também, a estímulos associados a eles, mesmo após cessada a administração da substância química. Mas, depois de algum tempo de uso, a atividade locomotora ainda estará aumentada, devido à hipersensibilidade comportamental que é duradoura (CADOR *et al.*, 1995). Dessa forma, a sensibilização neural aumenta a busca pela droga (GARCIA *et al.*, 2010). Um único tratamento com amfetamina ou morfina induz a hiperlocomoção associada à hiper-

responsividade da transmissão de dopamina mesocorticolímbica (VANDERSCHUREN *et al.*, 1999).

A sensibilização depende do padrão temporal da exposição ao medicamento, regimes de tratamento intermitente, com intervalos de 24 horas (dose diária) entre as administrações, são geralmente mais eficazes na indução da sensibilização do que os esquemas que empregam exposição às altas doses crescentes de medicamentos (ROBINSON e BECKER, 1986; STEWART e BADIANI, 1993; VANDERSCHUREN *et al.*, 1997). É possível notar, ainda, que até mesmo uma única exposição às drogas psicoestimulantes, como morfina, pode ser suficiente para provocar uma sensibilização duradoura (NASCIMENTO, 2011).

Em trabalho de Vanderschuren e colaboradores (1997), foi observado efeito de hiperlocomoção em um protocolo de sensibilização comportamental por morfina, mesmo após transcorrer três semanas da última aplicação, o experimento consistia em uma aplicação diária de morfina 10 mg/kg, por via subcutânea (SC), em ratos Wistar, por um período de 14 dias consecutivos.

Viganò e colaboradores (2003), após administrarem doses crescentes de morfina (10 mg/kg - 20 mg/kg - 40 mg/kg), em ratos, duas vezes ao dia, durante três dias consecutivos, puderam constatar indução de sensibilização comportamental. O teste de sensibilização foi feito usando-se de uma dose baixa de morfina (5 mg/kg) por via SC, depois de passados 15 dias da última aplicação. Os resultados mostraram que houve aumento da locomoção, quando comparado ao grupo controle.

Em outro trabalho de Vanderschuren e colaboradores (2001), animais pré-expostos à dose única de morfina 10 mg/kg exibiram um aumento significativo psicomotor. O mesmo tipo de exposição à morfina com dose diferente (2 mg/kg) não afetou o efeito psicomotor. Os testes de locomoção foram feitos três semanas após o tratamento farmacológico. Portanto, uma única exposição à morfina, em dose alta, induz a sensibilização comportamental duradoura e a neuroadaptação associada.

3.5 Vias Dopaminérgicas

A dopamina é um neurotransmissor endógeno da família das catecolaminas, sua produção ocorre na substância nigra e na área tegmentar ventral (VTA) no cérebro. Existem, pelo menos, 5 receptores dopaminérgicos, D1, D2, D3, D4 e D5. Sendo D2, D3 e D4 com grande afinidade entre si, enquanto D1 e D5 compartilham de características semelhantes. A dopamina está envolvida no controle da cognição, humor, aprendizado, memória, emoções e na manutenção das funções renal, gastrointestinal e cardiovascular (MATSUMOTO *et al.*, 2005).

Kenna e colaboradores (2007) mostram que propriedades reforçadoras de drogas psicoativas com potencial de abuso têm relação direta e indireta com o sistema dopaminérgico. Os receptores dopaminérgicos se distribuem de forma ampla no hipotálamo, na substância nigra e na área tegmentar ventral (VTA), dando origem às quatro principais vias dopaminérgicas do sistema nervoso central, a via mesocortical, a via mesolímbica, a via nigroestriatal e a via túbero-infundibular.

A compreensão e estudo das quatro vias dopaminérgicas do sistema nervoso central e dos aspectos envolvidos na neurotransmissão são fundamentais para entender a vasta gama de funções desempenhadas por estas vias. Falhas nas estruturas de neurotransmissão dopaminérgicas no sistema nervoso central estão relacionadas com doenças graves, como a dependência química (via mesolímbica e via mesocortical).

A via mesolímbica é uma das vias dopaminérgicas mais importantes, por suas funções destacadas com relação à dopamina. Está ligada diretamente ao sistema de recompensa cerebral. A via mesolímbica se origina na área tegmentar ventral, uma região rica em neurônios dopaminérgicos e que cobre parte do mesencéfalo, projetando seus feixes nervosos para outras áreas importantes do sistema nervoso central, como o córtex pré-frontal, o hipocampo, o complexo amigdalóide e, também, para o *núcleo accumbens*. É no *núcleo accumbens* que a dopamina exerce, em um primeiro instante, sua ação como mediadora dos sentimentos de prazer e recompensa (ADINOFF, 2004).

Portanto, no instante em que um determinado indivíduo tem contato com

um estímulo de caráter recompensador ou prazeroso, como comida, sexo ou drogas, ocorre liberação de dopamina cujos sinais percorrem da área tegmentar ventral ao *núcleo accumbens*. O caminho feito pela dopamina possibilita a criação e o reforço de sensações positivas que acabam por acentuar e modular o comportamento do indivíduo (SOMALWAR *et al.*, 2018).

Outra via dopaminérgica importante com projeções originadas na área tegmentar ventral é a via mesocortical, suas projeções se encaminham para o córtex pré-frontal. É uma das maiores vias dopaminérgicas junto com a via mesolímbica e tem grande importância para o desenvolvimento normal das funções cognitivas, recompensa, aprendizagem, atenção, tomadas de decisão, memória de trabalho e resposta emocional. Está presente na fisiopatogênese da esquizofrenia, patologia em que ocorre a diminuição de dopamina nessa via cerebral (DIAZ, 1996; MORGANE *et al.*, 2005).

A via nigroestriatal tem projeções dopaminérgicas, com origem na substância negra indo até o corpo estriado e integra os gânglios basais. A ativação da via nigroestriatal, que produz um aumento na liberação de dopamina no corpo estriado dorsal, produz estereotipias, está relacionada com a locomoção e promove aprendizado dos comportamentos do vício (RIVERA *et al.*, 2013). Os neurônios dopaminérgicos presentes nessa via são responsáveis pela estimulação motora voluntária e contém em torno de 80 % de toda a dopamina do sistema nervoso central (YADAV *et al.*, 2014).

Os opioides provocam um aumento da atividade dopaminérgica na via mesolímbica, ou seja, por meio da inibição dos neurônios gabaérgicos, ocorre diminuição do GABA e aumento da dopamina liberada pelos neurônios dopaminérgicos. A morfina, quando administrada repetidamente em um ambiente determinado, produz uma série de neuroadaptações que levam ao desenvolvimento de tolerância, dependência e sensibilização. Assim como outras drogas de abuso, ela afeta as vias dopaminérgicas mesolímbica e mesocortical do sistema nervoso central. A ativação do sistema dopaminérgico mesolímbico (circuito de recompensas) provoca um aumento na liberação de dopamina no *núcleo accumbens* e é responsável pelas propriedades de reforço dos fármacos (WISE, 1996; BARDO, 1998).

3.6 Reconsolidação da Memória

Certas memórias quando são evocadas ou lembradas tomam uma forma lábil e para que elas permaneçam precisam passar por uma atualização, o que é conhecida como reconsolidação (LECHNER *et al.*, 1999). Uma memória pode ser entendida como a capacidade de adquirir, armazenar e acessar as informações e necessita passar por 3 etapas: aquisição, consolidação/armazenamento e evocação (FRENKEL *et al.*, 2005). A memória é uma característica importante dos animais e que junto com a herança genética define a personalidade de cada indivíduo. Alguns estados endógenos, pelos quais o organismo passa durante a reconsolidação, podem alterar essas memórias, pois dependem de experiências vividas (IZQUIERDO *et al.*, 2002).

Muller e Pilzecker propuseram, no ano de 1900, a “teoria da consolidação” de memórias, estabelecendo os principais processos associados com o armazenamento e evocação das memórias (DUDAI, 2012). Anteriormente à essa teoria, pensava-se que as informações, uma vez adquiridas e transformadas em memórias tornar-se-iam fixas ou pouco moldáveis. Com o auxílio de diversas pesquisas posteriores, foi postulado que durante a estabilização, as memórias se tornam susceptíveis às interferências, ou seja, um outro aprendizado poderá mudá-la. Contudo, após passado o período de consolidação, essas memórias não poderiam mais ser modificadas (DUDAI *et al.*, 2015). Segundo Duncan (1948), o melhor período temporal para que seja feita qualquer modificação na memória é após a sua aquisição, ou seja, logo que a memória é adquirida.

O termo reconsolidação surgiu após os estudos de Lewis (1979), em que ele separou as memórias em, ativa e inativa, sendo que as memórias em estado ativo são aquelas que passaram por reativação após evocação e se encontram lábeis, permitindo alguma modificação, enquanto as memórias em estado inativo são aquelas que foram consolidadas e não permitem modificações. Alguns autores afirmam que a memória relacionada à dependência não pode ser esquecida, assim como as memórias para a dor e ansiedade, isso porque quando o dependente entra no ambiente onde se fez o uso da droga, ocorre liberação de dopamina nas vias mesocortical e

mesolímbica, em locais como o córtex pré-frontal, a área tegmentar ventral e amígdala, onde ocorre a lembrança de comportamentos relacionados às drogas e fazem com que eles retornem ao uso (NESTLER, 1996, 2002, 2004).

O estudo da reconsolidação da memória na dependência química avançou muito com a farmacologia comportamental, por meio dessa abordagem foi possível descobrir diversos circuitos cerebrais e moléculas envolvidas nos processos da doença (IZQUIERDO e MCGAUGH, 2000).

As catecolaminas são alguns dos neurotransmissores responsáveis pela permanência da dependência como memória ao longo prazo, pois estão envolvidas na modificação do aprendizado. A dopamina, quando está em altas concentrações no cérebro, provoca uma facilitação do armazenamento das memórias, pois ativa o circuito de recompensa gerando sensações prazerosas (NODA *et al.*, 1998, NODA e NABESHIMA, 2004). Uma das formas de tratar a dependência química é alterando as condições endógenas, principalmente a nível de sistema nervoso central do dependente químico. A apomorfina é uma droga que provoca alteração nos níveis cerebrais de dopamina. Em doses baixas (0,05 mg/kg) ela provoca diminuição da dopamina e em doses altas (2,00 mg/kg) provoca aumento da dopamina (BRAGA *et al.*, 2009). Assim, interfere no processo de reconsolidação da memória, sendo usada em doses baixas para reduzir os níveis de dopamina, após uma experiência que leve à recaída e, dessa forma, auxiliar no tratamento da dependência química (DOMBROWSKI *et al.*, 2010).

IV-MATERIAL E MÉTODOS:

4.1 Sujeitos

Foram utilizados ratos machos, albinos, Wistar, pesando entre 200 - 250g, oriundos do Biotério Central da UENF, Campos Dos Goytacazes, RJ. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais de plástico (BEIRA MAR, São Paulo) medindo 25x18x17 cm, com acesso livre à ração padronizada de laboratório e à água. As gaiolas foram mantidas em uma sala no setor de Farmacologia do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA), com umidade e temperatura controladas ($22 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$), e com ciclo de luz claro e escuro de 12 em 12 horas (luz das 07:00 às 19:00 horas). O experimento foi conduzido na fase clara, horário entre 09:00 e 14:00 horas. Os animais foram manipulados individualmente, por um único indivíduo, pelo tempo de 5 minutos durante 7 dias antes do início do procedimento experimental. O presente projeto foi aprovado pela comissão de ética de uso de animais (CEUA – UENF), no dia 25/09/2018, sob o nº 395, intitulado “Morfina e reconsolidação da memória: uma nova abordagem para o estudo da dependência e abuso de drogas”.

4.2 Ambiente Experimental

O presente experimento foi desenvolvido em quatro salas experimentais padronizadas medindo 1,40 x 1,40 metros. Cada sala era constituída de iluminação vermelha, temperatura controlada ($22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) e o som de um ventilador ligado em cada uma das salas como ruído de fundo. Em cada sala continha uma arena quadrada medindo 60x60x45cm, com assoalho e paredes pintados na cor preta. Para o registro do comportamento locomotor, foram utilizadas câmeras (IIKEGAMI, modelo ICD – 49 e Panasonic, modelo WV – BP334), posicionadas 60 cm acima das arenas experimentais. As câmeras ficaram acopladas a um computador PC compatível, contendo um programa de análise de imagens, *EthoVision* (NOLDUS, Holanda), o qual estava localizado fora das salas de experimento, o sistema quantificou a

atividade locomotora em distância percorrida (metros).

4.3 Fármacos

O sulfato de morfina (Dimorf 10mg/ml, Cristália®, São Paulo, SP, Brasil) foi utilizado na dose de 10 mg/kg (VANDERSCHUREN *et al.*, 1997, 2001) e administrado por via subcutânea (SC). O volume de administração foi 1ml/kg.

A apomorfina-Hcl (Sigma-Aldrich®, Saint Louis, Mo, USA) foi utilizada na dose de 0,05 mg/kg, dissolvida em uma solução salina (NaCl 0,9%) e administrada por via subcutânea (volume de administração: 1ml/kg).

A solução salina (NaCl 0,9%) foi utilizada como veículo na concentração de 1 ml/kg e administrada por via subcutânea.

As soluções foram preparadas antes de cada dia experimental.

4.4 Procedimento Experimental

Os experimentos foram conduzidos segundo o protocolo experimental de Carrera e colaboradores (2013), com modificações. O procedimento experimental foi constituído das seguintes fases:

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

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

4.4.2 Fase de Indução (4º – 8º dia)

Nesta fase os animais receberam os tratamentos farmacológicos com o objetivo de produzir o desenvolvimento da resposta locomotora condicionada e sensibilizada. Para isso, os animais receberam morfina 10 mg/kg em duas condições: associada (A) e não associada (NA) à arena experimental.

Os animais foram divididos em três grupos:

- Morfina 10 mg/kg Associado (MOR-10-A; n= 14): Os animais receberam morfina 10 mg/kg e, imediatamente, foram colocados na arena experimental por 30 minutos, onde a atividade locomotora foi registrada. 30 minutos após o término da sessão experimental, já na caixa-viveiro, os animais receberam salina.

- Morfina 10 mg/kg Não Associado (MOR-10-NA; n= 14): Os animais receberam salina antes de serem colocados na arena experimental e, durante 30 minutos, a locomoção foi registrada. 30 minutos após o término da sessão experimental, já na caixa-viveiro, os animais do grupo receberam morfina 10 mg/kg.

- Veículo (VEÍ; n= 14): Os animais receberam salina antes de serem colocados na arena experimental. A locomoção foi registrada durante 30 minutos. Trinta minutos após o término da sessão experimental, já na caixa-viveiro, os animais do grupo receberam novamente solução salina.

4.4.3 Fase de Retirada (9^o – 10^o dia)

Todos os animais foram submetidos a um período de retirada de drogas de dois dias consecutivos, durante os quais os animais estiveram 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 (11^o dia)

Nessa etapa todos os grupos receberam solução salina. Os animais foram colocados imediatamente nas arenas experimentais para o registro de sua atividade locomotora durante 5 minutos. O objetivo desta fase foi verificar se houve a expressão da resposta locomotora condicionada, o tempo breve de 5 minutos e não 30 minutos é importante para não haver habituação

intrasessão na arena experimental. O aumento da locomoção nos animais do grupo associado, tendo o grupo veículo e o grupo não-associado como comparação, foi o indicativo da expressão de resposta locomotora condicionada.

4.4.5 Reindução (12º dia)

Os animais receberam os respectivos tratamentos farmacológicos, iguais aos recebidos na fase de indução (tratamento farmacológico antes da arena), e tiveram a locomoção registrada durante 30 minutos na arena experimental.

4.4.6 Teste de Condicionamento (2 – 5) + Tratamento Farmacológico após a Sessão Experimental (13º – 16º dia)

Todos os grupos experimentais foram administrados com solução salina e, imediatamente após, foram colocados na arena onde a locomoção foi registrada durante 5 minutos (Teste de Condicionamento). Imediatamente (experimento 1) ou 15 minutos (experimento 2) após o término da sessão experimental, os animais receberam os tratamentos farmacológicos. Para isso, cada um dos três grupos experimentais foi subdividido em dois grupos, em que cada subgrupo recebeu veículo ou apomorfina 0,05 mg/kg.

Sendo assim, nesta fase foram realizados 4 testes de condicionamento (TC2, TC3, TC4 e TC5).

4.4.7 Teste de Sensibilização (17º dia)

Os animais foram administrados com morfina 10 mg/kg e, imediatamente após, foram colocados na arena experimental por 30 minutos, exceto o grupo veículo, que recebeu solução salina (1 ml/kg). O aumento da locomoção, tendo como comparação o grupo veículo, foi o indicativo da expressão da resposta locomotora sensibilizada.

A Tabela 1 apresenta o delineamento experimental geral e a Figura 3 apresenta a linha do tempo do procedimento experimental geral.

Tabela 1: Procedimento experimental geral

Grupos Iniciais	Fase de Indução		Teste de Condicionamento 1	Reindução	Teste de Condicionamento 2 – 5 + Tratamento Farmacológico		Teste de Sensibilização	Grupos Finais
	Imediatamente Pré-arena	30 minutos Pós-arena	Imediatamente Pré-arena		Imediatamente Pré-arena	Imediatamente Pós-arena	Imediatamente Pré-arena	
VEÍ (n=14)	VEÍ	VEÍ	VEÍ	VEÍ/VEÍ	VEÍ VEÍ	VEÍ APO-0.05	VEÍ MOR-10	VEÍ+VEÍ-I+VEÍ (n=7) VEÍ+APO-0.05-I+MOR-10 (n=7)
MOR-10-A (n=14)	MOR-10	VEÍ	VEÍ	MOR/VEÍ	VEÍ VEÍ	VEÍ APO-0.05	MOR-10 MOR-10	MOR-10-A+VEÍ-I+MOR-10 (n=7) MOR-10-A+APO-0.05-I+MOR-10 (n=7)
MOR-10-NA (n=14)	VEÍ	MOR-10	VEÍ	VEÍ/MOR	VEÍ VEÍ	VEÍ APO-0.05	MOR-10 MOR-10	MOR-10-NA+VEÍ-I+MOR-10 (n=7) MOR-10-NA+APO-0.05-I+MOR-10 (n=7)

Figura 3: Linha do tempo do procedimento experimental geral.

DIAS	1-2-3	4-5-6-7-8	9-10	11	12	13	14	15	16	17
ETAPAS	Habituação	Fase de Indução	Fase de Retirada	Teste de Condicionamento 1	Reindução	Teste de Condicionamento 2 + Tratamento Farmacológico	Teste de Condicionamento 3 + Tratamento Farmacológico	Teste de Condicionamento 4 + Tratamento Farmacológico	Teste de Condicionamento 5 + Tratamento Farmacológico	Teste de sensibilização

4.5 EXPERIMENTO 1: Efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg imediatamente após a fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico.

Utilizou-se o protocolo experimental descrito no item 4.4.

Na fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico, os animais receberam solução salina e foram colocados na arena experimental por 5 minutos. Imediatamente (I) após o final do teste, os animais receberam os tratamentos farmacológicos de acordo com o subgrupo, como descrito no item 4.4.6.

Os subgrupos foram os seguintes:

- VEÍ+VEÍ (n= 7): os ratos receberam solução salina após a sessão na arena experimental;
- VEÍ+APO-0,05 (n= 7): os ratos receberam apomorfina 0,05 mg/kg após a sessão na arena experimental;
- MOR-10-NA+VEÍ (n= 7): os ratos receberam solução salina após a sessão na arena experimental;
- MOR-10-NA+APO-0,05 (n= 7): os ratos receberam apomorfina 0,05 mg/kg após a sessão na arena experimental;
- MOR-10-A+VEÍ (n= 7): os ratos receberam solução salina após a sessão na arena experimental;
- MOR-10-A+APO-0,05 (n= 7): os ratos receberam apomorfina 0,05 mg/kg após a sessão na arena experimental;

No teste de sensibilização (17^o dia), todos os animais receberam morfina 10 mg/kg, exceto o grupo VEÍ+VEÍ, que recebeu solução salina. Assim, a denominação final dos grupos obedece a seguinte ordem: tratamento na fase de indução + tratamento pós arena + tratamento no teste de sensibilização.

Os grupos foram os seguintes:

- VEÍ+VEÍ-I+VEÍ (n= 7)
- VEÍ+APO-0,05-I+MOR-10 (n= 7)
- MOR-10-A+VEÍ-I+MOR-10 (n= 7)
- MOR-10-A+APO-0,05-I+MOR-10 (n= 7)
- MOR-10-NA+VEÍ-I+MOR-10 (n= 7)
- MOR-10-NA+APO-0,05-I+MOR-10 (n= 7)

A tabela 2 mostra os grupos experimentais do experimento 1.

Tabela 2: Experimento 1 – Tratamento imediatamente pós-arena.

Grupos Iniciais	Fase de Indução		Teste de Condicionamento 1	Reindução	Teste de Condicionamento 2 – 5 + Tratamento Farmacológico		Teste de Sensibilização	Grupos Finais
	Imediatamente Pré-arena	30 minutos Pós-arena	Imediatamente Pré-arena		Imediatamente Pré-arena	Imediatamente Pós-arena	Imediatamente Pré-arena	
VEÍ (n=14)	VEÍ	VEÍ	VEÍ	VEÍ/VEÍ	 VEÍ VEÍ	VEÍ APO-0.05	VEÍ MOR-10	VEÍ+VEÍ-I+VEÍ (n=7) VEÍ+APO-0.05-I+MOR-10 (n=7)
MOR-10-A (n=14)	MOR-10	VEÍ	VEÍ	MOR/VEÍ	 VEÍ VEÍ	VEÍ APO-0.05	MOR-10 MOR-10	MOR-10-A+VEÍ-I+MOR-10 (n=7) MOR-10-A+APO-0.05-I+MOR-10 (n=7)
MOR-10-NA (n=14)	VEÍ	MOR-10	VEÍ	VEÍ/MOR	 VEÍ VEÍ	VEÍ APO-0.05	MOR-10 MOR-10	MOR-10-NA+VEÍ-I+MOR-10 (n=7) MOR-10-NA+APO-0.05-I+MOR-10 (n=7)

VEÍ=Veículo; MOR-10=Morfina 10mg/kg; A=Associado; NA=Não associado; APO-0.05=Apomorfina 0,05 mg/kg; I=Imediato.

4.6 – EXPERIMENTO 2: Efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg, 15 minutos após a fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico.

Utilizou-se o protocolo experimental descrito no item 4.4.

Para a fase de teste de condicionamento (13^o ao 16^o dia), houve dois grupos distintos, o primeiro grupo recebeu somente solução salina antes e após a arena experimental, ao passo que o segundo grupo recebeu solução salina + apomorfina (0,05 mg/kg). Os animais receberam solução salina imediatamente antes de serem colocados na arena experimental e permaneceram na arena por 5 minutos, onde tiveram sua locomoção registrada. O tratamento farmacológico foi aplicado 15 minutos após (“*Delay*”; D) a retirada da arena, com os animais em suas caixas-viveiro.

No teste de sensibilização (17^o dia), os animais receberam morfina 10 mg/kg imediatamente antes de serem colocados na arena experimental, exceto o grupo VEÍ+VEÍ, que recebeu solução salina. Sendo assim, a denominação final dos grupos obedece a seguinte ordem: tratamento na fase de indução + tratamento de condicionamento de atraso + tratamento no teste de sensibilização.

Os grupos foram os seguintes:

- VEÍ+VEÍ-D+VEÍ (n= 7)
- MOR-10-A+VEÍ-D+MOR-10 (n= 7)
- MOR-10-A+APO-0,05-D+MOR-10 (n= 7)

A Tabela 3 mostra os grupos experimentais do experimento 2.

Tabela 3: Experimento 2 – Tratamento 15 minutos pós-arena.

Grupos Iniciais	Fase de Indução		Teste de Condicionamento 1	Reindução	Teste de Condicionamento 2 – 5 + Tratamento Farmacológico		Teste de Sensibilização	Grupos Finais
	Imediatamente Pré-arena	30 minutos Pós-arena	Imediatamente Pré-arena		Imediatamente Pré-arena	15 minutos Pós-arena	Imediatamente Pré-arena	
VEÍ (n=7)	VEÍ	VEÍ	VEÍ	VEÍ/VEÍ	VEÍ	VEÍ	VEÍ	VEÍ+VEÍ-D+VEÍ (n=7)
MOR-10-A (n=14)	MOR-10	VEÍ	VEÍ	MOR/VEÍ	 VEÍ APO-0.05	VEÍ	MOR-10 MOR-10	MOR-10-A+VEÍ-D+MOR-10 (n=7) MOR-10-A+APO-0.05-D+MOR-10 (n=7)

VEÍ= Veículo; MOR-10= Morfina 10mg/kg; A= Associado; APO-0.05= Apomorfina 0,05 mg/kg; D= "Delay".

4.7 – Análise Estatística

Para a análise estatística da fase de tratamento farmacológico (fase de indução), foi utilizada a análise de variância (ANOVA) de dois fatores, sendo os dias de administração usados como componentes dentro do grupo, enquanto os grupos experimentais foram utilizados como componentes entre todos os grupos. Nas análises em que foram obtidos valores significativos de F , de acordo com os critérios estatísticos de ($p < 0,05$), tiveram as possíveis diferenças entre os grupos testadas através do teste de comparações múltiplas de Duncan. Os resultados dos testes da fase de condicionamento foram analisados utilizando ANOVA de um fator, sempre que os valores de F ($p < 0,05$), as diferenças entre os grupos foram posteriormente analisadas pelo teste de múltiplas frequências de Duncan. No teste de sensibilização, o tempo total de 30 minutos na arena foi dividido em 12 tempos de 2,5 minutos cada. Nesse caso, foi usada ANOVA de dois fatores para avaliar a locomoção e determinar o efeito do grupo, efeito do intervalo e, ainda, a interação entre variáveis. Quanto ao valor de F ($p < 0,05$), as diferenças entre os grupos foram analisadas utilizando o teste de múltiplas frequências de Duncan.

V- RESULTADOS

5.1 Resultado da habituação

Antes do início das fases dos tratamentos experimentais, os animais foram submetidos a três dias de habituação/familiarização com o ambiente e arena experimentais. Os resultados desse período de habituação foram analisados por meio da ANOVA de um fator e os resultados mostraram que houve um efeito significativo de dias ($F(2, 186) = 15,0; p < 0,01$) e o teste de comparações de Duncan mostrou que o dia 1 apresentou maior atividade locomotora do que os dias 2 e 3 ($p < 0,05$) e o dia 2 apresentou atividade locomotora maior que o dia 3 ($p < 0,05$). Assim, houve um decréscimo da atividade locomotora ao longo dos 3 dias do período de habituação, mostrando o desenvolvimento da habituação a um ambiente novo (CERBONE e SADILE, 1994). Importante, antes do início das fases dos tratamentos experimentais, não houve diferenças entre os grupos de tratamentos.

PERÍODO DE HABITUAÇÃO

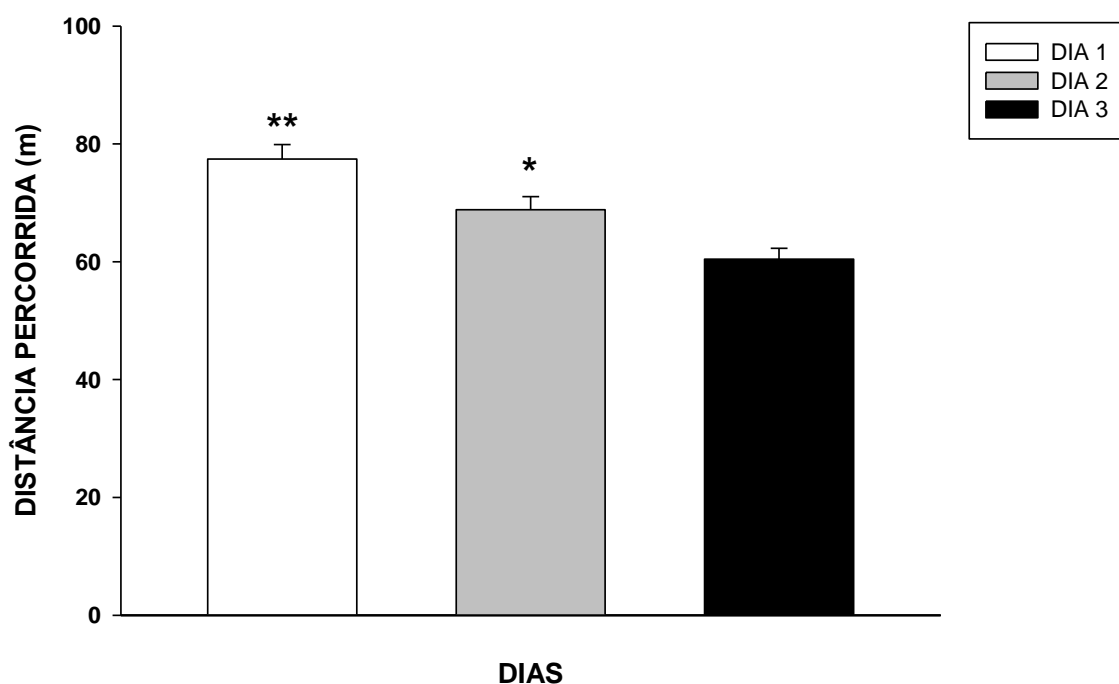


Figura 4. Distância percorrida (m) por todos os grupos experimentais nos 30 minutos de teste, nos 3 dias da fase de habituação dos experimentos 1 e 2. (**) denota locomoção maior quando comparado aos dias 2 e 3. (*) denota locomoção maior quando comparado ao dia 3 ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de DUNCAN).

5.2 Experimento 1

A Figura 5 apresenta a locomoção da fase de indução do experimento 1. Para a atividade locomotora total de 30 minutos (fig. 5A), a ANOVA de medidas repetidas mostrou que houve interação grupo X dias [$F(20, 144) = 11,15$; $p < 0,01$], houve efeito dos grupos [$F(5, 36) = 7,08$; $p < 0,01$] e houve, também, efeito dos dias de administração [$F(4, 136) = 19,0$; $p < 0,01$]. Para analisar a interação grupos X dias, a ANOVA de um fator (grupos dentro dos dias) seguida do teste de DUNCAN mostrou que nos dias 1 e 2, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Contudo, do dia 3 ao dia 5, os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção do que os grupos veículo e morfina não associada ($p < 0,05$).

Para a atividade locomotora dos primeiros 5 minutos de teste (fig. 5B), a ANOVA de medidas repetidas mostrou que houve interação grupo X dias [$F(20, 144) = 8,52$; $p < 0,01$], houve efeitos dos grupos [$F(5, 36) = 3,53$; $p < 0,01$] e dos dias de tratamento [$F(4, 144) = 12,0$; $p < 0,01$]. Para analisar melhor a interação dos grupos X dias, a ANOVA de um fator seguida pelo teste de comparações de DUNCAN mostrou que nos dias 1 e 2 não houve diferença entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Entretanto, do dia 3 ao dia 5, os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção do que os grupos morfina não associada e veículo ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 1: FASE DE INDUÇÃO

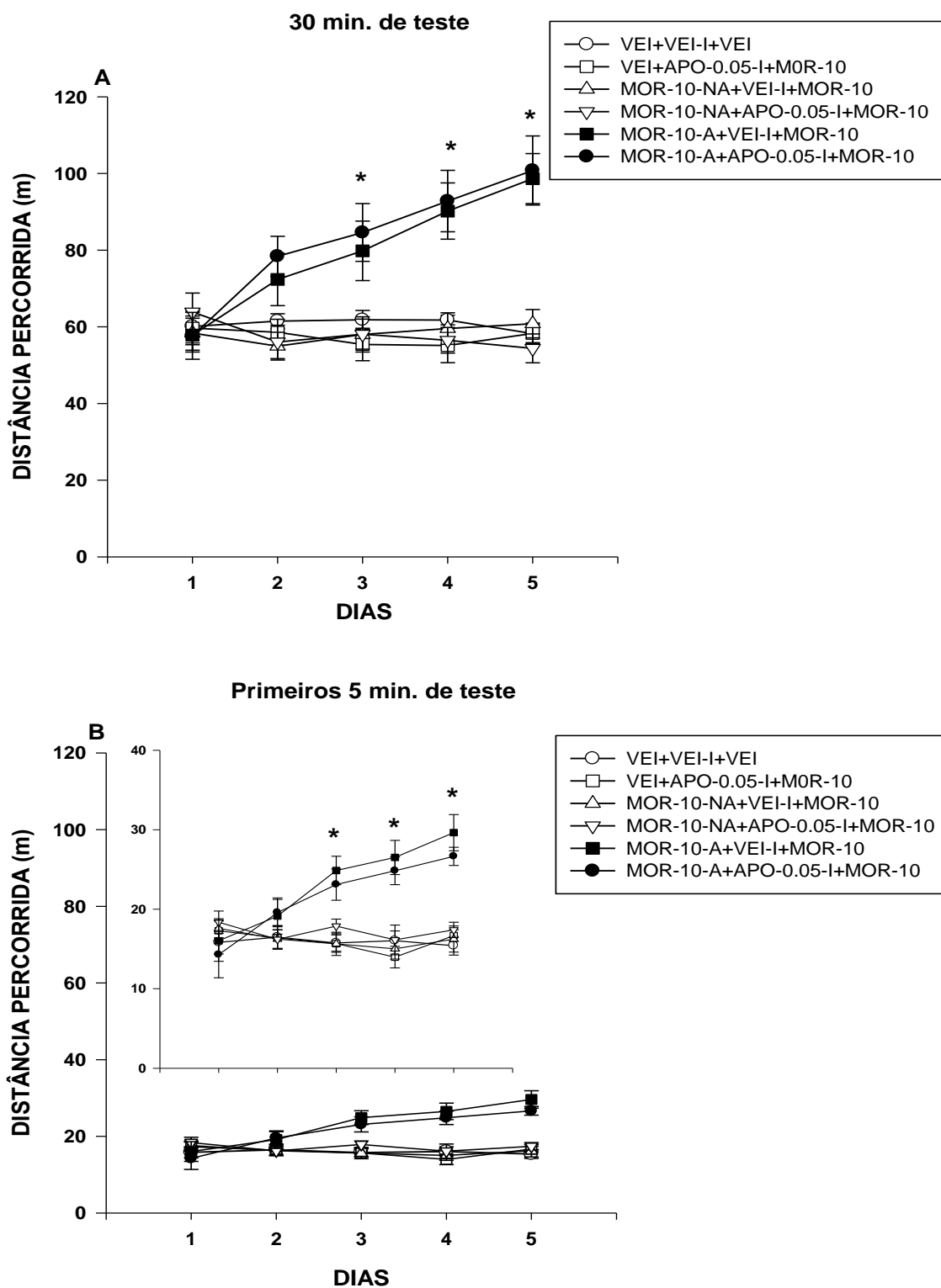


Figura 5. Distância percorrida (m) nos 30 minutos de teste (A) e nos primeiros 5 minutos de teste (B) nos 5 dias da fase de indução do experimento 1. (*) denota locomoção maior quando comparado aos outros grupos experimentais ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de DUNCAN).

A Figura 6 apresenta a atividade locomotora do teste de condicionamento 1 do experimento 1. A ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [$F(5, 36) = 10,0; p < 0,01$] e o teste de DUNCAN mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção em comparação com os grupos morfina não associada e veículo ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 1: TESTE DE CONDICIONAMENTO 1

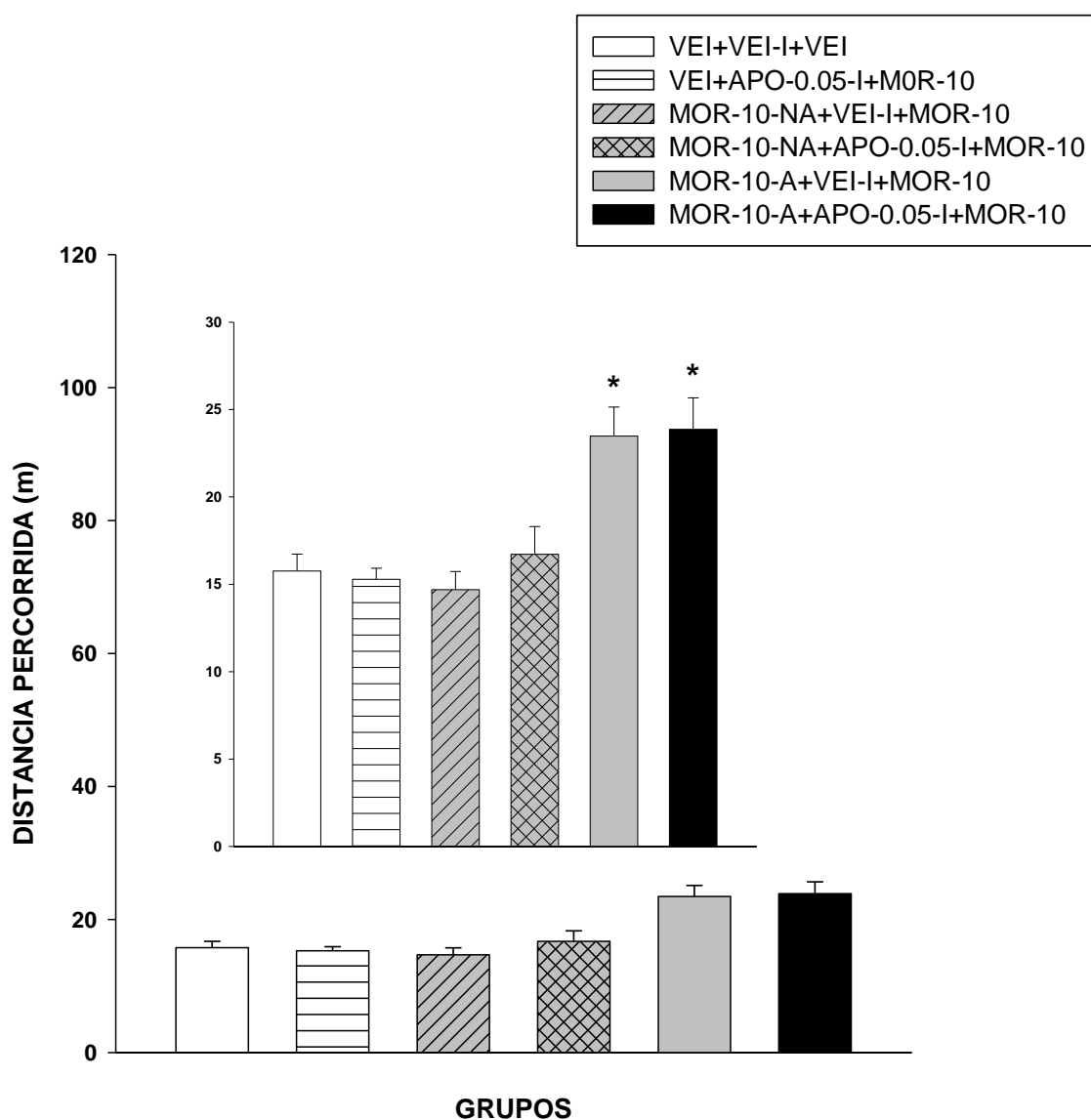


Figura 6. Distância percorrida (m) no teste de condicionamento 1 do experimento 1. (*) indica maior locomoção dos grupos morfina associada em comparação com os outros grupos ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de DUNCAN) e demonstra a expressão de uma resposta locomotora condicionada por morfina (hiperlocomoção).

A Figura 7 apresenta a atividade locomotora (m) do dia de reindução do experimento 1. A ANOVA de um fator mostrou que houve um efeito dos grupos [$F(5, 36) = 20,0$; $p < 0,01$] e o teste de DUNCAN mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção quando comparados aos grupos morfina não associada e veículo.

EXPERIMENTO 1: REINDUÇÃO

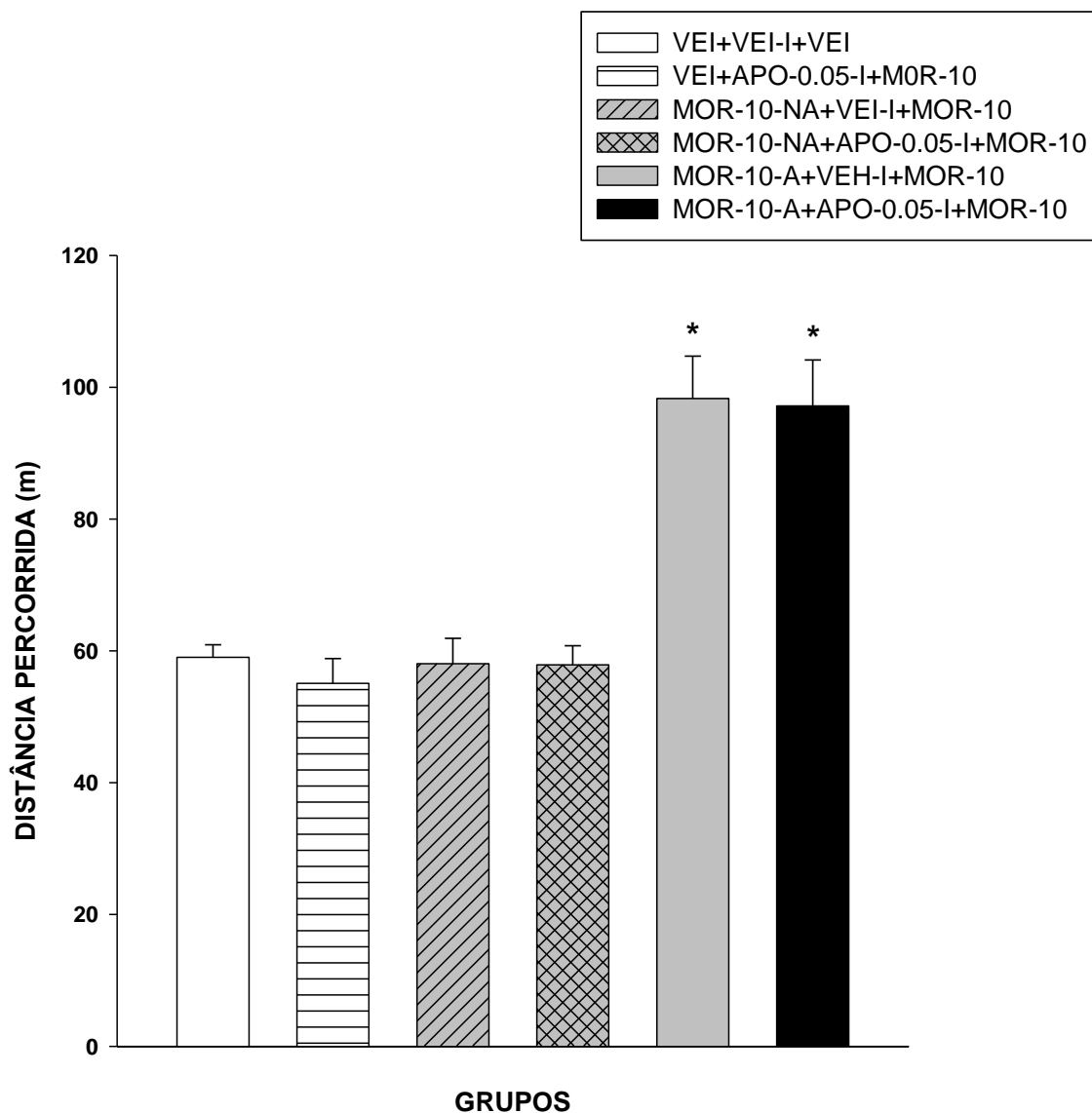


Figura 7. Distância percorrida (m) durante o dia de reindução do experimento 1. (*) denota locomoção maior que os demais grupos experimentais ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de DUNCAN).

A Figura 8 apresenta a atividade locomotora durante a fase de testes de condicionamento + tratamentos farmacológicos. Para o teste de condicionamento 2 (Fig. 8A), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [$F(5, 36) = 11,72$; $p < 0,01$] e o teste de Duncan mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção que os demais grupos ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 3 (fig. 8B), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [$F(5, 36) = 6,10$; $p < 0,01$] e o teste de Duncan mostraram que apenas o grupo morfina associada (MOR-10-A+VEÍ+MOR-10) apresentou maior locomoção que os demais grupos experimentais ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 4 (Fig. 8C), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [$F(5, 36) = 8,40$; $p < 0,01$] e o teste de Duncan mostraram que o grupo morfina associada (MOR-10-A+VEÍ+MOR-10) apresentou maior locomoção que os demais grupos ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 5 (Fig. 8D), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [$F(5, 36) = 8,20$; $p < 0,01$] e o teste de Duncan mostraram que o grupo morfina associada (MOR-10-A+VEÍ+MOR-10) apresentou maior locomoção que todos os outros grupos experimentais ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 1
TESTE DE CONDICIONAMENTO + TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

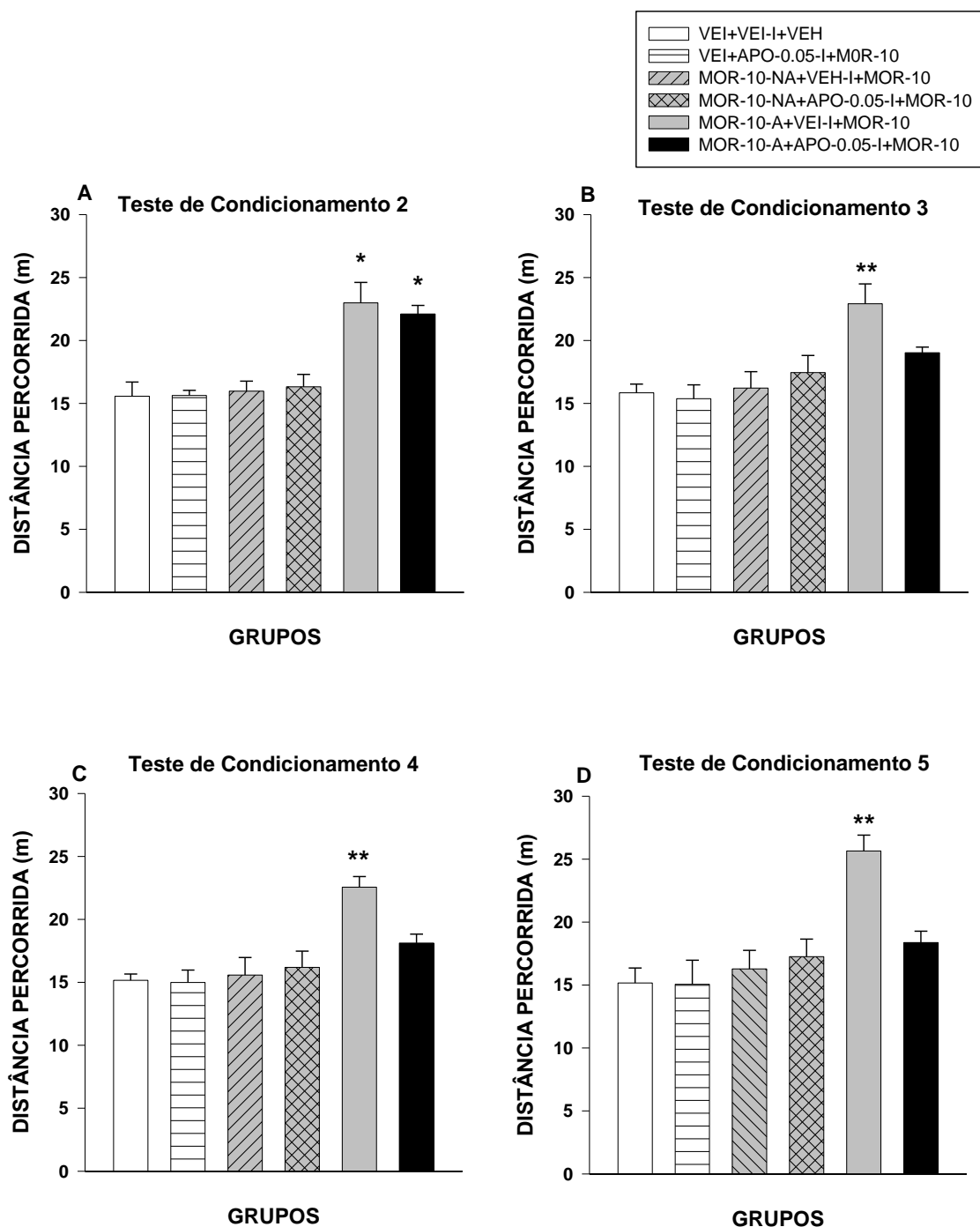


Figura 8. Distância percorrida (m) durante a etapa de teste de condicionamento 2 – 5 + tratamento pós-arena do experimento 1. (*) e (**) denotam maior locomoção que os demais grupos experimentais. ($p < 0,05$; ANOVA de um fator seguida pelo teste de comparações de DUNCAN).

A Figura 9 apresenta a locomoção durante o teste de sensibilização. Para essa avaliação, o tempo total da atividade na arena foi dividido em 12 intervalos de 2,5 min cada. A ANOVA repetida de dois fatores mostrou que

houve interação grupo X intervalo [$F(55, 396) = 4,43; p < 0,01$], efeito dos grupos [$F(5, 36) = 18,84; p < 0,01$] e efeito de intervalos [$F(11, 396) = 15863; p < 0,01$]. Os resultados mostraram que nos intervalos 1-2, o grupo morfina associada (MOR-10-A+VEÍ+MOR-10) apresentou maior locomoção em relação aos outros grupos ($p < 0,05$). Nos intervalos 3 a 8, os grupos morfina associada (MOR-10-A+VEÍ+MOR-10) e (MOR-10-A+APO-0,05+MOR-10) apresentaram maior locomoção do que todos os outros grupos ($p < 0,05$). Do intervalo 9 até o intervalo 12, não houve diferença na locomoção entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

EXPERIMENTO 1: TESTE DE SENSIBILIZAÇÃO

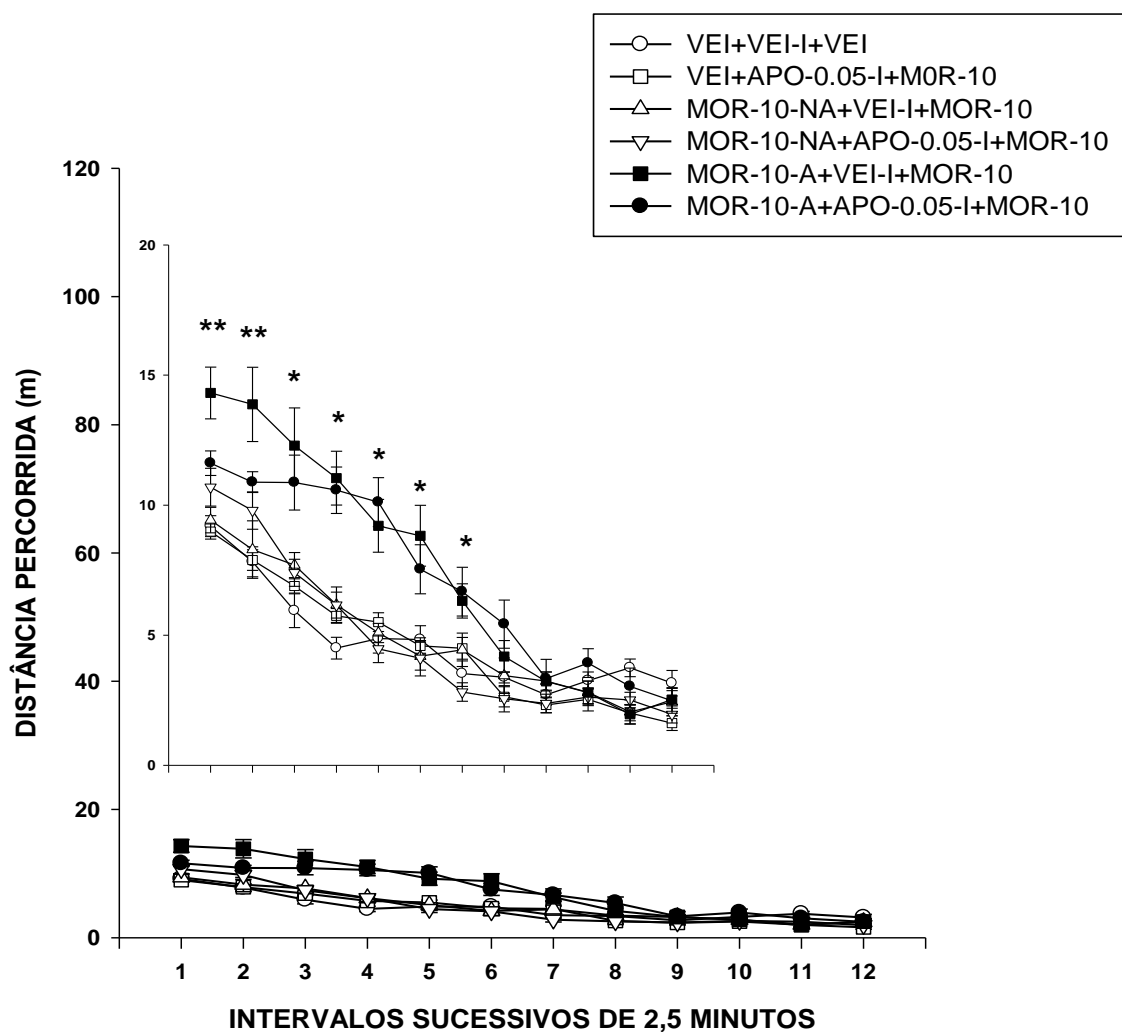


Figura 9. Distância percorrida (m) no decorrer do teste de sensibilização do experimento 1. (*) denota locomoção maior dos grupos morfina associada em comparação com os outros grupos. (**) denotam maior locomoção em comparação com todos os outros grupos experimentais. ($p < 0,05$; ANOVA de um fator seguida pelo teste de comparações de DUNCAN).

5.3 EXPERIMENTO 2

A Figura 10 apresenta a locomoção durante a fase de indução nos dias 1 a 5. Para a atividade locomotora total de 30 minutos (fig. 10A). A ANOVA de medidas repetidas mostrou que houve interação do grupo X dias [$F(8, 72) = 18,0$; $p < 0,01$], houve efeito dos grupos [$F(2, 18) = 15,30$; $p < 0,01$] e houve efeito dos dias de tratamento [$F(4, 72) = 32,70$; $p < 0,01$]. Para analisar a interação grupo X dias, a ANOVA de um fator (grupos dentro dos dias) seguida do teste de DUNCAN mostrou que nos dias 1 a 2, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Contudo, do dia 3 ao dia 5, os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção que o grupo veículo ($p < 0,05$).

Para a atividade locomotora dos primeiros 5 minutos de teste (fig. 10B), a ANOVA de medidas repetidas mostrou que houve interação grupo X dias [$F(8, 72) = 12,40$; $p < 0,01$], houve efeito dos grupos [$F(2, 18) = 13,30$; $p < 0,01$] e houve efeito dos dias de tratamento [$F(4, 72) = 16,01$; $p < 0,01$]. Para analisar a interação grupo X dias, a ANOVA de um fator seguida pelo teste de Duncan mostrou que nos dias 1 e 2 não houve diferença entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). No entanto do dia 3 ao dia 5, os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção em relação ao grupo veículo ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 2: FASE DE INDUÇÃO

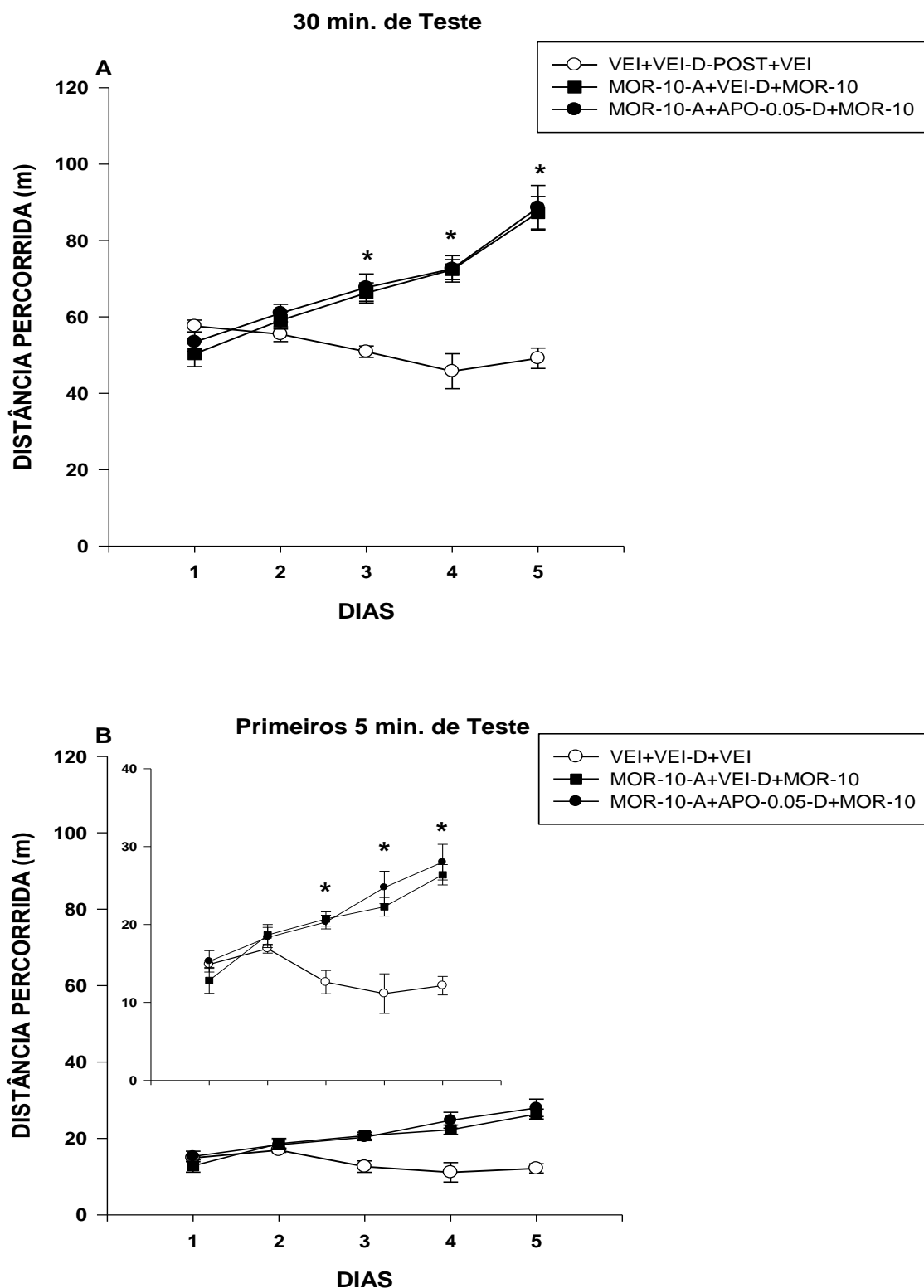


Figura 10. Distância percorrida (m) nos 30 minutos de teste (A) e nos primeiros 5 minutos de teste (B) nos 5 dias da fase de indução do experimento 2. (*) denota locomoção maior em comparação com os outros grupos experimentais ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de comparações de DUNCAN).

A Figura 11 apresenta a atividade locomotora do teste de condicionamento 1 do experimento 2. A ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [$F(2, 18) = 18,40$; $p < 0,01$] e o teste de comparações de DUNCAN mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção em comparação com o grupo veículo ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 2: TESTE DE CONDICIONAMENTO 1

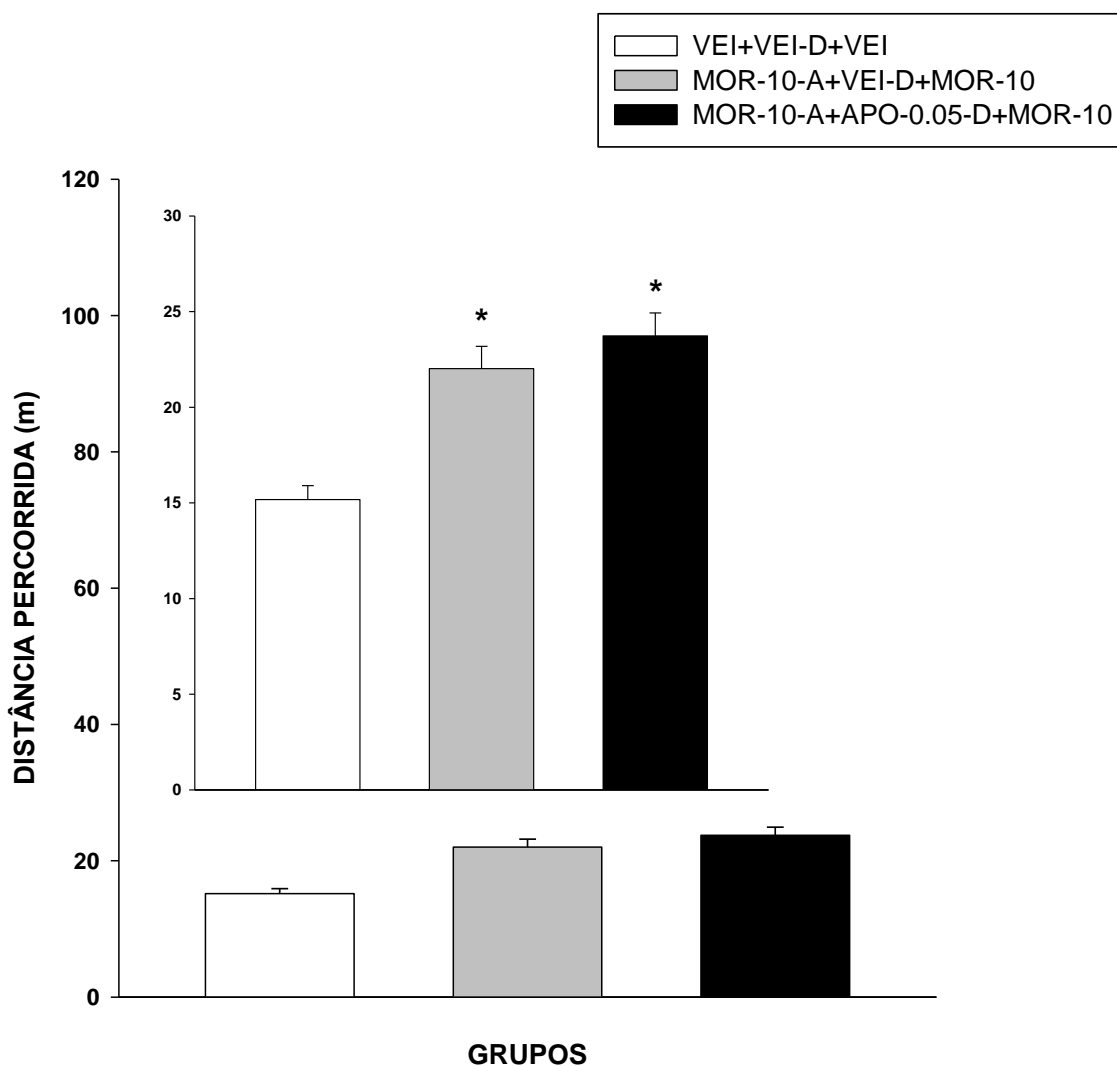


Figura 11. Distância percorrida (m) no teste de condicionamento 1 do experimento 2. (*) indica maior locomoção dos grupos morfina associada em comparação com o grupo veículo ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de DUNCAN) e demonstra a expressão de uma resposta locomotora condicionada por morfina (hiperlocomoção).

A Figura 12 apresenta a atividade locomotora (m) do dia de reindução do experimento 2. A ANOVA de um fator mostrou que houve um efeito dos grupos [$F(2,18) = 15,71$; $p < 0,01$] e o teste de comparações de DUNCAN mostraram

que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção quando comparados ao grupo veículo.

EXPERIMENTO 2: REINDUÇÃO

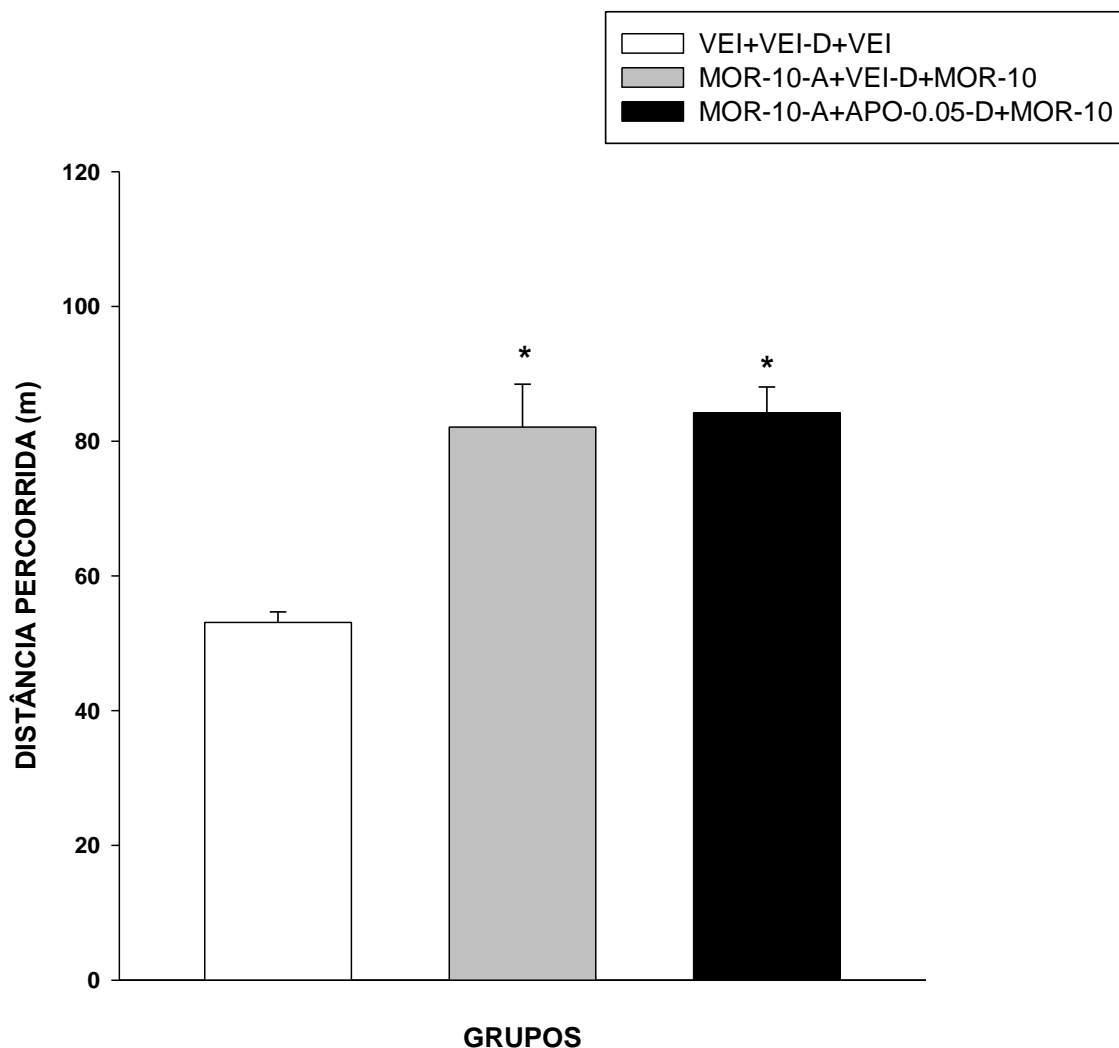


Figura 12. Distância percorrida (m) durante o dia de reindução do experimento 2. (*) denota locomoção maior que o grupo veículo ($p < 0,05$; ANOVA seguida pelo teste de DUNCAN).

A Figura 13 apresenta a atividade locomotora durante a fase de testes de condicionamento + tratamentos farmacológicos do experimento 2. Para o teste de condicionamento 2 (Fig. 13A), a ANOVA de um fator mostrou que houve efeito dos grupos [$F(2, 18) = 10,10$; $p < 0,01$] e o teste de Duncan mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção que o grupo veículo ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 3 (fig. 13B), a

ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [$F(2,18) = 7,32; p < 0,01$] e o teste de Duncan mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção que o grupo veículo ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 4 (Fig. 13C), a ANOVA de um fator mostrou que houve diferença entre os grupos experimentais [$F(2, 18) = 5,22; p < 0,05$] e o teste de Duncan mostraram que os grupos morfina associada apresentaram maior locomoção que o grupo veículo ($p < 0,05$). Para o teste de condicionamento 5 (Fig. 13D), a ANOVA de um fator mostrou que não houve diferença entre os grupos experimentais [$F(2,18) = 1,1; p > 0,05$].

EXPERIMENTO 2

TESTE DE CONDICIONAMENTO + TRATAMENTO FARMACOLÓGICO

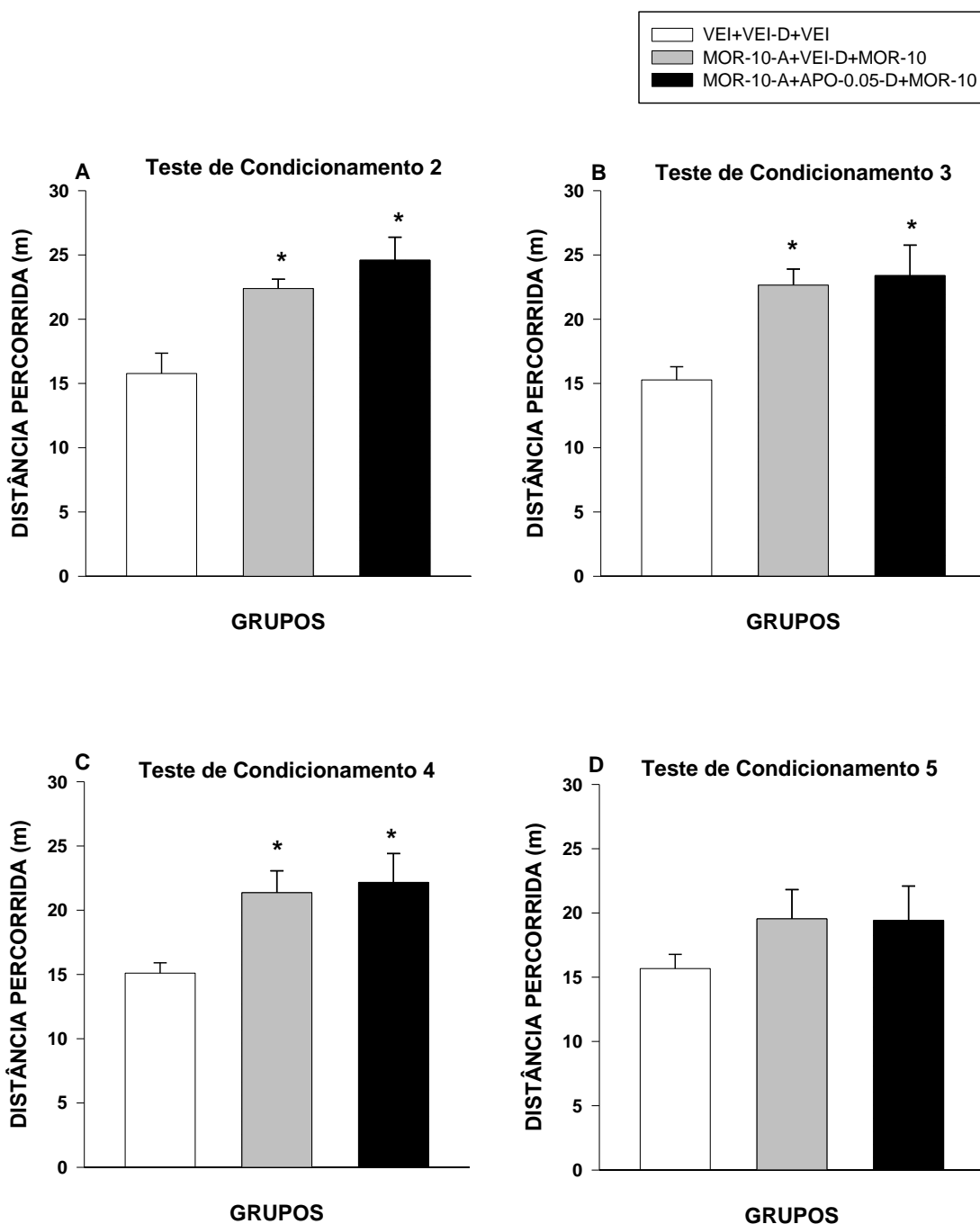


Figura 13. Distância percorrida (m) durante a etapa de teste de condicionamento 2 – 5 + tratamento pós-arena do experimento 2. (*) denota maior locomoção que o grupo veículo. ($p < 0,05$; ANOVA de um fator seguida pelo teste de comparações de DUNCAN).

A Figura 14 apresenta a locomoção durante o teste de sensibilização do experimento 2. Para essa avaliação, o tempo total da atividade na arena foi dividido em 12 intervalos de 2,5 min cada. A ANOVA repetida de dois fatores mostrou que houve interação grupo X intervalo [$F(22, 198) = 3,82$; $p < 0,01$],

efeito dos grupos [$F(2,18) = 9,71; p < 0,01$] e efeito de intervalos [$F(11, 198) = 42,25; p < 0,01$]. Os resultados mostraram que nos intervalos 1 ao 4, ambos grupos morfina associada apresentaram maior locomoção em relação ao grupo veículo ($p < 0,05$). Nos intervalos 5 ao 12, não houve diferença na distância locomovida entre os grupos experimentais ($p < 0,05$).

EXPERIMENTO 2: TESTE DE SENSIBILIZAÇÃO

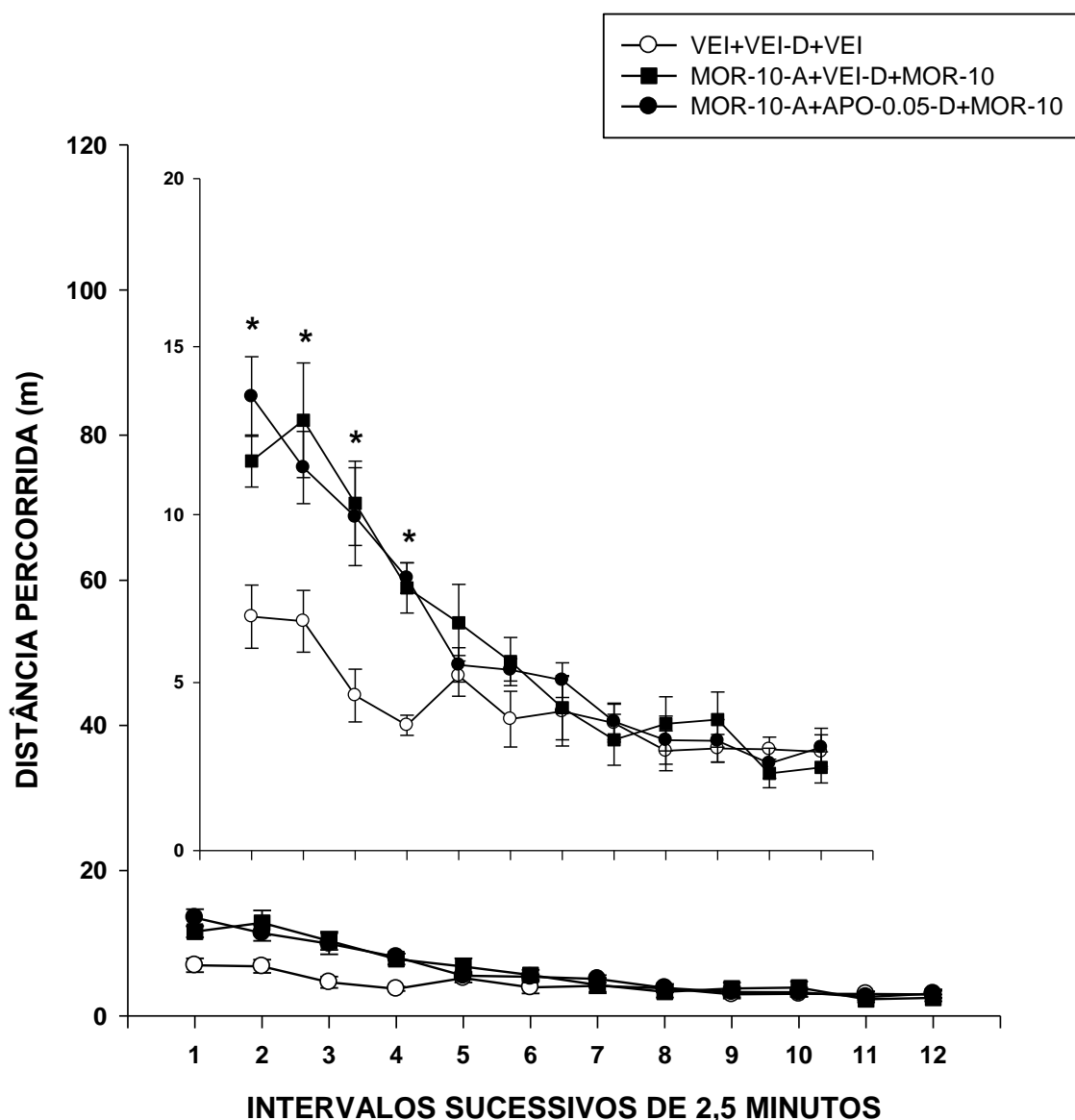


Figura 14. Distância percorrida (m) no decorrer do teste de sensibilização do experimento 2. (*) denota locomoção maior dos grupos morfina associada em comparação com o grupo veículo. ($p < 0,05$; ANOVA de um fator seguida pelo teste de comparações de DUNCAN).

VI – DISCUSSÃO

6.1 Habituação

O objetivo da etapa de habituação foi tornar os animais familiarizados à arena experimental, visto que a arena ao primeiro contato é entendida como novidade, fazendo com que aumentem os níveis circulantes de dopamina, gerando hiperatividade e aumento da locomoção (COSTA *et al.*, 2014). A morfina e apomorfina são duas drogas com capacidade de alterar os níveis dopaminérgicos, nesse caso a influência de uma novidade pode confundir os resultados (WILLIAMS *et al.*, 1983). Para tanto, o tempo de duração da habituação foi de 3 dias consecutivos com 30 minutos na arena de testes, tempo que foi necessário para haver a diminuição da locomoção. Essa diminuição foi visível no 3º dia, quando comparamos a locomoção ao 1º dia de habituação. O decréscimo da locomoção mostrado no gráfico da Figura 4 confirma que houve habituação à arena experimental (CERBONE e SADILE, 1994).

6.2 – Experimento 1: Efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg imediatamente após a fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico.

O objetivo do experimento 1 foi verificar se a administração de apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) administrada imediatamente após a arena experimental, no período que compreende a reconsolidação da memória, produziu atenuação e/ou bloqueio da resposta locomotora anteriormente condicionada e sensibilizada por morfina 10 mg/kg.

Observou-se, inicialmente, que o tratamento com morfina de forma associada produziu o desenvolvimento da sensibilização comportamental, que se traduz pelo aumento da atividade locomotora ao longo dos dias de administração em relação ao grupo veículo. Esse aumento foi significativo após repetidos tratamentos, mais precisamente ao 3º dia da fase de indução, sendo ausente nos grupos veículo e morfina não associada. Esses resultados

corroboram os dados da literatura científica que mostram que a morfina produz o desenvolvimento de uma resposta locomotora sensibilizada (ZARRINDAST *et al.*, 2007; CHAFER e SHIPPENBERG, 2009; ZHANG e KONG, 2017). Além disso, o fato de que esse desenvolvimento da sensibilização locomotora só foi observado no grupo associado é indicativo da sensibilização dependente do contexto (VALJENT *et al.*, 2010). A sensibilização comportamental induzida pelo uso de morfina é dependente do tempo e do contexto (QIN *et al.*, 2016). A sensibilização comportamental dependente de contexto tem sido usada para identificar as neuroadaptações induzidas por drogas em regiões importantes para a dependência e que podem mediar a transição do uso casual para o vício por drogas (KALIVAS e O'BRIEN 2008; LI *et al.*, 2004; WHITE e RAUHUT 2014; XIA *et al.*, 2011).

Em seguida, para se verificar os efeitos condicionados da morfina realizou-se o teste de condicionamento 1, que mostrou de forma seletiva, hiperatividade nos animais dos grupos morfina associada, mesmo na ausência do fármaco. No entanto, os grupos que receberam morfina não associada à arena, tiveram sua atividade locomotora semelhante à locomoção dos grupos veículo, ou seja, não apresentaram hiperlocomoção. Os efeitos condicionados à morfina, expressos pelo aumento da locomoção nos grupos associados, têm ligação com o aumento da liberação de dopamina em regiões importantes para o circuito de recompensa cerebral como a área tegmentar ventral, córtex pré-frontal e o *núcleo accumbens*, envolvendo as vias mesolímbica e mesocortical onde ocorrem a coordenação da atividade locomotora, estímulos motivacionais relevantes ligados ao ambiente e ainda constitui um importante fator da neuroplasticidade, contribuindo para o aprendizado tão importante para o fenômeno da dependência (GOODMAN e GILMAN, 2006; BERHOW *et al.*, 1996).

Na fase posterior, foi realizada a reindução, que é a repetição da fase de indução, seguindo os mesmos grupos experimentais (morfina associada, morfina não associada e veículo) e tempo na arena experimental (30 minutos). O objetivo desta fase foi manter a resposta condicionada e sensibilizada à morfina. A Figura 7 confirma que a atividade locomotora dos grupos morfina associada continuou alta quando comparada à locomoção dos grupos veículo e morfina não associada.

Após a fase descrita acima, foram feitos os testes de condicionamento 2, 3, 4 e 5, seguidos dos tratamentos no período de reconsolidação da memória, para verificar se a modulação dopaminérgica no período de reconsolidação alterou a expressão da resposta locomotora. Para isso, foram feitas aplicações de apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) imediatamente após o final do teste de condicionamento. O grupo morfina associada que recebeu veículo no período de reconsolidação da memória manteve uma resposta condicionada robusta nos 4 dias de teste. Já a administração de apomorfina em baixa dose (0,05 mg/kg), durante o período de reconsolidação da memória em um outro grupo de ratos, que recebeu morfina associada, mostrou uma diminuição da atividade locomotora. Esses resultados sugerem que o tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg atenuou a resposta locomotora condicionada. Por outro lado, mostrando que a resposta locomotora condicionada não sofreu extinção, a administração de apomorfina 0,05 mg/kg nos ratos do grupo morfina não associada não alterou a atividade locomotora, indicando a não ocorrência de efeito inibitório inespecífico sobre o comportamento dos animais.

Em associação, os resultados mostraram que houve interação da apomorfina no processo de reconsolidação da memória. Quando a apomorfina foi usada imediatamente após o teste de condicionamento, ela foi capaz de inibir a resposta condicionada por morfina. Essa inibição também foi mostrada por outros trabalhos do nosso laboratório (CARRERA *et al.*, 2012; DE Mello Bastos *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2018), em que os tratamentos com apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) foram administrados imediatamente após o teste experimental, e houve diminuição da locomoção, sugerindo diminuição da resposta condicionada. Em conformidade com Der-Avakian e colaboradores (2006) e também com Wolf e colaboradores (2003), construiu-se a hipótese de que a resposta condicionada por morfina ativaria o sistema dopaminérgico de forma crônica, com liberação condicionada de dopamina. Por isso, os resultados do teste de condicionamento são respaldados pelo fato da dopamina ter ligação direta com a memória, aprendizagem e recompensa, reforçando a ligação entre estímulo (E) e resposta (R) (FALLON *et al.*, 1978). Uma vez que a apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) pode ter levado a uma diminuição da dopamina na via mesolímbica, tornando fraca a ligação entre estímulo-resposta, dessa forma a arena experimental que seria um estímulo

positivo para os efeitos condicionados da morfina, deixou de ser um estímulo e assim houve uma diminuição da locomoção e reversão da hiperatividade no teste de condicionamento nos animais do grupo morfina associada.

Apesar disso, existe ainda a possibilidade do tratamento com apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) ter resultado em amnésia e perda de memória relacionada ao condicionamento pela morfina. Squire e colaboradores (2004) mostram que a amnésia é a deficiência para acessar memórias anteriores ou formar novas memórias e pode ser favorecida por medicamentos como analgésicos e benzodiazepínicos. Porém, a apomorfina é um medicamento não-narcótico, sem efeito analgésico que pertence à classe das dibenzoquilonas (FRANKEL *et al.*, 1990; MATTIGLY e GOTSICK, 1988). Ainda assim, se fosse mesmo efeito amnésico o que os animais experimentaram no teste de condicionamento, eles não se lembrariam do ambiente ou dos estímulos ambientais, e o tratamento realizado com apomorfina seria também esquecido, sem nenhum efeito na diminuição da locomoção. Também é preciso explicar que, devido a brevidade dos processos e pelo fato dos animais serem expostos à arena experimental não houve extinção do condicionamento (SANTOS *et al.*, 2017; KAPLAN *et al.*, 2011).

A saber, é importante diferenciar como a apomorfina e a morfina se relacionam com os níveis de dopamina nas áreas cerebrais relacionadas à dependência. Em primeiro lugar, a apomorfina tem ação direta com os receptores dopaminérgicos D1 e D2, a relação é do tipo dose-dependente, ou seja, em doses baixas (dose < 0,1 mg/kg) ocorre diminuição dos níveis de dopamina e inibição dos neurônios dopaminérgicos, enquanto que em doses altas (dose > 0,2 mg/kg) ocorre aumento da dopamina circulante e hiperatividade (AGHAJANIAN e BUNNEY, 1974; MISSALE *et al.*, 1998; BRAGA *et al.*, 2009). Entretanto, os efeitos da morfina sobre a dopamina são indiretos, ocorre a desinibição de neurônios dopaminérgicos pela diminuição da liberação de GABA em três estruturas cerebrais que são importantes mediadoras da recompensa, são elas: a área tegmentar ventral, o córtex pré-frontal e o *núcleo accumbens* (KOSTEN e GEORGE, 2002), possibilitando o aumento de dopamina e produzindo hiperatividade (DI CHIARA e IMPERATO, 1988; BESPALOV e ZVARTAU, 1996; CHEN *et al.*, 2015). Mesmo sabendo que os circuitos neuronais responsáveis pela mediação dos efeitos da morfina ainda

necessitam de esclarecimentos, é conhecido que a dopamina tem importância para o comportamento motor e no circuito de recompensas (BERKE e HYMAN, 2000).

Outro destaque, foi que o tratamento após o teste de condicionamento teve impacto sobre os neurotransmissores responsáveis pelas respostas condicionadas e incondicionadas, através dos níveis de dopamina. As considerações são semelhantes às encontradas nos trabalhos recentes de Kobrin e colaboradores (2017), onde houve diminuição da resposta condicionada à morfina no teste de Preferência Condicionada por Lugar (PCL), houve também um aumento da complexidade dendrítica no *núcleo accumbens*, que é uma estrutura dopaminérgica importante para a locomoção e recompensa, indicando que há uma base estrutural para o impacto do tratamento com morfina.

Por fim, foi realizado o teste de sensibilização, que teve por objetivo testar a resposta sensibilizada à morfina. Os resultados mostraram que o grupo morfina associado, que recebeu veículo durante o período de reconsolidação da memória, mostrou a resposta locomotora sensibilizada, isto é, houve um aumento da atividade locomotora durante os 15 minutos iniciais do teste. Após esse período, não houve diferenças entre os grupos experimentais. Já o grupo morfina associada que recebeu apomorfina 0,05 mg/kg durante o período de reconsolidação mostrou uma atividade locomotora similar aos grupos veículo e aos grupos morfina não associada durante os 5 primeiros minutos de teste, mostrando uma atenuação da resposta sensibilizada durante esse período. É possível que a resposta sensibilizada nos animais condicionados à morfina e tratados com apomorfina tenha sido inibida devido à dependência de estímulos ambientais, já que houve um aumento no intervalo de injeção da última dose de morfina. Além disso, os efeitos interoceptivos do tratamento com apomorfina no período de reconsolidação da memória podem ter contribuído para a atenuação dessa resposta. Houve um aumento da locomoção de forma progressiva neste grupo (morfina associada) após os primeiros 5 minutos (2º intervalo) até os 17,5 minutos (7º intervalo). Este aumento pode ter ocorrido devido ao início dos efeitos interoceptivos da morfina sentidos pelos animais dentro da arena experimental. A interocepção é um estado em que o indivíduo consegue mensurar de forma consciente sua própria fisiologia, por exemplo: os estados

de humor, temperatura, frequência cardíaca, e emoções etc. (MURPHY *et al.*, 2017). Entretanto os animais do grupo morfina associada que foram tratados com veículo no teste de condicionamento (TC2 – TC5) mantiveram até o 7º intervalo uma resposta sensibilizada por morfina, nesse grupo não houve tratamento farmacológico durante o período de reconsolidação da memória.

É importante ressaltar que a sensibilização comportamental provocada pela morfina se distingue dos efeitos condicionados da apomorfina, pois a resposta condicionada é evocada num estado em que o organismo animal se encontra livre dos efeitos da droga, ou seja, a evocação ocorre por meio de estímulos ambientais, neste caso, quando o rato adentra a arena experimental. Já a resposta sensibilizada é mais complexa, pois pode ser produzida tanto por fatores ambientais e, também, por estímulos interoceptivos relacionados à droga. O animal, uma vez condicionado e após ser colocado na arena experimental sem a droga, irá apresentar aumento na locomoção por um período de tempo com duração até que ele perceba por seu estado interoceptivo, que os efeitos sentidos sem a droga se distinguem dos efeitos sentidos com a droga, então o animal apresenta diminuição da locomoção (KELZ *et al.*, 1999; BARROT *et al.*, 2002; SHAW-LUTCHMAN *et al.*, 2002).

6.3 – Experimento 2: Efeito do tratamento com apomorfina 0,05 mg/kg, 15 minutos após a fase de teste de condicionamento + tratamento farmacológico

O experimento 2 teve por objetivo verificar se a manipulação dopaminérgica realizada num período não correspondente ao período de reconsolidação da memória influenciaria uma resposta locomotora previamente sensibilizada e condicionada.

Inicialmente, foi feita a etapa de indução para gerar nos grupos morfina associada uma resposta sensibilizada. Dessa forma, o experimento 2 não teve a presença do grupo morfina não associada, ou seja, foram dois grupos experimentais, morfina associada e veículo. Assim como no experimento 1, o aumento da locomoção e hiperatividade foi notado no 3º dia de teste, apenas nos grupos morfina associada em relação ao grupo veículo (Figura 10).

Num segundo momento, foi feita a etapa de teste de condicionamento 1 objetivando testar a resposta condicionada por morfina. Nos grupos morfina

associada houve hiperlocomoção durante os 5 minutos de teste, o que não ocorreu com o grupo veículo (Figura 11). Esses resultados confirmam que a morfina foi capaz de gerar condicionamento nos animais dos grupos associados, que tiveram a atividade locomotora aumentada associada à arena experimental, nesse teste sem drogas.

Na sequência, foi feita a etapa de reindução, em que o objetivo foi manter a resposta condicionada e sensibilizada por morfina. Nessa etapa, é feita uma repetição dos tratamentos da fase de indução, os resultados na Figura 12 mostram o aumento da locomoção dos grupos morfina associada em comparação com o grupo veículo.

Na fase dos testes de condicionamento 2 a 5 seguidos dos tratamentos farmacológicos fora do período de reconsolidação da memória, o tratamento com apomorfina em dose baixa (0,05 mg/kg) feito 15 minutos após a saída da arena não tiveram efeito sobre a hiperlocomoção no grupo morfina associada e da mesma forma não foi afetada a hiperlocomoção do grupo morfina associada que recebeu veículo nessa etapa (Figura 13).

É possível que os níveis de dopamina nos dois grupos associados se mantiveram altos, como na fase de indução e a hiperlocomoção se manteve nos 4 dias de teste de condicionamento (TC2 – TC5). É de interesse ainda, que o momento mais favorável para que o tratamento com apomorfina (0,05 mg/kg) levasse à uma diminuição da resposta condicionada nos ratos dos grupos morfina associada, foi imediatamente após a saída da arena experimental (experimento 1), sendo ineficaz quando feito 15 minutos após à saída da arena experimental (experimento 2).

Segundo Duncan (1948) e Debiec e colaboradores (2002), existe um período crítico para que o processo de reconsolidação da memória seja eficiente. Nesse período que tem duração de poucos minutos é o momento onde deve ser feito o tratamento para que uma nova memória seja adquirida, e memórias consolidadas podem ser modificadas ou substituídas. Quando os tratamentos foram administrados 15 minutos após teste de condicionamento, não tiveram efeito sobre a reconsolidação da memória, pois a janela em que a memória se encontrava lábil podendo ser modificada, já havia se fechado.

Por fim, a última etapa do experimento 2 foi o teste de sensibilização, e teve por objetivo testar a resposta sensibilizada à morfina. Os resultados

mostram a hiperlocomoção dos grupos morfina associada em relação ao grupo veículo. Esse aumento na locomoção confirma que não houve efeito durante a reconsolidação da memória no grupo morfina associada tratado com apomorfina 0,05 mg/kg após a arena experimental. Além disso, o aumento da locomoção até os 10 primeiros minutos de teste (1^o ao 4^o intervalo) mostra que houve resposta sensibilizada à morfina nos dois grupos associados.

VII – CONCLUSÃO

- Os tratamentos repetidos com morfina, 10 mg/kg de forma associada, induziram tanto a sensibilização quanto a hiperlocomoção condicionada.
- A apomorfina em dose baixa, 0,05 mg/kg administrada durante o período de reconsolidação da memória, eliminou o condicionamento por morfina 10 mg/kg.
- Uma dose igual de apomorfina, administrada após o período de reconsolidação da memória, não teve efeito no condicionamento por morfina 10 mg/kg.
- A interferência nos mecanismos da reconsolidação da memória representa uma estratégia promissora para o enfraquecimento de memórias mal adaptadas.

Referências Bibliográficas

ADINOFF, B. Neurobiologic processes in drug reward and addiction. **Harvard Review of Psychiatry**. v. 12, n. 06, p. 305 – 320, 2004.

AGHAJANIAN, G.K., BUNNEY, B.S. Central dopaminergic neurons: Neurophysiological identification and responses to drugs. **Biochemical Pharmacology**. v. 23, n. 01, p. 523 – 528, 1974.

ARAÚJO, M.R., MOREIRA, F.G., SILVEIRA, D.X., MOREIRA, F.G. Histórias das drogas, Panorama atual de drogas e dependências. **São Paulo: Atheneu**. Ed. 01, n.01, p. 09 – 14, 2006.

BARAKA, A. Historical aspects of opium. **Middle East Journal of Anesthesiology**. v. 15, n. 04, p. 423 – 436, 2000.

BARDO, M.T. Neuropharmacological mechanisms of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. **Critical Reviews in Neurobiology**. v. 12, n. 01 – 02, p. 37 – 67, 1998.

BARDO, M.T., BEVINS, R.A. Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? **Psychopharmacology (Berl)**. v. 153, n. 01, p. 31 – 43, 2000.

BARROT, M., OLIVIER, J.D.A., PERROTTI, L.I., DILEONE, R.J., BERTON, O., EISCH, A.J., IMPEY, S., STORM, D.R., NEVE, R.L., YIN, J.C., ZACHARIOU, V., NESTLER, E.J. CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 99, n. 17, p. 11432 – 11440, 2002.

BERHOW, M.T., HIROI, N., NESTLER, E.J. Regulation of ERK (extracellular signal regulated kinase), part of the neurotrophin signal transduction cascade, in the rat mesolimbic dopamine system by chronic exposure to morphine or cocaine. **The Journal of Neuroscience**. v. 16, n. 15, p. 4707 – 4715, 1996.

BERKE, J.D., HYMAN, S.E. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of Memory. **Neuron**. v. 25, n. 03, p. 515 – 532, 2000.

BESPALOV, A.Y., ZVARTAU, E.E. Intraaccumbens administration of NMDA receptor antagonist (+/-) -CPP prevents locomotor activation conditioned by morphine and amphetamine in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 55, n. 02, p. 203 – 207, 1996.

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 and Behavior**. v. 91, n. 3, p. 278 – 282, 2009.

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: an unconventional dose and response reversal sensitization challenge test reveals sensitization mechanisms. **Behavioural Brain Research**. v. 204, n. 01, p. 169 – 174, 2009.

BROWNSTEIN, M.J. A brief history of opiates, opioid peptides, and opioid receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 90, n. 12, p. 5391 – 5393, 1993.

CADOR, M., BJIJOU, Y., STINUS, L. Evidence of a complete Independence of the neurobiological substrates for the induction and expression of behavioral sensitization to amphetamine. **Neuroscience**. v.65, n. 02, p. 385 – 395, 1995.

CAREY, R.J., CARRERA, M.P., DAMIANOPOULOS, E.N. A new proposal for drug conditioning with implications for drug addiction: The Pavlovian two-step from delay to trace conditioning. **Behavioural Brain Research**. v. 275, p. 150 – 156, 2014.

CARRERA, M.P., CAREY, R.J., DIAS, F.R. DE MATOS, L.W. Reversal of apomorphine locomotor sensitization by a single post-conditioning trial treatment with a low autoreceptor dose of apomorphine: a memory reconsolidation approach. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. v. 99, n. 01, p. 29 – 34, 2011.

CARRERA, M.P., CAREY, R.J., DIAS, F.R., DE MATTOS, L.W. Memory reconsolidation 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 (Berl)**. v. 220, n. 02, 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.

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

CERBONE, A., SADILE, A.G. Behavioral habituation to spatial novelty:
interference and noninterference studies. **Neuroscience & Biobehavioral
Reviews.** v. 18, n. 04, p. 497 – 518, 1994.

CHEFER, V.I., SHIPPENBERG, T.S. Augmentation of Morphine-Induced
Sensitization but Reduction in Morphine Tolerance and Reward in Delta-Opioid
Receptor Knockout Mice. **Neuropsychopharmacology.** v. 34, n. 01, p. 887 –
898, 2009.

CHEN, M., ZHAO, Y., YANG, H., LUAN, W., SONG, J., CUI, D., DONG, Y., LAI,
B., MA, L., ZHENG, P. Morphine disinhibits glutamatergic input to VTA
dopamine neurons and promotes dopamine neuron excitation. **eLife.** v. 04, n.
01, 2015.

COHEN, J.J. Disorders of potassium balance. **Journal Hospital Practice.** v. 14,
n. 01, p. 119 – 128, 1979.

COSTA, V.D., TRAN, V.L., TURCHI, J., AVERBECK, B.B. Dopamine modulates
novelty seeking behavior during decision making. **Behavioral Neuroscience.** v.
128, n. 05, p. 556 – 566, 2014.

DAHAN, A., KEST B., WAXMAN, A.R., SARTON, E. Sex-specific responses to
opiates: Animal and human studies. **Anesthetic Pharmacology Preclinical
Pharmacology.** v. 107, n. 01, p. 83 – 95, 2008.

DEBIEC, J., LEDOUX, J.E., NADER, K. Cellular and systems reconsolidation in
the Hippocampus. **Neuron.** v. 36, n. 03, p. 527 – 538, 2002.

DIAZ, J. How Drugs Influence Behavior: A Neurobehavioral Approach. **Pearson
College Division;** 1^o edition, 285 pages, 1996.

DI CHIARA, G., IMPERATO, A. Opposite effects of mu and kappa opiate
agonists on dopamine release in the nucleus accumbens and in the dorsal
caudate of freely moving rats. **The Journal of Pharmacology and
Experimental Therapeutics.** v. 244, n. 03, p. 1067 – 1080, 1988.

DOMBROWSKI, P.A., CARVALHO, M.C., MIYOSHI, E., CORREIA, D.,
BORTOLANZA, M., DOS SANTOS, L.M., WIETZIKOSKI, E.C., ECKART, M.T.,
SCHWARTING, R.K., BRANDÃO, M.L., DA CUNHA, C. Microdialysis study of
striatal dopamine in MPTP-hemilesioned rats challenged with apomorphine and

amphetamine. **Behavioural Brain Research**. v. 215, n. 01, p. 63 – 70, 2010.

DUARTE, D.F. Opium and opioids: a brief history. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 55, n. 01, p. 135 – 146, 2005.

DUDAI, Y. The Restless Engram: Consolidations Never End. **Annual Review of Neuroscience**. v. 35, n. 01, p. 227 – 247, 2012.

DUDAI, Y., KARNI, A., BORN, J. The Consolidation and Transformation of Memory. **Neuron**. v. 88, n. 1, p. 20 – 32, 2015.

DUNCAN, C.P. Habit reversal induced by electroshock in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**. v. 41, n. 01, p. 11 – 16, 1948.

DUPONT, R.L. Cérebro, Álcool e Drogas, O Cérebro Egoísta: Aprender Com as Dependências. **Instituto Piaget**. Ed. 12, n. 01, p. 01 – 544, 2005.

EISCH, A.J., BARROT, M., SCHAD, C.A., SELF, D.W., NESTLER, E.J. Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 97, n. 13, p. 7579 – 7584, 2000.

FALLON, J.H., RILEY, J.N., MOORE, R.Y. Substantia nigra dopamine neurons: separate populations project to neostriatum and allocortex. **Neuroscience Letters**. v. 07, n. 02 e 03, p. 157 – 162, 1978.

FERREIRA, M.P., LEITE, M.C., HOCHGRAF, P.B., ZILBERMAN, M.L., CORDÁS, T.A., MORENO, R.A. Dependências Químicas, Condutas em psiquiatria. **Lemos Editorial**. Ed. 04, n. 01, p. 319 – 348, 2001.

FRANKEL, J.P., LEES, A.J., KEMPSTER, P.A., STERN, G.M. Subcutaneous apomorphine in the treatment of Parkinson's disease. **Journal of Neurology Neurosurgery & Psychiatry**. v. 52, n. 02, p. 96 – 101, 1990.

FRENKEL, L., MALDONADO, H., DELORENZI, A. Memory strengthening by a real-life episode during reconsolidation: an outcome of water deprivation via brain angiotensin II. **Europe Journal of Neuroscience**. v. 22, n. 07, p. 1757 – 1766, 2005.

GARCIA-BORREGUERO, D., USHA, K.M., KATILA, J., KUMAR, S., PRASAD, S., ANNE-MARIE, W., LARROSA, O. Treatment of restless legs syndrome with pregabalin: A double-blind, placebo-controlled study. **American Academy of Neurology**. v. 76, n.04, p. 408 – 409, 2011.

GLARE, P.A., WALSH, T.D. Clinical pharmacokinetics of morphine. **Therapeutic Drug Monitoring**. v. 13. n. 01, p. 01 – 23, 1991.

GOLDBERG, J.H., FARRIES, M.A., FEE, M.S. Basal ganglia output to the thalamus: still a paradox. **Trends In Neurosciences**. v. 36, n. 12, p. 695 – 705, 2013.

GOODMAN, L.S., GILMAN, A. As bases farmacológicas da terapêutica. **Mc Graw Hill: Rio de Janeiro**, 11 edição, 2006.

HEMMINGS, H.C., JEVTOVIC-TODOROVIC, V. Special issue on anaesthetic neurotoxicity and neuroplasticity. **British Journal of Anesthesia**. v. 110, n. 01, p. 01 – 02, 2013.

HYMAN, S.E. A man with alcoholism and HIV infection. **Journal of the American Medical Association (JAMA)**. v. 274, n. 10, p. 837 – 843, 1995.

HYMAN, S.E., MALENKA, R.C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 02, n. 10, p. 695 – 703, 2001.

IZQUIERDO, I., MCGAUGH, J.L. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. **Behavioural Pharmacology**. v. 11, n. 7 – 8, p. 517 – 534, 2000.

IZQUIERDO, L.A., BARROS, D.M., VIANNA, M.R., COITINHO, A., DEDAVID, E., SILVA, T., CHOI, H., MOLETTA, B., MEDINA, J.H., IZQUIERDO, I. Molecular pharmacological dissection of short-and long-term memory. **Celular and Molecular Neurobiology**. v. 22, n. 03, p. 269 – 287, 2002.

IZQUIERDO, I., BEVILAQUA, L.R., ROSSATO, J.I., BONINI, J.S., MEDINA, J.H., CAMMAROTA, M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory Consolidation. **Trends in Neuroscience**. v. 29, n. 09, p. 496 – 505, 2006.

JACOBS, E.H., SMITH, A.B., De VRIES, T.J., SCHOFFELMEER, A. N. Neuroadaptative effects of active versus passive drug administration in addiction research. **Trends Pharmacological Sciences**. v. 24, n. 11, p. 566 – 573, 2003.

KALIVAS, P.W., O'BRIEN, C. Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. **Neuropsychopharmacology**. v. 33, n. 01, p. 166 – 180, 2008.

KAPLAN, G.B., HEINRICHS, S.C., CAREY, R.J. Treatment of addiction and anxiety using extinction approaches: neural mechanisms and their treatment implications. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. v. 97, n. 03, p. 619 – 625, 2011.

KELZ, M.B., CHEN, J., CARLEZON, W.A. Jr., WHISLER, K., GILDEN, L., BECKMANN, A.M., STEFFEN, C., ZHANG, Y.J., MAROTTI, L., SELF, D.W., TKATCH, T., BARANAUSKAS, G., SURMEIER, D.J., NEVE, R.L., DUMAN, R.S., PICCIOTTO, M.R., NESTLER, E.J. Expression of the transcription factor deltaFosB in the brain controls sensitivity to cocaine. **Nature**. v. 401, n. 6750, p. 272 – 276, 1999.

KENNA, G.A., NIELSEN, D.M., MELLO, P., SCHIESL, A., SWIFT, R. M. Pharmacotherapy of dual substance abuse and dependence. **CNS Drugs**. v. 21, n. 03, p. 213 – 237, 2007.

KOBRIN, K.L., ARENA, D.T., HEINRICHS, S.C., NGUYEN, O.H., KAPLAN, G.B. Dopamine D1 receptor agonist treatment attenuates extinction of morphine conditioned place preference while increasing dendritic complexity in the nucleus accumbens core. **Behavioural Brain Research**. v. 322, n. 01, p. 18 – 28, 2017.

KOSTEN, T.R., GEORGE, T.P. The neurobiology of opioid dependence: implications for treatment. **Science & Practice Perspectives**. v. 01, n. 01, p. 13 – 20, 2002.

LECHNER, H.A., SQUIRE, L.R., BYRNE, J.H. 100 years of consolidation - remembering Müller and Pilzecker. **Learning and Memory**. v. 06, n. 02, p. 77 – 87, 1999.

LEWIS, D.J. Psychobiology of active and inactive memory. **Psychological Bulletin**. v. 86, n. 05, p. 1054 – 1083, 1979.

LI, Y., ACERBO, M.J., ROBINSON, T.E. The induction of behavioural sensitization is associated with cocaine-induced structural plasticity in the core (but not shell) of the nucleus accumbens. **European Journal of Neuroscience**. v. 20, n. 06, p. 1647 – 1654, 2004.

LÖTSCH, J., GEISSLINGER, G. Morphine-6-glucuronide: an analgesic of the future? **Clinical Pharmacokinetics**. v. 40, n. 07, p. 485 – 499, 2001.

LUGO, R.A., KERN, S.E. Clinical pharmacokinetics of morphine. **Journal of Pain & Palliative Care Pharmacotherapy**. v. 16, n. 04, p. 05 – 18, 2002.

MARTINS, E.R.C., CORREA, A.K. Dealing with psychoactive substances: the meaning for nursing workers. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. v. 12, n. 01, p.398 – 405, 2004.

MARTINS, R.T., ALMEIDA, D.B. de, MONTEIRO, F.M. do R., KOWACS, P.A.; RAMINA, R. Receptores opioides até o contexto atual. **Instituto de Neurologia de Curitiba**. v. 13, n. 01, p. 75 – 79, 2012.

MATTIGLY, B.A., GOTSICK, C.M. Locomotor activity and stereotypy in rats following repeated apomorphine treatments at 1-, 3-, or 7- day intervals. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 31, n. 04, p. 871 – 875, 1988.

MATSUMOTO K., YOSHIDA M., ANDERSSON K., HEDLUND P. Effects in vitro and in vivo by apomorphine in the rat corpus cavernosum. **British Journal of Pharmacology**. v. 146, n. 02, p. 259 – 267, 2005.

DE MELLO BASTOS, J.M., DIAS, F.R., ALVES, V.H., CAREY, R.J., CARRERA, M.P. 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. **Behavioural Brain Research**. v. 260, n. 01, p. 139 – 147, 2014.

MISSALE, C., NASH, S.R., ROBINSON, S.W., JABER, M., CARON, M.G. Dopamine receptors: from structure to function. **Physiological Reviews**. v. 78, n. 01, p. 189 – 225.

MORGANE, P.J., GALLER, J.R., MOKLER, D.J. A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. **Progress in Neurobiology**. v. 75, n. 02, p. 143 – 160, 2005.

MURPHY, J., BREWER, R., CATMUR, C., BIRD, G. Interoception and psychopathology: A developmental neuroscience perspective. **Developmental Cognitive Neuroscience**. v. 23, n. 01, p. 45 – 56, 2017.

NASCIMENTO, P.F.C. do. Efeitos da exposição ao etanol em camundongos adolescentes e adultos: comportamentos relacionados à recompensa, sensibilização comportamental e o papel dos sistemas dopaminérgico e glutamatérgicos. São Paulo, **Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo**. 2011.

NERY FILHO, A., MACRAE, E., TAVARES, L.A., RÊGO, M. Toxicomanias: incidências clínicas e socioantropológicas. **EDUFBA Drogas: clínica e cultura collection**. 1º ed, n. 01, p. 01 – 308, 2009.

NESTLER, E.J. Under siege: The brain on opiates. **Neuron**. v. 16, n. 05, p. 897 – 900, 1996.

NESTLER, E.J. From neurobiology to treatment: progress against addiction. **Nature Neuroscience**. v. 05, n. 01, p. 1076 – 1079, 2002.

NESTLER, E.J. Historical review: Molecular and cellular mechanisms of opiate and cocaine addiction. **Trends in Pharmacological Sciences**. v. 25, n. 04, p. 210 – 218, 2004.

NODA, Y., MIYAMOTO, Y., MAMIYA, T., KAMEI, H., FURUKAWA, H., NABESHIMA, T. Involvement of dopaminergic system in phencyclidine-induced place preference in mice pretreated with phencyclidine repeatedly. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 288, n. 01, p. 44 – 51, 1998.

NODA, Y., NABESHIMA, T. Involvement of signal transduction cascade via dopamine-D1 receptors in phencyclidine dependence. **ANNALS**. v. 1025, n. 01, p. 62 – 68, 2004.

NUNES, L., JÓLLUSKIN, G., O uso de drogas breve análise histórica e social, revista da faculdade de ciências humanas e sociais. **Revista da Faculdade de Ciências Humanas e Sociais**. v. 04, n. 01, p. 230 – 237, 2007.

O'BRIEN, C.P., CHILDRESS, A.R., EHRMAN, R., ROBBINS, S.J. Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? **Journal Of Psychopharmacology**. v. 12. N. 01, p. 14 – 22, 1998.

ORDOÑEZ, R.A.S., Reconsolidação da Memória e a Dependência de Estado: Mecanismos da Atualização. Dissertação Mestrado. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre – RS, 2012.

PATHAN, H., WILLIAMS, J. Basic opioid pharmacology: an update. **British Journal of Pain**. v. 06, n. 01, p. 11 – 16, 2012.

PAVLOV I. P. Conditioned Reflexes. Oxford, **Oxford University Press**. 1927.

PÉREZ-CAJARAVILLE, J., ABEJÓN, D., ORTIZ, J.R., PÉREZ, J.R. El dolor y su tratamiento a través de la historia. **Revista de la Sociedad Española del Dolor**. v. 12, n. 06, p. 373 – 384, 2005.

PERT, C.B., SNYDER, S.H. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. **Science**. v. 179, n. 4077, p. 1011 – 1014, 1973.

PETROFF, O.A. GABA and glutamate in the human brain. **The Neuroscientist**. v. 08, n. 06, p. 562 – 573, 2002.

QIN, W.J., WANG, Y.T., LI, P.M., WANG, X.X., LI, J.X., NOORI, H.R., BERNARDI, R.E., LIANG, J.H., ZHANG, X.L. Context- and time-dependent neurobiological and behavioral sensitization induced by a single morphine exposure in mice. **Psychopharmacology (Berl)**. v. 233, n. 07, p. 1147 – 1155, 2016.

RAITH, K., HOCHHAUS, G. Drugs used in the treatment of opioid tolerance and physical dependence: a review. **Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**. v. 42, n. 04, p. 191 – 203, 2004.

REHMAN, I., REHMAN, C.I. Classical Conditioning. **Treasure Island, StatPearls**. 2018.

RIBEIRO, F.M.L., MINAYO, M.C.S. Religious therapeutic communities in recovering drug users: the case of Manguinhos, RJ. **Interface**. v. 19, n. 54, p. 515 – 526, 2015.

RIVERA, A., GAGO, B., FUXE, K., BRENÉ, S., DÍAZ-CABIALE, Z., REINA-SÁNCHEZ, M.D., SUÁREZ-BOOMGAARD, D., ROALES-BUJÁN, R.; VALDERRAMA-CARVAJAL, A., DE LA CALLE, A. Early modulation by the dopamine D4 receptor of morphine-induced changes in the opioid peptide systems in the rat caudate putamen. **Journal of Neuroscience Research**. v. 91, n. 12, p. 1533 – 1540, 2013.

ROBBINS, T.W., EVERITT, B.J. Drug addiction: bad habits add up. **Nature**. v. 398, p. 567 – 70, 1999.

ROBBINS, T.W., EVERITT, B.J. Limbic-striatal memory systems and drug addiction. **Neurobiology of Learning na Memory**. v. 78, n. 03, p. 625 – 636, 2002.

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. 396, n. 02, p. 157 – 189, 1986.

ROBINSON, T.E., BERRIDGE, K.C. The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. **Brain Research Reviews**. v. 18, n. 03, p. 247 – 291, 1993.

ROBINSON, T.E., KOLB, B. Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. **European Journal of Neuroscience**. v. 11, n. 05, p. 1598 – 1604, 1999.

SANTOS, B.G., CAREY, R.J., CARRERA, M.P. Post-trial induction of conditioned apomorphine stimulant and inhibitory response effects: evidence for potent trace conditioning of drug effects. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. v. 129, n. 01, p. 79 – 86, 2015.

SANTOS, B.G., CAREY, R.J., CARRERA, M.P. The acquisition, extinction and spontaneous recovery of Pavlovian drug conditioning induced by post-trial dopaminergic stimulation/inhibition. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. v. 156, n. 01, p. 24 – 29, 2017.

SANTOS, B.G., CAREY, R.J., CARRERA, M.P. Repeated pre-trial and post-trial low and high dose apomorphine treatments induce comparable inhibitory/excitatory sensitization and conditioned drug effects. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. v. 175, n. 01, p. 108 – 115, 2018.

SCHOLL, L., SETH, P., KARIISA, M., WILSON, N., BALDWIN, G. Drug and opioid-involved overdose deaths. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. v. 67, n. 5152, p. 1419 – 1427, 2019.

SCHROLL, H., HAMKER, F.H. Computational models of basal-ganglia pathway functions: focus on functional neuroanatomy. **Frontiers In Systems Neuroscience**. v. 07, n. 122, p. 01 – 18, 2013.

SCHULTZ, D.P., SCHULTZ, S.E. **História da Psicologia Moderna**. Tradução de Adail Ubirajara Sobral e Marta Stela Gonçalves, 9^o. Ed., Editora Cultrix, 1992.

SCHULTZ, W., APICELLA, P., LJUNGBERG, T. Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. **The Journal of Neuroscience**. v. 13, n. 03, p. 900 – 913, 1993.

SHAW-LUTCHMAN, T.Z., BARROT, M., WALLACE, T., GILDEN, L., ZACHARIOU, V., IMPEY, S., DUMAN, R.S., STORM, D., NESTLER, E.J. Regional and cellular mapping of cAMP response element-mediated transcription during naltrexone-precipitated morphine withdrawal. **The Journal of Neuroscience**. v. 22, n. 09, p. 3663 – 3672, 2002.

SHOBLOCK, J.R., WICHMANN, J., MAIDMENT, N.T. The effect of a systemically active ORL-1 agonist, Ro 64-6198, on the acquisition, expression,

extinction, and reinstatement of morphine conditioned place preference. **Neuropharmacology**. v. 49, n. 04, p. 439 – 446, 2005.

SIEGEL, S. Pavlov Conditioning and drug overdose: when tolerances fail. **Addiction Research & Theory**, v. 09, n. 05, p. 503 – 513, 2001.

SJØGREN, P., JENSEN, N.H., JENSEN, T.S. Disappearance of morphine-induced hyperalgesia after discontinuing or substituting morphine with other opioid agonists. **Pain**. v. 59, n. 02, p. 313 – 316, 1994.

SMITH, M.T. Neuroexcitatory effects of morphine and hydromorphone: evidence implicating the 3-glucuronide metabolites. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 27, n. 07, p. 524 – 528, 2000.

SOMALWAR, A.R., CHOUDHARY, A.G., SHARMA, P.R., B.N., SAGARKAR, S., SAKHARKAR, A.J., SUBHEDAR, N.K., KOKARE, D.M. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide (CART) induced reward behavior is mediated via G(i/o) dependent phosphorylation of PKA/ERK/CREB pathway. **Behavioural Brain Research**. v. 384, n. 01 p. 09 – 21, 2018.

SQUIRE, L.R., STARK, C.E., CLARK, R.E. The medial temporal lobe. **Annual Review of Neuroscience**. v. 27, n. 01, p. 279 – 306, 2004.

STADDON, J.E., CERUTTI, D.T. Operant conditioning. **Annual Review of Psychology**. v. 54, n. 01, p. 115 – 144, 2003.

STEIN, C. Opioid Receptors. **Annual Review of Medicine**. v. 67, n. 01, p. 433 – 451, 2015.

STEWART, J., BADIANI, A. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. **Behav Pharmacology**. v. 04, n. 04, p. 289 – 312, 1993.

TAMELINI, M.G., MARTINS, A.C.P., CAVALCANTI, E.F.A., MARTINS, H.S. Abuso e dependência de substâncias psicoativas, Clínica médica: dos sinais e sintomas ao diagnóstico e tratamento. **Manole**. Ed. 01, n. 01, p. 1050 – 1064, 2007.

TOMAZI, L. Arcaine reverse the morphine-induced conditioned place preference in mice. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Santa Maria**. Santa Maria – RS, 2014.

TRESCOT, A.M., DATTA, S., LEE, M., HANSEN, H. Opioid pharmacology. **Pain Physician**. v. 11, n. 02, p. 133 – 153, 2008.

UNODC, United Nations Office on Drugs and Crime, **World Drug Report - United Nations Publication**. Ch. 02, n. 13, XI. 06, 2013.

UNODC, United Nations Office on Drugs and Crime, **World Drug Report - United Nations Publication**. Ch. 02, n. 16. XI. 07, 2016.

UNODC, United Nations Office on Drugs and Crime, Calculations based on monitoring reports of illicit crops and responses to questionnaires for annual reports. **World Drug Report - United Nations Publication**. Ch. 02, n. 16. XI. 07, 2018.

VALJENT, E., BERTRAN-GONZALEZ, J., AUBIER, B., GREENGARD, P., HERVÉ, D., GIRAULT, J.A. Mechanisms of locomotor sensitization to drugs of abuse in a two-injection protocol. **Neuropsychopharmacology**. v. 35, n. 02, p. 401 – 415, 2010.

VANDERSCHUREN, L.J., TJON, G.H., NESTBY, P., MULDER, A.H., SCHOFFELMEER, A.N., & VRIES, T.J. Morphine-induced long-term sensitization to the locomotor effects of morphine and amphetamine depends on the temporal pattern of the pretreatment regimen. **Psychopharmacology**. v. 131, n. 02, p. 115 – 122, 1997.

VANDERSCHUREN, L.J., SCHMIDT, E.D., DE VRIES, T.J., VAN MOORSEL, C.A., TILDERS, F.J., SCHOFFELMEER, A.N. A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. **Journal of Neuroscience**. v. 19, n. 21, p. 9579 – 9586, 1999.

VANDERSCHUREN, L.J., VRIES, T.J., WARDEH, G., HOGENBOOM, F.A., & SCHOFFELMEER, A. N. A single exposure to morphine induces long-lasting behavioural and neurochemical sensitization in rats. **European Journal of Neuroscience**. v. 14, n. 09, p. 1533 – 1538, 2001.

VIGANÒ, D., RUBINO, T., DI CHIARA, G., ASCARI, I., MASSI, P. & PAROLARO, D. μ Opioid receptor signaling in morphine sensitization. **Neuroscience**. v. 117, n. 04, p. 921 – 929, 2003.

XIA, Y., PORTUGAL, G.S., FAKIRA, A.K., MELYAN, Z., NEVE, R., LEE, H.T., RUSSO, S.J., LIU, J., MORÓN, J.A. Hippocampal GluA1-containing AMPA receptors mediate context-dependent sensitization to morphine. **The Journal of Neuroscience**. v. 31, n. 45, p. 16279 – 16291, 2011.

WAHLSTRÖM, A., PACIFICI, G.M., LINDSTRÖM, B., HAMMAR, L., RANE, A. Human liver morphine UDP-glucuronyl transferase enantioselectivity and inhibition by opioid congeners and oxazepam. **British Journal of Pharmacology**. v. 94, n. 03, p. 864 – 870, 1988.

WALTER, S., KUSCHINSKY, K. Conditioning of morphine-induced locomotor activity and stereotyped behaviour in rats. **Journal of Neural Transmission General Section**. v. 78, n. 03, p. 231 – 247, 1989.

WATANABE, M., MAEMURA, K., KANBARA, K., TAMAYAMA, T., HAYASAKI, H. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. **International Review of Cytology**. v. 213, n. 01, p. 01 – 47, 2002.

WELLS, M.J.; WELLS, J. Conditioning and sensitization in snails. **Animal Behaviour**, v.19, n. 02 p.305 – 312, 1971.

WHITE, A.O., RAUHUT, A.S. Time-dependent effects of prazosin on the development of methamphetamine conditioned hyperactivity and context-specific sensitization in mice. **Behaviour Brain Research**. v. 263, n. 01, p. 80 – 89, 2014.

WILLIAMS, A.R., CAREY, R.J., MILLER, M. Behavioral differences between vasopressin-deficient (Brattleboro) and normal Long-Evans rats. **Peptides**. v. 04, n. 05, p. 711 – 716, 1983.

WISE, R.A. Addictive drugs and brain stimulation reward. **Annual Reviews Neuroscience**. v. 19, n. 01, p. 319 – 340, 1996.

WISE, R.A. Addiction becomes a brain disease. **Neuron**. v. 26, n. 01, p. 27 – 33, 2000.

WOLF, M.E., MANGIAVACCHI, S., SUN, X. Mechanisms by which dopamine receptors may influence synaptic plasticity. **ANNALS - The New York Academy of Sciences**. v. 1003, n. 01, p. 241 – 249, 2003.

YADAV, S.K., PRAKASH, J., CHOUHAN, S., WESTFALL, S., VERMA, M., SINGH, T.D., & SINGH, S.P. Comparison of the neuroprotective potential of Mucuna pruriens seed extract with estrogen in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) - induced PD mice model. **Neurochemistry International**. v. 65, p. 01 – 13, 2014.

YAMAKAGE, M., NAMIKI, A. Calcium channels basic aspects of their structure, function and gene encoding, anesthetic action on the channels - A review. **Canadian Journal of Anesthesia**. v. 49, n. 02, p. 151 – 164, 2002.

ZARRINDAST, M.R., HEIDARI-DARVISHANI, A., REZAYOF, A., FATHI-AZARBAIJANI, F., JAFARI-SABET, M., HAJIZADEH-MOGHADDAM, A. Morphine-induced sensitization in mice: changes in locomotor activity by prior scheduled exposure to GABAA receptor agents. **Behavioural Pharmacology**. v. 18, n. 04, p. 303 – 310, 2007.

ZHANG, J.J., KONG, Q. Locomotor activity: A distinctive index in morphine self-administration in rats. **Plos One**. v. 12, n. 04, p. 01 – 13, 2017.

VIII – ANEXO

Artigo publicado na revista Behavioural Brain Research.

Accepted Manuscript

Title: Reversal elimination of morphine conditioned behavior by an anti-dopaminergic post-trial drug treatment during re-consolidation

Authors: Joaquim Barbosa Leite Junior, João Marcos de Mello Bastos, Richard Ian Samuels, Robert J. Carey, Marinete Pinheiro Carrera

PII: S0166-4328(18)30686-7

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.08.009>

Reference: BBR 11533
To appear in: Behavioural Brain Research
Received date: 16-5-2018
Revised date: 31-7-2018
Accepted date: 10-8-2018

Please cite this article as: Leite JB, de Mello Bastos JM, Samuels RI, Carey RJ, Carrera MP, Reversal elimination of morphine conditioned behavior by an anti-dopaminergic post-trial drug treatment during re-consolidation, Behavioural Brain Research (2018), <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.08.009>.

This is a PDF file of an unedited manuscript that has been accepted for publication. As a service to our customers we are providing this early version of the manuscript. The manuscript will undergo copyediting, typesetting, and review of the resulting proof before it is published in its final form. Please note that during the production process errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.