



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**USO DA MORFINA NO PERÍODO GESTACIONAL E
LACTAÇÃO: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL E COMPORTAMENTO**

Izabelle Camões de Souza

Belém-PA

2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**USO DA MORFINA NO PERÍODO GESTACIONAL E
LACTAÇÃO: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO
SISTEMA NERVOSO CENTRAL E COMPORTAMENTO**

Autor: Izabelle Camões de Souza

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cristiane do
Socorro Ferraz Maia

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências de Saúde da Universidade Federal do Pará, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Belém-PA

2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

Izabelle Camões de Souza

Uso da morfina no período gestacional e lactação: efeitos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central e comportamento

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, para a obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientadora

Prof^a. Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia (UFPA)

Banca examinadora:

Prof^a. Dra. Carolina Heitmann Mares Azevedo (UFPA)

Prof. Dr. Rui Daniel Schröder Prediger (UFSC)

Aprovado em:

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado aos meus pais, Antônio Trindade de Souza e Cláudia Camões Silva, que me proporcionaram a oportunidade de estudar longe de casa não medindo esforços para que eu conseguisse alcançar os meus objetivos. Sendo assim, nada mais justo do que hoje dar esse presente à eles, como forma de agradecer e retribuir toda a dedicação e amor, pois eles foram essenciais para esta vitória.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois ele me guiou durante todo o caminho, e me proporcionou sabedoria e paciência nas horas difíceis, mostrando que com Ele tudo é possível.

À minha orientadora, Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia, que me aceitou e confiou no trabalho desde o primeiro dia que entrei em sua sala. Obrigada por estar presente em todos os momentos, por sempre me confortar e mostrar o quanto a pesquisa pode ser gratificante e o quanto a docência é importante. Eu sinto sincero orgulho de ter compartilhado esse momento tão importante da minha vida com você, pois você foi essencial para a realização deste sonho. Obrigada!

Aos professores Carolina Heitmann e Ademir Júnior, que contribuíram com sugestões de grande importância no momento da qualificação.

Ao João Wesller Ferreira, que foi meu parceiro durante as intoxicações e experimentos, demonstrando seriedade, competência e companheirismo. Obrigada João, o mérito deste trabalho também é seu!

À minha parceira de mestrado Nair Corrêa, pela amizade, parceria e companheirismo durante as intoxicações e experimentos, dividindo dificuldades, carregando sacas de ração e palha, mas também compartilhando conquistas e o sonho de ser Mestre!

À minha querida Paula Ribera, que me conquistou pela sua amizade, parceria e empenho. Obrigada por dividir comigo tantos momentos difíceis de trabalho árduo, sempre com um sorriso no rosto e uma vontade imensa de aprender e me ajudar. Você foi muito importante para a realização deste sonho!

À equipe do Lafico: Josiane Batista, Sabrina de Carvalho, Rui Guilherme, Ewerton Luiz, Mayara Arouck, Mayra Arouck e João Wesller, pela dedicação e parceria, mesmo aos sábados, domingos e feriados, pois vocês foram essenciais para a realização deste trabalho e o meu carinho e agradecimento a cada um é imenso.

Aos meus amigos de mestrado que compartilharam dessa jornada, Taylon Aguiar, Karen Marinho, Gedeão Batista, Cristina Pereira, Fábio Oliveira, Polyane Alencar e Fábio Chada, tornando o caminho inesquecível.

Aos meus pais, pelo amor, carinho, dedicação e apoio, tornando este sonho possível. Essa vitória é de vocês!

As agências financiadoras CAPES e FAPESPA.

RESUMO

USO DA MORFINA NO PERÍODO GESTACIONAL E LACTAÇÃO: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL E COMPORTAMENTO

O uso de substâncias psicoativas é um dos maiores problemas da sociedade moderna, causando transtornos sociais, econômicos e à saúde do usuário. Em 2010, 26,4-36 milhões de pessoas utilizaram analgésicos opióides para fins não-terapêuticos, sendo a frequência de uso nocivo por profissionais de saúde, cinco vezes maior quando comparados a população geral, devido ao acesso facilitado. A prevalência no uso durante a gravidez apresenta taxas que variam de 1% a 21%, representando preocupação na sociedade, uma vez que os efeitos ocasionados no desenvolvimento do feto ainda não estão bem elucidados. O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas neurocomportamentais de ratos adultos após exposição crônica à morfina, durante o período intrauterino e lactação. Ratas grávidas receberam durante 42 dias, via subcutânea, morfina 10 mg/kg/dia. A prole foi pesada nos dias D1, D5, D10, D15, D20, D30, D60, e os ensaios comportamentais realizados com a prole aos 2,5 meses de idade, os quais consistiram no modelo do campo aberto, labirinto em cruz elevado, nado forçado e rota-rod. Os resultados demonstraram que a exposição à morfina promoveu redução no ganho de peso da prole após o nascimento e inclusive após o desmame, aumento da locomoção espontânea das fêmeas, bem como aumento do comportamento do tipo ansiogênico e comportamento do tipo depressivo, independente do sexo, porém sem prejuízo motor associado.

Palavras-chave: Opióides, Morfina, Exposição intrauterina, Comportamento.

ABSTRACT

USE OF MORPHINE DURING PREGNANCY AND LACTATION: EFFECTS ON THE DEVELOPING CENTRAL NERVOUS SYSTEM AND BEHAVIOR

The use of psychoactive substances is a major problem in modern society, causing social upheaval, economic and health of the user. In 2010, 26,4-36 million people used opioid analgesics for non-therapeutic purposes, and the frequency of alcohol abuse by health professionals, five times greater than the general population, due to easier access. The prevalence in use during pregnancy introduces rates ranging from 1% to 21%, accounting concern in society, since the effects caused on fetal development are not well understood. The aim of this study was to evaluate the neurobehavioral responses of adult rats after chronic exposure to morphine during the intrauterine period and lactation. Pregnant rats were given for 42 days subcutaneously, morphine 10 mg / kg / day. The offspring were weighed on days D1, D5, D10, D15, D20, D30, D60, and behavioral assays performed with the progeny to 2.5 months of age, which consisted of the open field model, elevated plus maze, forced swimming and rota-rod. The results demonstrated that exposure to morphine promote changes in the weight gain after the birth of offspring and even after weaning increase in spontaneous locomotion in females, as well as increased anxiogenic-like behavior and the behavior of the depressive type, regardless of sex, but without prejudice associated motor.

Keywords: opioid, morphine, intrauterine exposure, behavior.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Sistema límbico cerebral.....	20
Figura 2	Representação dos sistemas dopaminérgicos: nigroestriatal, mesolímbico, mesocortical e tuberoinfundibular.....	21
Figura 3	Esquema dos mecanismos de recompensa das drogas de abuso no complexo ATV-NAcc.....	24
Figura 4	Estrutura química da morfina.....	27
Figura 5	Interações dos opióide exógenos e endógenos com o sistema de recompensa encefálico.....	30
Figura 6	Figura do campo aberto.....	40
Figura 7	Figura do labirinto em cruz elevado.....	41
Figura 8	Figura do nado forçado.....	43
Figura 9	Parâmetros analisados no teste do nado forçado a) imobilidade; b) nado; c) escalada.....	44
Figura 10	Figura do rota-rod.....	45
Figura 11	Figura do tratamento com morfina sobre o peso da prole exposta durante o período gestacional e amamentação no 1º (D1), 5º (D5), 10º (D10), 15º (D15), 20º (D20), 30º (D30) e 60º (D60) dias pós-natais.....	48
Figura 12	Efeitos no teste do campo aberto da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) locomoção espontânea; B) locomoção central.....	50
Figura 13	Efeitos no teste do campo aberto da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) tempo de autolimpeza; B) número de levantamentos.....	51
Figura 14	Efeitos no teste do labirinto em cruz elevado da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) percentual de tempo nos braços abertos; B) percentual de entrada nos braços abertos; C) número de entrada nos braços fechados.....	53

Figura 15	Efeitos no teste do nado forçado da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação A) tempo de imobilidade; B) tempo de escalada.....	54
Figura 16	Efeitos no teste do rota-rod da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação A) tempo de queda na 1ª etapa; B) tempo de queda na 2ª etapa; C) tempo de queda na 3ª etapa.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais opióide de uso comercial no Brasil.....	26
Tabela 2	Grupos de tratamento, descrição e quantidade de animais por grupo.....	38
Tabela 3	Grupos experimentais, descrição e quantidade de animais por grupo..	38

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%EBA	Percentual de Entradas nos Braços Abertos
%TBA	Percentual de Tempo nos Braços Abertos
μ	Um
ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
AINES	Antiinflamatórios não-esteroidais
ANOVA	Análise de Variância
APA	Associação Americana de Psiquiatria
AR	Avaliação de risco
VTA	Área Tegmentar Ventral
Ca²⁺	Íons de cálcio
cAMP	Monofosfato Cíclico de Adenosina
CRF	Hormônio Liberador de Corticotrofina
DAT	Transportador de Dopamina
EBF	Entradas nos Braços Fechados
GABA	Neurotransmissor ácido-gama-aminobutírico
GD	Dias de Gravidez
HPA	Hipotálamo-pituitária-adrenal
INEC/USP	Instituto de Neurociências e Comportamento/ Universidade de São Paulo
K	Kappa
K⁺	Íons de potássio
Lafico	Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento
LC	Locus coeruleus
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
MPOA	Área pré-óptica medial
NAcc	Núcleo Accumbens
NAS	Síndrome de Abstinência Neonatal
NMDA	N-metil-D-aspartato
NSDUH	Avaliação Nacional de Uso de Drogas e Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde

PAG	Substância Periaquedutal Cinzenta
PD	Dia Pós-natal
PTSD	Perturbação de estresse pós-traumático
PVN	Núcleo paraventricular do hipotálamo
SAMHSA	Abuso de Substâncias e Saúde Mental Administração de Serviços
SMSI	Síndrome de Morte Súbita Infantil
SNC	Sistema Nervoso Central
UGTs	UDP-glicuronosiltransferases
UNODC	Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes
VMH	Núcleo ventromedial do hipotálamo
δ	Delta

SUMÁRIO

I INTRODUÇÃO	14
1.1 Epidemiologia da Adição	15
1.2 Mecanismos de Adição de Drogas	18
1.3 Opióides	25
1.4 Morfina e Gravidez	31
II OBJETIVOS	34
2.1 Objetivo Geral	35
2.2 Objetivos Específicos	35
III METODOLOGIA	36
3.1 Animais e Tratamento	37
3.2 Ensaios Comportamentais	39
3.2.1 TESTE DA ATIVIDADE LOCOMOTORA	39
3.2.2 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO	41
3.2.3 TESTE DO NADO FORÇADO	43
3.2.4 TESTE DO ROTA-ROD	45
3.3 Análise Estatística	46
IV RESULTADOS	47
4.1 Avaliação do ganho de massa corporal.....	48
4.2 Avaliação comportamental.....	49
4.2.1 ATIVIDADE EXPLORATÓRIA NO CAMPO ABERTO	49
4.2.2 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO.....	52
4.2.3 NADO FORÇADO.....	54
4.2.4 ROTA-ROD.....	55
V DISCUSSÃO	57
VI CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS.....	65
ANEXO	78

I INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da adição

O uso de substâncias psicoativas é um dos maiores problemas da sociedade moderna, causando transtornos sociais, econômicos e à saúde do usuário. Globalmente, estima-se que 153-300 milhões de pessoas entre 15-64 anos utilizaram alguma droga ilícita pelo menos uma vez na vida, e cerca de 12% dos usuários desenvolvem dependência e tornam-se usuários de drogas. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 250 mil pessoas morrem a cada ano de overdose ou doenças relacionadas ao uso de drogas (DEGENHARDT et al. 2008; MANCHIKANTI; SINGH, 2008; LEVRAN et al. 2012).

A ilegalidade no uso de drogas de abuso como anfetaminas, cocaína, maconha e opióides impossibilita a exata estimativa de consumo. Em 2009, aproximadamente 149-271 milhões de pessoas usaram uma droga ilícita em todo o mundo, e 4,5 milhões de pessoas estavam recebendo tratamento para problemas relacionados ao uso de drogas ilícitas. De acordo com dados do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNODC), o consumo global de maconha em 2009 entre pessoas de 15 a 64 anos foi de 2,8-4,5%; opióides de 0,3-0,5%; anfetaminas 0,3-1,3%; e cocaína 0,3-0,5%. A avaliação do consumo por país evidenciou as regiões de maior uso de drogas de abuso, sendo que a maconha apresentou maiores índices de utilização na América do Norte (10,7%) e regiões oeste e central da Europa (7,1%), enquanto que os opióides apresentaram maior consumo nas regiões norte e central da África (0,8-1,4%) e leste da Europa (0,9% a 1%). O abuso de cocaína apresentou taxas de utilização de 1,4-1,9% na América do Norte e Oceania (DEGENHARDT; HALL, 2012).

Os americanos constituem apenas 4,6% da população mundial, porém tem consumido dois terços do fornecimento das drogas ilegais no mundo. A prevalência do uso entre as mulheres é apenas cerca de dois terços do observado entre os homens. Porém, em alguns países em desenvolvimento, incluindo Brasil e Argentina, o uso de substâncias psicoativas entre as mulheres é cerca de dois terços maior do que entre os homens (CARLINI et al. 2005). Resultados da Avaliação Nacional de Uso de Drogas e Saúde (NSDUH), realizada pelo Abuso de Substâncias e Saúde Mental Administração de Serviços (SAMHSA), estimaram que no ano de 2006, 20,4 milhões, ou 8,3% dos norte-americanos entre 12 anos ou

mais, utilizavam drogas ilícitas como maconha/haxixe, cocaína, heroína, alucinógenos, inalantes ou medicamentos prescritos para fins não terapêuticos como tranquilizantes, analgésicos, estimulantes ou sedativos. Maconha e haxixe apresentaram maior consumo, cerca de 14,8 milhões de pessoas, o que corresponde a 6% da população dos EUA. O abuso de cocaína e alucinógenos foi observado em 2,4 milhões e 1 milhão de pessoas, respectivamente (MANCHIKANTI; SINGH, 2008).

Aproximadamente, 20% dos americanos relataram o uso de opióides para uso não terapêutico, sendo que esta taxa acompanha um aumento global de 149% das vendas de opióides, variando de 222% para a morfina a 1293% para a metadona. Em 2006, 5,2 milhões de pessoas utilizaram analgésicos opióides para fins não terapêuticos no mundo. No ano seguinte, a estimativa foi de 6,9 milhões de pessoas, alcançando 7 milhões de usuários no ano de 2009. A prevalência global do uso de opióides em 2010 foi estimada em 26,4-36 milhões de consumidores entre 15-64 anos, dos quais cerca de 13-21 milhões utilizaram especialmente a heroína. A América do Norte, Oceania e Europa Oriental e Sudeste europeu são as regiões com maior prevalência média global de consumidores de opióides (MANCHIKANTI; SINGH, 2008; LEVRAN et al. 2012).

No Brasil, dados do 2º Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas, realizado em 2005, revelam que 22,8% da população pesquisada em 108 cidades com mais de 200 mil habitantes já fizeram uso na vida de drogas exceto tabaco e álcool, o que corresponde a uma população de 10.746.991 pessoas, sendo que para o álcool e tabaco, a estimativa de dependentes foi de 12,3% e 10,1%, respectivamente. Observou-se que na faixa etária de 12 a 17 anos, já existem relatos de uso das mais variadas drogas, bem como facilidade de acesso às mesmas e vivência de consumo próximo. Destes jovens, 7,8% relataram terem sido abordados por pessoas comercializando drogas, dado este que enfatiza a necessidade de aprimoramento de programas de prevenção nesta faixa etária (CARLINI et al. 2005).

Entre as drogas ilícitas, a maconha aparece em primeiro lugar com 8,8% e o solvente em segundo lugar com 6,1% de uso entre a população entrevistada. A prevalência sobre o uso de Cocaína, Crack e Merla foi respectivamente de 2,9%, 0,7% e 0,2%. Quanto aos estimulantes anfetamínicos e opióides, o uso na vida foi de 0,1% e 1,3%, respectivamente (CARLINI et al. 2005).

O Brasil é o maior consumidor de analgésicos opióides da América do Sul, sendo os problemas mais prevalentes associados à heroína. O risco de uso e dependência de outros opióides está limitado a pessoas que desenvolveram dependência no curso de um tratamento médico e aos profissionais de saúde que tem acesso a opióides. Estima-se, no Brasil, que entre os médicos a taxa de uso nocivo é de 4% e dependência de opióides é de 22,7%. A frequência de uso nocivo e dependência é aproximadamente cinco vezes maior que na população geral (ALVES et al. 2005; CARLINI et al. 2005).

Os profissionais de saúde apresentam facilidade para o desenvolvimento de dependência e alguns fatores de risco, dentre eles o acesso fácil aos medicamentos, perda do tabu em relação a injeções, história familiar de dependência, problemas emocionais, estresse no trabalho e em casa, auto-administração no tratamento para dor e para o humor, e fadiga crônica. (HALE et al. 1999; MAIER et al. 2002; PALANGIO et al. 2002; BALLANTYNE; MAO, 2003).

O risco de abuso de drogas prescritas é maior quando o indivíduo apresenta os fatores de risco em três categorias (fatores psicossociais, fatores relacionados com a droga e fatores genéticos), portanto, os pacientes com dor que fazem uso de opióides em doses estáveis em um ambiente controlado não são suscetíveis a desenvolver adição à droga (MANCHIKANTI; SINGH, 2008).

O uso de opióides durante a gravidez apresenta alta prevalência, alcançando taxas que variam de 1% a 21%. De acordo com o Levantamento Nacional sobre Uso de Drogas e Saúde, realizado em 2010, 4,4% das mulheres grávidas reportaram o uso de drogas ilícitas em um período de 30 dias, sendo que 1% fizeram uso de opióide para fins não terapêuticos no mesmo período. O uso de opióides parece não ser teratogênico ou citotóxico, porém a presença de opióides no sangue materno pode gerar sintomas de abstinência ou overdose fetal. Mulheres grávidas que fazem uso abusivo de substâncias psicotrópicas apresentam risco de descoberta tardia da gestação, comportamento negligente, má-nutrição, falta de acompanhamento obstétrico adequado, exposição a locais violentos, abuso de múltiplas substâncias, elevado uso de nicotina e baixa adesão a tratamentos. O uso de heroína endovenosa por gestantes aumenta o risco de complicações médicas como doenças infecciosas, endocardite, abscessos e doenças sexualmente transmissíveis (MINOZZI et al. 2008; WINKLBAUR et al. 2008; WINKBAUR; JUNG; FISCHER, 2008; MINNES et al. 2011).

1.2 Mecanismos de adição de drogas

Adição a drogas é definida como uma doença crônica primária, com fatores neurobiológicos, genéticos, psicossociais e ambientais influenciando no seu desenvolvimento e manifestações. É caracterizada por um padrão mal-adaptativo de uso de substâncias, no qual o indivíduo apresenta compulsão pelo uso da droga, perda do controle sobre o seu consumo e surgimento de um estado emocional negativo, evidenciado por sintomas como disforia, irritabilidade e ansiedade, quando o acesso à droga é impedido, além do abandono ou redução de importantes atividades sociais, ocupacionais ou recreativas em virtude do uso da substância (KOOB; LE MOAL, 1997; APA, 2000; GOULD, 2010; JAN, 2010; KOOB; VOLKOW, 2010).

Entre as drogas de abuso, algumas apresentam propriedades reforçadoras, responsáveis pela indução de autoadministração, a qual pode gerar estados de uso abusivo, dependência e adição. O uso abusivo proporciona a criação e manutenção de hábitos e comportamentos, além de acentuar o prazer produzido por determinado nível de estimulação cerebral e induzir dependência. O reforço da estimulação elétrica cerebral pode ser positivo ou negativo, sendo o reforço positivo, a capacidade da droga em produzir efeitos agradáveis e sensações de prazer, gratificação ou alívio no momento do seu uso; e o reforço negativo é evidenciado quando o uso da droga diminui as sensações desagradáveis, como estresse e ansiedade, sendo lentos no início, porém está aumentado com repetidas exposições (COMPTON; VOLKOW, 2006; DEGENHARDT et al. 2008; KOOB; VOLKOW, 2010; LEVRAN et al. 2012).

A dependência às drogas é caracterizada pela perda de controle sobre o seu uso, mesmo sob condições adversas intensas (VOLKOW; LI, 2005). De acordo com a Associação Americana de Psiquiatria (APA), a dependência é diagnosticada quando três ou mais dos seguintes comportamentos característicos são exibidos: i) forte desejo ou compulsão pelo uso da droga; ii) dificuldade no controle sobre o seu consumo; iii) estado de abstinência fisiológico evidenciado pela redução ou impedimento de seu uso; iv) tolerância, sendo que doses crescentes são necessárias a fim de alcançar os efeitos inicialmente obtidos com doses mais baixas; v) abandono progressivo de atividades alternativas que proporcionavam bem

estar, por causa do uso da droga; vi) e persistência no seu uso apesar das consequências nocivas como danos ao fígado, mudanças no estado de humor ou comprometimento do funcionamento cognitivo.

O termo adição é preferencialmente utilizado ao termo dependência, uma vez que este pode ser equivocadamente relacionado à dependência física, referente às adaptações que ocasionam a síndrome de abstinência, quando da interrupção abrupta do uso de uma droga. No padrão de comportamento abusivo, as consequências negativas são recorrentes e significativas, porém ainda não há presença de tolerância, síndrome de abstinência e perda do controle sobre o uso (KAPLAN; SADOCK, 1995). A adição progride da impulsividade à compulsividade em um ciclo de dependência composto por três estágios: 1- intoxicação; 2- síndrome de abstinência; 3- preocupação/antecipação (*craving*), os quais interagem uns com os outros, tornando cada etapa mais intensa (KOOB; LE MOAL, 1997).

As regiões cerebrais envolvidas no mecanismo de adição a drogas apresentam funções cognitivas essenciais, incluindo aprendizado, memória, atenção, raciocínio e controle dos impulsos. Exames de imagens cerebrais de pacientes adictos revelam mudanças em áreas do cérebro responsáveis pela tomada de decisões, julgamento, controle, memória e aprendizado, as quais podem explicar as ações destrutivas e a compulsão pelo uso da droga, que se desencadeiam na adição (GOULD, 2010; JAN, 2010).

O uso de drogas de adição envolve neuroplasticidade em áreas específicas, que resulta em mudanças cognitivas, essenciais para a aprendizagem baseada em recompensa e comportamentos motivacionais. Estas memórias associadas às drogas induzem ao uso crônico destas substâncias, o que por sua vez gera aumento do limiar de recompensa, induzindo à tolerância e aumento dos efeitos negativos observados na síndrome de abstinência (KAUER; MALENKA; 2007; KOOB; VOLKOW, 2010).

Devido à neuroplasticidade, os adictos são propensos à recaída, mesmo após anos de afastamento, principalmente em situações nas quais os indivíduos encontram ao mesmo tempo estresse e o contexto em que a droga foi usada antes, as quais desencadeiam uma grande “fissura” (*craving*), pela droga, isto é, uma preocupação intensa com o seu uso. Em parte, essa maior probabilidade de recaída pode resultar de uma interação entre o circuito de recompensa e o circuito de

memória encefálico, que em circunstâncias normais é atribuído valor emocional a determinadas memórias (SHAHAN; HOPE, 2005; SWIFT; LEWIS, 2009).

Estudos de Nestler (2005) evidenciam que todas as drogas de adição convergem a um circuito comum no sistema límbico cerebral (figura 1), responsável pelas respostas emocionais e impulsos motivacionais.

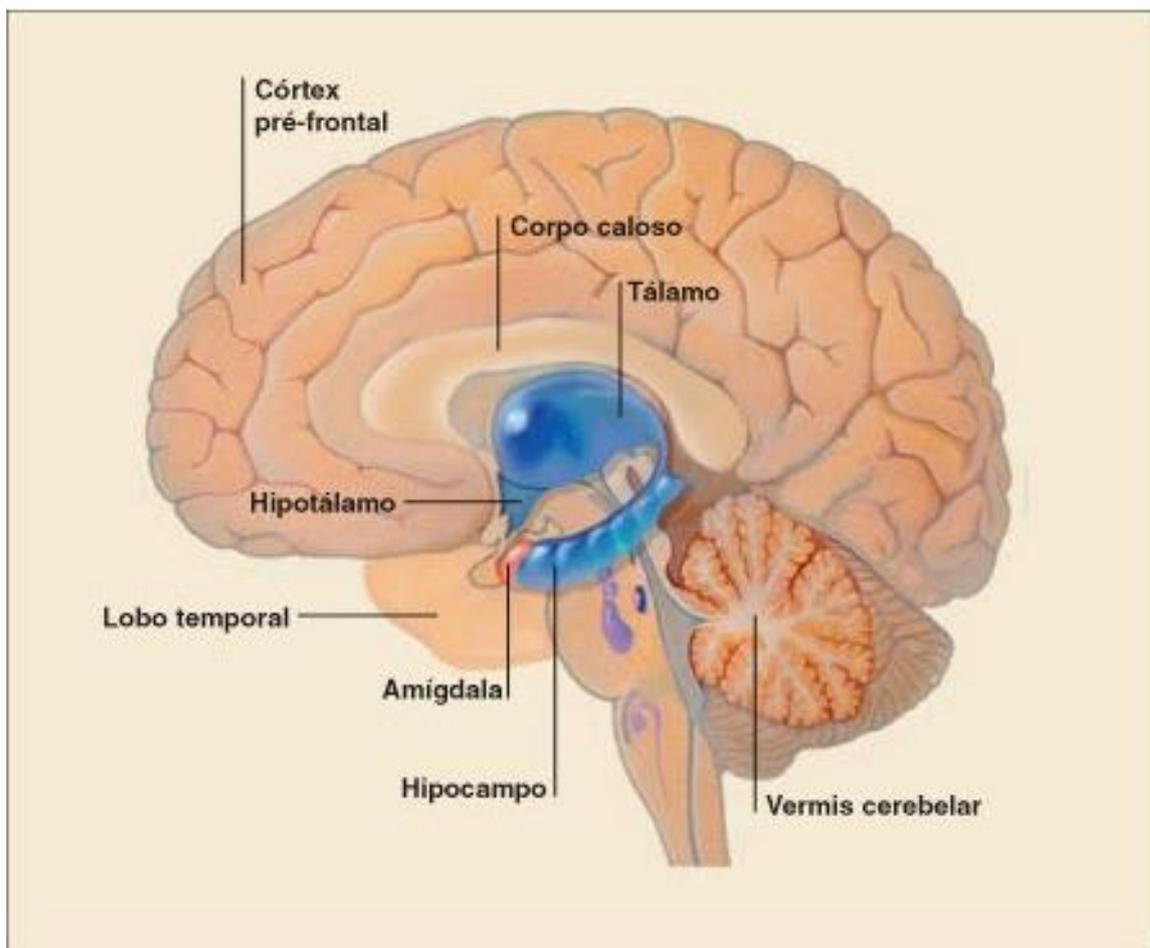


Figura 1: Sistema límbico cerebral

Fonte: http://www.guia.heu.nom.br/sistema_limbico.htm. Acesso em: 21/08/2013

A via dopaminérgica mesolímbica (figura 2) presente no sistema límbico e que se inicia na área tegmentar ventral (ATV) no mesencéfalo e se projeta diretamente para o núcleo accumbens (NAcc) é a principal responsável pelos efeitos recompensadores agudos das substâncias psicotrópicas.

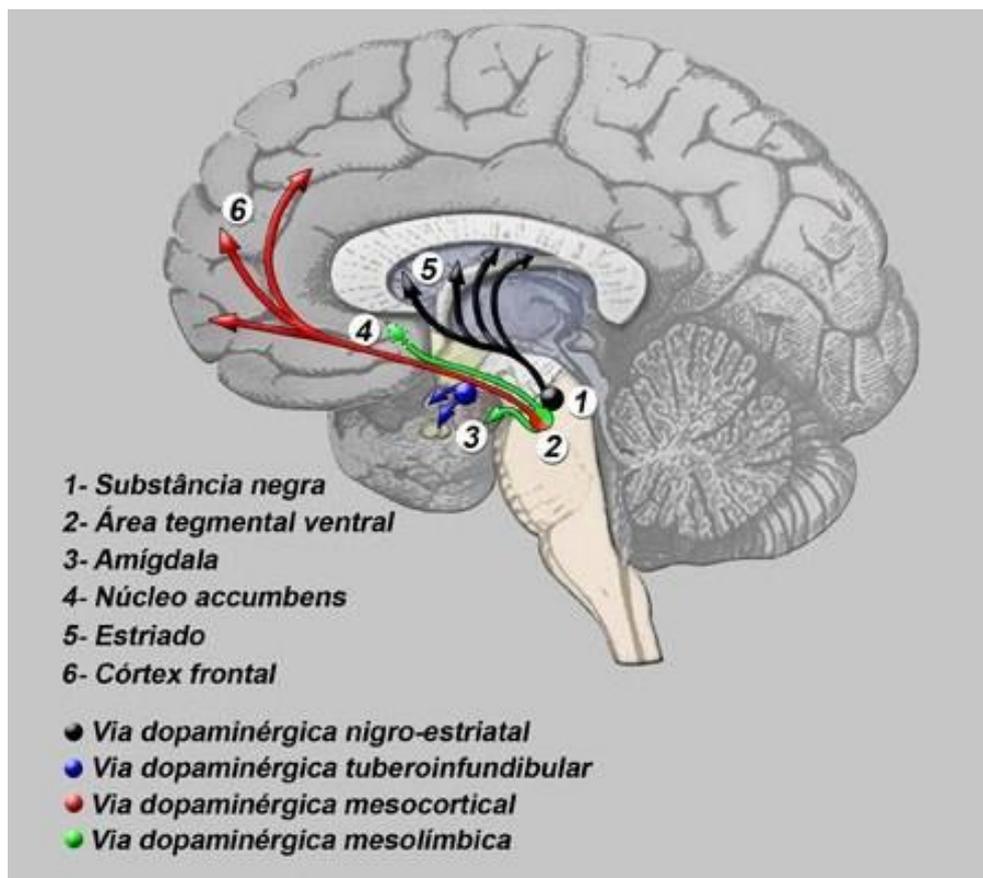


Figura 2: Representação esquemática dos sistemas dopaminérgicos: nigroestriatal, mesolímbico, mesocortical e tuberoinfundibular.

Fonte: <http://pacotraver.files.wordpress.com/2012/04/dopamina.png>. Acesso em: 21/08/2013

De acordo com estudos de Robbins e Everitt (1999), diferentes sistemas dopaminérgicos, também observados na figura 2, apresentam funções na ativação do comportamento, como a projeção nigroestriatal dopaminérgica, que se inicia na substância negra e converge para o estriado, participando da ativação do comportamento, causado por estímulos endógenos; enquanto que o sistema mesolímbico dopaminérgico está envolvido na ativação de respostas de incentivos e motivacionais a estímulos externos.

A via tuberoinfundibular, cuja liberação de dopamina regula a secreção de prolactina, inicia-se no hipotálamo e se projeta para a glândula hipófise anterior; e a via mesocortical, que conecta a ATV ao córtex pré-frontal, é essencial para a função cognitiva normal, além de estar envolvida em aspectos motivacionais e emocionais.

O aumento dos níveis de dopamina, tanto no sistema de recompensa encefálico, representado pelos feixes prosencefálicos mediais, núcleos lateral e ventromedial do hipotálamo e ATV, quanto nas vias dopaminérgicas provenientes de diferentes áreas do córtex, hipocampo, tálamo e amígdala; além dos sistemas opióides, gabaérgico e serotoninérgico, podem mediar o aprendizado e a associação relacionados à recompensa, a qual é responsável pela adição a drogas (DI CHIARA, 1995; WEISS et al. 1996; BIENKOWSKI et al. 1999; NESTLER, 2005).

O córtex pré-frontal, considerado a “sede” da personalidade, participa do planejamento de comportamentos e pensamentos complexos, tomada de decisões, capacidade de seguir sequências ordenadas de pensamentos e a modalidades de controle do comportamento emocional. Esta área cortical apresenta conexões com estruturas subcorticais, tais como o hipotálamo e tálamo (MACHADO, 2006; TORTORA, 2008).

O hipotálamo controla e integra as atividades do sistema nervoso autonômico e da glândula hipófise, além de regular os padrões emocionais e comportamentais e os ritmos circadianos. É responsável pelo controle da temperatura corporal, da sede e da fome, estando também relacionado à manutenção do estado de vigília e estabelecimento dos padrões de sono. Por outro lado, o tálamo apresenta funções relacionadas com a integração de informações sensoriais, de motricidade, comportamento emocional, assim como ativação do córtex cerebral. As informações recebidas e integradas devem ser amplamente enviadas ao córtex e necessitam ser compartilhadas entre os dois hemisférios cerebrais. Esta transferência inter-hemisférica é realizada por uma estrutura denominada de corpo caloso, promovendo assim uma atuação harmônica no córtex cerebral (MACHADO, 2006; TORTORA, 2008).

As informações oriundas do córtex são recebidas pelo hipocampo, que é a estrutura principal para a aquisição, consolidação e evocação de memórias aversivas baseadas no condicionamento associativo. Esta estrutura possui íntima relação com a amígdala, modulando com esta a resposta emocional. O núcleo basolateral da amígdala é o centro do processamento de informações cognitivas relacionadas ao medo, participando também da formação e extinção de respostas condicionadas aversivas. Ambas as estruturas encontram-se estrategicamente conectadas a regiões cerebrais que lhes permitem processar informações relacionadas ao aprendizado, integrá-las e modificar seu significado e a resposta

comportamental adequada aos diferentes tipos de aprendizado. A amígdala recebe projeções de áreas corticais associativas e sensoriais, incluindo o córtex pré-frontal e, ainda de componentes do sistema límbico e do lobo temporal medial, enviando projeções aos núcleos da base, regiões corticais e o hipocampo (VAN HOESEN, 1985; HYMAN et al. 1990; CAHILL et al. 1995; IZQUIERDO; MEDINA, 1997).

Além do sistema límbico, outras estrutura não-límbicas estão envolvidos em aprendizados motores. O cerebelo apresenta funções motoras de coordenação e regularização dos movimentos complexos dependentes de habilidade, além de atuar em diversos processos cognitivos. O dano cerebelar está associado a disfunções em tarefas executivas, de aprendizagem, memória processual e declarativa, processamento de linguagem e funções visuais e espaciais, além de disfunções na personalidade, no afeto e na cognição (BERRIDGE, 2004).

Alterações na estrutura e funcionamento das áreas acima descritas ocasionadas ou não por drogas podem originar prejuízos emocionais e/ou comportamentais. A ansiedade, depressão e estresse são as principais consequências psiquiátricas do abuso crônico de drogas, especialmente durante a retirada. Estas desordens interferem na habilidade de inibição e extinção de memórias aversivas, e podem resultar na formação de redes neuronais que facilitam memórias intrusivas e sintomas associados de hipervigilância como respostas de sobressalto exagerada, labilidade afetiva, ansiedade, perturbação e hiperreatividade do sistema nervoso autônomo. Situações como exposição a sons fortes e súbitos, altura elevada e estímulos visuais grandes não identificados produzem o chamado medo incondicionado. Em contrapartida, o medo condicionado, ou aprendido, é causado pela maioria dos estímulos que “avisam” o acontecimento de situações ameaçadoras já vivenciadas (CAHILL, 1995; MYERS; DAVIS, 2002; LENT, 2005; KOOB; KREEK; 2007).

A figura 3 ilustra os mecanismos celulares de recompensa de algumas drogas de abuso como *cannabis*, morfina e os benzodiazepínicos, que apresentam mecanismos celulares semelhantes, sendo que o aumento de dopamina ocorre devido ao bloqueio do controle inibitório dos neurônios dopaminérgicos via neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA). Drogas estimulantes como anfetaminas e ecstasy, promovem liberação direta de dopamina no Núcleo Accumbens (Nacc), enquanto que a cocaína atua na inibição do transportador de dopamina (DAT), bloqueando sua recaptção, ambos resultando no aumento das

concentrações de dopamina na fenda sináptica. O álcool, inibe terminais GABAérgicos e glutamatérgicos na ATV, aumentando também a dopamina no Nacc. Outras drogas, como a nicotina, promovem despolarização direta dos neurônios de dopamina, aumentando sua liberação (NESTLER, 2005; MAMELI; LUSCHER, 2011).

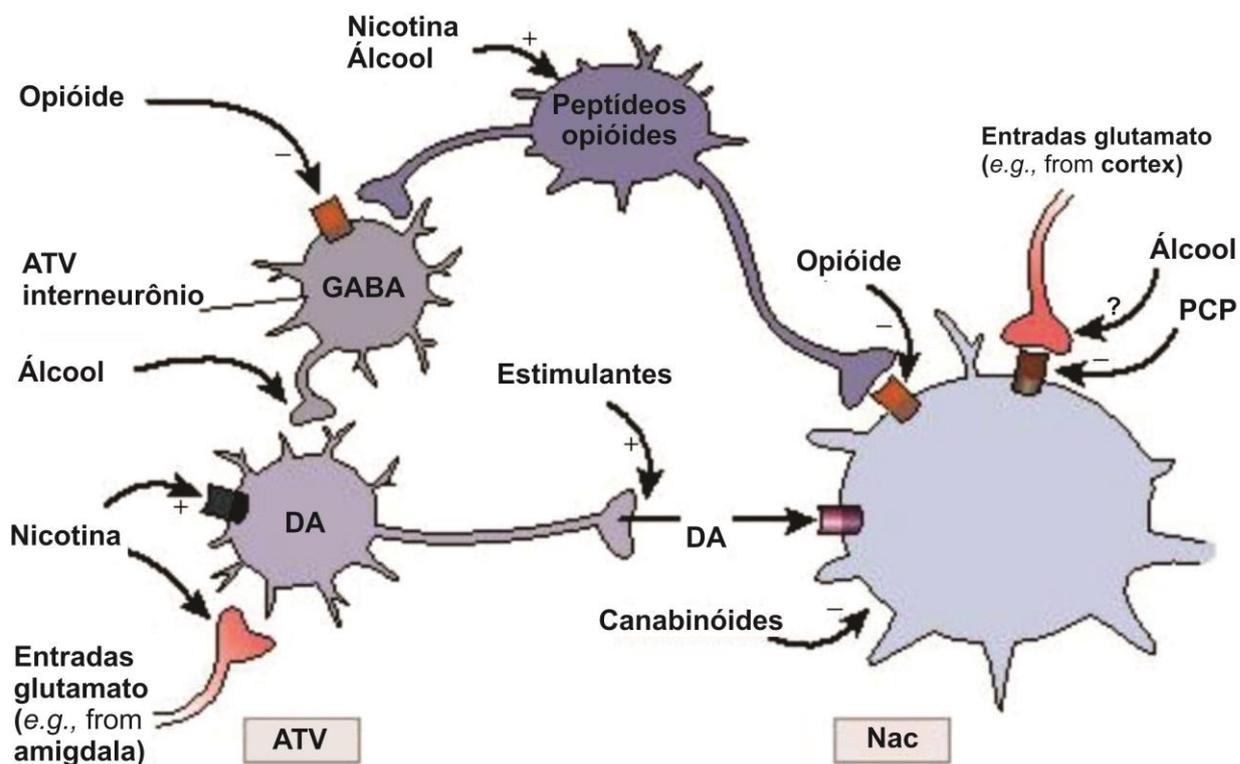


Figura 3: Esquema dos mecanismos de recompensa das drogas de abuso no complexo ATV-Nacc.

Fonte: Adaptado de Nestler, 2005.

Outros sistemas de neurotransmissores também estão envolvidos no desencadeamento dos efeitos motivacionais para o consumo de drogas, como a norepinefrina, substância P, vasopressina, neuropeptídeo Y, endocanabinóides e nociceptina (KOOB, 2008).

A extensão total do impacto das drogas sobre a cognição ainda é desconhecida, porém as regiões cerebrais alteradas em indivíduos adictos, como corpo estriado, córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo evidenciam prejuízos potenciais tanto na memória quanto na cognição (JONES; BONCI, 2005; KALIVAS; VOLKOW, 2005; KELLEY, 2004; LE MOAL; KOOB, 2007).

1.3 Opióides

O termo opióide, proposto por George H. Acheson, refere-se às substâncias naturais, semi-sintéticas ou sintéticas que reagem com receptores opióides, como agonistas ou antagonistas, e são considerados a classe terapêutica mais efetiva no tratamento de dores agudas e crônicas (ROSS; GILMAM, 1985; CHIANG et al. 2010).

O sistema opióide é composto por três principais receptores metabotrópicos acoplados à proteína G, a saber: receptores mu (μ), subdivididos em μ_1 e μ_2 ; kappa (κ) e delta (δ). Os receptores épsilon e sigma não parecem ter papel relevante na analgesia. Quando ativados, estes receptores promovem: i) inibição da atividade da adenililciclase levando a uma redução da concentração intracelular de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP); ii) abertura dos canais de K^+ , com hiperpolarização do neurônio nociresponsivo, e redução da excitabilidade; iii) e bloqueio da abertura dos canais de Ca^{++} voltagem-dependentes, inibindo a liberação do glutamato e da substância P pelos terminais aferentes primários (KATZUNG, 2003; GILMAN et al. 2005).

Os receptores mu (μ) encontram-se amplamente distribuídos por todo o encéfalo, principalmente no tronco cerebral e tálamo medial, sendo responsáveis pela analgesia supraespinhal, depressão respiratória, euforia, sedação, redução da motilidade gastrintestinal e dependência física. O subtipo μ_1 está relacionado à analgesia e euforia e o μ_2 desencadeia a depressão respiratória, liberação de prolactina, sedação, anorexia e dependência física. Os receptores kappa (κ) podem ser encontrados no diencéfalo límbico e outras áreas, tronco cerebral e medula espinhal, promovendo analgesia espinhal, dispnéia, sedação, disforia, depressão respiratória e dependência, além de regular o controle do balanço hídrico, ingesta alimentar, atividade neuroendócrina, comportamento afetivo e cognição, podendo também modular o comportamento reprodutivo em fêmeas. Enquanto os receptores delta (δ) são observados na área do neocórtex, caudado-putamen, núcleo acumbens e amígdala, estando relacionados às funções de olfação, integração motora e cognição (BLOOR et al. 1991; TEODOROV et al. 2008; TRESKOT et al. 2008).

Após a identificação dos receptores opióides, John Hughes e Hans Kosterlitz descobriram as endorfinas, substâncias peptídicas responsáveis pela estimulação endógena desses receptores, conhecidas como β -endorfinas, encefalinas e dinorfinas. As β -endorfinas podem ser encontradas na hipófise anterior e nos núcleos do hipotálamo basal e se ligam aos receptores mu (μ); a família das encefalinas está presente em diversas regiões do sistema nervoso central (SNC) e periferia, como hipotálamo, amígdala, neocórtex e medula adrenal, no trato gastrointestinal e medula espinhal, podendo se ligar aos receptores mu (μ) e delta (δ); e as dinorfinas são encontradas no intestino, hipotálamo, hipófise posterior, tronco encefálico e medula espinhal, ligando-se aos receptores mu (μ), kappa (κ) e delta (δ). Após o conhecimento acerca da estrutura molecular dos receptores opióides, assim como de seus ligantes, foi possível o desenvolvimento de fármacos opióides, principalmente para terapia algica (BLOOR et al. 1991; SIMON, 1991; PASTERNAK; CHILDERS, 1992).

Os analgésicos opióides são classificados de acordo com a ação no receptor, tendo como agonistas a morfina, meperidina, fentanil, codeína, metadona, heroína, entre outros e como antagonistas a naloxona e naltrexona, dos quais, os principais comercializados no Brasil são apresentados na tabela 1. A morfina é considerada o opióide de referência quanto à potência analgésica, sendo largamente utilizada desde 1820, quando se tornou comercialmente disponível na Europa e América do Norte e a sua popularidade como analgésico cresceu rapidamente (FERREIRA; FACCIONE, 2005; TRESKOT et al. 2008).

Tabela 1: Principais opióides de uso comercial no Brasil

Substância	Nome Comercial
Buprenorfina	Tangesic
Codeína	Belacocid, Bromalgina, Codein, Codaten, Tylex
Diidrocodeína	Synalgos- DC
Diidrocodeinona	Hycodan
Fentanil	Inovan
Meperidina	Demerol, Dolantina
Morfina	Dimorf
Propoxifeno	Alfagan, Doloxen

Fonte: Adaptado de Cordeiro, 2010.

Alcalóide natural, a morfina é extraída da planta *Papaver somniferum*, conhecida popularmente como papoula. O ópio é o suco obtido da papoula, cuja composição química apresenta pelo menos 25 alcalóides representados por duas classes: os fenantrenos e benzilisoquinolinas. O principal fenantreno é a morfina, com quantidades menores de codeína e tebaína e a principal benzilisoquinolina é a papaverina (GOZZANI, 1994).

A morfina foi descoberta pelo farmacêutico alemão Freidrich Serturner em 1806, e tem seu nome derivado de Morfeu, Deus grego dos sonhos. Sua estrutura química foi elucidada em 1923 por Robert Robinson e colaboradores, porém apenas em 1952 ocorreu sua síntese. Em 1843, o médico Alexander Wood descobriu a possibilidade de administração injetável da morfina, com diminuição no período de ação e aumento da potência. Em 1902 surgem os primeiros relatos em revistas médicas discutindo os efeitos colaterais, sintomas de abstinência e a semelhança da sintomatologia à adição de morfina (PATRICK, 1995; KATZUNG, 2003).

A figura 4 ilustra a estrutura química da morfina (7,8-didesidro-4,5 α -epoxi-17-metilmorfinan-3,6 α -diol), composta por um anel benzeno com uma hidroxila fenólica na posição três e uma hidroxila alcoólica na posição seis e no átomo de nitrogênio. A forma terciária do nitrogênio parece ser crucial para a analgesia da morfina, uma vez que a estrutura quaternária diminui consideravelmente a analgesia, por não poder atravessar o SNC. A morfina é opticamente ativa, e apenas o isômero levogiro é um analgésico (TRESCOT et al. 2008).

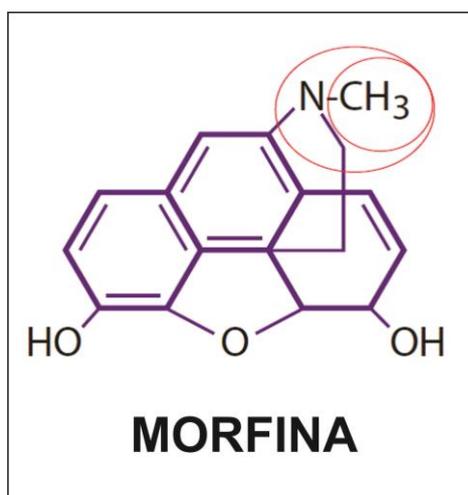


Figura 4: Estrutura química da morfina

Fonte: Adaptado de Trescot et al. 2008

A ação farmacológica da morfina ocorre a partir da ativação de receptores opióides μ centrais e periféricos, proporcionando uma mudança na conformação deste receptor, a qual é responsável pela abertura de um canal iônico na membrana celular, que permite a saída de íons de potássio (K^+), causando a hiperpolarização do potencial de membrana, tornando-o o limiar de despolarização mais difícil de ser atingido, o que resulta na diminuição da excitabilidade neuronal. O aumento da permeabilidade de K^+ promove a diminuição do influxo de íons de cálcio (Ca^{2+}) no terminal nervoso, reduzindo, desta forma, a liberação de neurotransmissores excitatórios, como a acetilcolina, noradrenalina, dopamina, serotonina e substância P na fenda sináptica (KATZUNG, 2006; SILVA, 2006; TRECOT et al. 2008).

A inibição direta do neurônio transmissor de dor do corno dorsal bloqueia as mensagens de dor, resultando em um elevado efeito analgésico diretamente na medula espinhal. Porém, como os receptores estão intrinsecamente envolvidos com os efeitos colaterais dos analgésicos, o bloqueio da dor é acompanhado de depressão respiratória, constipação, excitação, euforia, náuseas e vômitos, sedação, boca seca, prurido, pele quente e eritematosa, hipotensão arterial, retenção urinária, tolerância e dependência (PATRICK, 1995; TRECOT et al. 2008).

A via mais importante de eliminação da morfina é a glicuronização, com cerca de dois terços sendo excretado na bile. A metabolização é realizada pelas UDP-glicuronosiltransferases (UGTs) no fígado, as quais depuram o metabólito morfina 3-glicuronídeo em morfina 6-glicuronídeo, sendo que a depuração metabólica da morfina 3-glicuronídeo é cerca de cinco vezes maior do que a eliminação metabólica de morfina 6-glicuronídeo. A morfina 3-glicuronídeo não tem nenhum efeito analgésico, enquanto a morfina 6-glicuronídeo tem efeito analgésico 20 vezes mais potente que a própria morfina (HARA et al. 2007).

O uso clínico da morfina é relativamente seletivo, por ser considerada mais eficaz no alívio da dor contínua e difusa, quando comparada a dor intermitente e aguda. Constitui-se na droga de escolha para o tratamento da dor oncológica e terapia algica em indivíduos com grandes queimaduras ou politraumatizados. Também é utilizada antes da indução e durante a manutenção de anestésias, pois potencializa a sedação. Embora a dor nociceptiva em geral responda aos analgésicos opióides, a dor neuropática, causada pela lesão das estruturas neurais, não responde bem a esta classe, podendo exigir doses maiores desses analgésicos (GILMAN et al. 2003; BRASIL, 2010).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou em 1986, o sistema de escadas para o tratamento da dor oncológica, sendo o primeiro modelo utilizado para o controle da dor do câncer. A escada analgésica apresenta três degraus, os quais se baseiam na gravidade da dor segundo os pacientes. No primeiro degrau, classificam-se as dores leves, para as quais são recomendados os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) e analgésicos comuns como dipirona e paracetamol; e as dores neuropáticas nas quais são utilizadas medicações adjuvantes, como antidepressivos e anticonvulsivantes. O segundo degrau é utilizado para o tratamento de dores leves a moderadas, sendo incluído um opióide fraco, como tramadol ou codeína, quando houver falha no tratamento anterior. No terceiro degrau, são classificadas as dores moderadas a graves, as quais não são reduzidas com a utilização de um opióide fraco, sendo necessária a substituição por um opióide forte, como a morfina. No Brasil, estão disponíveis também a metadona, oxicodona, hidromorfona, fentanil e buprenorfina transdérmicos. Os estudos demonstram que o uso da escada analgésica da OMS proporciona alívio adequado em 90% dos pacientes oncológicos (PORTENOY; LESAGE, 1999; BRUERA; KIM, 2003).

A ampla distribuição de receptores opióides pela substância periaquedutal cinzenta (PAG), os núcleos talâmicos e bulbares e o sistema límbico é responsável por mediar as respostas afetivas da morfina, como a euforia, sensação irreal de bem-estar, imensa calma e fuga da realidade. O uso abusivo de opióides, na ausência de dor, em doses usuais pode promover efeitos desagradáveis como náuseas, vômitos, sonolência, agitação ocasional, dificuldade de raciocínio, apatia e redução da atividade física (FUCHS; WANNMACHER, 1998; GILMAN et al. 2003; PASSAGLI, 2011).

Os opióides usados abusivamente produzem um quadro de intoxicação, caracterizado por sedação, alteração do humor e miose ou midríase, em casos de uso abusivo de meperidina. O quadro clínico da overdose é normalmente agudo, há uma rápida estimulação cerebral seguida de depressão do SNC, alteração da consciência ou coma, depressão respiratória, diminuição da atividade cardíaca e em casos mais graves, convulsões e morte. Os opióides são a classe terapêutica mais eficaz no alívio da dor, porém os problemas relacionados à tolerância e dependência restringem o seu uso (FRANCIS; FRANKLIN, 1995).

A interação dos opióides com o sistema de recompensa encefálico, observada na figura 5, ocorre através de duas vias de interação, sendo uma delas localizada na ATV, onde tanto os opióides endógenos quanto exógenos, como a morfina promove a inibição de interneurônios GABAérgicos, que por sua vez, desinibem os neurônios dopaminérgicos, responsáveis pela ativação da via de recompensa encefálica; na segunda via, localizada no Nacc, os opióides também inibem os neurônios GABAérgicos que se projetam de volta para a ATV, aumentando a concentração de dopamina na ATV, permitindo a ativação da via de recompensa encefálica (SWIFT; LEWIS, 2009).

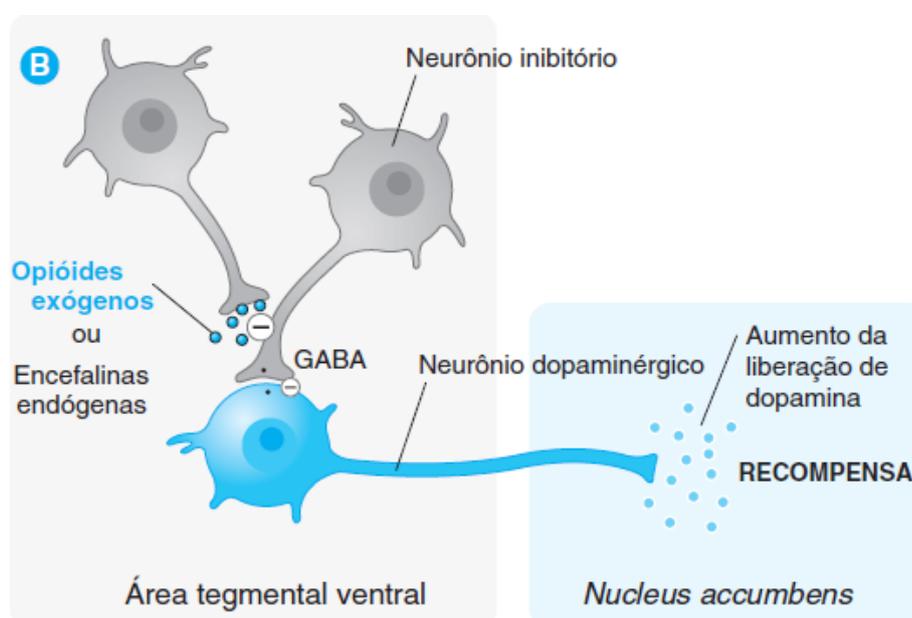


Figura 5: Interação dos opióides exógenos e endógenos com o sistema de recompensa encefálico

Fonte: Golan et al. 2009

O uso de drogas ilícitas durante a gravidez é especialmente preocupante, uma vez que a prevalência no abuso dessas substâncias vem aumentando consideravelmente. A taxa de gravidez não-intencional entre mulheres dependentes de opióides, de acordo com estudos de Heil et al. (2011), varia entre 80% e 90%, influenciada em grande parte devido aos efeitos dos opióides no sistema reprodutivo feminino, que causam amenorreia e menstruações irregulares, além do estilo de vida caótico proporcionado pelo abuso da droga, levando a medidas de controle de natalidade insuficientes, que resultam na maioria das vezes em gravidez inesperada (DOHLER et al. 1991; MOORE et al. 2011).

1.4 Morfina e Gravidez

O uso de morfina como droga ilícita durante a gravidez e lactação representa grande preocupação na sociedade, uma vez que os efeitos ocasionados no desenvolvimento do feto ainda não estão bem elucidados (BROUSSARD et al. 2011). Devido à capacidade em atravessar a barreira placentária, os metabólitos da droga alcançam a corrente sanguínea fetal, podendo penetrar na barreira hematoencefálica do feto, interferir no desenvolvimento da célula neuronal ou provocar a sua morte, ocasionando retardo no desenvolvimento do SNC (LEE et al. 2008; KLAUSZ et al. 2011).

O desenvolvimento saudável da gravidez também é afetado, uma vez que o abuso de drogas pode alterar os hábitos alimentares da mãe e o tratamento pré-natal, os quais são essenciais para a redução de complicações, como diabetes, pré-elâmpsia e trabalho de parto precoce. Condições as quais comumente co-ocorrem com o abuso de drogas, incluindo infecções sexualmente transmissíveis, depressão, estresse e violência, também podem levar à lesão fetal (VUCINOVIC et al. 2008; UNGER et al. 2012).

O abuso de morfina promove alterações no parto e aumenta a probabilidade de abortos, podendo ocorrer prematuridade, baixo peso ao nascer, redução do comprimento do recém-nascido, diminuição da circunferência da cabeça, síndrome de morte súbita infantil (SMSI), deficiência de crescimento pós-natal, além de ansiedade, sentimentos de rejeição, desatenção e atraso na função cognitiva do neonato (MINNES et al. 2011; UNGER et al. 2012).

Após o nascimento, o recém-nascido também pode adquirir a síndrome de abstinência neonatal (NAS) que ocorre devido ao uso de opióides durante a gravidez e se manifesta nos primeiros dias após o parto. Caracterizada por sintomas que afetam principalmente o SNC, o sistema respiratório e digestivo como: espirros, lacrimejamento aumentado, bocejos frequentes, sucção prejudicada, redução na duração do sono, irritabilidade, aumento dos reflexos e grito estridente; os quais colocam o neonato sob estresse fisiológico, sendo necessários cuidados intensivos (CHOOA et al. 2004; MINOZZI et al. 2008; TAO et al. 2011; MINNES et al. 2011).

O cuidado materno é um comportamento instintivo, determinado por modificações fisiológicas que ocorrem antes e imediatamente após o parto. Durante este período, as fêmeas gastam grandes quantidades de energia cuidando de seus filhotes, lambendo, amamentando e carregando-os, garantindo dessa forma a sobrevivência deles. Entre outras modificações que ocorrem com a mãe, há o aumento da agressividade, redução de medo, aumento do aprendizado e memória, possibilitando que ela deixe o ninho em busca de alimento e retorne para cuidar de sua prole (ZIMBERKNOPF et al. 2011).

Mecanismos sensoriais, hormonais, neurais e genéticos estão envolvidos na expressão do comportamento materno, sendo as áreas cerebrais como córtex pré-frontal, lobos parietais e áreas mesencefálicas (hipotálamo, substância negra e amígdala) essenciais para a motivação e manutenção do cuidado maternal (TEODOROV et al. 2008; KIM et al. 2010).

Os opióides endógenos também estão envolvidos nos comportamentos exploratórios e motivacionais, apresentando papel importante na manutenção da prenhez e controle do instinto materno. A administração crônica da morfina, durante a gravidez, promove mudanças nos níveis de opióides endógenos, alterando a neurotransmissão da via opióide na substância cinzenta periaquedutal (PAG), região envolvida em vários mecanismos comportamentais e fisiológicos distintos como medo, ansiedade, antinocicepção, luta ou fuga, e inclusive comportamentos aversivo, maternal e predatório (MANN et al. 1991; BRUNTON; RUSSEL, 2008; TEODOROV et al. 2008).

A PAG recebe uma grande variedade de projeções neurais ascendentes e descendentes, principalmente do hipotálamo, que também recebe entradas (*inputs*) do tronco cerebral, do prosencéfalo basal e de regiões corticais. Os sistemas límbico, motor e autonômico possuem aferências para esta região, sendo possível, portanto, que a PAG represente uma área de integração desses três sistemas (BEITZ, 1982).

Devido à redução dos níveis de opióides endógenos após administração crônica do opióide exógeno, ocorre inibição ou atraso do comportamento materno, enquanto algumas outras atividades não maternais aumentam, ocorrendo redução de comportamentos como a limpeza dos filhotes após o parto e a até mesmo rejeição da prole por aversão maternal ao odor dos filhotes (GRIMM; BRIDGES, 1983; SLAMBEROVÁ et al. 2001; CRUZ et al. 2010).

Os danos ao SNC durante o período pré-natal podem resultar em deficiências comportamentais mais do que defeitos congênitos físicos. Em longo prazo, as alterações neurofisiológicas observadas geram déficits na habilidade intelectual e controle emocional em crianças durante o período escolar, incluindo hiperatividade, ocasionada pelo aumento da liberação de dopamina na região do NAcc. As deficiências cognitivas e de aprendizado podem refletir em problemas sociais, os quais favorecem o envolvimento do indivíduo com as drogas, e uma vez que ocorreu exposição anterior, a probabilidade de desenvolvimento de adição torna-se maior (WILSON et al. 1979; VORHEES, 1989; HAMMER et al. 1994; ORNOY, 2003; GOULD, 2010; MINNES et al. 2011).

As deficiências observadas no crescimento e desenvolvimento do SNC ocorrem devido à inadequada resposta aos sinais neurotróficos, ocorrendo mudanças na densidade de catecolaminas e receptores opióides, neurotransmissores GABAérgicos e glutamatérgicos (principalmente N-metil-D-aspartato- NMDA) e esteróides sexuais, responsáveis por alterações no desenvolvimento neurocomportamental, comportamento sexual na idade adulta e capacidade de resposta ao estresse (VATH; KATAY, 1992; VELISEK et al. 1998; VATHY et al. 2003; SLAMBEROVÁ et al. 2005; HUNT et al. 2008).

A administração de morfina durante a gravidez também pode induzir a hiperalgesia inflamatória na prole, devido à atividade pronociceptiva de receptores NMDA, os quais são alterados pela exposição à opióides. A síndrome de abstinência pode afetar os receptores opióides, os quais sofrem um aumento da regulação (*up-regulation*) durante a gravidez em diferentes áreas cerebrais, induzindo tolerância ao efeito antinociceptivo e conseqüente sensibilização a estímulos nociceptivos (BABBINI; DAVIS, 1972; WISE; BOZARTH, 1982; MIRANDA-PAIVA et al. 2001; ZHANG et al. 2008; KLAUSZ et al. 2011; TAO et al. 2011).

Diante deste cenário, este estudo objetivou avaliar alterações neurocomportamentais de proles expostas à morfina durante o período gestacional e lactação, haja vista que a prevalência no uso abusivo de opióides por mulheres grávidas vem aumentando, o que representa grande preocupação na sociedade, uma vez que as conseqüências no desenvolvimento pré e pós-natal ainda são pouco elucidadas.

II OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar as respostas neurocomportamentais de ratos adultos após exposição crônica à morfina, durante o período intrauterino e lactação.

2.2 Objetivos Específicos

- Verificar as possíveis alterações no ganho de peso da prole após o nascimento até os dois meses de idade;
- Observar as possíveis alterações na atividade locomotora através do modelo do Campo Aberto;
- Investigar as possíveis alterações relacionadas a componentes de ansiedade, utilizando o Labirinto em Cruz Elevado;
- Investigar as possíveis alterações relacionadas a componentes de depressão, utilizando o Nado Forçado;
- Avaliar as possíveis alterações em processos de coordenação motora e equilíbrio através do modelo do Rota-Rod.

III METODOLOGIA

3.1 Animais e Tratamento

Este estudo foi inicialmente aprovado pelo comitê de ética em pesquisas envolvendo animais da Universidade Federal do Pará (UFPA), recebendo a aprovação sob parecer BIO-CEPAE-UFPA: BIO 049-12 (ver comprovante na página 76), e obedeceu aos critérios e as normas estabelecidas por Guias de Cuidado e Uso de Animais Laboratoriais.

Ratos Wistar, fêmeas nulíparas (n=10) e machos (n=5) provenientes do Biotério da UFPA, foram mantidos em caixas plásticas (39x32x16), sob condições padronizadas de temperatura, exaustão, ciclo de luz claro/escuro de 12 horas, água e comida *ad libitum*.

Machos e fêmeas foram colocados em casais para copular no período da manhã, em caixas isoladas, sem serragem, protegidas internamente por uma grade, para proteger os animais do contato das fezes/urina e facilitar a localização dos tampões vaginais liberados pelas fêmeas após a cópula, sendo que a presença do tampão vaginal indica possível prenhez. As fêmeas prenhas foram isoladas em caixas devidamente identificadas com a possível data de nascimento da prole.

De acordo com o protocolo de Klausz et al. (2011), no primeiro dia de prenhez (GD1), as fêmeas receberam uma vez ao dia, por via subcutânea, morfina (10 mg/kg), sendo o tratamento continuado até o último dia da amamentação (PD21). Os animais controle receberam solução salina (0,9%) também por via subcutânea.

No primeiro dia pós-natal (PD1), todos os recém-natos foram retirados individualmente de suas caixas e pesados em uma balança previamente forrada com toalhas de papel, para favorecer uma condição de conforto. Foram utilizadas luvas para evitar o contato direto das mãos com os animais, reduzindo assim, a possibilidade de rejeição das proles por parte das mães. As proles foram mantidas junto às mães até o 21º dia pós-natal (PD21), sendo realizado o desmame e após 30 dias a sexagem (separação por sexo), para evitar o cruzamento entre machos e fêmeas da mesma ninhada.

Após este período, os animais foram mantidos em gaiolas plásticas (39x32x16), com forração de serragem, sob condições padronizadas de temperatura, exaustão, ciclo de luz claro/escuro de 12 horas, água e comida *ad libitum* até completarem 2 meses e meio, idade na qual foram conduzidos os experimentos.

Para este estudo os animais foram divididos em dois grupos de tratamento (tabela 2) e dois grupos experimentais (tabela 3):

Tabela 2: Grupos de tratamento, descrição e quantidade de animais por grupo.

GRUPO	DESCRIÇÃO	NÚMERO
01	Controle - fêmeas tratadas com solução salina (0,9%), via subcutânea, durante os 21 dias de gravidez e por mais 21 dias de amamentação;	5
02	Morfina – fêmeas tratadas com morfina (10 mg/kg/dia), via subcutânea, durante os 21 dias de gravidez e por mais 21 dias de amamentação;	5

Tabela 3: Grupos experimentais, descrição e quantidade de animais por grupo.

GRUPO	DESCRIÇÃO	NÚMERO
01	Controle – prole (machos) exposta à solução salina (0,9%, via subcutânea, durante os 21 dias de gravidez e por mais 21 dias de amamentação;	8-10
02	Controle – prole (fêmeas) exposta à solução salina (0,9%, via subcutânea, durante os 21 dias de gravidez e por mais 21 dias de amamentação;	8-10
03	Morfina – prole (machos) exposta a morfina (10 mg/kg/dia), via subcutânea, durante os 21 dias de gravidez e por mais 21 dias de amamentação;	8-10
04	Morfina – prole (fêmeas) exposta a morfina (10 mg/kg/dia), via subcutânea, durante os 21 dias de gravidez e por mais 21 dias de amamentação;	8-10

3.2. Ensaio Comportamentais

Os ensaios comportamentais foram realizados com as proles adultas aos 2 meses e meio de idade, 8-10 animais por grupo. Todos os experimentos foram conduzidos entre 8:00 e 14:00 horas, com o objetivo de evitar as variações circadianas, evitando interferências nos resultados experimentais. Nas salas onde ocorreram os ensaios comportamentais foram utilizadas lâmpadas fluorescentes para iluminação e minimização de ruído e os animais foram previamente aclimatados e habituados ao ambiente do teste por um período mínimo de uma hora.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento (LAFICO), da Faculdade de Farmácia, do Instituto de Ciências da Saúde, da UFPa.

3.2.1 TESTE DA ATIVIDADE LOCOMOTORA

A avaliação de roedores em uma arena ou campo aberto é um procedimento muito utilizado com a finalidade de se observar a atividade exploratória de animais de pequeno porte, o que permite uma avaliação da atividade estimulante ou depressora de um dado composto, bem como avaliar efeitos de drogas, de lesões, estimulação elétrica do SNC, habituação, aprendizagem e atividade locomotora, podendo ainda indicar atividades mais específicas como a ansiedade (AGUIAR, 1995; LAPA et al. 2003).

A tendência natural do animal em um ambiente considerado “novo” é a de exploração, apesar do conflito com o medo por estar em um ambiente diferente do habitual. O animal, portanto, pode apresentar uma resposta aversiva, característica de congelamento (*freezing*), que é um comportamento inerente do animal, que muitas vezes o utiliza como forma de diminuição das detecções visuais e auditivas por parte dos predadores, além de micção e defecação, como sinais de medo (MONTGOMERY, 1995).

Os parâmetros que podem ser analisados neste teste, segundo Montgomery (1995), são: o número de cruzamentos, com as quatro patas, entre as divisões do campo, os quais representam a movimentação espontânea dos animais; o número de cruzamentos na periferia, indicando a atividade exploratória; o tempo de permanência no centro, referente à atividade ansiolítica ou sedativa; comportamentos de auto-limpeza (*grooming*), de levantar (*rearing*), e sua defecação como índices de emocionalidade; e imobilidade, tempo em que permanece parado, como indicativo de sedação ou medo.

O comportamento de autolimpeza é uma importante atividade dos ratos. Eles limpam suas orelhas e patas como forma de regular a temperatura corporal com saliva. Quando o rato recebe estímulos que podem gerar algum nível de estresse, realiza o “*grooming*” por este também ter um efeito calmante sobre o animal (ALMEIDA, 2006).

O equipamento consistiu em uma arena de madeira (100x100x40cm), pintada com material não permeável, em que o chão foi dividido em 25 quadrantes iguais de 20x20 cm (Figura 6).

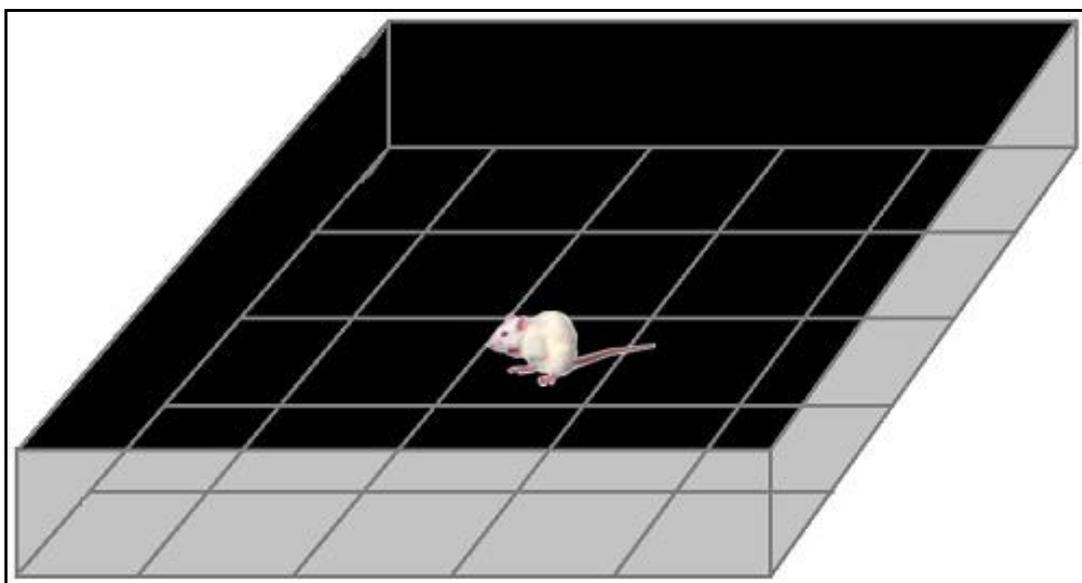


Figura 6: Figura do campo aberto.

Os animais foram colocados individualmente no quadrante central do campo aberto, sendo então permitido o livre deslocamento dentro do aparato por 5 minutos (300 segundos), tempo no qual foi contabilizada a locomoção total de cada

animal, mensurada a partir da contagem do número de quadrantes cruzados pelo animal com as quatro patas. Também foi avaliado o percentual da locomoção central em relação à locomoção total, como parâmetro de ansiedade dos animais submetidos ao teste, tempo de “*grooming*” e número de levantamentos (Adaptado de WALSH; CUMMINS, 1976; PANDOLFO et al. 2007). Não foi considerada locomoção quando o animal colocou uma, duas ou três patas em um dos quadrantes, com retorno ao quadrante original. Após este teste, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado.

3.2.2 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

O labirinto em cruz elevado (LCE) é provavelmente o teste animal mais utilizado para avaliação e estudo da ansiedade em ratos, sendo validado do ponto de vista farmacológico, bioquímico e comportamental (PELLOW et al. 1985; ZHANG, 2004).

Consiste em um equipamento em madeira, ilustrado na figura 7, na forma de cruz, elevado 50 cm do chão, com dois braços fechados (50x10x40 cm) e dois abertos (50x10 cm), opostos entre si (HANDLEY; MITHANI, 1984). Uma proteção de madeira de 1 cm de altura circunda os braços abertos, objetivando impedir a queda dos animais do aparato.

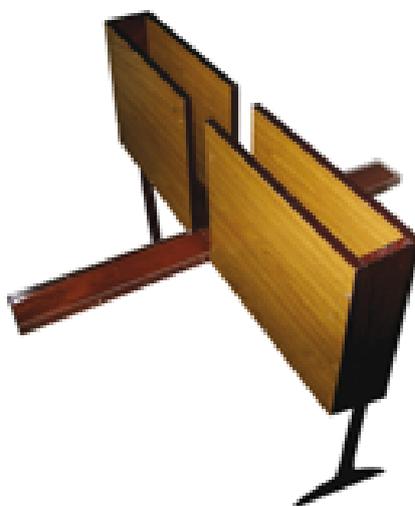


Figura 7: Figura do labirinto em cruz elevado.

O animal quando colocado no aparelho, explora ambos os braços, abertos e fechados, porém tende a permanecer com maior frequência nos braços fechados, devido à aversão natural do animal pelos braços abertos (MORATO; BRANDÃO, 1997). De acordo com Treit et al. (1993), o maior fator de contribuição para a “reação de medo” do animal é a falta das paredes altas nos braços abertos, que impedem a tigmotaxia (tendência de o animal permanecer com o corpo próximo a superfícies verticais). Dessa forma, os animais entram menos e permanecem por menos tempo nos braços abertos, podendo assim ser avaliado o nível de ansiedade, ou seja, o número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos são usados como indicadores inversamente relacionados à ansiedade (PELLOW et al. 1985; HOGG, 1996).

A avaliação de outras medidas comportamentais aumentam consideravelmente a sensibilidade do teste como número de imersões de cabeça (*head-dipping*) e levantar (*rearing*), os quais avaliam a atividade exploratória; as posturas de estiramento (*stretch-attend*), indicativas de atividade ansiolítica. Observa-se também o tempo de permanência na plataforma central, o qual se correlaciona com uma tomada de decisão; e o número de bolos fecais, indicativos de emocionalidade (RODGERS, 1993; LAPA et al. 2003). De acordo com Graeff e Guimarães (1999), o rato exibe uma estratégia de defesa denominada avaliação de risco (AR), caracterizada pela exploração cautelosa, na qual o animal estira o dorso, porém permanece com o ventre rente ao solo. Este comportamento pode ser afetado por medicamentos ansiolíticos.

Para a análise do efeito ansiolítico ou ansiogênico, cada rato foi posicionado no centro do LCE, com a face voltada para um dos braços fechados e permitido a exploração do equipamento por 5 minutos. De acordo com o protocolo de Pellow et al. (1985), foram avaliados o percentual de entradas nos braços abertos (%EBA); percentual de tempo nos braços abertos (%TBA), como medida avaliativa de ansiedade; e entradas nos braços fechados (EBF), para avaliar a atividade locomotora dos animais. Após este teste, os animais foram submetidos ao modelo do nado forçado.

3.2.3 TESTE DO NADO FORÇADO

Desenvolvido por Porsolt et al. (1977), o nado forçado é considerado o modelo mais amplamente utilizado para avaliar depressão, devido à sua facilidade de uso, confiabilidade através de laboratórios e capacidade de detectar um amplo espectro de drogas antidepressivas (CRYAN et al. 2002).

Conhecido como o modelo do “desespero comportamental”, neste teste os animais são forçados a nadar em um recipiente com água de onde é impossível escapar. Quando expostos a esta situação, a reação natural do animal é tentar fugir realizando intensa atividade física. Contudo, após inúmeras tentativas de escape o rato torna-se imóvel, produzindo movimentos suficientes apenas para manter a cabeça acima da superfície da água. Esse período de imobilidade é acompanhado de hipotermia e se prolonga por meia hora após o teste, podendo representar apatia, na suposição de que os animais tenham desistido de tentar escapar, o que caracteriza o estado do tipo depressivo (PORSOLT et al. 1978; CRYAN et al. 2002; ALMEIDA, 2006).

O modelo do nado forçado acompanha alterações de neurotransmissores, que por sua vez, podem auxiliar na elucidação da etiologia da depressão, bem como contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos (GOMEZ, 2003).

O procedimento adotado consistiu em colocar os animais em um cilindro Plexiglass (30 cm de diâmetro e 50 cm de altura), observado na figura 8, contendo 40 centímetros de volume de água a uma temperatura de 23 ± 1 ° C por 5 min.



Figura 8: Figura do nado forçado.

Fonte: INEC/USP

Os ratos geralmente exibem quatro tipos de comportamentos em um tempo de 5 minutos: fuga, que geralmente é observada nos primeiros dois minutos, sendo que, esta foi considerada habituação ao teste. Nos três últimos podem ser contabilizados os seguintes parâmetros (figura 9):

- a) permanecer flutuando, mantendo somente os movimentos mínimos necessários para manter a cabeça fora da água (imobilidade contínua);
- b) circulação em todo o cilindro, nadando de um quadrante para o outro (nado);
- c) escalada, movimentos ascendentes ao longo dos lados do cilindro (*climbing*).

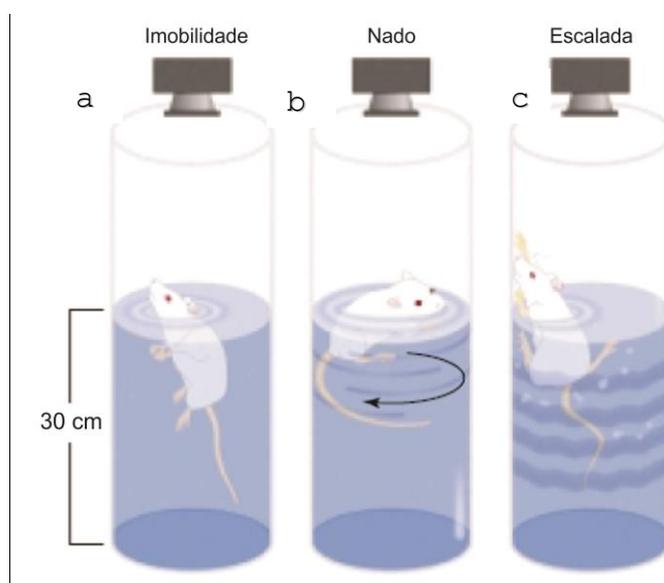


Figura 9: Parâmetros analisados no teste do nado forçado: a) Imobilidade, b) Nado e c) Escalada.

Fonte: Adaptado de CRYAN et al. 2002.

A redução do tempo do nado ou da subida, e o aumento do tempo da imobilidade foram definidos como indicativos de comportamentos relacionados à depressão (KIRBY; LUCKI, 1998; CRYAN et al. 2002).

3.2.4 TESTE DO ROTA-ROD

O teste do rota-rod, descrito por Dunham e Miya (1957), avalia coordenação motora e equilíbrio em roedores, sendo considerado o teste com maior sensibilidade para este tipo de análise. O rota-rod, ilustrado na figura 10, é um equipamento de alumínio que apresenta um eixo giratório de 8 cm de diâmetro, instalado transversalmente a aproximadamente 20 cm do chão, e mantido em rotação por meio de um motor. A caixa dividida em 4 baias, de aproximadamente 10 cm de largura, possui a capacidade de aumentar as rotações do eixo, além de permitir a análise de 4 animais simultaneamente.

Os animais foram treinados a manterem-se sobre o eixo giratório do equipamento por um período de 180 segundos a quinze rotações por minuto, sendo que cada vez que ocorria queda do animal, este era reposicionado no cilindro até o término do tempo. Para permanecer sobre o cilindro giratório, o animal necessitava se locomover, sendo assim, após o treino os animais foram submetidos ao teste, no qual foi cronometrado o tempo de permanência do animal sobre a barra de rolagem do rota-rod em três etapas de três minutos cada, com intervalo de 60 segundos entre cada exposição, além da contabilização do número de quedas do animal em cada etapa, permitindo a avaliação da função motora dos animais (SHARMA et al. 2009).



Figura 10: Figura do rota-rod.
Fonte: Insight®.

3.3 Análise Estatística

A análise estatística dos ensaios comportamentais foi realizada através da Análise de Variância (ANOVA) de uma via e teste de Tukey para comparações *post hoc* para avaliar as significâncias estatísticas das diferenças médias. Para a análise estatística da pesagem das proles, foi utilizado o teste t de student. Os dados de cada grupo experimental foram expressos como a média \pm erro padrão da média (e.p.m) de 8-10 animais por grupo. A probabilidade aceita como indicativa da existência de diferenças significantes foi de $p < 0,05$. A construção gráfica e a análise estatística foram realizadas no programa GraphPad Prism 5.0.

IV RESULTADOS

4.1 Avaliação do ganho de massa corporal

A primeira pesagem da prole ocorreu no dia do nascimento (D1) e a cada 5 dias do período de amamentação (D5, D10, D15, D20), e após o desmame (D30 e D60). Os resultados ilustrados na figura 11 evidenciam que os animais expostos à morfina durante o período da gravidez e amamentação não acompanharam a faixa de ganho de peso corpóreo, quando comparados ao grupo controle ($p < 0,001$), em quase todos os períodos avaliados, mesmo após o desmame, sendo que apenas aos 60 dias de vida da prole, esta não apresentou diferença significativa em relação ao seu peso comparado ao grupo que não foi exposto ao fármaco.

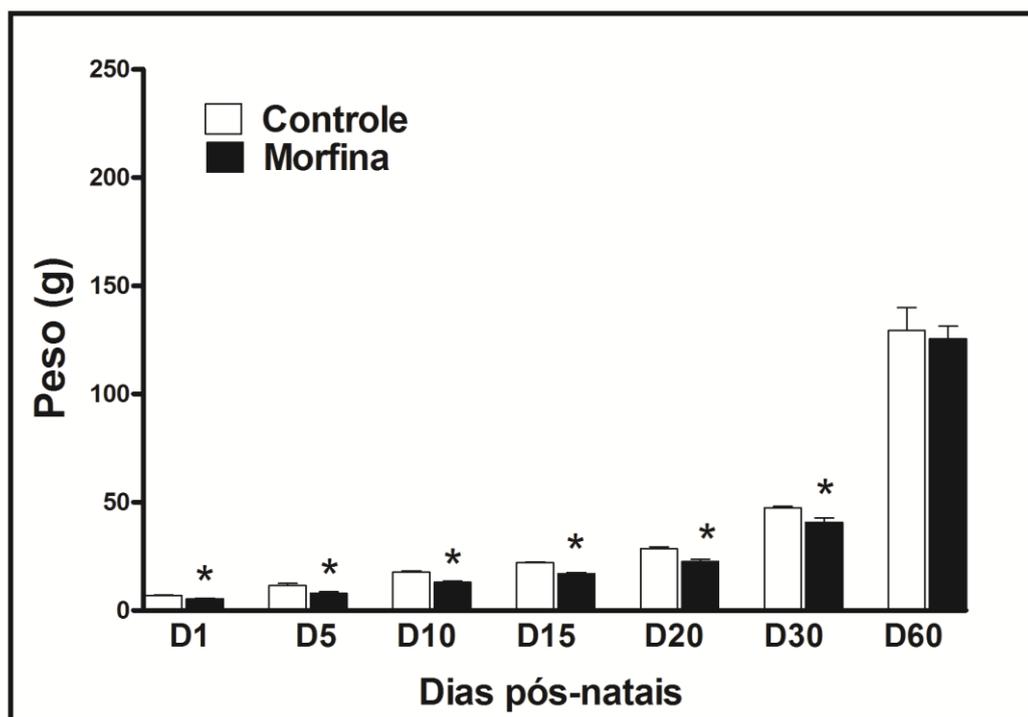


Figura 11 - Efeitos do tratamento com morfina sobre o peso da prole exposta durante o período gestacional e amamentação no 1º (D1), 5º (D5), 10º (D10), 15º (D15), 20º (D20), 30º (D30) e 60º (D60) dias pós-natais. Os grupos considerados foram controle salino (C-1 mL/kg/dia) e morfina (M-10mg/kg/dia). Os resultados foram expressos como a média \pm e.p.m. de 8-10 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle. Teste t de student.

4.2 Avaliação comportamental

4.2.1 ATIVIDADE EXPLORATÓRIA NO CAMPO ABERTO

No teste do campo aberto, foi analisada a locomoção total, representada pelo número total de quadrantes cruzados dos ratos como medida avaliativa da atividade locomotora espontânea dos animais. A partir da figura 12A, foi possível observar que a exposição intrauterina à morfina promoveu aumento significativo da locomoção das fêmeas (MF) ($p < 0,05$), porém não interferiu na deambulação dos machos (MM), indicando maior sensibilidade do sexo feminino para comportamentos relacionados à hiperlocomoção. Não houve diferença entre os grupos controle (CM e CF), não indicando alterações comportamentais relacionadas ao sexo para este parâmetro.

A figura 12B apresenta resultados do percentual de locomoção nos quadrantes centrais como parâmetro avaliativo de ansiedade do animal. A partir da análise, é possível inferir que proles expostas à morfina durante o período gestacional e amamentação (MM e MF) apresentaram redução significativa do tempo de exploração dos quadrantes centrais ($p < 0,0001$), indicando possível efeito do tipo ansiogênico, quando comparados aos seus respectivos grupos controles (CM e CF).

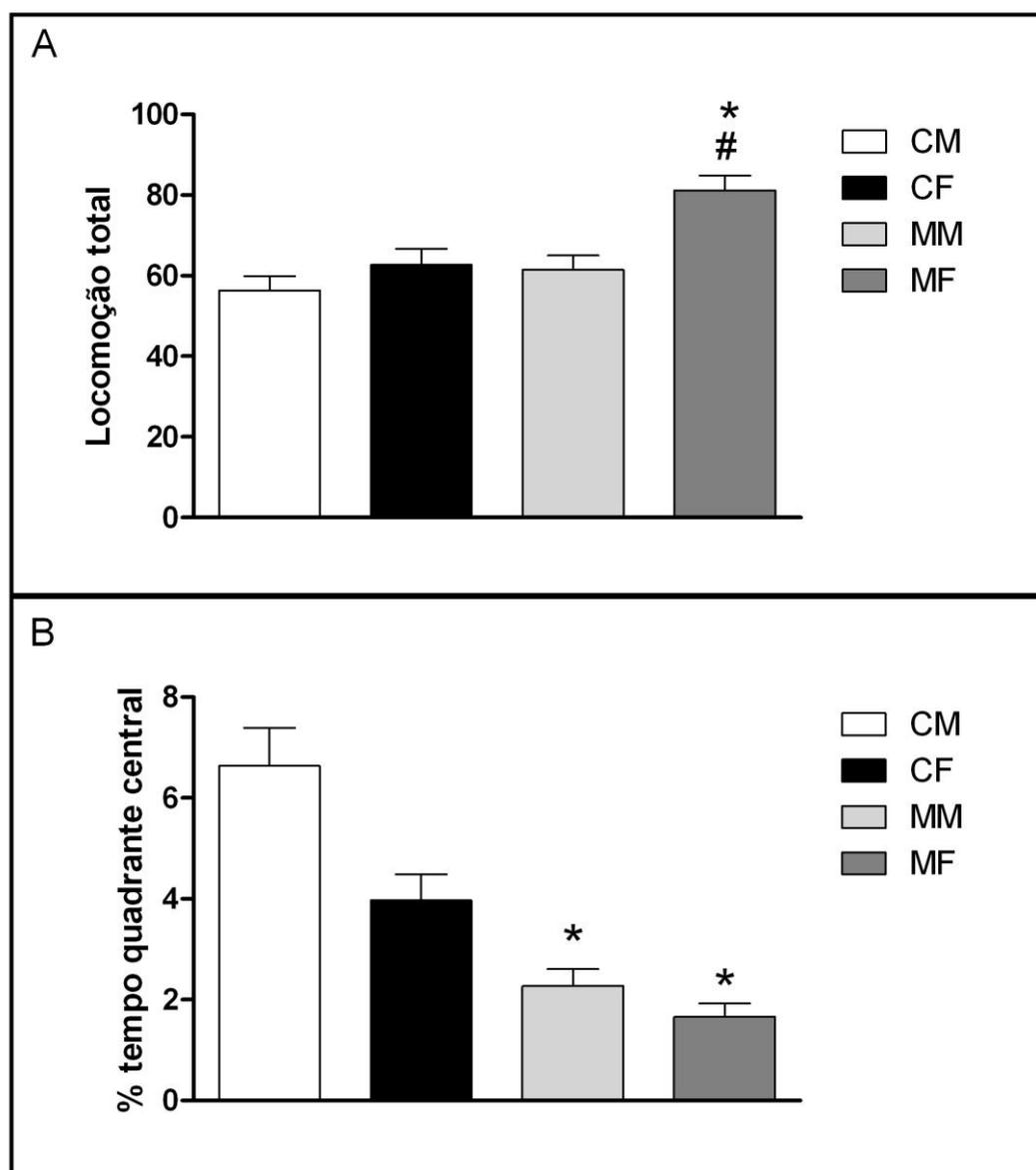


Figura 12 – Efeitos no teste do campo aberto da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) Efeitos do tratamento com morfina sobre a locomoção espontânea da prole exposta durante o período gestacional e amamentação; B) Efeitos do tratamento com morfina sobre a locomoção central da prole exposta durante o período gestacional e amamentação. Os grupos considerados foram controle salino macho (CM-1 mL/kg/dia), controle salina fêmea (CF-1 mL/kg/dia), morfina macho (MM-10mg/kg/dia), morfina fêmea (MF-10mg/kg/dia). Os resultados foram expressos como a média \pm e.p.m. de 8-10 animais por grupo do número total de cruzamentos no teste do campo aberto, durante 5 min. *p < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo controle macho ou fêmea, e #p < 0,05 diferença significativa em relação ao grupo morfina macho ou fêmea. ANOVA de uma via seguida do Teste de Turkey.

A figura 13A demonstra o comportamento de autolimpeza, conhecido como “grooming”, importante atividade dos ratos a qual pode ser relacionada ao nível de estresse e perturbação do animal. Os resultados indicam que não houve alteração significativa em relação ao tempo de “grooming” dos animais expostos à morfina intrauterina e durante a lactação (MM e MF), quando comparados aos seus respectivos controles (CM e CF).

Na figura 13B, o número de levantamento (“rearing”), comportamento nato utilizado para avaliar e explorar o ambiente desconhecido, também foi considerado parâmetro de análise do estudo comportamental. Os resultados observados demonstram que não houve diferença significativa entre as proles expostas à morfina durante a gravidez e lactação (MM e MF), quando comparados aos controles CM e CF.

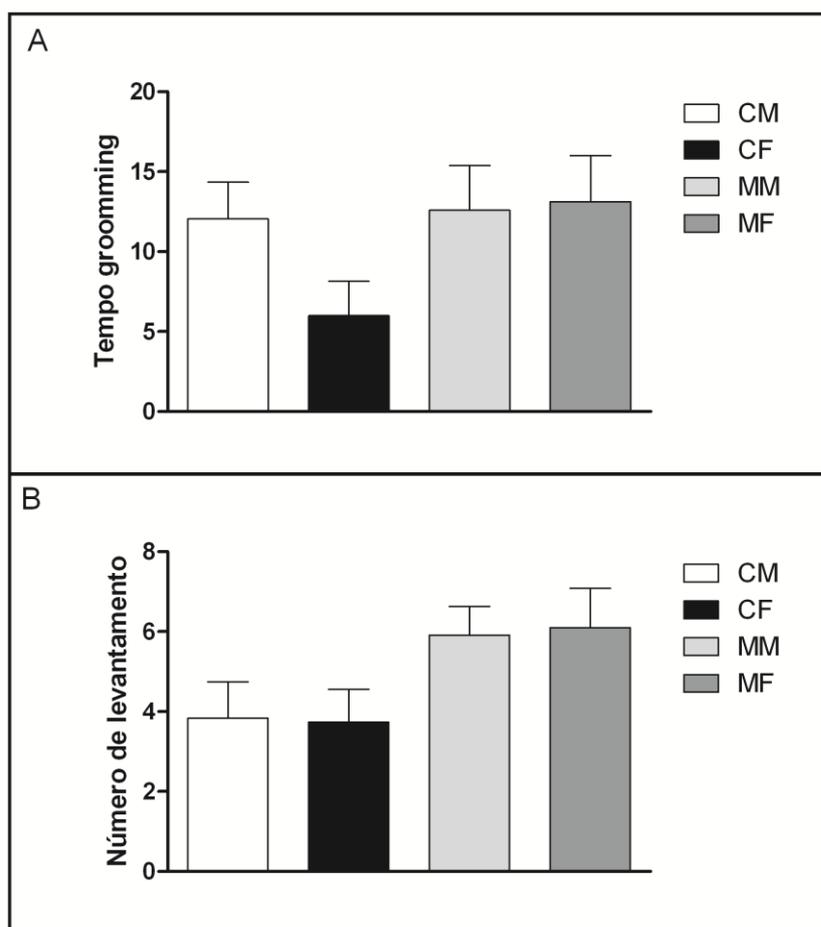


Figura 13 - Efeitos no teste do campo aberto da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) Efeitos do tratamento com morfina sobre o tempo de autolimpeza; B) Efeitos do tratamento com morfina sobre o número de levantamentos. Os grupos considerados foram controle salino macho (CM-1 mL/kg/dia), controle salina fêmea (CF-1 mL/kg/dia), morfina macho (MM-10mg/kg/dia), morfina fêmea (MF-10mg/kg/dia). Os resultados foram expressos como a média \pm e.p.m. de 8-10 animais por grupo durante 5 min. ANOVA de uma via seguida do Teste de Turkey.

4.2.2 LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO

No teste do LCE, foi possível observar, a partir da figura 14A, uma redução significativa do percentual de tempo nos braços abertos de machos (MM) e fêmeas (MF), ($p < 0,05$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles (CM e CF), indicando que a exposição intrauterina e pós-natal durante a lactação promove alteração comportamental do tipo ansiogênica na prole.

Porém, a figura 14B demonstra redução significativa do percentual de entrada nos braços abertos ($p < 0,05$) dos machos expostos à morfina (MM) durante o período gestacional e amamentação, quando comparado ao controle salino (CM), indicando possível efeito do tipo ansiogênico, também observado no modelo do campo aberto. As fêmeas (MF), expostas às mesmas condições não apresentaram alteração significativa do parâmetro analisado, podendo estar relacionado à hiperatividade das fêmeas observada no campo aberto.

Na figura 14C é possível observar que o nº de entradas nos braços fechados (EBF) não foi alterado pela exposição à morfina durante o período gestacional e amamentação, indicando que possivelmente estes animais não apresentavam nível de sedação, o qual pudesse inibir o comportamento motor dos animais, que permaneceram deambulando nos braços fechados.

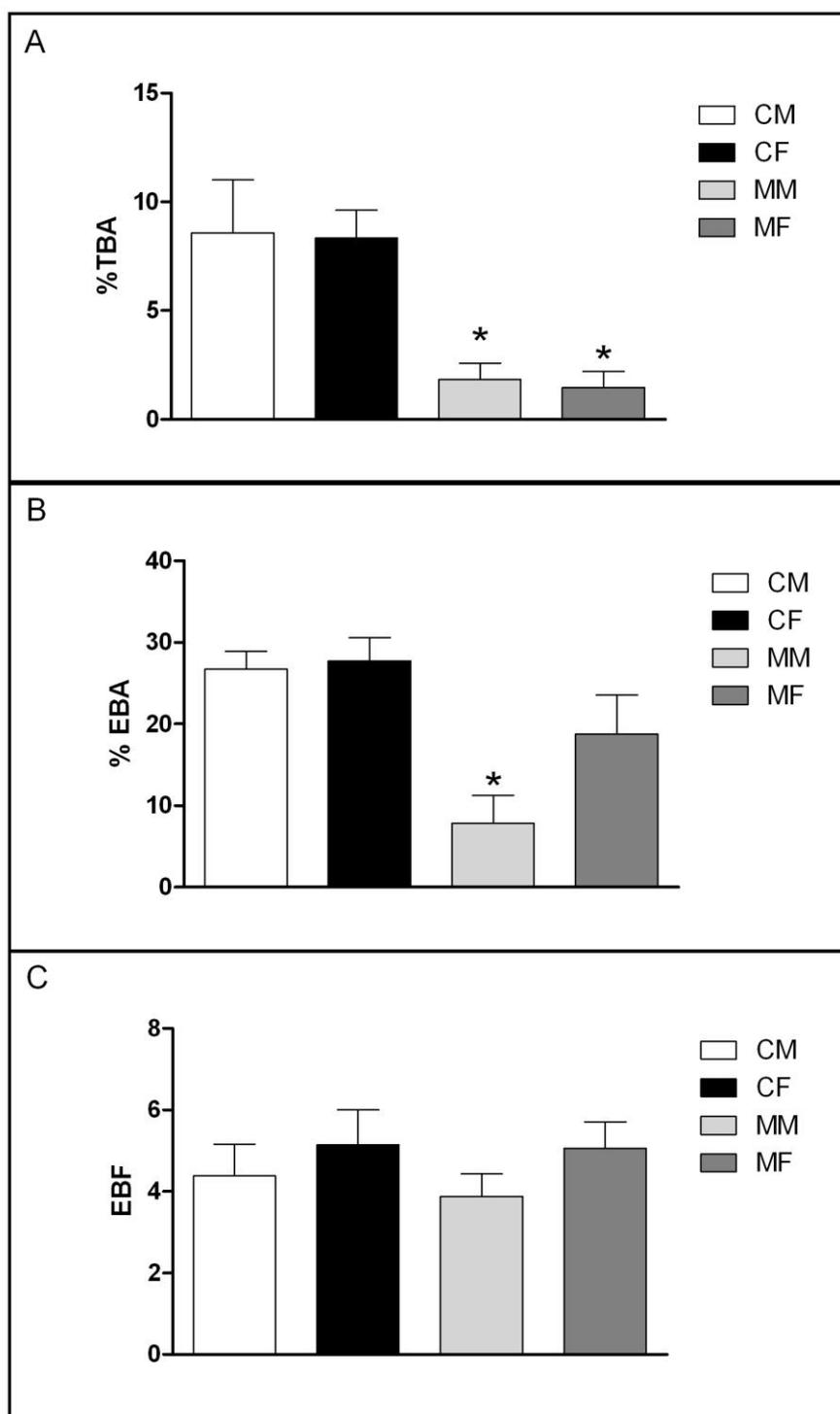


Figura 14 – Efeitos no teste do Labirinto em Cruz Elevado (LCE) da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) Efeitos do tratamento com morfina sobre o percentual de tempo nos braços abertos; B) Efeitos do tratamento com morfina sobre o percentual de entrada nos braços abertos; C) Efeitos do tratamento com morfina sobre o número de entrada nos braços. Os grupos considerados foram controle salino macho (CM-1 mL/kg/dia), controle salino fêmea (CF-1 mL/kg/dia), morfina macho (MM-10mg/kg/dia), morfina fêmea (MF-10mg/kg/dia). Os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m de 8-10 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle macho ou fêmea, e # $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo morfina macho ou fêmea. ANOVA de uma via seguida do Teste de Turkey.

4.2.3 NADO FORÇADO

No modelo do nado forçado, foi verificado, a partir da análise da figura 15A, o tempo de imobilidade dos animais, período em que o rato mantém apenas os movimentos necessários para manter a cabeça para fora d'água. Neste parâmetro, os machos e fêmeas expostos à morfina durante a gravidez e lactação (MM e MF) apresentaram aumento significativo do tempo de imobilidade, ($p < 0,05$), quando comparados aos seus respectivos controles salinos (CM e CF), indicando possível comportamento do tipo depressivo.

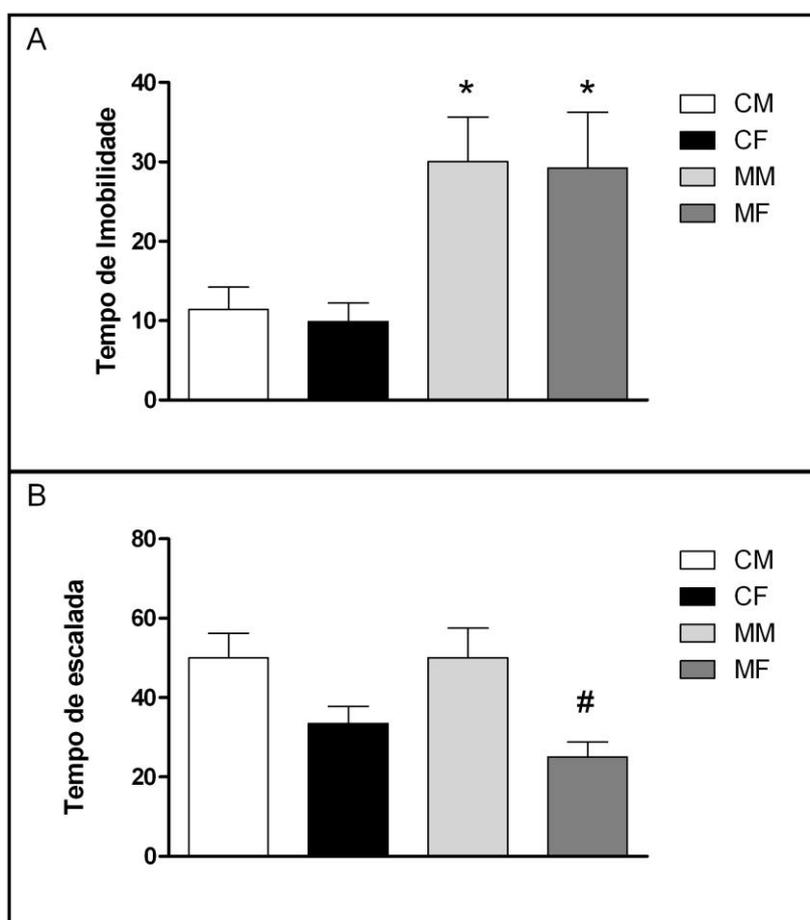


Figura 15 – Efeitos no teste do nado forçado da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) Efeitos do tratamento com morfina sobre o tempo de imobilidade no nado forçado da prole exposta durante o período gestacional e amamentação; B) Efeitos do tratamento com morfina sobre o tempo de escalada no nado forçado da prole exposta durante o período gestacional e amamentação. Os grupos considerados foram controle salino macho (CM-1 mL/kg/dia), controle salino fêmea (CF-1 mL/kg/dia), morfina macho (MM-10mg/kg/dia), morfina fêmea (MF-10mg/kg/dia). Os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m de 8-10 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle macho ou fêmea, e # $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo morfina macho ou fêmea. ANOVA de uma via seguida do Teste de Turkey.

Na figura 15B, os resultados do tempo de escalada no modelo do nado forçado permitem inferir que não houve comprometimento motor dos animais devido à exposição à morfina durante o período gestacional e amamentação, uma vez que o tempo de escalada não foi alterado tanto no grupo dos machos (MM), quanto no grupo das fêmeas (MF), quando comparados aos grupos controle (CM e CF), respectivamente. Houve diferença apenas entre os grupos experimentais (MM e MF), indicando diferenças comportamentais relacionadas ao sexo para este parâmetro.

4.2.4 ROTA-ROD

No teste do rota-rod, as proles foram expostas quatro vezes ao cilindro giratório, com um intervalo de 60 segundos entre cada exposição. Na primeira exposição, os animais foram adaptados ao aparato desenvolvendo a aprendizagem motora, nas exposições seguintes foram avaliados a coordenação motora e o equilíbrio destes animais, a partir do tempo para a primeira queda em cada etapa (adaptado de SHARMA et al. 2009).

A partir da análise da figura 16A, é possível observar que o tempo de queda na primeira etapa, após a adaptação, foi semelhante entre as proles expostas à morfina durante o período pré-natal e lactação (MF e MM) e seus respectivos controles (CF e CM). Resultados semelhantes são observados na figura 16B e 16C, as quais correspondem respectivamente, ao tempo de queda na segunda etapa, e ao tempo de queda na terceira etapa.

Estes resultados indicam que a exposição à morfina durante o período de gravidez e lactação não promove alterações na coordenação motora e equilíbrio destes animais.

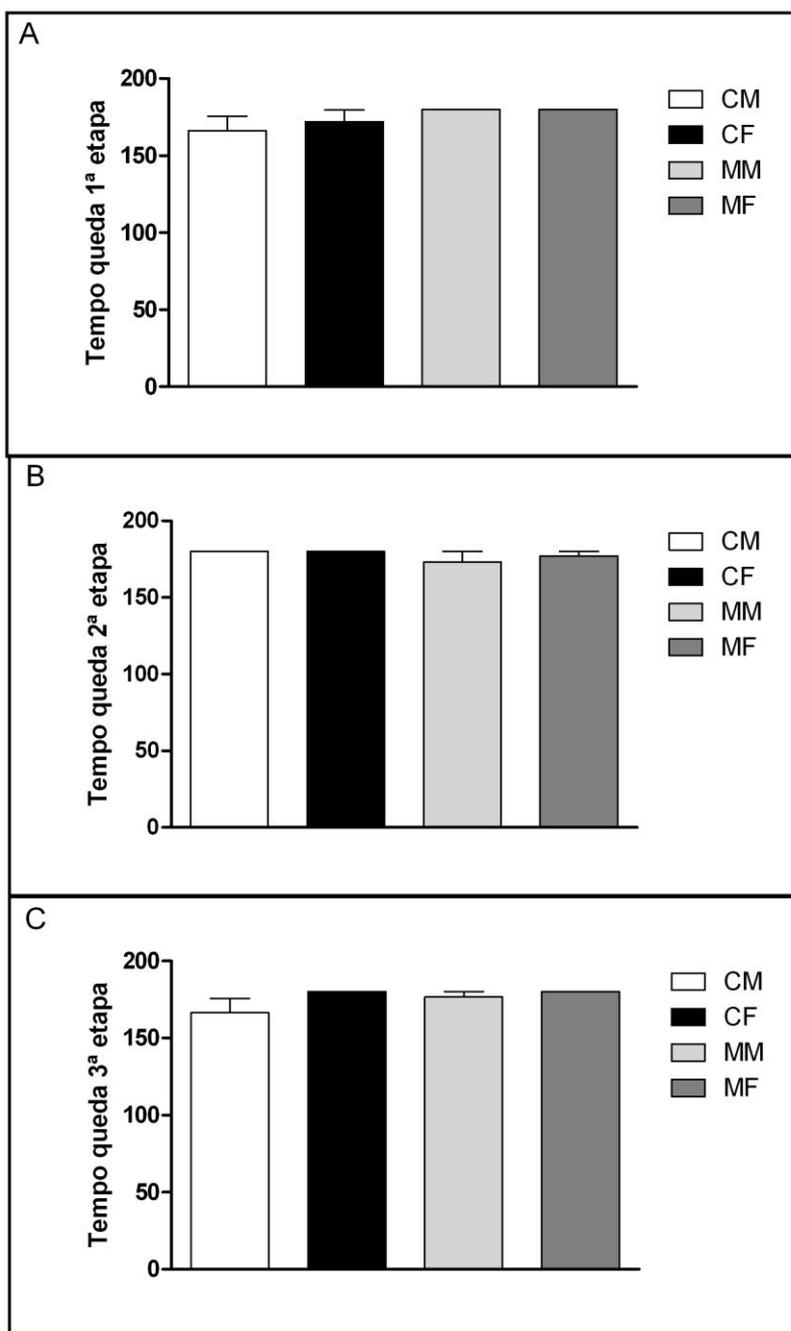


Figura 16 – Efeitos no teste do rota-rod da prole de ratas expostas à morfina no período intrauterino e lactação. A) Efeitos do tratamento com morfina sobre o tempo de queda na primeira etapa do rota-rod, da prole exposta durante o período gestacional e amamentação; B) Efeitos do tratamento com morfina sobre o tempo de queda na segunda etapa do rota-rod, da prole exposta durante o período gestacional e amamentação; C) Efeitos do tratamento com morfina sobre o tempo de queda na terceira etapa do rota-rod, da prole exposta durante o período gestacional e amamentação. Os grupos considerados foram controle salino macho (CM-1 mL/kg/dia), controle salino fêmea (CF-1 mL/kg/dia), morfina macho (MM-10mg/kg/dia), morfina fêmea (MF-10mg/kg/dia). Os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m de 8-10 animais por grupo. * $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo controle macho ou fêmea, e # $p < 0,05$ diferença significativa em relação ao grupo morfina macho ou fêmea. ANOVA de uma via seguida do Teste de Turkey.

V DISCUSSÃO

Neste estudo, foram investigadas as alterações neurocomportamentais em proles expostas à morfina durante o período intrauterino e pós-natal (lactação), sendo avaliados comportamentos relacionados à ansiedade e depressão e prejuízos motores desses animais, bem como alterações no ganho de peso após o nascimento até os dois meses de idade.

A exposição à morfina durante o período de gravidez e amamentação na dose de 10 mg/kg/dia promoveu alterações nos pesos corpóreos dos animais, indicando que a prole exposta ao tratamento não conseguiu acompanhar o ganho de peso do grupo controle mesmo após o desmame. Aos dois meses de idade os animais não apresentaram diferença significativa em relação ao peso corpóreo quando comparados ao grupo controle. Os resultados observados já foram previamente relatados em estudos de Timar et al. (2010) e Klausz et al. (2011).

As alterações no ganho de peso dos animais estão associadas aos problemas físicos, mentais e psicológicos proporcionados pela adição a drogas, tanto nas mães quanto em seus filhotes. O uso abusivo de substâncias psicotrópicas, em geral, afeta o desenvolvimento saudável da gravidez, alterando os hábitos alimentares da mãe, bem como aumenta os riscos de anemia, hipertensão e hepatites. A falta de oxigênio apropriado e fornecimento de nutrientes, devido às alterações na placenta ocasionada pela vasoconstrição sanguínea, podem prejudicar o crescimento do feto, repercutindo em efeitos negativos sobre o recém-nascido. O abuso de drogas também aumenta os riscos de parto prematuro, baixo peso ao nascer e deficiência de crescimento pós-natal (SUSSER, 1993; FAJEMIROKUN-ODUDEYI et al. 2005; MINNES et al. 2011; UNGER et al. 2012, SLAMBEROVÁ, 2012).

A exposição à morfina durante a gravidez pode ocorrer tanto via placentária quanto após o nascimento através do leite materno. Poucos minutos após o uso pela mãe, a morfina aparece no sangue do feto ou recém-nascido e após uma hora, os níveis da droga ultrapassam a concentração observada nas mães, devido à capacidade limitada de degradação do fígado de recém-natos. Durante o primeiro mês de vida, os filhotes apresentam atividade hepática ainda reduzida, além de serem amamentados até o 21º dia após o nascimento. Desta forma, os efeitos da exposição à morfina tornam-se menos pronunciados somente após este período, o que pode justificar a ausência de diferenças significativas em relação ao peso corpóreo aos dois meses de idade dos filhotes quando comparados ao grupo controle (OBERLANDER et al. 2000; KARCH, 2002; SLAMBEROVÁ, 2012).

A partir da análise comportamental, utilizando o modelo do campo aberto, foi possível observar que os machos expostos à morfina durante a gravidez e lactação não apresentaram alterações na locomoção espontânea, diferindo do grupo das fêmeas expostas ao mesmo tratamento, que aumentaram significativamente a deambulação no aparato, quando comparadas às fêmeas do grupo controle e aos machos expostos à intoxicação. Os resultados sugerem que a exposição intrauterina a morfina promove hiperlocomoção nas fêmeas.

No labirinto em cruz elevado, modelo experimental específico para a análise e determinação de efeito ansiolítico de drogas, a diminuição na proporção das entradas e do tempo de exploração dos braços abertos evidencia aumento do comportamento do tipo ansiogênico dos animais (PELLOW et al. 1985). Os resultados deste trabalho indicam que os machos e fêmeas expostos à morfina intrauterina e pós-natal (lactação) apresentaram redução em pelo menos um parâmetro avaliado no teste. Os machos alteraram tanto o percentual de entradas como no tempo despendido nos braços abertos, indicando aumento do componente ansiogênico decorrente da exposição. As fêmeas expostas à morfina durante o período pré-natal e lactação reduziram o tempo de exploração dos braços abertos, porém não houve diferença significativa do percentual de entradas nos braços abertos neste grupo, quando comparados ao grupo controle, o que demonstra possível atividade do tipo ansiogênica.

Drogas ansiolíticas aumentam a exploração dos braços abertos sem promoverem alteração na atividade locomotora dos animais (LISTER, 1987; CAROBREZ; BERTOGLIO, 2005). De acordo com Graeff et al. (1993), as drogas ansiolíticas que atuam sobre o sistema serotoninérgico não apresentam efeito ansiolítico no LCE, podendo apresentar até mesmo efeito ansiogênico.

O tratamento crônico com morfina induz a um estado de estresse crônico nas mães, causando hiperatividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA), que por sua vez pode reprogramar o desenvolvimento do referido eixo na prole. A ativação aumentada da HPA promove aumento da secreção do hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) pela pituitária, o qual estimula a secreção de glicocorticoides, conhecidos como hormônios do estresse, caracterizando-se como fatores importantes nas doenças psiquiátricas, como ansiedade e depressão (JURUENA et al. 2004; WEAVER et al. 2004; DOMOKOS et al., 2008; SOBOR et al. 2010; KLAUSZ et al. 2011).

Os transtornos de ansiedade podem ser considerados como desordens de defesa, sendo que as respostas defensivas variam de acordo com fatores específicos do estímulo ameaçador e das oportunidades comportamentais disponíveis. Os animais também podem demonstrar sinais de medo como congelamento, defecação e micção, além do aumento do nível plasmático de cortisona, o hormônio do estresse (BLANCHARD et al. 1990; DEAKIN; GRAEFF, 1991; GRAEFF; GUIMARÃES, 1999).

A prole exposta à morfina intrauterina desenvolve respostas comportamentais ao estresse as quais são gênero-específicas. Os hormônios sexuais organizam a circuitaria neuronal envolvida em funções neuroendócrinas e comportamentais, sendo responsáveis pelas diferenças existentes entre os gêneros, como tamanho de certas áreas cerebrais, conexões sinápticas, concentrações e atividade de neurotransmissores. O desenvolvimento de neurônios dopaminérgicos e noradrenérgicos diferem morfológica e funcionalmente na ausência de esteróides sexuais, sendo que nos machos ocorre aumento da atividade noradrenérgica no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) e *locus coeruleus* (LC), ambos envolvidos a estruturas límbicas e relacionados ao comportamento afetivo, sendo a PVN reguladora central do eixo HPA; enquanto que nas fêmeas, ocorre redução de norepinefrina em todas essas áreas relacionadas ao estresse. Tais alterações sexuais no desenvolvimento do cérebro poderiam explicar algumas das diferenças no comportamento de machos e fêmeas tanto em condições normais como em condições estressantes, como no campo aberto, ambiente no qual os machos apresentam menor tempo de deambulação e maiores índices de defecação, enquanto que as fêmeas, por demonstrarem menor sensibilidade a estímulos externos, comparadas aos machos apresentam locomoção aumentada (BEYER; FEDER, 1987; VATHY; KATAY, 1992; VATHY et al. 1994; VATHY, 2002; WEINSTOCK, 2007).

As alterações produzidas pela exposição crônica à morfina intrauterina não se restringem a um único local do cérebro ou a um único neurotransmissor ou neuromodulador, em vez disso, há amplas mudanças, sendo que no sistema opióide, estas alterações também são influenciadas pelo gênero. O excesso de opióides tais como a morfina durante a gestação, podem modificar a expressão ou ação de fatores tróficos os quais controlam o seu crescimento. Em ratos machos, observa-se uma diminuição da produção de pró-encefalinas na área pré-óptica

medial (MPOA), localizada na região anterior do hipotálamo. A presença de estrogênio aumenta a quantidade de pró-encefalinas em várias regiões do cérebro, indicando que as fêmeas apresentam fisiologicamente maiores quantidades destes opióides endógenos. Porém, quando há exposição intrauterina à morfina, ocorre um bloqueio na indução da produção de pró-encefalinas no núcleo ventromedial do hipotálamo (VMH), reduzindo a quantidade de opióides endógenos nesta região, não afetando outras áreas (VATHY et al. 1995; HNATCZUK; VATHY, 1997; VATHY, 2002; SCHINDLER et al. 2004).

Estes achados poderiam justificar o comportamento do tipo ansiogênico evidenciado tanto em machos quanto nas fêmeas no LCE, além das alterações locomotoras observadas neste estudo, sendo que o aumento da locomoção total das fêmeas no campo aberto pode estar relacionado ao percentual de entradas nos braços abertos do LCE, indicando que as fêmeas não alteraram este parâmetro devido à possível hiperlocomoção, observada no modelo experimental anterior, apesar de terem reduzido o tempo de exploração dos braços abertos, parâmetro que indica o comportamento do tipo ansiogênico no sexo feminino.

No modelo do nado forçado, a exposição à morfina durante a gravidez e lactação promoveu aumento significativo do tempo de imobilidade dos machos e fêmeas quando comparados aos seus respectivos grupos controle. De acordo com Porsolt et al. (1978), Kirby e Lucki (1998) e Cryan et al. (2002), o aumento no tempo de imobilidade é indicativo de comportamentos relacionados à depressão. Os resultados dos estudos de Klausz et al. (2011), indicam que a exposição à morfina promove aumento do comportamento do tipo depressivo na prole, porém há contradição com relação aos níveis de corticosteróides, os quais apresentam-se reduzidos na prole e são importantes hormônios associados à depressão.

A depressão está relacionada à redução da atividade de opióides endógenos, devido à elevada quantidade de receptores localizados no sistema límbico e hipotálamo os quais interagem com os sistemas noradrenérgico e dopaminérgico. A exposição à morfina induz a redução da produção destes receptores endógenos, contribuindo também para o quadro patológico da depressão. O transtorno depressivo maior tem sido associado a níveis mais elevados do hormônio liberador de corticotrofina (CRF) no líquido cefalorraquidiano, sendo elevado também em pacientes com perturbação de estresse pós-traumático (PTSD) (PICKAR et al. 2004; KLAUSZ et al. 2011; VAN'T VEER; CARLEZON JR, 2013).

Desordens emocionais decorrentes de tensões no ambiente familiar ou local de trabalho durante a gravidez têm sido relacionadas a um aumento da incidência de distúrbios comportamentais em crianças, incluindo redução da atividade intelectual e desenvolvimento da linguagem, bem como autismo, déficit de atenção, esquizofrenia, ansiedade e depressão (WOOLLEY, et al. 1997; BEVERSDORF, et al. 2005). Estudos de Burton et al. (2006) indicam que altos níveis plasmáticos de ACTH e cortisol no plasma, observados durante o período de 20 a 30 semanas de gestação foram associados com nascimentos prematuros e baixo peso ao nascer, os quais podem desencadear problemas relacionados à disfunção cognitiva e déficits de atenção (INDER, et al. 2001; WEINSTOCK, 2007).

Outrossim, a prole exposta é propensa a desenvolver transtornos psiquiátricos acompanhados de problemas adaptativos ao longo da vida, devido também a um atraso ou diminuição do comportamento materno, que prejudica o cuidado com a prole (GRIMM; BRIDGES, 1983; SLAMBEROVÁ et al. 2001; YIM et al. 2006; SOBOR et al. 2010). Após o parto, as fêmeas se preocupam com a sobrevivência de seus filhotes, sendo outros comportamentos inibidos, porém, a exposição à morfina induz aumento do comportamento exploratório em detrimento aos cuidados maternos, sendo que as mães gastam mais tempo explorando o ambiente ou caçando do que cuidando da prole (SUKIKARA et al. 2007).

No abuso das drogas, muitas mães negligenciam seus neonatos como consequência da procura pelo consumo da droga, evitando assim os sintomas da síndrome de abstinência. Isto pode ocorrer devido a um aumento da regulação (*up-regulation*) de receptores opióides em áreas cerebrais relacionadas ao comportamento materno (MIRANDA-PAIVA et al. 2001; SOBOR et al. 2010).

Desta forma, estudos demonstram que a exposição à morfina intrauterina interfere no desenvolvimento cognitivo, causando dificuldades de aprendizagem, desatenção, problemas comportamentais e hiperatividade em crianças na fase escolar (ORNOY, 2003; HUNT et al. 2008). Slamberová et al. (2001) associa a exposição pré-natal à morfina a efeitos duradouros sobre o aprendizado, memória e respostas ao stress de ratos adultos. Tais observações nos levam a crer que, neste estudo, a exposição à morfina durante a gravidez e lactação ocasionou alterações comportamentais nas proles de ratas com repercussões para a vida adulta.

VI CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que:

- A exposição à morfina durante a gravidez e o período de amamentação interferiu no desenvolvimento da prole, promovendo redução no ganho de peso dos animais após o nascimento e inclusive após o desmame;
- As fêmeas apresentaram aumento da locomoção espontânea, sugerindo possível hiperlocomoção no sexo feminino após exposição à morfina durante a gravidez e lactação.
- Na investigação de alterações comportamentais relacionadas à ansiedade, foi observado que a exposição à morfina durante a gravidez e lactação promoveu comportamento do tipo ansiogênico independente do sexo;
- A prole apresentou comportamento do tipo depressivo, tanto em machos quanto em fêmeas.

Em conjunto, estes resultados demonstraram que a intoxicação com morfina em ratos, no período do neurodesenvolvimento, causou prejuízos nas análises comportamentais referentes à ansiedade e depressão, porém sem prejuízo motor.

Estudos complementares são necessários para avaliar as vias de sinalização que possam estar alteradas e que possam explicar essas respostas comportamentais encontradas, assim como a identificação dos possíveis mecanismos de ação toxicológicos, investigando também se há perdas neuronais e se fatores apoptóticos e/ou necróticos estão presentes e que justifiquem os resultados observados neste estudo.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, M. S. S. **Análise do comportamento defensivo induzido pela microinjeção do neuropeptídeo substância P na matéria cinzenta periaquedutal dorsal de ratos.** Departamento de Psicologia e Educação, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, 1995.

ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia Fundamentos práticos.** Guanabara Koogan, 2006.

ALVES, H. N. P.; SURJAN, J. C.; NOGUEIRA-MARTINS, L. A.; MARQUES, A. C. P.; RAMOS, S. P.; LARANJEIRA, R. R. Perfil clínico e demográfico de médicos com dependência química. **Rev. Assoc. Med. Bras.** 2005.

APA – American Psychiatric Association. **Diagnostic and statistical manual of mental disorders.** Washington, 4ª edição. 2000.

BABBINI, M.; DAVIS, W. M. Time-dose relationships for locomotor activity effects of morphine after acute or repeated treatment. **Br. J. Pharmacol.** 46, p. 213–223, 1972.

BALLANTYNE, J. C.; MAO, J. Opioid therapy for chronic pain. **N Engl J Med**, 349, p. 1943-1953, 2003.

BEITZ, A. J. The organization of afferent projections to the midbrain periaqueductal gray of the rat. **Neuroscience**, 7 (1), p. 133-159, 1982.

BERRIDGE, K. C. Motivation concepts in behavioral neuroscience. **Physiology and behavior**, 81, p. 179-209, 2004.

BEVERSDORF, D. Q.; MANNING, S. E.; HILLIER, A.; ANDERSON, S. L.; NORDGREN, R. E.; WALTERS, S. E.; NAGARAJA, H. N.; COOLEY, W. C.; GAELIC, S. E.; BAUMAN, M. L. Timing of prenatal stressors and autism. **J Autism Dev Disord**, 35, p. 471-478, 2005.

BEYER, C.; FEDER, H. H. Sex steroids and afferent input: Their roles in brain sexual differentiation. **Ann. Rev. Physiol.**, 49, p. 349-364, 1987.

BIENKOWSKI, P.; KOSTOWSKI, W.; KOROS, E. The role of drug-paired stimuli in extinction and reinstatement of ethanol-seeking behavior in the rat. **Eur. J. Pharmacol**, 374, p. 315-319, 1999.

BLANCHARD, D. C.; BLANCHARD, R. J.; REDGERS, R. J. Pharmacological and neural control of anti-pradator defense in the rat. **Aggressive Behavior**, 16, p. 165-175, 1990.

BLOOR, B. C.; MAZE, M.; SEGAL, I. Interaction between adrenergic and opioid pathways. In: ESTAFANOUS, F. G. **Opioids in Anesthesia II.** Butterworth-Heinemann, Boston, p. 34-46, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Formulário terapêutico nacional/ Rename.** Brasília, 2ª ed, 2010.

BROUSSARD C. S.; RASMUSSEN S. A.; REEFHUIS J.; FRIEDMAN J. M.; JANN M. W.; RIEHLE-COLARUSSO T.; HONEIN M. A. Maternal treatment with opioid analgesics and risk for birth defects. **Am J Obstet Gynecol** , 204, 314, p. 1-11, 2011.

BRUERA, E.; KIM, H. N. Cancer pain. **JAMA**, 290, p. 2476-2479, 2003.

BRUNTON, P. J.; RUSSELL, J. A. The expectant brain: adapting for motherhood. **Nat Rev**, 9, p. 11–25, 2008.

BURTON, C.; LOVIC, V.; FLEMING, A. S. Early adversity alters attention and locomotion in adult Sprague-dawley rats. **Behaviour Neuroscience**, 120, p. 665-675, 2006.

CAHILL, L.; BABINSKY, R.; MARKOWITSCH, H. J.; MACGAUH, J. L. The amygdala and emotional memory. **Nature**, 377, p. 295-296, 1995.

CARLINI, E. A. (supervisão); et al. **II Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas psicotrópicas no Brasil: Estudo envolvendo as 108 maiores cidades do País**. Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID). Secretaria Nacional Antidrogas (SENAD). São Paulo, 2005. Disponível em: www.obid.senad.gov.br. Acesso em: 20 jan. 2013.

CAROBREZ, A. D.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 29, p. 1193-1205, 2005.

CHIANG, Y. C.; HUNG, T. W.; LEE, C. W. S.; YAN, J. Y.; HO, I. K. Enhancement of tolerance development to morphine in rats prenatally exposed to morphine, methadone, and buprenorphine. **Journal of Biomedical Science**, 17, p. 46, 2010.

CHOOA, R. E; HUESTIS, J. R.; SCHROEDER, A. S.; SHIN, A. S.; JONES, H. E. Neonatal abstinence syndrome in methadone-exposed infants is altered by level of prenatal tobacco exposure. **Drug Alcohol Depend**, 75, p. 253-260, 2004.

COMPTON, W. M.; VOLKOW, N. D. Abuse of prescription drugs and the risk of addiction. **Drug and Alcohol Dependence**, 2006.

CORDEIRO, D. C. Tratamento farmacológico da intoxicação aguda por opióides. In: DIEHL, A.; CORDEIRO, D. C.; LARANJEIRA, R. **Tratamento farmacológico para dependência química da evidência científica à prática clínica**. Porto Alegre, Artmed, p. 215-222, 2010.

CRUZ, A. M.; MAIORKA, P. C.; CANTERAS, N.; SUKIKARA, M. H.; FELÍCIO, L. F. Morphine treatment during pregnancy modulates behavioral selection in lactating rats. **Physiology and Behavior**, 101, p. 40–44, 2010.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Pharmacological Sciences**, n.23, p.238-245, 2002.

DEAKIN, J. F. W.; GRAEFF, F. G. 5-HT and mechanisms of defence. **Journal of Psychopharmacology**, 5, p. 305-315, 1991.

DEGENHARDT, L.; HALL, W. Extent of illicit drug use and dependence, and their contribution to the global burden of disease. **Lancet**, vol. 379, 2012.

DEGENHARDT, L.; KINNER, S. A.; ROXBURGH, A.; BLACK, E.; BRUNO, R.; FETHERSTON, J.; FRY, C. L. Drug use and risk among regular injecting drug users in Australia: does age make a difference? **Drug Alcohol Rev**, 27, p. 357-60, 2008.

DI CHIARA, G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. **Drug Alcohol Depend**, 38, p. 95-137, 1995.

DOHLER, K. D. The pre- and postnatal influence of hormones and neurotransmitters on sexual differentiation of the mammalian hypothalamus. **Int. Rev. Cyt.**, 131, p. 1 – 75, 1991.

DOMOKOS, A.; MERGL, Z.; BARNA, I.; MAKARA, G. B.; ZELENA, D. Congenital vasopressin deficiency and acute and chronic opiate effects on hypothalamo-pituitary-adrenal axis activity in Brattleboro rats. **J. Endocrinol.**, 196, p. 113-121, 2008.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. **J Am Pharm.**, 46, p 208-209, 1957.

FAJEMIROKUN-ODUDEYI, O.; SINHA, C.; TUTTY, S.; PAIRAUDEAU, P. ARMSTRONG, D.; PHILLIPS, T.; LINDOW, S. W. Pregnancy outcome in women who use opiates. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, 126, p. 170-175, 2005.

FERREIRA, D. T.; FACCIÓN, M. Opiáceos, Opióides de ação analgésica e antagonistas. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 125-136, 2005.

FRANCIS, R. J.; FRANKLIN, J. E. Transtorno por uso de álcool y otras sustancias psicoativas. In: HALES, R. E.; YUDOFKY, S. C.; TALBOTT, J. A. **Tratado de Psiquiatria**. Barcelona, p. 373-434, 1995.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica - Fundamentos da Terapêutica Racional**, Rio de Janeiro. 2a ed. Guanabara Koogan. Unidade 4, Seção 1, cap. 19, p. 172-176, 1998.

GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Seção IV, cap. 23, p. 379-402, 2003.

GILMAN, A.G.; RALL, T.W.; NIES, A.S.; TAYLOR, P. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Seção IV, cap. 23, 2005.

GOLAN, D. E.; TASHIJIAN, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia – A base fisiopatológica da farmacoterapia.** Guanabara Koogan, 2ª ed., 2009.

GOMEZ, R. **Efeitos de antidepressivos ou do nado forçado sobre parâmetros gabaérgicos e de glicose em ratos não diabéticos e diabéticos por estreptozotocina.** Porto Alegre, 2003.

GOULD, T. J. Addiction and cognition. **Addiction science e clinical practice**, 2010.

GOZZANI, J. L. Opióides e antagonistas. **Rev Bras Anestasiol**, 44, 1, p. 65-73, 1994.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S. **Fundamentos de Psicofarmacologia.** Ed. Atheneu, São Paulo, p. 246, 1999.

GRAEFF, G. G.; VIANA, M. B.; TOMAZ, C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, 26, p. 67-70, 1993.

GRIMM, C. T.; BRIDGES, R. S. Opiate Regulation of Maternal Behavior in the Rat. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 19, p. 609-616, 1983.

HALE, M. E; FLEISHMANN, R.; SALZMAN, R. WILD, J.; IWAN, T.; SWANTON, R. E.; KAIKO, R. F.; LACOUTURE, P. G. Efficacy and safety of controlled-release versus immediate-release oxy-codone: randomized, double-blind evaluation in patients with chronic back pain. **Clin J. Pain**, 15, p. 179-183, 1999.

HAMMER, R. P.; ZHOU, J. R; CHEUNG, S. Gonadal steroid hormones and hypothalamic opioid circuitry. **Horm. Behav.**, 28, p. 43 I-7, 1994.

HANDLEY, S. L.; MITHANI, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of “fear” – motivated behavior. **Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology**, vol. 327, p. 1-5, 1984.

HARA, Y.; NAKAJIMA, M.; MIYAMOTO, K. I.; YOKOI, T. Morphine Glucuronosyltransferase activity in human liver microsomes is inhibited by a variety of drugs that are co-administered with morphine. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, 22, p. 103-112, 2007.

HEIL, S. H.; JONES, H. E.; ARRIA, A.; KALTENBACH, K.; COYLE, M.; FISCHER, G.; STINE, S.; SELBY, P.; MARTIN, P. R. Unintended pregnancy in opioid-abusing women. **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 40, nº 2, p. 199–202, 2011.

HYMAN, B. T.; VAN HOESEN, G. W.; DAMASIO, A. R. Memory related neural systems in Alzheimer’s disease: an anatomic study. **Neurology**, 40, p. 1721-1730, 1990.

HNATCZUK, O. C.; VATHY, I. Expression of preenkkephalin mRNA in adult male and female rats treated prenatally with morphine. **Society for Neuroscience Abstracts**, 23, p. 2148, 1997.

HOGG, S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 54, p. 21-30, 1996.

HUNT, R. W.; TZIOUMI, D.; COLLINS, E.; JEFFERY, H. E. Adverse neurodevelopmental outcome of infants exposed to opiate in-utero. **Early Human Development**, 84, p. 29–35, 2008.

INDER, W. J.; PRICKETT, T. C.; ELLIS, M. J.; HULL, L.; REID, R.; BENNY, P. S.; LIVESEY, J. H.; DONALD, R. A. The utility of plasma CRH as a predictor of preterm delivery. **J Clin Endocrinol Metab.**, 86, p. 5706-5710, 2001.

INSIGHT® BRASIL. **Equipamento rota-rod** Disponível em: <http://insightltda.com.br/insight-equipamento-cientifico-108-Rota-Rod-para-Camundongos>. Acesso em: 23 jun. 2012.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, H. J. Memory Formation: The Sequence of Biochemical Events in the Hippocampus and Its Connection to Activity in Other Brain Structures. **Neurobiology of learning and memory**, 68, p. 285–316, 1997.

JAN, S. A. Landscape of Opioid Dependence. **J Manag Care Pharm**, 16(1-b), p. S4-S8, 2010.

JONES, S.; BONCI, A. Synaptic plasticity and drug addiction. **Current opinion in pharmacology**, vol. 5, nº 1, p. 20-25, 2005.

JURUENA, M. F.; CLEAREA, A. J.; PARIANTEA, C. M. O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. **Rev Bras Psiquiatria**, 26 (3), p. 189-201, 2004.

KALIVAS, P. W.; VOLKOW, N. D. The neural basis of addiction: A pathology of motivation and choice. **American Journal of Psychiatry**, vol. 8, nº 162, p. 1403-1413, 2005.

KAPLAN, H. I.; SADOCK, B. S. **Comprehensive textbook of psychiatry**. Willians e Wilkins, 1995.

KARCH, S. B. Opiates. In: **Karch's Pathology of Drug Abuse**, p. 313-456, 2002.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. Guanabara Koogan, 8 ed. 2003.

KATZUNG, B. G.; **Farmacologia básica e clínica**. Guanabara Koogan, 9ª ed., 2006.

KAUER, J. A.; MALENKA, R. C. Synaptic plasticity and addiction. **Nat. Rev. Neuroscience**, 8, p. 844-858, 2007.

KELLEY, A. E. Memory and addiction: Shared neural circuitry and molecular mechanisms. **Neuron**, vol. 1, nº 44, p. 161-179, 2004.

KIM, M. N.; DURDURAN, T.; EDLOW, B. L.; BUCLEY, E. M.; MESQUITA, R. C.; GRADY, M. S.; LEVINE, J. M.; GREENBERG, J. H.; DETRE, J. A.; YODH, A. G. Diffuse optical measurements of cerebral blood flow and blood oxygenation during head elevation in healthy and brain injured adults. **Biomedical optics**, 2010.

KIRBY, L.G.; LUCKI, I. The effect of repeated exposure to forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine in the rat. **Stress**, 2, p. 251-263, 1998.

KLAUSZ, B.; PINTÉR, O.; SOBOR, M.; GYARMATI, Z.; FÜRST, Z.; TÍMÁR, J.; ZELENA, D. Changes in adaptability following perinatal morphine exposure in juvenile and adult rats. **European Journal of Pharmacology**, 654, p. 166–172, 2011.

KOOB, G. F. A role for brain stress systems in addiction. **Neuron**, 59, p. 11–34, 2008.

KOOB, G. F.; KREEK, M. J. Stress, dysregulation of drug reward pathways, and the transition to drug dependence. **Am J Psychiatry**, 164, p. 1149-1159, 2007.

KOOB, G. F.; LE MOAL, M. Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. **Science**, 278, p. 52–58, 1997.

KOOB, G. F.; VOLKOW, N. D. Neurocircuitry of Addiction. **Neuropsychopharmacology**, 35, p. 217-238, 2010.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LANDMAN, M. T. R. L.; LIMA, T. C. M. **Métodos de avaliação da atividade farmacológica de Plantas Medicinais**. Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais, p. 69-79, 2003.

LE MOAL, M.; KOOB, G. F. Drug addiction: Pathways to the disease and pathophysiological perspectives. **European neuropsychopharmacology**, vol. 17, nº 6-7, p. 377-393, 2007.

LEE, J. L. Memory reconsolidation mediates the strengthening of memories by additional learning. **Nat. Neurosci.**, 11, p.1264-6, 2008.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios**. São Paulo, Atheneu, 2ª edição, 2005.

LEVRAN, O.; YUFEROV, V.; KREEK, M. J. The genetics of the opioid system and specific drug addictions. **Hum Genet**, 2012.

LISTER, R. G. The use of a plus maze to measure anxiety in the mouse. **Psychopharmacology**, 92, p. 180-185, 1987.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia funcional**. São Paulo, Atheneu, 2ª edição, 2006.

MAIER, C.; HILDEBRANDT, J.; LINGER, R.; HENRICH-EBERL, C.; LINDENA, G. Morphine responsiveness, efficacy and tolerability in patients with chronic non-tumor associated pain-results of a double-blind placebo-controlled trial. **Pain**, 97, p. 223-233, 2002.

MAMELI, M.; LUSCHER, C. Synaptic plasticity and addiction: Learning mechanisms gone awry. **Neuropharmacology**, 61, p. 1052-1059, 2011.

MANCHIKANTI, L.; SINGH, A. Therapeutic Opioids: A ten-year perspective on the complexities and complications of the escalating use, abuse, and nonmedical use of opioids. **Pain Physician, Opioid special issue**, 11, p. 63-88, 2008.

MANN, P. E.; KINSLEY, C. H.; BRIDGES, R. S. Opioid receptor subtype involvement in maternal behavior in lactating rats. **Neuroendocrinology**, 53, p. 487-92, 1991.

MYERS, K. M.; DAVIS, M. Behavioral and neural analysis of extinction. **Neuron**, 36, p. 567-584, 2002.

MINNES, S.; LANG, A.; SINGER, L. Prenatal tobacco, marijuana, stimulant, and opiate exposure: Outcomes and practice implications. **Addiction science e Clinical practice**, 2011.

MINOZZI, S.; AMATO, L.; VECCHI, S.; DAVOLI, M. Maintenance agonist treatments for opiate dependent pregnant women. **Cochrane Database Syst Rev**, 16, 2, 2008.

MIRANDA-PAIVA, C. M.; NASELLO, A. G.; YIN, A. J.; FELÍCIO, L. F. Morphine pretreatment increases opioid inhibitory effects on maternal behavior. **Brain Res Bull**, 55, p. 501-5, 2001.

MONTGOMERY, K. C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. **Journal of Comparative Physiology and Psychology**, n. 48, p. 254-260, 1995.

MOORE, B. C.; EASTON, C. J.; MCMAHON, T. J. Drug abuse and intimate partner violence: a comparative study of opioid dependent fathers. **American Journal of Orthopsychiatry**, 81, p. 218-227, 2011.

MORATO, S. BRANDÃO, M. L. Paradoxal increase of exploratory behaviour in the elevated plus-maze by rats exposed to two kinds of aversive stimuli. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol. 30, p. 1113-1120, 1997.

NESTLER, E. J. Is there a common molecular pathway for addiction? **Nature neuroscience**, vol. 8, nº 11, p. 1445-1449, 2005.

NSDUH – **Resultados da Avaliação Nacional de Uso de Drogas e Saúde**. Disponível em <https://nsduhweb.rti.org/>. Acesso em: 23 jun 2012.

OBERLANDER, T. F.; ROBESON, P.; WARD, V.; HUCKIN, R. S.; KAMANI, A.; HARPUR, A.; MCDONALD, W. Prenatal and breast milk morphine exposure following maternal intrathecal morphine treatment. **J Hum Lact**, 16, p. 137-142, 2000.

ORNOY, A. The impact of intrauterine exposure versus postnatal environment in neurodevelopmental toxicity: long-term neurobehavioral studies in children at risk for developmental disorders. **Toxicology Letters**, p. 171-181, 2003.

PALANGIO, M. NORTHFELT, D. W.; PORTENOY, R. K.; BROOKOFF, D.; DOYLE, R. T.; DORNSEIF, B. E.; DAMASK, M. C. Dose conversion and titration with a novel, once-daily, OROS osmotic technology extended-release hydromorphone formulation in the treatment of chronic malignant or nonmalignant pain. **J Pain Symptom Manage**, 23, p. 355-368, 2002.

PANDOLFO, P.; PAMPLONA, F. A; PREDIGER, R. D.; TAKAHASHI, R.N. Increased sensitivity of adolescent spontaneously hypertensive rats, an animal model of attention deficit hyperactivity disorder, to the locomotor stimulation induced by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2. **Eur J Pharmacol**, n.563, p. 141-148, 2007.

PASSAGLI, M. **Toxicologia forense - teoria e prática**. Campinas, SP, 3^a ed, Millennium Editora, 2011.

PASTERNAK, G. W.; CHILDERS, S. R. **Opiáceos, peptídeos opióides e seus receptores**. In: SHOEMAKER, W. C.; AYRES, S.; GRENVIK, A.; HOLBROOK P. R. 1992.

PATRICK, G.L. **An introduction to medicinal chemistry**. Oxford University Press. 1.^a ed., cap 12, p. 246-280, 1995.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in rat. **J. Neurosci. Meth.**, n.14, p. 149-167, 1985.

PICKAR, D.; CUTLER, N. R.; NABER, D.; POST, R. M.; PERT, C. B.; BUNNEY, J. R.W. E. Plasma opioid activity in manic-depressive illness. **Lancet**, 1, p. 937, 2004.

PORSOLT, R. D.; ANTON, G.; BLAVET, N.; JALFRE, M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. **European Journal of Pharmacology**, n.47, p. 379-391, 1978.

PORSOLT, R. D; LE PICHON, M.; JAFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, 226, p. 730-732, 1977.

PORTENOY, R. K.; LESAGE, P. Management of cancer pain. **Lancet**, 353, p. 1695-1700, 1999.

ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Motivation and Reward. In: **Fundamental Neuroscience**, p. 1245-1258, 1999.

RODGERS, R. J.; COLE, J. C. Anxiety enhancement in the elevated plus-maze by immediate prior exposure to social stressors. **Physiology and Behavior**, 53, p. 383-388, 1993.

ROSS, E. M.; GILMAN, A. G. Pharmacodynamics: mechanisms of drug action and relationship between drug concentration and effect. In: GILMAN, A. G; GOODMAN, L. S.; RALL, T. W.; MURAD, F. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. New York. Macmillan, p. 35-48, 1985.

SAMHSA – **Abuso de Substâncias e Saúde Mental Administração Mental**. Disponível: <http://www.samhsa.gov/>. Acessado em: 23 jun 2012.

SCHINDLER, C. J.; SLAMBEROVA, R.; RIMANOCZY, A.; HNACTZUK, O. C.; RILEY, M. A.; VATHY, I. Field-specific changes in hippocampal opioid mRNA, peptides, and receptors due to prenatal morphine exposure in adult male rats. **Neuroscience**, 126, p. 355–364, 2004.

SHAHAM, Y.; HOPE, B. T. The role of neuroadaptations in relapse to drug seeking. **Nat Neurosci**. 8, p. 1437–1439, 2005.

SHARMA, D. J.; SUNKARIA, A.; BAL, A.; BHUTIA, Y. D.; VIJAYARAGHAVAN, R.; FLORA, S. J. S.; GILL, K. D. Neurobehavioral impairments, generation of oxidative stress and release of pro-apoptotic factors after chronic exposure to sulphur mustard in mouse brain. **Toxicol Appl Pharmacol.**, 240, p 208-218, 2009.

SILVA, P. **Farmacologia**. Rio de Janeiro, 7^a ed, Guanabara Koogan, cap. 47, p.469-482, 2006.

SIMON, E. J. Opioid peptides and their receptors. In: ESTAFANOUS, F. G. **Opioids in Anesthesia II**. Butterworth - Heinemann, p. 20-32, 1991.

Sistemas dopaminérgicos: nigroestriatal, mesolímbico, mesocortical e tuberoinfundibular. Disponível em: <http://pacotraver.files.wordpress.com/2012/04/dopamina>. Acesso em: 21 agos 2013

Sistema límbico cerebral. Disponível em: http://www.guia.heu.nom.br/sistema_limnico.htm. Acesso em: 21 agos 2013.

SLAMBEROVÁ, R. Drugs in pregnancy: the effects on mother and her progeny. **Physiol. Res.**, 61, p. 123-135, 2012.

SLAMBEROVÁ, R.; RIMANÓCZY, A.; CAO, D.; SCHINDLER, C. J.; VATHY, I. Alterations of prenatal morphine exposure in μ -opioid receptor density in hypothalamic nuclei associated with sexual behavior. **Brain Research Bulletin**, 65, p. 479–485, 2005.

SLAMBEROVÁ, R.; SZILAGYI, B.; VATHY, I. Repeated morphine administration during pregnancy attenuates maternal behavior. **Psychoneuroendocrinology**, 26, p. 565–76, 2001.

SOBOR, M.; TIMÁR, J.; RIBA, P.; KIRÁLY, K.; GYARMATI, S.; AL-KHRASANI, M.; FURST, S. Does the effect of morphine challenge change on maternal behavior of dams chronically treated with morphine during gestation and further on during lactation? **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 95, p. 367-374, 2010.

SUKIKARA, M. H.; PLATERO, M. D.; CANTERAS, N. S.; FELÍCIO, L. F. Opiate regulation of behavioral selection during lactation. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, 87, p. 315–320, 2007.

SUSSER, M. Effects of in utero exposure to street drugs. **Am. J. Public Health**, 83, p. 1-32, 1993.

SWIFT, R. M.; LEWIS, D. C. Farmacologia da dependência e abuso de drogas. In: GOLAN, D. E.; TASHIJIAN, A. H.; ARMSTRONG, E. J.; ARMSTRONG, A. W. **Princípios de Farmacologia – A base fisiopatológica da farmacoterapia**. Guanabara Koogan, 2ª ed., 2009.

TAO, P. L.; CHEN, C. F.; HUANG, E. Y. K. Dextromethorphan attenuated the higher vulnerability to inflammatory thermal hyperalgesia caused by prenatal morphine exposure in rat offspring. **Journal of Biomedical Science**, 18, p. 64, 2011.

TEODOROV, E.; TOMITA, A. T.; BANON, G. P.; GIL, I. G.; BERNARDI, M. M.; FELÍCIO, L. F. Behavioral effects of acute stimulation of kappa-opioid receptors during lactation. **Pharmacol Biochem Behav**, 90 (4), p. 534-539, 2008.

TIMÁR, J.; SOBOR, M.; KIRÁLY, K. P.; GYARMATI, S.; RIBA, P.; ALKHRASANI, M.; FURST, S. Peri, pre and postnatal morphine exposure: exposure-induced effects and sex differences in the behavioural consequences in rat offspring. **Behav. Pharmacol.**, 21, p. 58–68, 2010.

TORTORA, G. J. **Princípios de anatomia e fisiologia**. Guanabara Koogan, 9ª ed., 2008.

TREIT, D., MENARD, J. ROYAN, C. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, vol. 44, p 463-469, 1993.

TRESCOT, A. M.; DATTA, S. LEE, M.; HANSEN, H. Opioid Pharmacology. **Pain Physician: Opioid Special Issue**, 2008.

UNGER, A.; METZ, V.; FISCHER, G. Opioid Dependent and Pregnant: What Are the Best Options for Mothers and Neonates? **Obstetrics and Gynecology International**, 2012.

VAN HOESEN, G. W. Neural systems of the non-human primate forebrain implicated in memory. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 444, p. 97-112, 1985.

VAN'T VEER, A.; CARLEZON JR., W. A.; Role of kappa-opioid receptors in stress and anxiety-related behavior. **Psychopharmacology**, 2013.

VATHY, I. Prenatal opiate exposure long-term CNS consequences in the stress system of the offspring. **Psychoneuroendocrinology**, 27, p. 273–283, 2002.

VATHY, I.; KATAY, L. Effects of prenatal morphine on adult sexual behavior and brain catecholamines in rats. **Developmental Brain Research**, 68, p. 125-131, 1992.

VATHY, I.; RIMANOCZY, R. C.; EATON, L. K. Modulation of catecholamine turnover rate in brain regions of rats exposed prenatally to morphine. **Brain Res.**, 662, p. 209–215, 1994.

VATHY, I.; RIMANOCZY, A. EATON, L. K. Sex dimorphic alterations in postnatal brain catecholamines after gestational morphine. **Brain Research Bulletin**, vol. 36, n°2, p. 185-193, 1995.

VATHY, I.; SLAMBEROVA, R.; RIMANOCZY, A.; RILEY, M. A.; BAR, N. Autoradiographic evidence that prenatal morphine exposure sex-dependently alters mu-opioid receptor densities in brain regions that are involved in the control of drug abuse and other motivated behaviors. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry** 27, p. 381–393, 2003.

VELISEK, L.; VELISKOVÁ, J.; MOSHÉ, S. L.; VATHY, I. Prenatal morphine exposure alters ovarian steroid hormonal regulation of seizure susceptibility. **Brain Research**, p. 247–256, 1998.

VOLKOW, N.; LI, T. The neuroscience of addiction. **Nature neuroscience**, vol. 8, n° 11, p. 1429-1430, 2005.

VORHEES, C. V. Concepts in teratology and developmental toxicology derived from animal research. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 562, p. 31–41, 1989.

VUCINOVIC, M.; ROJE, D.; VUCINOVIC, Z.; CAPKUN, V.; BUCAT, M.; BANOVIC, I. Maternal and Neonatal Effects of Substance Abuse during Pregnancy: Our Ten-year Experience. **Yonsei Med J**, 49, 5, p. 705 - 713, 2008.

WALSH, R. N.; CUMMINS, R. A. The Open-Field Test: a critical review. **Psychol Bull**, 83, p. 482-504, 1976.

WEAVER, I. C.; CERVONI, N.; CHAMPAGNE, F. A.; D'ALESSIO, A. C.; SHARMA, S.; SECKL, J. R.; DYMOV, S.; SZYF, M.; MEANEY, M. J. Epigenetic programming by maternal behavior. **Nat. Neurosci.** 7, 847–854, 2004.

WEINSTOCK, M. Gender differences in the effects of prenatal stress on brain development and behavior. **Neurochem. Res.**, 32, p. 1730-1740, 2007.

WEISS, F.; PARSONS, L. H.; SCHULTEIS, G.; HYYTIA, P.; LORANG, M. T.; BLOOM, F. E.; KOOB, G. F. Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. **J Neurosci**, 16, p. 3474–3485, 1996.

WILSON G. S.; MCCREARY, R.; KEAN, J.; BAXTER, J. C. The development of preschool children of heroin-addicted mothers: a controlled study. **Pediatrics**, 63, p. 135-141, 1979.

WINKLBAUR, B.; KOPF, N.; EBNER, N.; JUNG, E.; THAU, K.; FISCHER, G. Treating pregnant women dependent on opioid is not the same as treating pregnancy and opioid dependence: a knowledge synthesis for better treatment for women and neonates. **Addiction**, 103, p. 1429-1440, 2008.

WINKLBAUR, B.; JUNG, E.; FISCHER, G. Opioid dependence and pregnancy. **Current opinion in Psychiatry**, 21, p. 255-259, 2008.

WISE, R. A.; BOZARTH, M. A. Action of drugs of abuse on brain reward systems: An update with specific attention to opiates. **Pharmacology Biochemistry e Behavior**, vol. 17, p. 239-243, 1982.

WOOLLEY, C. S.; WEILAND, N. G.; Mc EWEN, B. S.; SCHWARTZKROIN, P. A. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor-mediated synaptic input: correlation with dendritic spine density. **J Neurosci**, 17, p. 1848-1859, 1997.

YIM, A. J.; MIRANDA-PAIVA, C. M.; FLORIO, J. C.; OLIVEIRA, C. A. NASELLO, A. G.; FELÍCIO, L. F. A comparative study of morphine treatment regimen prior to mating and during late pregnancy. **Brain Res Bull**, 68, p. 384–91, 2006.

ZHANG, Y.; CHEN, Q.; YU, L. C. Morphine: a protective or destructive role in neurons? **Neuroscientist**, 14, p. 561-570, 2008.

ZHANG, Z. Therapeutic effects of hebal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. **Rev. Life Sciences**, n.75, p.1659-1699, 2004.

ZIMBERKNOPF, E.; XAVIER, G. F.; KINSLEY, C. H.; FELÍCIO, L. F. Prior parity positively regulates learning and memory in young and middle-aged rats. **Comp. Med**, 61 (4), p. 366-377, 2011.

ANEXO

**PARECER BIO049-12**

Projeto: Uso da morfina no período gestacional e lactação: efeitos sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central, comportamento e nocicepção

Coordenador: Professora. Dra. Cristiane do Socorro Ferraz Maia

Área Temática: Farmácia

Vigência: 03/2011 a 03/2013

Nº no CEPAE-UFPA: BIO049-12

O projeto acima identificado foi avaliado pelo Comitê de Ética Em Pesquisa Com Animais de Experimentação da Universidade Federal do Pará (CEPAE). O tema eleito para a investigação e de alto teor científico justificando a utilização do modelo animal proposto. Os procedimentos experimentais utilizados seguem as normas locais e internacionais para tratamento e manipulação de animais de experimentação. Portanto, o CEPAE, através de seu presidente, no uso das atribuições delegadas pela portaria Nº 3988/2011 do Reitor da Universidade Federal do Pará, resolve **APROVAR** a utilização de animais de experimentação nas atividades do projeto em questão, no período de vigência estabelecido. As atividades experimentais fora do período de vigência devem receber nova autorização deste comitê.

Belém, 02 fevereiro de 2011



Prof. Dr. Wallace Gomes Leal
Presidente CEPAE-UFPA