

MARLENE ZANNIN

EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO  
AGUDA E PROLONGADA DE MAZINDOL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS

FLORIANÓPOLIS  
1994

**MARLENE ZANNIN**

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO  
AGUDA E PROLONGADA DE MAZINDOL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS.**

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Santa Catarina para  
obtenção do Título de Mestre  
em Farmacologia.

**FLORIANÓPOLIS  
1994**

**ORIENTADOR**

**Professor. Dr.. Reinaldo N. Takahashi**

Esta dissertação foi realizada nos Laboratórios de Psicofarmacologia da Coordenadoria Especial de Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, durante o curso de Pós-Graduação em Farmacologia.

**"EFEITOS COMPORTAMENTAIS INDUZIDOS PELA  
ADMINISTRAÇÃO AGUDA E PROLONGADA DE MAZINDOL  
EM RATOS MACHOS E FÊMEAS "**

POR

MARLENE ZANIN

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



Prof. Dr. Reinaldo Naoto Takahashi



Prof. Dr. Orlando Amadeo Bueno



Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gina Struffaldi Morato

Florianópolis, julho de 1994.

## **AGRADECIMENTOS**

**Ao professor Dr. Reinaldo N. Takahashi pela orientação, pelo incentivo constante ao ensino e pesquisa e pela paciência nestes anos de orientação e convívio.**

**Aos funcionários da Coordenadoria Especial de Farmacologia pela colaboração, especialmente à Sandra, ao Sr. Amaro e à Josane.**

**À professora Gina Struffaldi Morato da Coordenadoria Especial de Farmacologia, ao Professor Dr. Pedro A. Barbeta, do Departamento de Informática e Estatística, CTC, UFSC, à Nelci e ao Renato pela colaboração na realização dos testes estatísticos.**

**Aos professores da Coordenadoria Especial de Farmacologia, pela contribuição a minha formação científica e pela amizade.**

**Aos professores: Dra. Cláudia, Dra. Rosa, Dr. Mauro e Anicleto, pela oportunidade de retornar aos meios acadêmicos e iniciar os trabalhos de pesquisa.**

**À amiga Cláudia pelo estímulo nas horas difíceis, principalmente pela amizade e colaboração.**

**Minha gratidão especial aos colegas do Centro de Informações Toxicológicas, (CIT, HU, UFSC) Ilton, Margaret, Rosane, Eliane, Paulo, Taíse e a toda a equipe de plantonistas, particularmente aos que assumiram minhas atividades para que eu pudesse realizar este trabalho.**

**Aos administradores da Universidade Federal de Santa Catarina por autorizarem meu afastamento das atividades.**

**Ao meu esposo Cícero, minha mãe Albina e meus irmãos pela força, pelo carinho e pelo incentivo.**

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

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAIS .....	11
1 - Animais.....	11
2 - Drogas .....	11
MÉTODOS E RESULTADOS .....	12
1 - Análise Estatística.....	12
2 - Teste do "Open Field" .....	12
2.1 - Equipamento e Procedimento.....	13
2.2 - Resultados .....	13
2.2.1 - Locomoção.....	13
2.2.2 - Levantar .....	15
3 - Teste de Avaliação da Preferência Condicionada de Lugar .....	17
3.1 - Equipamento .....	18
3.2 - Procedimento I.....	18
3.3 - Resultados.....	19
3.4 - Procedimento II.....	21
3.4 - Resultados .....	22
4 - Teste do Labirinto em Cruz Elevado .....	22
4.1 - Equipamento e Procedimento .....	24
4.2 - Resultados.....	25
5 - Medida da Temperatura Corporal .....	30
5.1 - Resultados.....	30
DISCUSSÃO.....	33
CONCLUSÕES.....	44
RESUMO .....	45
ABSTRACT.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS .....	70

## INTRODUÇÃO

O estudo da tolerância e da sensibilização a os efeitos comportamentais de drogas, bem como os mecanismos de recompensa e de dependência, vêm recebendo uma atenção especial por parte dos pesquisadores interessados nas conseqüências da exposição prolongada de drogas que agem no Sistema Nervoso Central (SNC). As drogas mais intensamente estudadas têm sido aquelas usadas em tratamentos, tais como opióides para a dor, neurolépticos e antidepressivos em doenças mentais, anticonvulsivantes nas epilepsias e estimulantes na obesidade; ou também usadas para fins de abuso, tais como etanol, morfina, anfetamina e cocaína (Stewart e Badiani, 1993).

Evidências consideráveis sugerem que as drogas inibidoras do apetite usadas no tratamento da obesidade, enquadram-se em duas amplas categorias farmacológicas: a) com atuação no sistema de neurotransmissão das catecolaminas, especialmente dopamina. Exemplos: dietilpropiona, mazindol, fenilpropanolamina e fentermina; b) ou agindo no sistema serotoninérgico. Por exemplo: fenfluramina, fluoxetina, dexfenfluramina (Angel, 1990; Kruk e Zarrindast, 1976; Zambotti et al., 1976; Leibowitz, 1990; Ziance et al., 1972).

A anfetamina (fenilpropanolamina) foi a primeira droga introduzida na prática clínica para o tratamento da obesidade e é o protótipo do grupo que age no sistema catecolaminérgico. Apesar de bem estudada, é uma droga complexa e seus efeitos farmacológicos e toxicológicos não estão completamente elucidados. Sabe-se, por exemplo, que a anfetamina é uma substância simpatomimética e que entre seus efeitos periféricos estão a aceleração dos batimentos cardíacos e o aumento da pressão sanguínea arterial. Entretanto, seu efeito predominante ocorre a nível do

SNC causando, entre outras ações, o estado de alerta, elevação do estado de ânimo, aumento da atividade motora, diminuição da sensação de fadiga e diminuição do apetite (Graeff, 1990). Em animais de laboratório, as anfetaminas alteram vários comportamentos; em particular, aumentam a atividade motora, induzem respostas estereotipadas, reduzem o apetite e funcionam como recompensa, reforçando os comportamentos que produzem sua auto-administração (Moore, 1978). Possivelmente, devido a estas propriedades reforçadoras, tornou-se largamente consumida como droga de abuso. Portanto, muitos países adotaram medidas rigorosas no sentido de controlar sua comercialização (Nappo, 1992). O governo japonês, por exemplo, após o grande abuso de anfetaminas ocorrido nas décadas de 50 e 70, com um saldo de 550.000 usuários crônicos, banuiu-as de uso e criou penalidades severas para os transgressores (Tamura, 1989). A Inglaterra define claramente a restrição de seu uso terapêutico, na British National Formulary (1990):

"As anfetaminas têm uma utilização limitada e esta deve ser desencorajada, pois podem causar dependência e estados psicóticos. Sendo que o uso destas drogas não é justificado nos tratamentos da depressão e da obesidade".

No Brasil, o controle deficiente estabelecido pelas autoridades brasileiras da área da saúde (Carlini e Masur, 1986) sobre estes anorexígenos, permite que os mesmos estejam entre as três primeiras drogas psicotrópicas mais consumidas com propósitos não terapêuticos por estudantes brasileiros (Carlini et al., 1990). O recente relato de Nappo (1992) sobre o consumo de drogas tipo-anfetamina nos anos de 1988 e 1989, com base nos dados contidos nos documentos oficiais do Ministério da Saúde referentes ao setor produtivo de medicamentos que se utiliza destas substâncias (indústrias e farmácias de manipulação), constatou que o mazindol apresentou o maior número de DDDs (dose diária definida) consumidas

por mil habitantes / dia no ano de 1988, e foi a droga mais utilizada em receitas magistrais nos anos de 1988 e 1989. (Nappo, 1992).

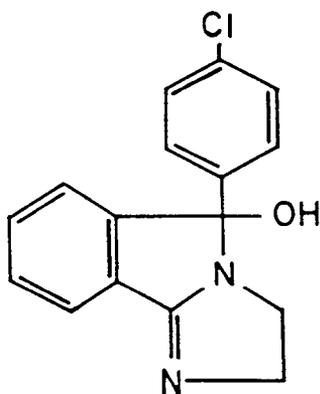


Figura 1. Estrutura química do mazindol

O mazindol (5-hidroxi-5-*p*-clorofenil-2,3-dihidro-5H-imidazo-2,1-*d*-isoindol), figura 1 é um composto, cuja estrutura química difere da feniletilamina, o esqueleto básico da anfetamina. Gotestam e Gunne, (1972) relataram que o mazindol possuía baixo grau de efeitos semelhantes à anfetamina sobre o SNC, em humanos. Ainda Gogerty et al., (1975) descreveram o mazindol como uma droga com forte atividade anorética e fracas propriedades estimulante do SNC. Mais tarde porém, contrariando os conceitos iniciais, alguns pesquisadores demonstraram que apesar de o mazindol não ser um derivado da feniletilamina como a maioria dos anorexígenos psicoestimulantes, seu perfil farmacológico no SNC era semelhante ao dessa droga. Em animais de laboratório o mazindol induz um aumento da atividade locomotora, do comportamento de girar e estereotípias (Zambotti et al., 1976; Kruk e Zarrindast, 1976). Este modelo de estimulação do SNC é típico de psicoestimulantes potentes, como cocaína e anfetaminas. Adicionalmente, os estudos mostraram que o mazindol é auto-administrado em

macacos *rhesus* (Wilson e Schuster, 1976; Risner e Silcox, 1981). No entanto, em um estudo com voluntários humanos o risco de abuso não foi observado (Chait et al., 1987). Geralmente, o potencial de dependência de drogas é prognosticado pela sua capacidade em servir como reforçadora em animais de laboratório (Johanson e Schuster, 1981 ) e em geral, drogas que são auto-administradas por animais de laboratório também são de abuso para humanos (Griffiths et al., 1980).

Segundo pesquisas recentes, o mazindol parece bloquear o mecanismo de captação da dopamina, ligando-se com alta afinidade pelo mesmo sítio de ligação da cocaína ( Javitch et al., 1983). Este sítio parece estar associado com as propriedades reforçadoras da cocaína (Ritz et al., 1988). A afinidade de ligação da cocaína e de compostos relacionados ao sítio de captação da dopamina tem mostrado ser diretamente proporcional a sua potência em sustentar a auto-administração em animais enfatizando, que a auto-administração de cocaína em animais pode ser mediada por bloqueio da captação de dopamina (Ritz et al., 1988; Bergman et al., 1989) As evidências parecem indicar que os efeitos reforçadores de algumas drogas psicoativas envolvem sistemas dopaminérgicos que se originam na área tegmentar ventral do cérebro e fazem conexões com o núcleo *accumbens* e, diretamente ou indiretamente com áreas límbicas corticais (Carr e White, 1986). A ativação desse sistema mesocorticolímbico pela estimulação elétrica, por diversas drogas ou por reforçadores naturais, leva à liberação de dopamina no núcleo *accumbens*, estando tal liberação associada a eventos de recompensa ou de reforço (Hernandez e Hoebel, 1988; Koob e Bloom, 1988; Wise, 1988). Os efeitos reforçadores podem também associar-se a sinais ambientais, de tal modo, que estes sinais funcionam como reforçadores secundários (Wise e Rompre, 1989).

O aumento progressivo ou sensibilização da hiperatividade comportamental, provocada pela administração repetida de psicoestimulantes, foi caracterizado,

experimentalmente em animais, no início dos anos 30 (Downs e Eddy, 1932) e em humanos na década de 50 (Angrist e Sudilovsky, 1978; Connell, 1958). Entretanto, o entendimento dos substratos neuroanatômicos e celulares que estão envolvidos na sensibilização induzida por drogas apareceu somente na última década.

Neurofisiologistas têm usado o termo sensibilização como oposição à habituação comportamental (Groves e Tompson, 1970). No contexto do estudo de drogas, a sensibilização, como já citado acima, refere-se a um aumento do efeito de uma dada droga pela administração repetida e a tolerância refere-se a uma redução do efeito a uma dada droga também pela administração repetida. Definições mais formais são de que a sensibilização representa um deslocamento da curva dose-resposta para a esquerda e a tolerância um deslocamento da curva dose-resposta para a direita (Stewart e Badiani, 1993). Miczek (1991) e Smith (1991) levantaram a questão de que é enganoso pensar que se desenvolve tolerância ou sensibilização a uma determinada droga, ou então dizer que o animal ou o homem tornam-se tolerantes ou sensibilizados a uma droga qualquer. Sensibilização ou tolerância podem se desenvolver como resposta a um efeito particular de uma droga e não a outro. Sabe-se mesmo que a sensibilização pode se desenvolver frente a alguns efeitos enquanto que a tolerância se desenvolve frente a outros. Alguns autores mostraram a existência de uma variação individual na suscetibilidade à sensibilização (Segal e Kuczenski, 1987, Leith e Kuczenski, 1982), sendo que a diferença sexual poderia ser um fator contribuinte nesta variação (Camp e Robinson, 1988(a); Forgie e Stewart, 1993).

Os estudos experimentais também têm demonstrado que a resposta comportamental sensibilizada pode persistir por meses e ou mesmo anos, após a interrupção do regime de tratamento continuado (Bartoletti et al., 1983, Post e

Weiss, 1988, Robinson e Becker, 1986, Segal e Schuckit, 1983). Em humanos, está bem documentado que o uso crônico de estimulantes tipo anfetamina provoca um aumento progressivo nos comportamentos paranóides, podendo culminar em psicose (Angrist e Sudilovsky, 1978; Ellinwood, 1967; Post, 1975 ; Post e Weiss, 1988; Segal et al., 1981). Embora normalmente, o comportamento paranóide se dissipe quando o uso da droga é interrompido, tem sido demonstrado que ele retorna tão logo a droga passe a ser novamente consumida, num período de até dez anos após a supressão (Ellinwood, 1967; Kramer et al., 1967; Sato et al., 1983). A ocorrência de sensibilização induzida por drogas em humanos e em animais de laboratório sugere que o entendimento dos mecanismos neuronais de sensibilização em roedores pode proporcionar alguma visão dos substratos neurais de ambas as psicoses induzidas por drogas e/ou idiopáticas ( Kokkinidis e Anisman, 1980, Segal e Schuckit, 1983).

As duas classes de drogas melhor caracterizadas por produzir sensibilização em roedores são os psicoestimulantes, tais como anfetamina, cocaína, metilfenidato, metanfetamina (Kolta et al., 1985; Post e Rose, 1976; Robinson e Becker, 1986; Segal e Mandell, 1974) e os opióides (Bartoletti et al., 1983; Bunney et al., 1984; Kalivas e Duffy, 1987; Stewart e Vezina, 1988; Vezina e Stewart, 1989). Como já citado anteriormente, os psicoestimulantes tipo anfetamina agem bloqueando a recaptção e / ou promovendo a liberação de dopamina na fenda sináptica (Kuzcenski, 1983;Reith et al., 1986). Os opióides parecem aumentar a transmissão dopaminérgica, por estímulo indireto dos neurônios dopaminérgicos (Gysling e Wang, 1983; Lacey et al., 1989; Kalivas e Duffy, 1987; Mathews e German, 1984). As evidências sugerem que os neurônios dopaminérgicos mesolímbicos podem desempenhar um importante papel na mediação dos efeitos de ativação da locomoção e do desenvolvimento de sensibilização induzidas pelos psicoestimulantes (Kalivas e Stewart, 1991). O sistema dopaminérgico

mesolímbico tem seus corpos celulares na área tegmentar ventral e seus axônios ao longo do feixe prosencefálico medial, com projeções até o núcleo *accumbens* e as áreas límbicas corticais, particularmente o cortex pré-frontal.

A sensibilização parece também estar presente nas propriedades reforçadoras de psicoestimulantes ao se seguir a pré-exposição. Por exemplo, a exposição a anfetamina resulta em latências curtas para a aquisição subsequente de auto-administração intravenosa (Piazza et al, 1989). Então, contrariando o que freqüentemente se aceitava, que as propriedades de recompensa de estimulantes e de opióides levavam inevitavelmente à tolerância, sendo que esta tolerância seria a responsável pelo consumo excessivo de drogas (Stewart e Badiani, 1993), Lett (1989) mostrou que exposição inicial repetida a anfetamina, morfina ou cocaína aumentaram os efeitos de recompensa induzidos por drogas, medidos pela preferência condicionada de lugar. Além disso, obteve evidências de sensibilização cruzada: exposições à anfetamina aumentam os efeitos de recompensa da morfina e exposições à morfina aumentaram os efeitos de recompensa de anfetaminas e de cocaína. Tem sido também relatado que ratos previamente sensibilizados à cocaína adquiriram comportamento de auto-administração de cocaína para a dose da droga que não encorajava a auto-administração em animais não expostos previamente (Horger et al., 1990). Lett (1989) propõe ainda que estes resultados sustentam a teoria: drogas de abuso induzem dependência porque exposições repetidas sensibilizam o mecanismo de reforço central de tal modo que levam a produção de um aumento progressivo no efeito de reforço cada vez que a exposição ocorre.

Segundo Steketee (1992), o estresse crônico, como determinadas drogas também pode induzir sensibilização comportamental. O estresse é visto por desempenhar um papel no início de um número de desordens neuropsiquiátricas e tem-se sugerido que ele poderia agir de modo similar aos psicoestimulantes ao

precipitar episódios psicóticos (Antelman, 1988). Vários estudos têm mostrado que a exposição única ou repetida a um estímulo estressante pode aumentar as ações motoras estimulantes da anfetamina, da cocaína e da morfina (Antelman et al., 1980, Hahn et al., 1986, Kalivas e Duffy., 1989, Leyton e Stewart, 1990, Piazza et al., 1990, Robinson et al., 1985). A sensibilização a estímulos estressores e a sensibilização cruzada entre a resposta ao estresse e a drogas têm sido também usadas como evidências para justificar seu papel na etiologia de psicoses paranóicas, desordens de estresse pós-traumáticos e ataque de pânico (Antelman, 1988, Post e Weiss, 1988).

Embora existam também alguns relatos de reações ansiogênicas e /ou ataques de pânico em pessoas que abusam da cocaína, principalmente após exposição crônica à droga (Anthony et al., 1989; Geraciotti e Post, 1991), não tem sido fácil documentar estas reações, em animais de laboratório. Rogério e Takahashi (1992) sugerem que as propriedades ansiogênicas induzidas por cocaína tanto em ratos como em camundongos podem depender, pelo menos em parte, do estado de excitação do animal. Por outro lado, esses autores também destacam que os relatos limitados e equivocados descrevendo os efeitos ansiogênicos da cocaína, em modelos animais parecem ser consistentes com relatos inconclusivos do relacionamento entre abuso de cocaína ou anfetamina e ansiedade em humanos.

Além do envolvimento nas respostas comportamentais, o sistema neuronal dopaminérgico parece desempenhar um importante papel na regulação central da temperatura corporal em animais. Os estudos demonstraram que a anfetamina produz hipotermia em animais de laboratório (Amico et al., 1976, Panaretto, 1979, Yehuda e Wurtman, 1972 e 1975). Foi constatada também uma hipotermia em roedores, quando a disponibilidade da dopamina endógena encontrava-se aumentada por inibição dos processos de recaptção ou por inibição de seu

metabolismo (Cox e Lee, 1979, Summers, 1974). Em muitos casos, o declínio na temperatura corporal evocada por essa droga é seletivamente antagonizada por agentes bloqueadores de receptor dopaminérgico (Lee et al., 1985). Por tais fatos acredita-se então que a dopamina endógena possa mesmo estar envolvida na termoregulação corporal.

Como já mencionado, o maior problema com a maioria das drogas anorexígenas com características psicoestimulantes disponíveis é seu potencial de abuso. Desde a introdução da anfetamina muitos esforços têm sido dirigidos para o desenvolvimento de novos compostos com a eficácia anorética da anfetamina, mas desprovidos do potencial de abuso. Esta estratégia tem gerado alguns sucesso, mas vários anoréticos com alto potencial de dependência continuam sendo usados na clínica (Chait et al., 1987).

Frente ao exposto, pode-se observar que embora existam evidências demonstrando os efeitos de sensibilização comportamental de reforçadores efetivos tais como cocaína e anfetamina, há poucas informações descrevendo os efeitos do mazindol. Tendo em vista o grau de semelhança no mecanismo de ação entre o mazindol e a cocaína, e o alto consumo de mazindol em nosso meio principalmente em farmácias de manipulação, a investigação dos efeitos comportamentais após doses repetidas é de grande importância para avaliação do perfil psicofarmacológico desta droga. Para tal, o presente estudo se propôs a investigar, se a administração repetida de mazindol, com doses que produzem pequena estimulação no tratamento agudo, induz sensibilização da atividade motora, no "open field". Em caso afirmativo, verificar, após dois dias de abstinência, se o fenômeno é reversível. Paralelamente a estas investigações, foram examinadas as alterações na temperatura corporal. Além disso, o presente estudo, propôs-se a investigar a presença de propriedades reforçadoras do mazindol, utilizando como

modelo a preferência condicionada de lugar. Em caso de resposta positiva, procurou-se verificar se a sensibilização também se desenvolveria para essa propriedade reforçadora. Finalmente com o intuito de verificar se o mazindol tem alguma ação moduladora sobre o estado de ansiedade, os animais foram submetidos ao teste do labirinto em cruz elevado. Em todos os testes procurou-se avaliar as diferenças nas respostas entre machos e fêmeas.

## **MATERIAIS**

### **1. Animais**

Foram utilizados ratos Wistar machos e fêmeas, com aproximadamente três meses de idade, pesando entre 180 a 280 gramas, provenientes do Biotério da Coordenadoria Especial de Farmacologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (FMC-CCB-UFSC). Os animais foram alojados em grupos de seis, por gaiola, mantidos em temperatura controlada (  $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ), em ciclo claro e escuro de 12 horas, com livre acesso a água e a comida, exceto durante as sessões de teste. As fêmeas foram testadas sem monitoramento do ciclo estral.

### **2. Droga**

O mazindol ( Instituto Químico Campinas - IQC, São Paulo), foi dissolvido em uma solução de carboximetilcelulose a 0,025%, nas concentrações de 5, 10 e 20 mg/ml. A solução controle utilizada foi a carboximetilcelulose 0,025% em água. Todas as soluções foram administradas em um volume fixo de 1 ml/kg via intraperitoneal ( ip ), preparadas momentos antes dos experimentos.

## MÉTODOS E RESULTADOS

### 1. Análise Estatística.

Para comparações entre dois ou mais grupos procedeu-se inicialmente à análise de variância adequada ao protocolo experimental. Uma vez detectada diferença significativa, os grupos passaram a ser comparados entre si pelo teste de Newman Keuls (Snedecor e Cochran, 1967). O teste "t" de Student também foi utilizado para algumas comparações entre dois grupos experimentais. Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e. p .m.) e a probabilidade  $p < 0,05$  foi considerada como indicativa da existência de diferenças estatisticamente significantes.

### 2. Teste do "open - field"

Desde sua introdução por Calvin Hall (1934) o teste do "open field" vem sendo o instrumento de observação direta mais utilizado no estudo do comportamento animal. Além da simplicidade do equipamento os comportamentos são claramente definidos e rapidamente medidos. É um método muito válido para se detectar propriedades estimulantes de drogas. Os parâmetros comumente usados para esse fim, são a locomoção e o levantar. A forma mais comum de "open field" é a com base circular descrita por Broadhurst (1960), embora existam com base quadrada e retangular. O registro da locomoção é usualmente traduzido pelo número de quadrados penetrados pelo animal em um período de tempo. O levantar pode ser medido pelo número de vezes que o animal ergue-se sobre as patas traseiras, com a cabeça dirigida para cima, apoiando ou não as patas dianteiras nas paredes do campo aberto.

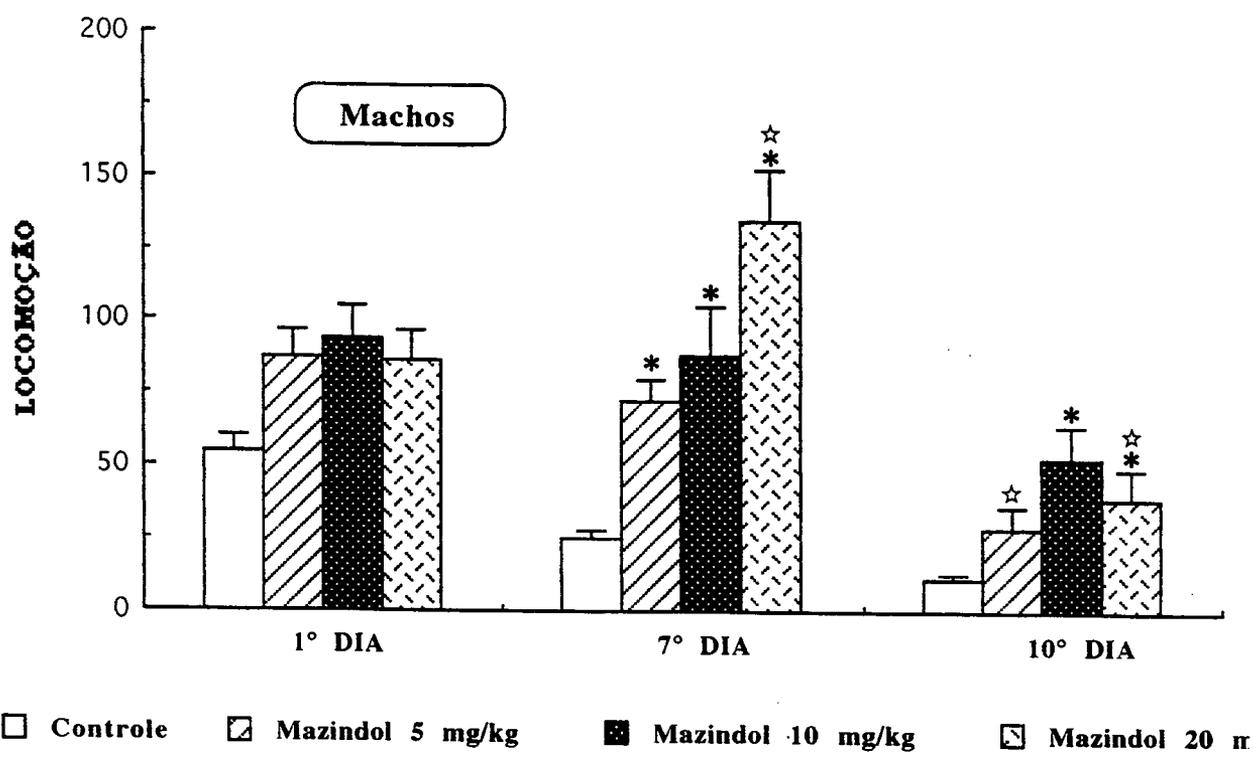
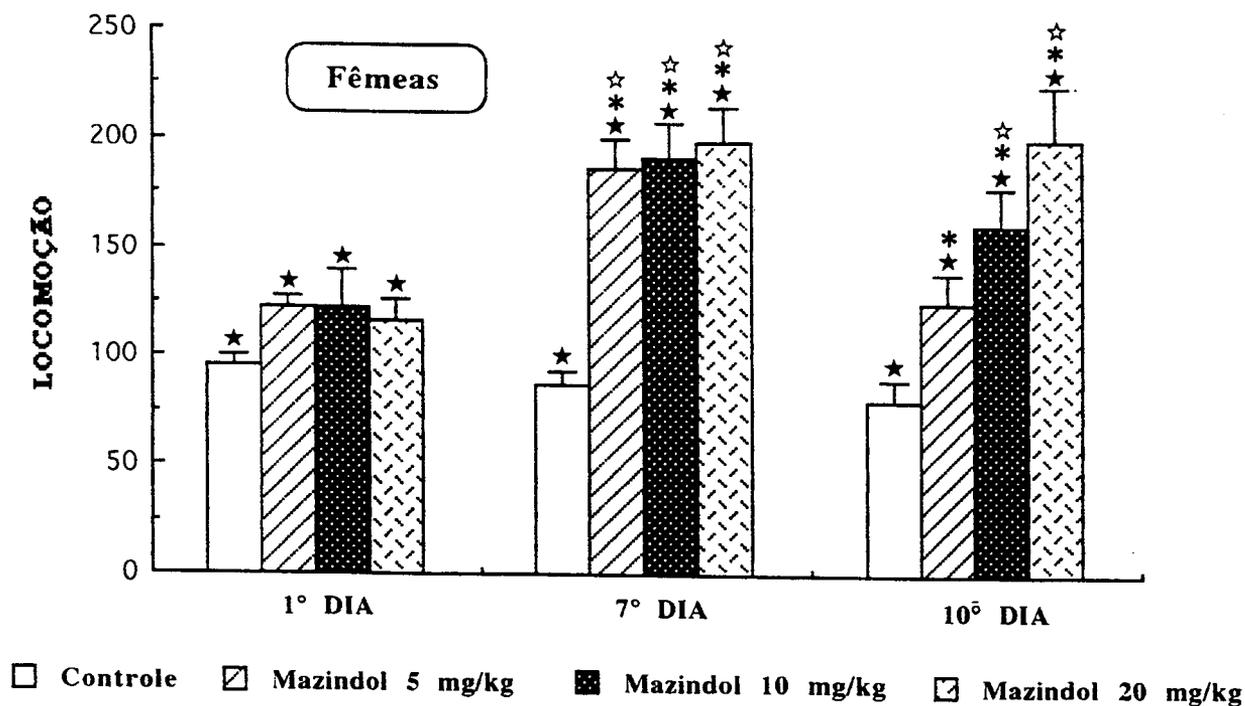
## **2.1 Equipamento e procedimento**

O aparelho utilizado foi fabricado em madeira e consiste de uma arena circular, pintada de branco, medindo 36,5 cm de altura e 97 cm de diâmetro. O chão é dividido por linhas pretas em 19 partes e iluminado com duas lâmpadas vermelha de 40 Watts. Uma cortina de tecido leve circunda a arena para evitar que o experimentador seja visto. Este equipamento estava localizado em ambiente isolado e ventilado. Os ratos machos e fêmeas foram tratados durante sete dias consecutivos, com veículo ou mazindol, nas doses de 5, 10, e 20 mg/kg, via i.p. Quinze minutos após a primeira e a última injeção, os animais foram colocados individualmente no centro da arena e as freqüências de locomoção, cruzamento das linhas no chão com as 4 patas, e de levantar, quando o animal permanece apoiado somente nas patas posteriores, foram registradas por um período de 3 minutos. Após dois dias de abstinência, os animais foram novamente submetidos ao teste, na presença das mesmas doses anteriores da droga ou veículo. O "open -field" foi limpo com uma solução de etanol a 10% antes da colocação de cada animal na arena. A observação comportamental foi feita sempre entre 9h e 12 h.

## **2.2. Resultados**

### **2.2.1. Locomoção**

Os efeitos das administrações aguda e repetida do mazindol (5, 10, e 20 mg /kg) na atividade locomotora estão ilustrados na figura 2. A análise estatística efetuada com o teste ANOVA de três vias indicou diferenças significantes no tratamento,  $F(3, 239) = 27,57$   $p < 0,001$ , no sexo,  $F(1, 239) = 55,72$   $p < 0,001$  e no fator dia,  $F(2, 239) = 47,2$   $p < 0,001$ . Além disso, as seguintes interações entre os grupos mostraram-se também estatisticamente significantes: tratamento  $\times$  dia,

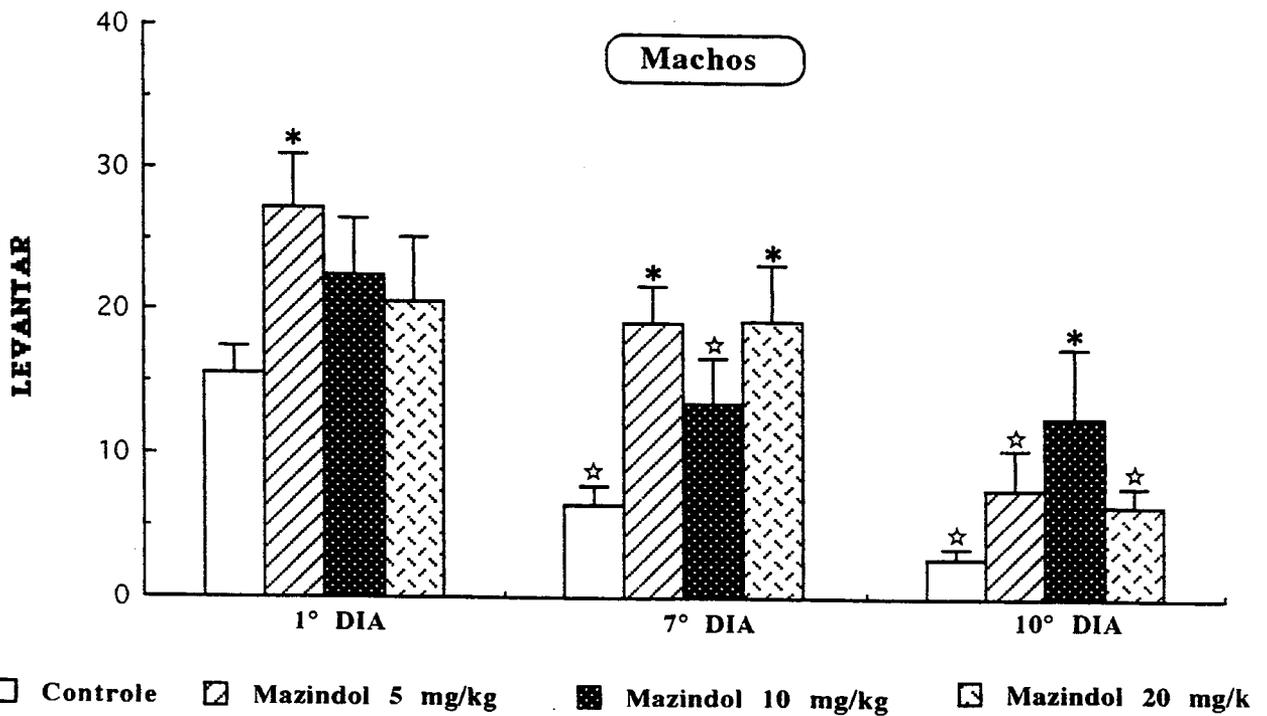
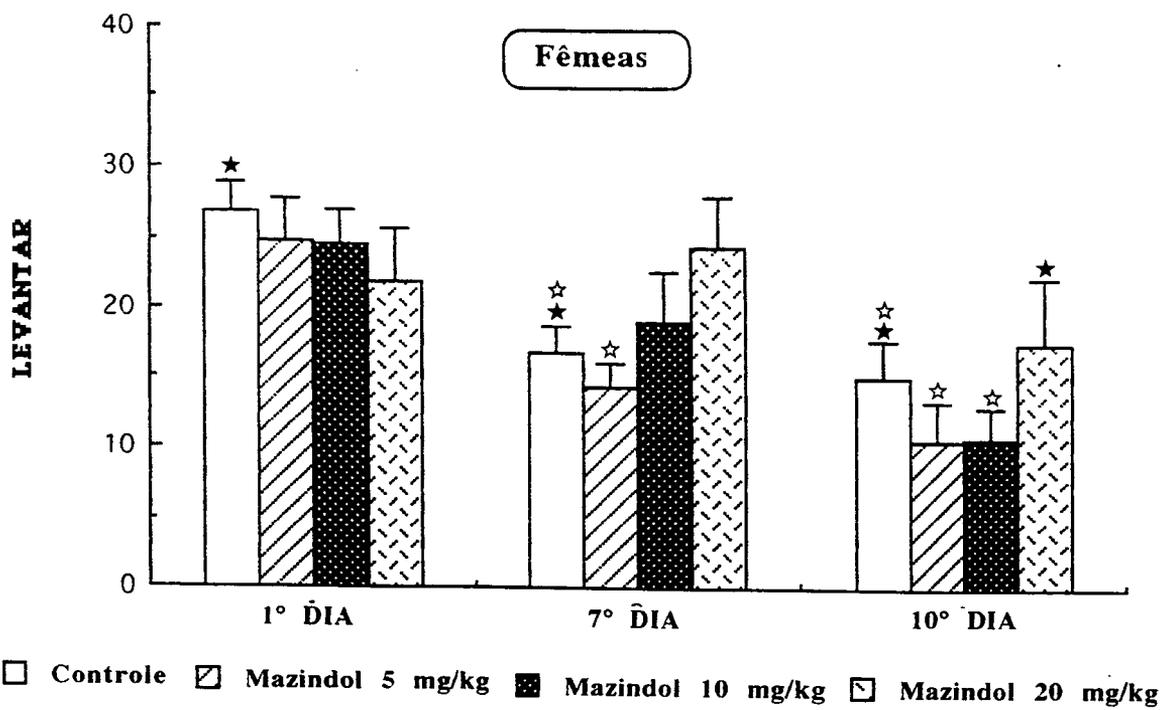


**Figura 2** - Efeitos da administração aguda (1° dia) repetida (7° dia) e após a retirada (10° dia) de mazindol ou veículo na atividade locomotora de ratos machos e fêmeas expostos durante três minutos no "open-field" quinze minutos após os tratamentos. Os dados expressos representam a média e e.p.m. de dez animais. ☆ p < 0,05 em relação ao 1° dia de tratamento, \* p < 0,05 em relação aos respectivos controles, ☆ p < 0,05 para comparações entre sexo. Teste de Newman-Keuls.

$F(6, 239) = 8,37$   $p < 0,001$ , sexo  $\times$  dia,  $F(6, 239) = 46,51$   $p < 0,001$  e tratamento  $\times$  sexo  $\times$  dia,  $F(6, 239) = 6,26$   $p < 0,001$ . Embora tenha sido verificada uma estimulação da locomoção, após a administração aguda do mazindol em ratos de ambos os sexos, os resultados não alcançaram significância estatística. O teste subsequente de Newman-Keuls, revelou que, após injeções repetidas de mazindol (5, 10 e 20 mg / kg) por 7 dias, os machos e as fêmeas mostraram um aumento estatisticamente significativo na estimulação da locomoção, quando comparados com os respectivos controles. Esta mesma resposta apareceu nas fêmeas, após estimulação com mazindol (5,10 e 20 mg / kg) no dia 10, e nos machos apenas nas doses de 10 e 20 mg/kg. Quando comparados à condição de administração aguda da droga, dia 1, as fêmeas tratadas com mazindol (5, 10 e 20 mg/kg) por 7 dias e mazindol 10 e 20 mg / kg, no dia 10, mostraram um estímulo significativo na locomoção. No entanto, para os ratos machos, a resposta estimulante locomotora do mazindol, quando comparada à condição aguda, foi significativa somente no dia 7 e apenas na dose de 20 mg/kg. Assim, ratos fêmeas parecem ser mais suscetíveis aos efeitos estimulantes do mazindol. Adicionalmente, o teste de Newman-Keuls confirmou que, sob todas as condições experimentais, a atividade locomotora das fêmeas diferiu significativamente daquela dos machos.

### 2.2.2. Levantar

Os efeitos das administrações aguda e repetida do mazindol (5, 10, e 20 mg / kg) na frequência de levantar estão ilustrados na figura 3. A análise estatística realizada, usando o teste ANOVA de três vias indicou diferenças significantes somente no sexo,  $F(1, 239) = 9,77$   $p < 0,01$ , e no fator dia,  $F(2, 239) = 57,05$   $p < 0,001$ . Na análise das interações entre os grupos foi detectada diferença significativa apenas nos grupos tratamento  $\times$  dia,  $F(6, 239) = 2,22$   $p < 0,05$ . Independentemente do tratamento as fêmeas apresentam uma frequência de levantar significativamente maior do que os machos.



**Figura 3** - Efeitos da administração aguda (1º dia) repetida (7º dia) e após a retirada (10º dia) de mazindol ou veículo no levantar de ratos machos e fêmeas expostos durante três minutos no "open field", quinze minutos após os tratamentos. Os dados representam as médias e e.p.m. de dez animais. \* $p < 0,05$  em relação ao 1º dia de tratamento, \* $p < 0,05$  em relação aos respectivos controle, \* $p < 0,05$  para comparações entre sexo. Teste de Newman-Keuls.

O teste de Newman-Keuls revelou, para os machos, um aumento estatisticamente significativo na frequência de levantar, quando comparados aos respectivos controles, para a dose de 5 mg/kg, no tratamento agudo e, para as doses de 5 e 20 mg/kg, no tratamento repetido. Esta resposta continuou no dia 10, após estimulação com mazindol (10 mg / kg). Quando comparados à condição de administração aguda da droga e do controle, dia 1, os ratos machos controles reduziram significativamente a frequência de levantar, os tratados com mazindol, no 7º dia apenas a dose de 10 mg / kg e, no dia 10 todas as doses . Nas fêmeas, o tratamento agudo não afetou a frequência de levantar, quando comparado ao controle. Após injeções repetidas, os animais fêmeas controles e os tratados com mazindol 5 mg/kg reduziram a frequência de levantar. No décimo dia, a redução do levantar foi significativa também nas fêmeas tratadas com 10 mg/kg. Embora os testes estatísticos tenham revelado algumas diferenças no comportamento da frequência de levantar, em relação ao sexo e ao tratamento, não parece haver uma correlação com a ambulação.

### **3. Teste de avaliação da preferência condicionada de lugar**

A preferência condicionada de lugar (PLC) tem sido usada para a demonstração das propriedades reforçadoras de muitas drogas agonistas opióides tais como morfina, heroína, fentanil e peptídeos opióides, e por drogas agonistas dopaminérgicas, cocaína, anfetamina, metilfenidato, nomifensina e fencanfamina (Aizenstein et al., 1991, Carr et al., 1988, Katz e Gormezano, 1979, Martin-Iverson et al., 1985). Este modelo consiste no pareamento de drogas com um ambiente bastante distinto, onde a droga funciona como um estímulo não-condicionado e o ambiente distinto com um estímulo condicionado. Após o pareamento repetido o ambiente é associado aos estímulos reforçadores da droga (Hemby et al., 1992). A droga é considerada reforçadora se o animal na fase teste permanecer mais

tempo no lado anteriormente condicionado com droga ao invés do lado pareado com veículo.

### **3.1. Equipamento**

O teste de avaliação da preferência condicionada de lugar foi efetuado numa caixa composta por dois compartimentos de tamanhos iguais, medindo 30 x 30 x 22 cm (comprimento x largura x altura), separados por uma divisória removível. Um dos compartimentos tem paredes lisas, brancas e o assoalho gradificado (1 cm entre as barras). O outro compartimento tem paredes lisas, pretas e o assoalho é também liso e preto.

### **3.2. Procedimento - I**

O método utilizado constitui-se de três fases e foi baseado em um estudo semelhante realizado por De Lúcia (1992) e a dose foi selecionada no experimento realizado no "open field". Os ratos foram divididos em quatro grupos de oito animais e o experimento durou doze dias para cada dois grupos.

**Fase 1. Pré-Condicionamento.** Nesta fase, dois grupos os animais foram colocados em um dos compartimentos (preto ou branco), sem a divisória, de tal forma que os ratos tiveram livre acesso a ambos os compartimentos, durante 15 minutos, e por três dias consecutivos. O primeiro dia foi considerado apenas exploratório. Nos dois dias subsequentes, a média de tempo gasto nos 15 minutos de livre acesso serviu para determinar a preferência de lugar para cada rato individualmente. O lado no qual o rato permaneceu menos tempo foi considerado o menos preferido

**Fase 2. Condicionamento.** O condicionamento foi realizado diariamente por 30 minutos, durante oito dias. O esquema de condicionamento para o grupo experimental consistiu de quatro administrações de veículo (4 dias) e quatro de mazindol 10 mg / kg (4 dias), em dias alternados. Nos dias ímpares os animais receberam mazindol e, imediatamente após a injeção, foram confinados no compartimento menos preferido (determinado no pré-condicionamento - lado claro), por 30 minutos. Nos dias pares, os animais receberam uma injeção de veículo e foram colocados no compartimento preferido. Um grupo controle recebeu veículo todos os dias, ficando em ambos os compartimentos, por 30 minutos em dias alternados.

**Fase 3. Pós-Condicionamento.** Vinte e quatro horas após o término das sessões de condicionamento, cada animal foi colocado em um dos compartimentos (claro ou escuro), sem droga ou veículo, com livre acesso aos dois compartimentos, por 15 minutos e o tempo permanecido em cada um deles foi determinado.

### **3.3. Resultados**

A figura 4 mostra o tempo gasto pelos animais, em segundos, no compartimento condicionado com droga, antes do condicionamento e depois do condicionamento. O grupo de ratos fêmeas tratadas com mazindol (10 mg /kg ) mostrou um efeito significativo na preferência de lugar  $t(7) = 3,15$   $p < 0,05$ , para o lado pareado com a droga (lado branco). No grupo controle, tratado com veículo, não foi observado efeito significativo na preferência de lugar  $t(7) = 0,12$   $p > 0,05$ . Os machos tratados com mazindol (10 mg/kg) também apresentaram efeitos significantes na preferência de lugar  $t(7) = 2,84$   $p < 0,05$ . Do mesmo modo que as fêmeas, o controle não apresentou efeitos na preferência de lugar  $t(7) = 2,30$   $p > 0,05$ .

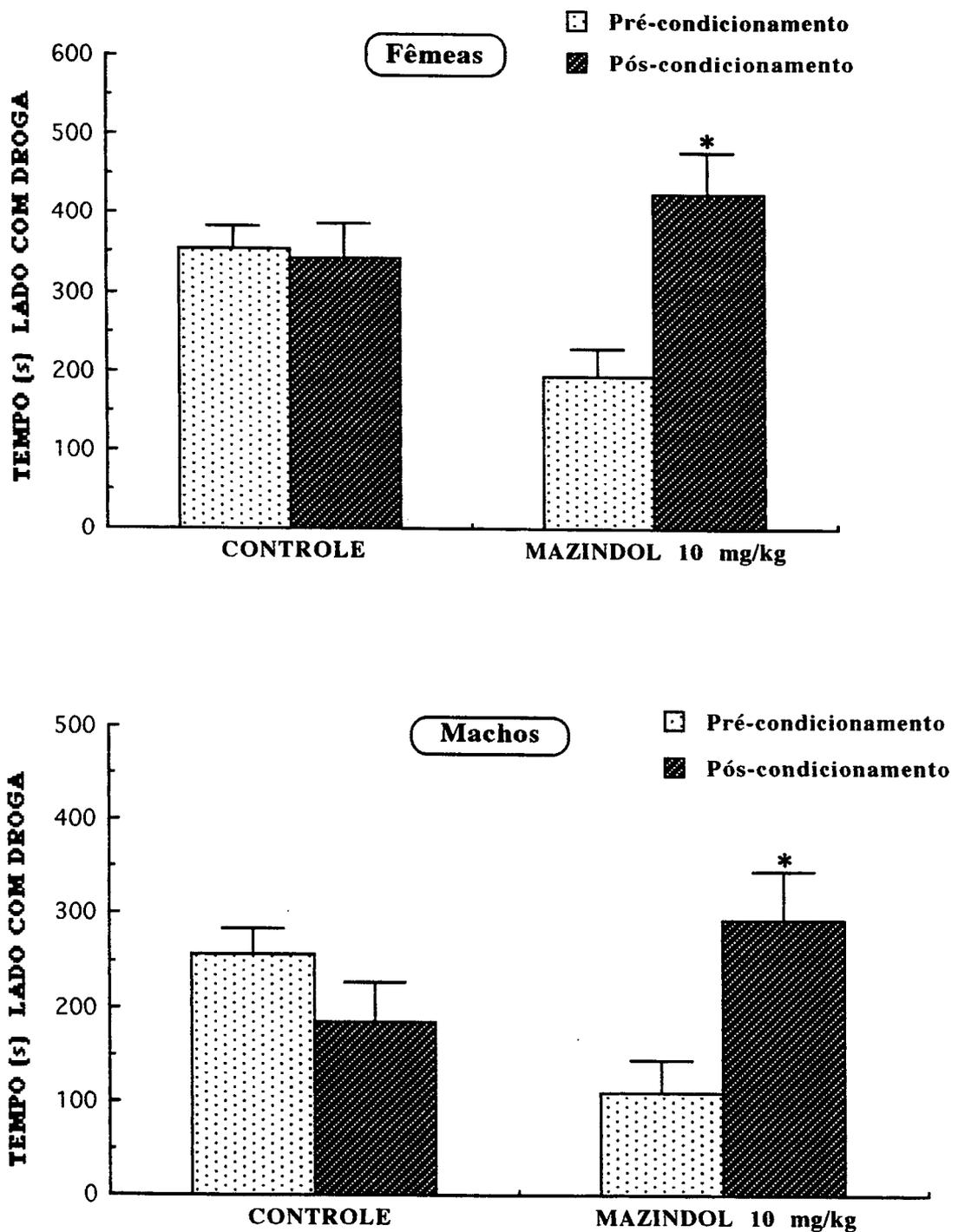


Figura 4 - Preferência condicionada de lugar em ratos machos e fêmeas tratados com mazindol ou veículo. O tempo gasto no compartimento condicionado com droga ou veículo antes e depois do condicionamento estão representados pelas médias e e.p.m. de oito animais. \*  $p < 0,05$ , teste "t" para dados pareados

Além disso neste teste os machos e fêmeas não apresentaram diferenças entre si. O aumento do tempo de permanência no lado pareado com mazindol seria uma evidência de que o mesmo pode apresentar propriedades reforçadoras.

### **3.4. Procedimento - II**

Neste procedimento busca-se investigar se o esquema de injeção repetida que induziu sensibilização motora também induz sensibilização ao efeito reforçador.

Ratos machos e fêmeas foram divididos em quatro grupos, o plano geral é semelhante ao anterior, diferenciando-se na fase 1.

**Fase 1.** Nesta fase, nas gaiolas, por 7 dias consecutivos um grupo de animais recebeu injeções repetidas de mazindol 10 mg/kg para induzir ou não o mecanismo de sensibilização ao efeito reforçador. Um outro grupo, controle, recebeu injeções de veículo durante o mesmo período.

**Fase 2.** Como no procedimento I, o condicionamento foi realizado diariamente por 30 minutos, durante oito dias. O esquema de condicionamento para o grupo pré-tratado com mazindol consistiu-se de quatro administrações de salina (4 dias) e quatro de mazindol 10 mg / kg (4 dias), em dias alternados. Nos dias ímpares os animais receberam mazindol e, imediatamente após a injeção, foram confinados no compartimento branco, por 30 minutos. Nos dias pares, os animais receberam uma injeção de veículo e foram colocados no outro compartimento. O grupo controle pré-tratado com veículo nesta fase passou a receber também Mazindol 10 mg / kg e foi pareado de forma idêntica ao grupo que recebera previamente mazindol.

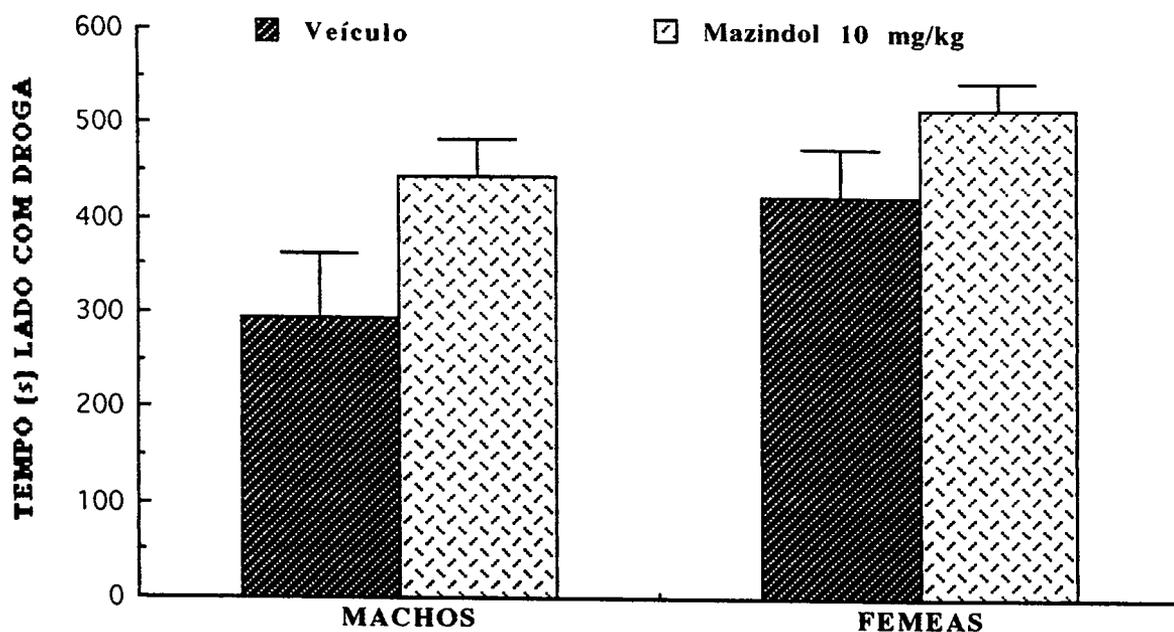
**Fase 3.** Também de forma idêntica ao procedimento I, vinte e quatro horas após foi permitido aos ratos escolherem livremente o compartimento pareado com droga ou com salina, por 15 minutos.

### **3.5. Resultados**

Machos e fêmeas tratados com mazindol, 10 mg/kg, por sete dias antes do período de condicionamento (esquema de injeções repetidas que induziu sensibilização motora), ficaram mais tempo no lado pareado com o mazindol do que os grupos de machos e fêmeas tratados com veículo, previamente ao condicionamento (fig.5). No entanto estes resultados não mostraram uma diferença significativa. A resposta dos machos parecem indicar uma tendência de sensibilização ao efeito reforçador do mazindol

### **4. Teste do labirinto em cruz elevado**

O teste do labirinto em cruz elevado é um modelo animal de ansiedade. A base etológica do teste é a aversão natural apresentada por roedores a espaços abertos e elevados. Portanto, neste modelo são registrados a frequência de entradas e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados. As medidas do estado de ansiedade são expressas como a porcentagem de entradas ou do tempo de permanência nos braços abertos em relação ao total. O aumento do percentual de entradas e do tempo nos braços abertos reflete atividade ansiolítica e a redução dessas medidas reflete efeito ansiogênico dos compostos (Pellow et al., 1985, Lister, 1987, File, 1990, Treit et al., 1993).



**Figura 5** - Preferência condicionada de lugar em ratos machos e fêmeas tratados previamente ao condicionamento com mazindol (10 mg/kg) ou veículo. Os dados representam a média e e.p.m. de tempo gasto em segundos, por oito animais, no lado pareado com droga. O teste "t" não mostrou diferenças significantes entre o grupo controle e mazindol tanto em machos quanto em fêmeas.

## 4.1 Equipamento e Procedimento

O aparelho para o teste do labirinto em cruz elevado tem o formato de cruz e foi fabricado em madeira, consistindo de dois braços abertos opostos, (50 x 10 cm) e dois braços fechados também opostos, ( 50 x 10 x 40 cm ) elevados 50 cm do chão. Os braços abertos foram protegidos lateralmente por uma barra de acrílico de 1 cm para evitar a queda dos animais. Um campo aberto, quadrado (60 x 60 x 40 cm), também fabricado em madeira, foi utilizado antes do teste do labirinto em cruz elevado, para adaptação do animal no ambiente do teste. Foi utilizado uma solução de etanol a 10% para limpar os equipamentos antes da colocação de cada animal. O ambiente foi iluminado com luz vermelha com intensidade de 44 lux. Os experimentos foram sempre realizados entre 8h e 12 h. No teste agudo, os ratos machos e fêmeas foram tratados com veículo ou mazindol (10 mg / kg) na ante-sala (iluminação de 720 lux). Dez minutos após as injeções, cada animal foi colocado individualmente no campo aberto por 5 minutos e, em seguida, transferido diretamente para o centro do labirinto em cruz elevado, com a face voltada para um dos braços fechados, por um período de 5 minutos de observação. No esquema de administração repetida, um outro grupo de animais foram injetados diariamente com mazindol 10 mg / kg ou com solução controle por sete dias. No sétimo dia, o tratamento foi feito 15 minutos antes do teste no labirinto em cruz elevado. O teste após a administração repetida do mazindol, foi realizado de forma idêntica ao experimento agudo. As medidas comportamentais observadas no teste do labirinto em cruz elevado foram o número de entradas e o tempo gasto nos braços abertos e nos braços fechados. O número total de entradas foi obtido pela soma do número de entradas nos lados abertos e fechados. O percentual de entradas (aberto/total) foi calculado dividindo-se o número de entradas nos braços abertos pelo número total de entradas e este índice multiplicado por 100. O percentual tempo (aberto/total) também foi calculado de maneira semelhante: o tempo gasto nos braços abertos foi

dividido pela somatória do tempo gasto nos braços abertos e fechados e o quociente obtido foi multiplicado por 100.

## 4.2. Resultados

A figura 6 demonstra o efeito da administração aguda e repetida do mazindol sobre o percentual de frequência de entradas no aberto. A análise estatística efetuada, teste de ANOVA de três vias, mostrou significância no tratamento [ $F(1, 80) = 6,98; p < 0,009$ ] no sexo [ $F(1, 80) = 3,81, p < 0,05$ ] e na interação sexo  $\times$  tratamento [ $F(1, 80) = 7,84; p < 0,006$ ]. Posteriormente, nas comparações entre os grupos o teste de Newman-Keuls demonstrou que os tratamentos agudo e repetido com mazindol (10 mg/kg) provocaram um aumento significativo, do percentual de entradas nos lados abertos nas ratas, em relação aos controles. Nos machos, o tratamento agudo com mazindol mostrou uma tendência em reduzir o percentual de entradas nos lados abertos, enquanto que o tratamento repetido mostrou uma tendência oposta. Após o tratamento agudo com mazindol, as fêmeas apresentaram um aumento no percentual de entradas estatisticamente diferente dos machos.

Para o percentual de tempo no aberto, após a administração aguda e repetida de mazindol, figura 7, a análise estatística utilizada, o teste ANOVA de três vias revelou diferenças significantes para o sexo [ $F(1, 80) = 17,07; p < 0,0002$ ], tratamento [ $F(1, 80) = 15,73; p < 0,0003$ ], condição [ $F(1,80) = 4,90; p < 0,02$ ], na interação sexo  $\times$  tratamento [ $F(1,80) = 15,69; p < 0,0003$ ], sexo  $\times$  condição [ $F(1,80) = 6,26; p < 0,01$ ] e sexo  $\times$  tratamento  $\times$  condição [ $F(1, 80) = 9,11; p < 0,003$ ]. Na análise posterior, fêmeas submetidas ao tratamento agudo com mazindol, de modo análogo à frequência de entradas no aberto apresentaram um percentual de tempo nos lados abertos significativamente elevado em relação ao

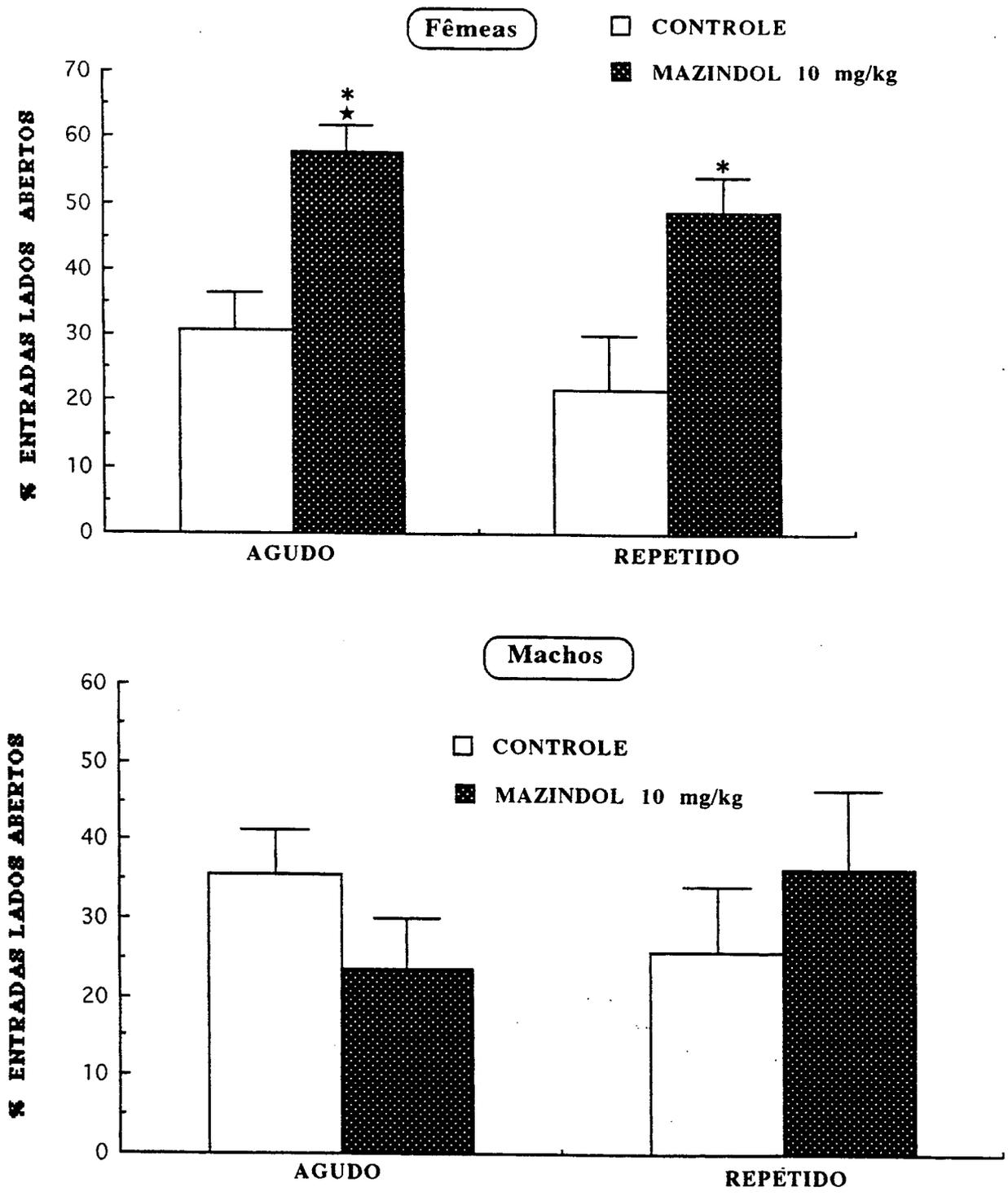


Figura 6 - Comportamento de ratos machos e fêmeas quinze minutos após as injeções agudas e repetidas (7 dias) de mazindol ou veículo no labirinto em cruz elevado. Os dados representam a média e e.p.m. do percentual de entradas nos lados abertos. N = 10. \* p < 0,05 para comparações entre sexo, \* p < 0,05 para comparações entre grupos tratados com mazindol e veículo, (teste de Newman-Keuls).

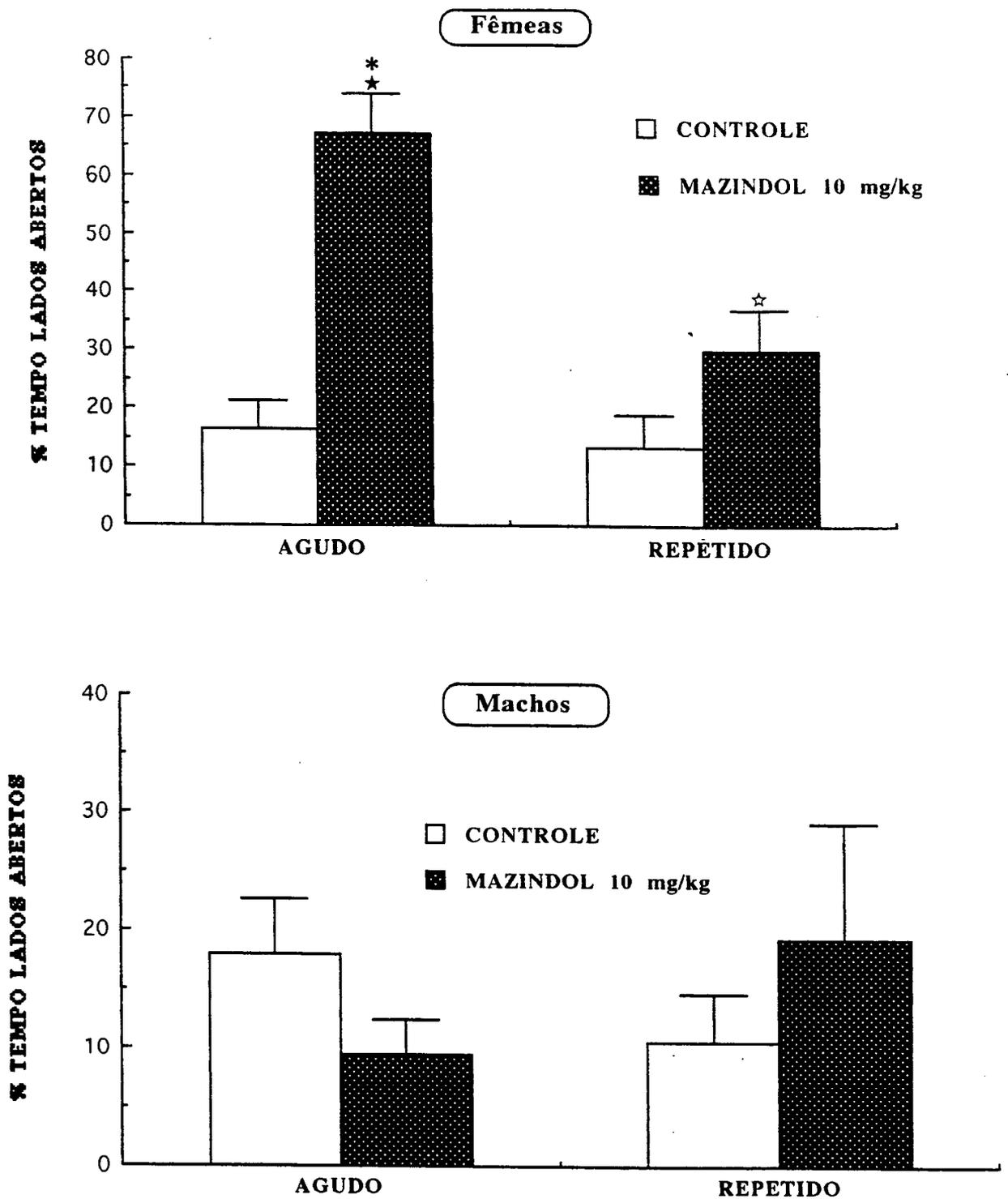
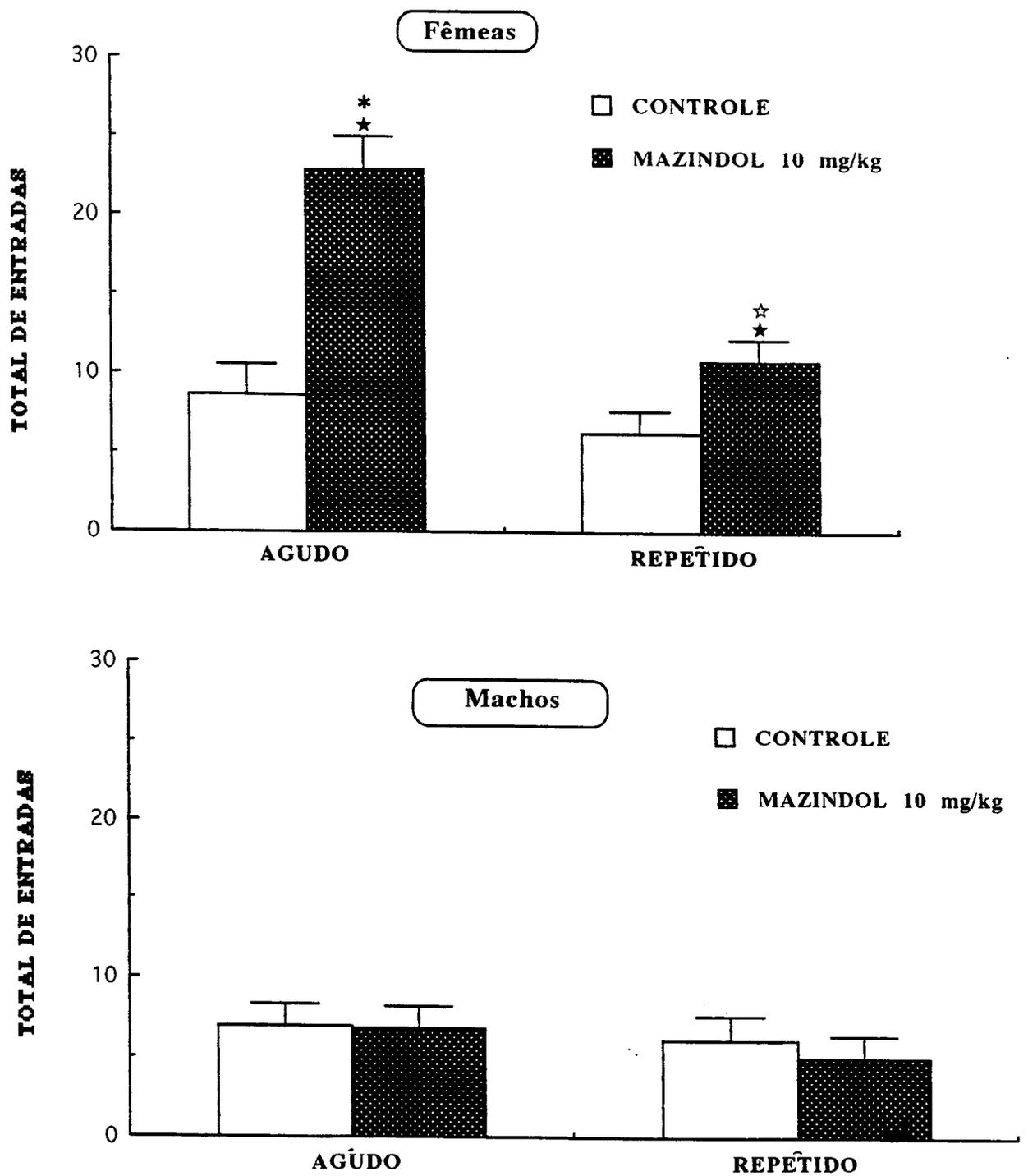


Figura 7 - Comportamento de ratos machos e fêmeas quinze minutos após as injeções agudas e repetidas (7 dias) de mazindol ou veículo no labirinto em cruz elevado. Os dados representam a média e e.p.m. do percentual de tempo permanecido nos lados abertos. \*p < 0,05 para comparações entre tratamento agudo e repetido. \*p < 0,05 para comparações entre grupos tratados com mazindol e veículo, \*p < 0,05 para comparações entre sexo, (teste de Newman-Keuls).

controle, e em relação aos machos. Porém, este efeito não foi significativo após o tratamento repetido. O tratamento agudo e repetido nos machos provocou uma resposta semelhante à frequência de entrada no aberto mas em ambas as situações a variação não atingiu índices significantes.

Em relação ao número total de entradas no estudo agudo e repetido, com mazindol, figura 8 a análise de variância realizada, ANOVA de três vias, mostrou diferenças significantes em relação ao sexo [F (1, 80) = 24,52; p < 0,0004], tratamento [F (1, 80) = 13,54; p < 0,0007] condição [F (1, 80) = 12,92; p < 0,0008], na interação sexo x tratamento [F (1, 80) = 18,30; p < 0,0001], sexo x condição [F (1, 80) = 6,30; p < 0,01] e tratamento x condição [F (1, 80) = 5,05; p < 0,02]. Pelo método de análise de Newman-Keuls, as fêmeas, tratadas com mazindol (10 mg / kg), nas duas condições de tratamento, agudo e repetido, apresentaram o número total de entradas estatisticamente diferentes dos machos. O tratamento agudo com mazindol aumentou significativamente o número total de entradas nas fêmeas, quando comparado ao controle e ao tratamento repetido, enquanto que para os machos não foi observada alteração alguma. A análise de covariância (ANCOVA) utilizando as entradas nos braços abertos como variável dependente e as entradas nos braços fechados como covariável não demonstrou efeito significativo [F (1,8) = 0,7, p > 0.4] indicando que o aumento de entradas nos braços abertos foi dependente do efeito sobre as entradas nos braços fechados. Isto mostra que, nesta dose, as fêmeas mostraram-se mais suscetíveis à alteração da atividade motora, do que os machos mas neste teste elas não demonstraram sensibilização.



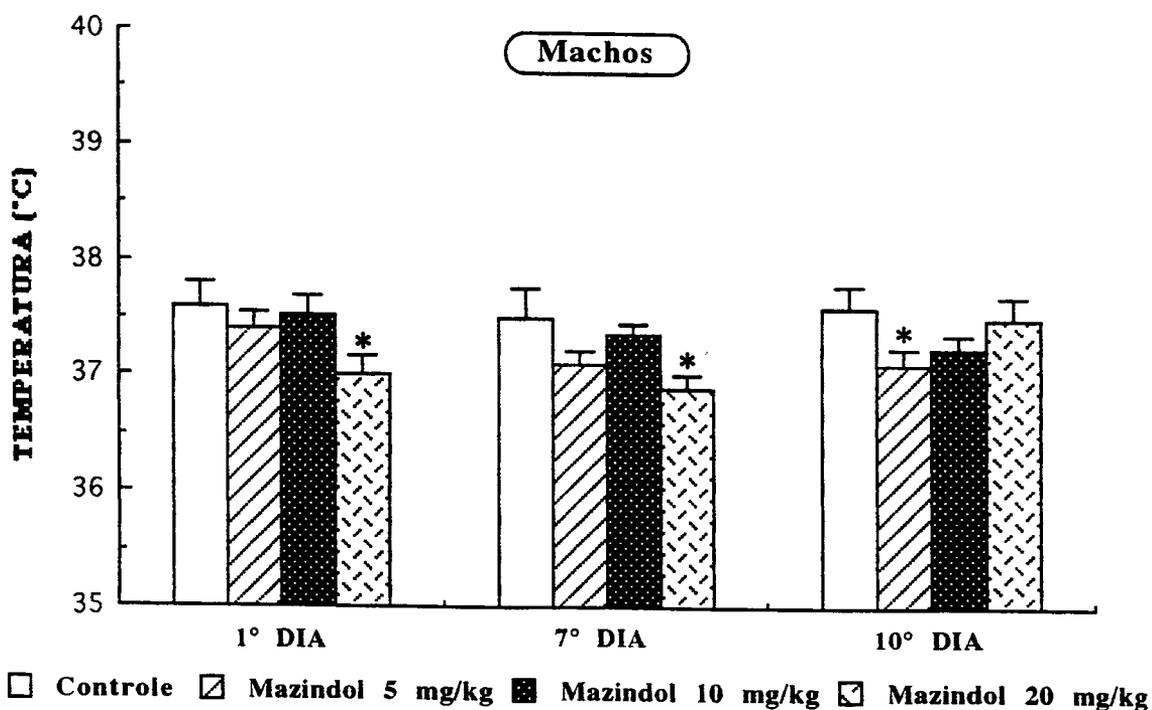
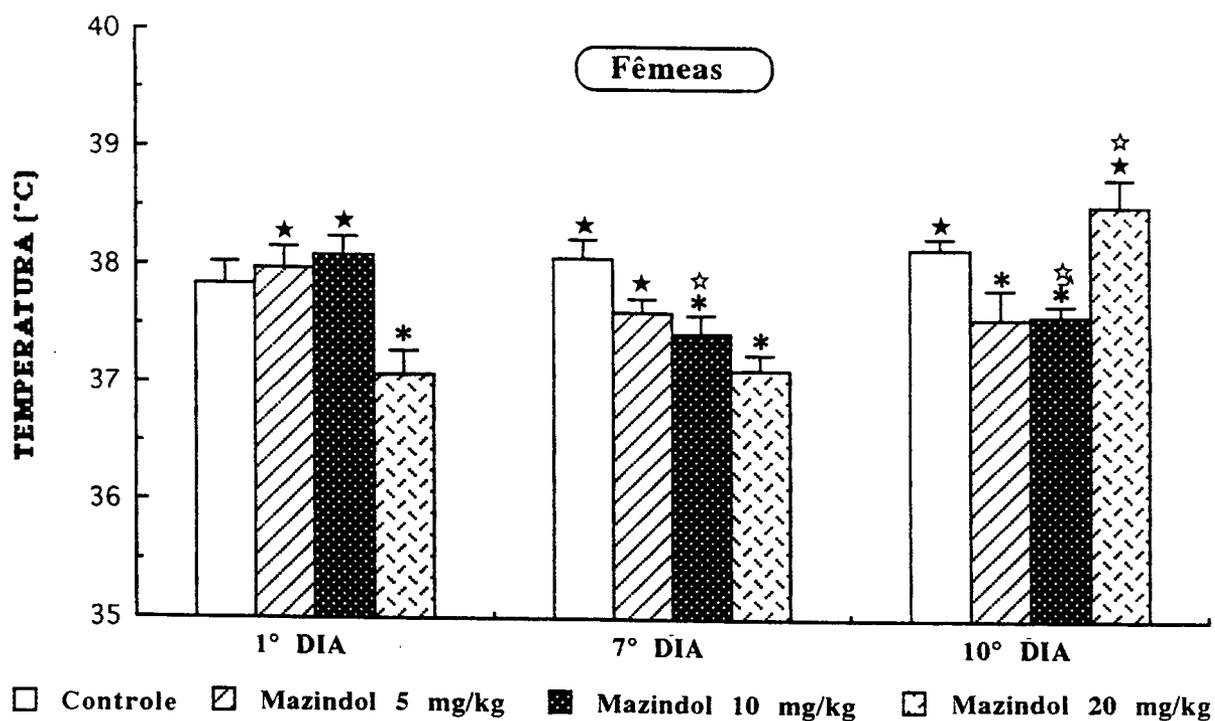
**Figura 8** - Comportamento de ratos machos e fêmeas quinze minutos após as injeções agudas e repetidas (7 dias) de mazindol ou veículo no labirinto em cruz elevado. Os dados representam a média e e.p.m. do total de entradas nos lados do labirinto em cruz elevado. ☆  $p < 0,05$  para comparações entre tratamento agudo e repetido. \*  $p < 0,05$  para comparações entre grupos tratados com mazindol e veículo, ☆  $p < 0,05$  para comparações entre sexo, (teste de Newman Keuls).

## 5. Medida da temperatura corporal.

Para a medida da temperatura foi utilizado um termômetro eletrônico digital (Dixtal). A temperatura retal foi medida inserindo-se o sensor do termômetro, lubrificado com óleo de milho, cerca de 2,5 cm no reto do animal, aí permanecendo até a estabilização (1 minuto aproximadamente). Os animais foram tratados durante 7 dias consecutivos com veículo ou mazindol nas doses de 5, 10 e 20 mg/kg, via i.p. A leitura da temperatura foi feita 20 minutos após o tratamento no 1º, 7º e 10º dia. Este teste foi executado juntamente com o "open field" e em ambiente com temperatura controlada, entre 22 e 24°C.

### 5.1. Resultado

A influência das exposições aguda e repetida do mazindol (5, 10 e 20 mg/kg) sobre a temperatura corporal de ratos machos e fêmeas está ilustrada na figura 9. A análise estatística efetuada o teste ANOVA de três vias mostrou diferenças significante no sexo,  $F(1, 239) = 56,710$ ,  $p < 0,001$ , tratamento,  $F(3, 239) = 4,18$ ,  $p < 0,01$  e no fator dia,  $F(2, 239) = 10,66$ ,  $p < 0,001$ . Além disso as interações entre os grupos tratados x dia, mostraram-se estatisticamente significantes:  $F(6, 239) = 13,75$ ,  $p < 0,001$ . O teste posterior de Newman Keuls revelou que os machos e as fêmeas tratados com veículo não diferiram significamente entre si no teste agudo, mas diferiram nos grupos tratados com mazindol e em exposições repetidas. Os grupos tratados agudamente com mazindol demonstraram uma resposta hipotérmica, para a dose (20 mg/kg) em ambos os sexos. Após injeções repetidas, de mazindol (5, 10 e 20 mg/kg) por 7 dias, as fêmeas apresentaram hipotermia, nas doses de 10 e 20 mg/kg e os machos na dose de 20 mg/kg, quando comparados aos respectivos controles. A hipotermia apareceu no dia 10, nas fêmeas após injeções com mazindol (5 e 10 mg/kg), e nos machos apenas na dose de 5 mg/kg.



**Figura 9** - Efeitos da administração aguda (1º dia) repetida (7º dia) e após a retirada (10º dia) de mazindol ou veículo sobre a temperatura colônica de ratos machos e fêmeas, vinte minutos após os tratamentos. Os dados representam a média e e.p.m. de dez animais. ☆  $p < 0,05$  em relação ao 1º dia de tratamento, \* $p < 0,05$  em relação aos respectivos controles, ☆  $p < 0,05$  para comparações entre sexo, (teste de Newman-Keuls).

Ainda no dia 10, os ratos machos e fêmeas tratados com a dose de 20 mg/kg não apresentaram efeito hipotérmico. A resposta hipotérmica mantida, após o tratamento repetido, não sugere sensibilização, mas a ausência de uma resposta hipotérmica no dia 10 poderia indicar a indução de tolerância, em ambos os sexos. Pode ser observado, também nesta figura 8, que as fêmeas apresentam uma sensibilidade a resposta hipotérmica para doses mais baixas de mazindol após o tratamento repetido e, ao mesmo tempo, a ausência de resposta hipotérmica com a dose de 20 mg/kg no dia dez foi significativamente maior comparada aos machos.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, os resultados demonstrando o efeito estimulante na atividade locomotora após injeções repetidas de mazindol sugerem o desenvolvimento de sensibilização. A preferência condicionada de lugar sugere a presença de propriedades reforçadoras. Na avaliação da temperatura corporal o mazindol mostrou um efeito hipotérmico a partir do tratamento agudo. As fêmeas parecem ser mais suscetíveis ao fenômeno de sensibilização da atividade locomotora e ao efeito hipotérmico do mazindol. No entanto não foi observada diferença sexual na manifestação do efeito reforçador do mazindol. A presença de efeito ansiogênico também não foi detectada para a dose de mazindol testada em ratos de ambos os sexos

É bem conhecido que no teste do "open field", os ratos machos apresentam elevada defecação e baixa ambulação, quando comparados à fêmeas (Archer, 1975, Beatty e Fessler, 1976, Masur et al., 1980). Assim, os resultados obtidos neste estudo confirmam este padrão de resposta, já que uma atividade locomotora elevada consistente foi observada em fêmeas quando comparadas aos machos tratados com veículo ou com mazindol. Além do mais, uma resposta sexo-dependente, bastante clara, foi detectada, no dia 10, quando mazindol foi novamente administrado, mostrando que as fêmeas são mais sensíveis à droga. As diferenças sexuais observadas na resposta locomotora sensibilizada com mazindol, estão de acordo com alguns trabalhos experimentais demonstrando diferenças sexuais na sensibilização produzidas por drogas estimulantes. Por exemplo, sabe-se que o tratamento repetido com a anfetamina produz uma elevação no comportamento de rotação, nas estereotípias e na atividade motora das fêmeas em relação aos machos (Camp e Robinson, 1988a, Robinson et al, 1982). Ainda, Glick

e Hinds (1984) sugerem também que a sensibilização à rotação, induzida por cocaína, ocorre mais em fêmeas do que em machos. Esta diferença sexual ao estímulo ativador parece ser devido a mudanças no sistema dopaminérgico mesotelencefálico (Camp e Robinson, 1988b).

A resposta locomotora aumentada, induzida por doses repetidas de mazindol observada no "open field", parece ser similar àquela induzida por cocaína e estimulantes relacionados (Post et al., 1987, Robinson e Becker 1986). A generalidade destes efeitos, assim como a sensibilização cruzada recíproca entre estimulantes, sugerem um mecanismo básico comum para a sensibilização comportamental (Aizenstein et al., 1990, Baldo e Kelly, 1991).

Outro parâmetro comportamental registrado no "open field" foi o levantar. Embora este parâmetro possa também ser avaliado como uma função motora dos animais (Shillito, 1970), no presente experimento não parece haver nenhuma correlação com a locomoção. Para Ades (1969), o levantar pode ser interpretado "como a expressão de um estado de ativação generalizada do qual faltaria o componente exploratório". No entanto, para os presentes resultados, tal afirmativa não nos parece verdadeira, uma vez que tal ativação generalizada implicaria um aumento concomitante do levantar e da locomoção.

A estimulação da atividade locomotora e o aumento da liberação de dopamina em áreas límbicas são efeitos que estão frequentemente associados a drogas reforçadoras (Layer et al., 1993). Os dados da figura 3 demonstram que o mazindol, 10 mg/kg, uma dose que estimula e sensibiliza a atividade locomotora, produziu nos ratos machos e fêmeas, uma preferência condicionada de lugar, quando pareados com o lado menos preferido. Somente quatro ensaios de condicionamento com a droga foram necessários para produzir a preferência

condicionada de lugar. Entretanto não se observou diferenças significantes entre machos e fêmeas. Esta dose de mazindol utilizada, bem como o tempo de condicionamento, são similares aos relatados para a cocaína e a anfetamina (Calgagnetti e Schechter, 1992, Layer et al., 1993, Sachenk et al., 1986). Estes resultados sugerem que o mazindol possui propriedades reforçadoras, confirmando os resultados de Wilson e Schuster (1976), que indicam que o mazindol é auto-administrado por macacos *rhesus*.

De forma similar à atividade locomotora tem sido levantada a possibilidade de que exposições repetidas à droga produzam sensibilização ao efeito de reforço (Lett, 1989). O pré-tratamento com mazindol, por sete dias, aumentou a preferência condicionada de lugar induzida pela droga, após quatro ensaios de condicionamento. Embora no presente experimento este aumento não tenha sido significativo, registrou-se a tendência de sensibilização ao efeito reforçador. É possível que a utilização de outras doses, aumento do número de animais por grupo, diferentes regimes de pré-tratamento ou um aumento no tempo de condicionamento poderiam induzir efeitos significantes. Por exemplo ratos previamente sensibilizados à cocaína adquiriram comportamento de auto-administração de cocaína para a dose da droga que não encorajava a auto-administração em animais não expostos previamente (Horger et al 1990). Ainda, de acordo com a teoria de Lett (1989): drogas de abuso induzem dependência porque exposições repetidas sensibilizam o mecanismo de reforço central de tal modo que levam à produção de um aumento progressivo no efeito de reforço cada vez que a exposição ocorre. Wise e Bozarth (1987) têm argumentado que os efeitos reforçadores e ativadores são mediados por um mecanismo comum. Assim, é concebível que exposições repetidas ao mazindol a semelhança do que ocorre com a anfetamina, a cocaína ou a morfina (Lett, 1989), aumentem o efeito reforçador

quando intensifica a ativação do comportamento locomotor. Segundo Lett (1989) uma teoria aprofundada sobre a dependência requer pesquisas detalhadas de como a sensibilização do mecanismo de reforço central amplificaria as propriedades de incentivo condicionadas e não condicionadas de drogas, propõe que, com exposições repetidas, a probabilidade de dependência aumenta porque a droga leva a produzir um efeito de reforço progressivo cada vez que ocorre a exposição.

Uma vez que o mazindol é conhecido por agir primariamente, pela inibição da captação de dopamina (Javitch et al, 1984, Pöggün et al, 1991) e considerando as referências prévias, é possível que os efeitos comportamentais, como a sensibilização da atividade locomotora e o efeito reforçador induzidos por mazindol, possam ser devidos a sua ação nos terminais dopaminérgicos. Tal afirmação é também sustentada pelo estudo recente de Baker et al (1993) que demonstrou que as propriedades de estímulo discriminativo da cocaína são substituídas pelos compostos que agem primariamente bloqueando a captação da dopamina e que a ordem de potência é mazindol > nomifensina > GB R 12909 > bupropiona.

Embora as bases neuroquímicas da sensibilização e das propriedades reforçadoras não estejam claramente estabelecidas, nos últimos anos surgiram alguns progressos na determinação dos mecanismos neurais da sensibilização induzida por psicoestimulantes, opióides e estressores. Alterações na transmissão dopaminérgica em terminais axonais, tais como núcleo *accumbens* e, na ação de drogas e estressores nas regiões somatodendríticas dos corpos celulares de neurônios dopaminérgicos das áreas A10/A9 parecem ser as bases para o aparecimento da sensibilização comportamental ( Kalivas e Webber, 1988, Kalivas e Stewart, 1991). Entretanto, não é conhecido exatamente como as mudanças nestas áreas são codificadas para permitir a transmissão dopaminérgica aumentada

em campos terminais. Segundo Kalivas e Stewart (1991) uma possibilidade é a de que os neurônios dopaminérgicos de animais sensibilizados possam ter se tornado sensíveis, progressivamente, aos estímulos do meio ambiente (estressores) e aos estímulos farmacológicos ou se tornado dessensibilizados à regulação inibitória. Embora ainda não muito clara, é bastante aceita a idéia de que mecanismos múltiplos estariam envolvidos nas mudanças de efetividade de uma droga após exposições repetidas (Goudie e Emmett-Oglesby, 1989, Trujillo e Akil, 1991). Sabe-se que o conceito de resposta biológica é intrinsecamente plástico para todos os níveis de organização ao qual esta resposta é evocada. Portanto é razoável assumir que, sob ativação repetida, todos os mecanismos, direta ou indiretamente envolvidos na expressão de um dado efeito de uma droga, possam ser submetidos a mudanças plásticas de extensões maiores ou menores (Stewart e Badiani, 1993). Ao mesmo tempo, torna-se evidente que o desenvolvimento de tolerância ou de sensibilização possa ser mediado por mudanças em um ou em vários mecanismos que venham a agir ao mesmo tempo da administração da droga e o aparecimento de sua ação farmacológica. É possível que ocorram mudanças nos parâmetros farmacocinéticos da droga, tais como absorção, distribuição, metabolismo e eliminação (Kalant et al., 1971, Le e Khanna, 1989), e, mudanças a nível de células alvo, tais como mudanças no número de células, de distribuição celular, afinidade e grau de ativação dos receptores, em sistemas transduccionais ou na citoarquitetura (Beitner-Johnson et al., 1992, Cox, 1991, Klein et al., 1989)

Através da utilização de técnicas eletrofisiológicas, neuroquímicas e comportamentais Kalivas et al.,(1985), Deutch e Roth (1990) encontraram, na região A10/A9, vários neurotransmissores e/ou neuromoduladores envolvidos na transmissão dopaminérgica, como por exemplo, o GABA, as encefalinas, as neurotensinas, a substância P e o glutamato. Adicionalmente, estudos posteriores mostraram que a neurotensina, o glutamato, a substância P e o GABA via

receptores GABA-B, influenciam diretamente os neurônios dopaminérgicos, enquanto que os opióides e o GABA via receptores GABA-A regulam indiretamente os neurônios dopaminérgicos (Kalivas e Stewart, 1991). Outros pesquisadores também sugerem a existência de vários sistemas neuronais em paralelo mediando o efeito reforçador, ao invés de um único sistema (Wise e Rompre, 1989).

Além disso, pesquisas recentes têm indicado que a serotonina potencia a liberação de dopamina no núcleo *accumbens*. Esta modulação pode ocorrer localmente (Chen et al., 1991, Parsons e Justice, 1993), via área tegmentar ventral (Guan e McBride, 1989) ou via núcleo dorsal da rafe (Yoshimoto e McBride, 1992). A importância destes achados reside no fato de que julga-se que muitas das desordens psiquiátricas como por exemplo ansiedade, depressão e certas psicoses seriam mediadas primariamente pela serotonina (Tricklebank, 1989, Costall et al., 1990). Embora, como já mencionado anteriormente, a dopamina pareça ter um papel preponderante nos aspectos reforçadores de muitas drogas de abuso (Wise e Bozarth, 1987) e a sensibilização comportamental, induzida pela administração de drogas, tenha sido associada ao sistema dopaminérgico (Robinson et al., 1988, Kalivas e Duffy, 1990), a serotonina também tem sido envolvida nos aspectos reforçadores de muitos psicoestimulantes (Carrol et al., 1990a,b, Porrino et al., 1989, Richardson e Roberts, 1991). Inclusive Conningham et al (1992) correlacionaram a sensibilização comportamental com alterações no sistema serotoninérgico, porém a sensibilização neuroquímica do sistema serotoninérgico não tem sido relatada na literatura. Neste mesmo ano, Izenwasser et al. (1992) mostrou que a cocaína, como a dopamina, inibe a captação da serotonina no núcleo *accumbens*. Segundo Parsons e Justice (1993), devido às ações similares da cocaína sobre os neurônios dopaminérgicos e serotoninérgicos, pode ser postulada a hipótese de que a administração repetida resulta em efeitos similares tanto sobre o sistema serotoninérgico como no sistema dopaminérgico. No entanto, pouco se sabe

sobre os efeitos crônicos da cocaína sobre as funções da serotonina. Acredita-se mesmo assim que a interação serotonina/dopamina pode contribuir para a sensibilização da dopamina no núcleo *accumbens*, depois da administração repetida da droga (Parsons e Justice, 1993). Embora se desconheça as ações do mazindol sobre o sistema serotoninérgico é possível que a hipótese acima formulada possa ser estendida ao mazindol, considerando a existência de um mecanismo de ação comum entre a cocaína e o mazindol, como já citado na presente discussão.

Em humanos sabe-se que a cocaína precipita episódios de ataque de pânico em alguns indivíduos (Anthony et al., 1989, Aronson e Craing, 1986, Washton et al., 1984). Além disso, alguns dos maiores sintomas associados com a retirada da cocaína são freqüentemente ansiedade severa, insônia e agitação (Crowley, 1987, Gawin e Ellinwood, 1989, Tarr e Macklin, 1984). A propriedade ansiogênica da cocaína foi demonstrada em camundongos, no modelo de ansiedade de dois compartimentos, branco/preto (Costall et al., 1989). Ettenberg e Geist (1991) relataram que a administração de cocaína resultou em um comportamento reforçador e ansiogênico em ratos treinados para se auto-administrarem a droga, após atravessar uma via estreita. Com a repetição do teste, a latência para entrar na caixa meta, onde as infusões de cocaína intravenosa foram gradualmente aumentadas, observou-se um pré-conflito ou resposta ansiogênica. O pré-tratamento com diazepam reduziu a latência para entrada na caixa meta. Também existem na literatura relatos de que mudanças nos níveis de corticosterona plasmática são respostas fisiológicas sensíveis ao estresse ou ansiedade (File, 1990). Com base nestes dados Yang et al.(1992) demonstraram que as administrações aguda e crônica de cocaína elevaram significativamente as concentrações de corticosterona no plasma de ratos. O pré-tratamento com

clordiazepóxido atenuou os efeitos da cocaína na corticosterona plasmática, fortalecendo o conceito de que a cocaína teria um efeito ansiogênico.

No que diz respeito a capacidade do mazindol em produzir estímulo de caráter ansiogênico, admite-se que na avaliação dos resultados obtidos, no teste do labirinto em cruz elevado (fig. 6, 7 e 8), esta propriedade não foi observada, tanto no tratamento agudo quanto no repetido, em ambos os sexos. O tratamento agudo nos machos mostrou uma tendência de efeito ansiogênico com a redução da frequência de entradas no lado aberto e a redução de tempo no lado aberto, sem alteração no número total de entradas. Entretanto o tratamento repetido reverteu estes efeitos. Por outro lado, nas fêmeas o mazindol em tratamento agudo aumentou significativamente a frequência de entradas no lado aberto e o tempo gasto no lado aberto, mas não podemos concluir que estes resultados representem um efeito ansiolítico, uma vez que o número total de entradas também aumentou significativamente. Provavelmente esta resposta se deve a maior locomoção das ratas, confirmando inclusive os achados do "open field" onde as fêmeas apresentaram uma atividade locomotora mais elevada. A exemplo dos machos, o tratamento repetido também reverteu estes efeitos.

Rogério e Takahashi (1992) sugerem que a habilidade da cocaína em induzir propriedades ansiogênicas tanto em ratos como em camundongos pode depender, pelo menos em parte, do estado de excitação do animal. No presente estudo no entanto o mazindol foi testado em animais normais. Recentemente, foi relatado que a vulnerabilidade à auto-administração intravenosa de anfetamina está associada com a reatividade do animal a novos ambientes, sugerindo que respostas fisiológicas ao estresse podem ser preditivas de perigo de abuso individual (Piazza et al., 1989 e 1990). Usuários sociais de cocaína são frequentemente capazes de utilizar esta droga controlando seus padrões de uso para níveis que não aumentam o risco de dependência e toxicidade. Isto sugere que fatores adicionais às

propriedades reforçadoras da cocaína podem explicar porque alguns indivíduos podem se tornar usuários recreacionais e eventuais da droga enquanto outros progridem para um uso compulsivo da droga (Yang et al., 1992).

Em diferentes espécies animais incluindo o homem a hipotermia é um efeito da administração sistêmica de agonistas dopaminérgicos diretos bem documentado (Salmi et al., 1993). O uso de outras drogas com mecanismos de ativação indireta do sistema dopaminérgico tem levado a se especular o envolvimento da dopamina endógena na termorregulação. Apesar do fato da dopamina, já em 1966, ter sido citada como produtora de um declínio na temperatura, quando injetada no ventrículo cerebral de macacos conscientes (Myers, 1966 e 1969), apenas nos últimos anos esta catecolamina foi implicada no mecanismo central da regulação da temperatura (Lee et al., 1985). A anfetamina, que aumenta a dopamina endógena, por liberação ou inibição da recaptção, é vista como produtora de mudanças na temperatura, análogas àquelas da dopamina nos animais mantidos em baixas temperaturas (Amico et al., 1976, Yheuda e Wurtman, 1972, 1975). Portanto além das respostas comportamentais, o sistema neuronal dopaminérgico parece desempenhar um importante papel na regulação central da temperatura corporal em animais. Conseqüentemente os efeitos prováveis sobre a temperatura corporal provocados por drogas cujo mecanismo de ação esteja envolvido com este sistema ou com respostas comportamentais, têm merecido mais atenção.

No presente estudo o tratamento agudo e repetido com mazindol induziu uma resposta hipotérmica, em ratos machos e fêmeas confirmando efeitos de outros psicoestimulantes (Amico et al., 1976). As ratas, após o tratamento repetido, apresentaram um efeito hipotérmico dose-dependente. Apesar das fêmeas demonstrarem uma diferença significativa no efeito hipotérmico em relação aos machos, não se observou a ocorrência de sensibilização à hipotermia induzida pelo mazindol em ambos os sexos. No entanto, a ausência do efeito hipotérmico no dia

10 após a exposição a dose maior de mazindol, pode sugerir tolerância tanto nos machos como nas fêmeas. A exemplo da sensibilização, a tolerância pode se desenvolver a um efeito particular da droga e não a outro (Miczek, 1991, Smith, 1991) ou ainda, a tolerância pode se desenvolver para alguns efeitos, enquanto a sensibilização se desenvolve a outro (Stewart e Badiani, 1993). Na temperatura ambiente de um laboratório (22 a 24°C), o declínio da temperatura colônica, induzida por dopamina, pode ser devido, pelo menos em parte, à vasodilatação periférica, já que a hipotermia sempre é precedida por uma elevação na temperatura da pele (Brown et al., 1982, Myers, 1980). O mecanismo exato da termorregulação que envolve as vias dopaminérgicas ainda não foi esclarecido. Especula-se que o efeito hipotérmico poderia ter a participação do sistema dopaminérgico do hipotálamo (grupo de células A12 e A14) e da substância nigra (grupo de células da região A9) (Lee et al., 1985).

Em suma, a avaliação dos dados do presente estudo com mazindol sugerem que as respostas comportamentais observadas tais como sensibilização da atividade locomotora, efeito reforçador bem como a resposta fisiológica como o efeito hipotérmico, podem ser mediados por sistemas neuronais dopaminérgicos. Embora a sensibilização da atividade locomotora e a ausência de sensibilização ou tolerância na hipotermia tenham sido observadas simultaneamente após a administração repetida de mazindol, o substrato neuronal dopaminérgico que forma a base das respostas não parecem ser comuns. Ainda, pode-se observar que a sensibilização desenvolveu-se para o efeito locomotor, e não para os outros efeitos no presente estudo, confirmando que a sensibilização pode se desenvolver a um efeito particular da droga e não a outro (Stewart e Badiani, 1993). Além disso, a diferença sexual foi evidente na sensibilização do efeito estimulante locomotor e na resposta hipotérmica do mazindol. As fêmeas demonstraram ser mais suscetíveis. Segundo Forgie e Stewart (1993) os padrões de estradiol circulante, nas fêmeas,

pode contribuir para uma maior suscetibilidade das mesmas às ações de drogas psicoestimulantes. É importante ressaltar que estes resultados experimentais podem ter relevância para a análise dos problemas do abuso de mazindol por humanos, principalmente em relação ao consumo repetido da droga.

## CONCLUSÕES

As respostas dos estudos comportamentais e fisiológicas de ratos machos e fêmeas submetidos aos tratamentos agudo e repetido com mazindol, levou-nos a concluir que:

1. o tratamento repetido com mazindol induz o desenvolvimento de sensibilização da atividade locomotora, em ambos os sexos. Sendo as fêmeas mais suscetíveis;
2. o aumento da preferência condicionada de lugar, observado em ratos machos e fêmeas, sugere que o mazindol possui propriedades reforçadoras. O pre-tratamento repetido com a droga não induziu sensibilização nesse teste;
3. o mazindol na dose testada não apresentou um efeito detectável no teste do labirinto em cruz elevado, em ambos os sexos;
4. os tratamentos agudo e repetido com mazindol, em ratos machos e fêmeas, produziu hipotermia, sendo que as fêmeas mostraram ser mais sensíveis;
5. as respostas comportamentais obtidas nesse estudo parecem confirmar semelhanças entre as propriedades farmacológicas do mazindol e da cocaína.

## RESUMO

O mazindol é conhecido por bloquear o mecanismo de captação da dopamina (DA) de modo similar ao induzido pela cocaína e constitui-se numa das drogas anorexígenas mais usadas no Brasil.

Tendo em vista a escassez de literatura referente aos efeitos comportamentais do mazindol em animais de laboratório, a proposta do presente estudo foi investigar os efeitos de administração aguda e repetida de mazindol em alguns testes comportamentais em ratos machos e fêmeas. Foram usados os seguintes testes: atividade locomotora no campo aberto, preferência condicionada de lugar e o labirinto em cruz elevado como modelo de ansiedade. Além disso, foram comparados os efeitos do mazindol sobre a temperatura corporal entre ratos machos e fêmeas. O mazindol (5, 10 e 20 mg/kg) administrado durante 7 dias, induziu sensibilização a seu efeito estimulante na locomoção em ambos os sexos. Entretanto, esse efeito pareceu ser sexo-dependente, pois as fêmeas se mostraram mais sensíveis. O aumento do tempo de permanência pelos ratos tratados com mazindol (10 mg/kg) no teste de preferência de lugar sugere que o mesmo possui propriedades reforçadoras. Por outro lado, o tratamento repetido com mazindol não induziu sensibilização na preferência condicionada de lugar. Ainda, um significativo efeito hipotérmico foi observado seguindo-se injeções agudas e repetidas de mazindol (5, 10 e 20 mg/kg) em ratos de ambos os sexos. Novamente as fêmeas pareceram mais suscetíveis a mudanças na temperatura corporal induzida pela droga.

Em conclusão, esses resultados indicam que a administração aguda de mazindol induz efeitos reforçadores em ratos, e que a sua administração repetida produz sensibilização sexo-dependente para seu efeito no comportamento

locomotor. Esses achados experimentais podem ter relevância para o estudo do consumo repetido de drogas em humanos.

## ABSTRACT

Mazindol constitutes one of the most used anorectic drug in Brasil and it is known to block dopamine (DA) uptake mechanism in a similar way to cocaine.

Since the literature concerning behavioral effects of mazindol in laboratory animals is scanty, the purpose of the present study was to investigate the effects of acute and repeated administration of mazindol on some behavioral tests in male and female rats. The following tests were used: locomotor activity in the open field, the conditioned place preference and the elevated plus maze model of anxiety. Also, the effects of mazindol on body temperature were compared between male and female rats.

Mazindol (5, 10 e 20 mg/kg) administered for 7 days induced sensitization to its locomotor stimulatory effect in both sexes. However, this effect appeared to be sex dependent, female rats being more sensitive. The increase in the time spent by mazindol (10 mg/kg) treated rats in place preference test suggests that it possess reinforcing properties. On the other hand, repeated treatment with mazindol failed to induce a conditioned place preference. Further, a significant hypothermic effect was seen following acute and repeated injection of mazindol (5,10 e 20 mg/kg) in rats of both sexes. Again females rats seemed more susceptible to body temperature changes induced by the drug.

In conclusion, these results indicate that the acute administration of mazindol induces reinforcing effects in rats and that, repeated administration of mazindol produces sex-dependent sensitization to its effect on locomotor behavior. These laboratory findings may have relevance to the study of repeated drug taking in humans.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADES, C.. A resposta de levantar-se no rato branco. *Ci. e Cult.*, v. 20, n. 1, p. 60-71, 1969.
- AIZENSTEIN, M. L., SEGAL, D. S., KUCZENSKI, R.. Repeated amphetamine and fencamfamine: sensitization and reciprocal cross-sensitization. *Neuropsychopharmacology*, v. 3, p. 283-290, 1990.
- AIZENSTEIN, M. L., PLANETA, C. S., DE LUCIA, R.. Reinforcing properties of fencamfamine, an indirect dopaminergic system stimulant. In: WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE, 3., Montreal, Canada. 1991. p. 205. Abstracts.
- AMICO, D. J. D., CALNE, D. B., KLAWANS, H. L.. Altered hypothalamic responsiveness to (+)-amphetamine. *J. Pharm. Pharmacol.*, v. 28, p. 154-156, 1976.
- ANGEL, I.. Central receptors and recognition sites mediating the effects of monoamines and anorectic drugs of feeding behaviour. *Clin. Neuropharmacol.*, v. 13, p. 361-391, 1990.
- ANGRIST, B. M., SUDILOVSKY, A.. Central nervous system stimulants : historical and clinical effects. In: IVERSEN, L. L., IVERSEN, S. D., SNYDER, S. H. (Eds.). *Handbook of psychopharmacology*. New York : Plenum Press, 1978. p. 99-165.

- ANTELMAN, S. M. Stressor-induced sensitization to subsequent stress: implications for the development and treatment of clinical disorders. In: KALIVAS, P. W., BARNES, C. D. (Eds.). **Sensitization in the nervous system**. New Jersey : Telford Press, 1988.
- ANTELMAN, S. M., EICHLER, A. J., BLACK, C. A. et al. Interchangeability of stress and amphetamine sensitization. **Science**, v. 207, p. 329-331, 1980.
- ANTHONY, J. C., THIEN, A. Y., PETROWIKIS, K. R.. Epidemiologic evidence on cocaine use and panic attacks. **Amer. J. Epidemiol.**, v. 129, p. 543-549, 1989.
- ARCHER, L. R.. Sex differences in emotional and related behavior. **Behav. Biol.**, v. 14, p. 457-479, 1975.
- ARONSON, T. A., CRAIG, T. J.. Cocaine precipitation of panic disorder. **Am. J. Psychiat.**, v. 143, p. 643-645, 1986.
- BAKER, L. E., RIDDLE, E. E., SAUNDERS, R. B. et al. The role of monoamine uptake in the discriminative stimulus effects of cocaine and related compounds. **Behav. Pharmacol.**, v. 4, p. 69-79, 1993.
- BALDO, B. A., KELLY, A. E.. Cross-sensitization between cocaine and GBR 12909, a dopamine uptake inhibitor. **Brain Res. Bull.**, v. 27, p. 105-108, 1991.

- BARTOLETTI, M., GAIARDI, M., GUBELLINI, G. et al. Long-term sensitization to the excitatory effects of morphine. **Neuropharmacology**, v. 22, p. 1193-1196, 1983.
- BEATTY, W. W., FESSLER, R. G.. Ontogeny of sex differences in open-field behavior and sensitivity to electric shock in the rat. **Physiol. Behav.**, v. 16, p. 413-417, 1976.
- BEITNER-JOHNSON, D., GUITART, X., NESTLER, E. J.. Neurofilament proteins and the mesolimbic dopamine system: common regulation by chronic morphine and chronic cocaine in the rat ventral tegmental area. **J. Neurosci.**, v. 12, p. 2165-2176, 1992.
- BRITISH NATIONAL FORMULARY. **Central nervous stimulants**. London : British Medical Association, Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 1990. n. 20.
- BROADHURST, P. L.. Experiments in psychogenetics. In: EYSENCK, H. J.. **Experiments in Personality**. London: Routledge and Kegan Paul, 1960.
- BROWN, S. J., GISOLFI, C. V., F. MORA.. Temperature regulation and dopaminergic systems in the brain : does the substantia nigra play a role? **Brain Res.**, v. 234, p. 275-286, 1982.
- BUNNEY, W. C., MASSAR, V. J., PERT, A. Chronic morphine-induced hyperactivity in rats is altered by nucleus *accumbens* and ventral tegmental lesions. **Psychopharmacology**, v. 82, p. 318-321, 1984.

- CALCAGNETTI, D. J., SCHECHTER, M.. Reducing the time needed to conduct conditioned place preference testing. **Prog. Neuro-Psychopharmacol & Biol. Psychiat.**, v. 16, p. 969-976, 1992.
- CAMP, M. D., ROBINSON, T. E.. Susceptibility to sensitization. I. Sex differences in the enduring effects of chronic D-amphetamine treatment on locomotion, stereotyped behavior and brain monoamines. **Behav. Brain Res.**, v. 30, p. 55-68, 1988a.
- CAMP, D. M., ROBINSON, T. E.. Susceptibility to sensitization. II. The influence of gonadal hormones on enduring changes in brain monoamines and behavior produced by the repeated administration of D-amphetamine or restraint stress. **Behav. Brain Res.**, v. 30, p. 69-88, 1988b.
- CARLINI, E. A., CARLINI-COTRIN, B., NAPPO, S.. **Illicit use of psychotropic drugs in brazilian cities : 1987-1989.** In: CEWG Proceedings of Epidemiologic Trends in Drug Abuse. DHHS Publication n. (ADM) 90-1.724; 1990:114-1115.
- CARLINI, E. A., MASUR, J.. Venda de medicamentos sem receita médica nas farmácias da cidade de São Paulo. **R. Assoc. Méd. Bras.**, v. 32, p. 75-78, 1986.
- CARR, G. D., PHILIPS, A. G., FIBIGER, H. C.. Independence of amphetamine reward from locomotor stimulation demonstrated by conditioned place preference. **Psychopharmacology**, v. 97, p. 175-178, 1988.

- CARR, G. D., WHITE, N. M.. Anatomical dissociation of amphetamine's rewarding and aversive effects : an intracranial microinjection study. **Psychopharmacology**, v. 89, p. 340-346, 1986.
- CARROL, M. E., LAC, S. T., ASENCIO M. et al. Fluoxetine reduces intravenous cocaine self-administration in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 35, p. 237-244, 1990a.
- CARROL, M. E., LAC, S. T., ASENCIO, M. et al. Intravenous cocaine self-administration in rats is reduced by dietary L-tryptophan. **Psychopharmacology**, v. 100, p. 293-300, 1990b.
- CHAIT, L. D., UHLENHUTH, E. H., JOHANSON, C. E.. The reinforcing and subjective effects of several anorectics in normal human volunteers. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 242, p. 777, 1987.
- CHEN, J., VAN PRAAG, H. M., GARDNER, E. L.. Activation of 5-HT<sub>3</sub> receptors by 1-phenylbiguanide increases dopamine release in the rat nucleus *accumbens*. **Brain Res.**, v.543, p. 354-357, 1991.
- CONNELL, P. H.. **Amphetamine psychosis**. London : Chapman and Hill, 1958.
- COSTALL, B., KELLY, M. E., NAYLOR, R. J. et al. The actions of nicotine and cocaine in a mouse model of anxiety. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 33, p. 197-203, 1989.

COSTALL, B., KELLY, M. E., NAYLOR, R. J. et al. Sites of action of ondansetron to inhibit withdrawal from drugs of abuse. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 36, p. 97-104, 1990.

COX, B., LEE, T. F.. Evidence for an endogenous dopamine-mediated hypothermia in the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 67, p. 605-610, 1979.

CONNINGHAM, K. A., PARIS, M., GOEDERS, N. E.. Chronic cocaine enhances serotonin autoregulation and serotonin uptake binding. **Synapse**, v. 11, p. 112-123, 1992.

CROWLEY, T. J.. Clinical issues in cocaine abuse. In: FISHER, S., RASKIN, A., UHLENHUGH, E. H. (Eds.). **Cocaine : clinical and biobehavioral aspects**. New York : Oxford University Press, 1987. p. 193-211.

DE LÚCIA, R., PLANETA, C.S., AIZENSTEIN, M.L..Propriedades reforçadoras da dietilpropiona, um anorexígeno. VII Reunião Anual da FESB, Caxambú, agosto/1992, resumos 1.172, p. 45.

DEUTCH, A.Y., ROTH, R. H.. The determinants of stress-induced activation of de prefrontal cortical dopamine system. **Prog. Brain Res.**, v. 85, p. 357-393, 1990.

DOWNS, A. W., EDDY, N. B.. The effect of repeated doses of cocaine on the rat. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 46, p. 199-202, 1932.

ELLINWOOD, E. H.. Amphetamine psychosis. I. Description of the individuals and process. **J. Nerv. Ment. Dis.**, v. 144, p. 273-283, 1967.

- ETTENBERG, A., GEIST, T. D.. Animal model for investigating the anxiogenic effects of self-administration cocaine. **Psychopharmacology**, v. 103, p. 455-461, 1991.
- FILE, S. E.. Interactions of anxiolytic and antidepressant drugs with hormones of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Pharmacol. Ther.**, v. 46, p. 357-375, 1990.
- FORGIE, M. L., STEWART, J.. Sex differences in amphetamine-induced locomotor activity in adult rats : role of testosterone exposure in the neonatal period. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 46, p. 637-645, 1993.
- GAWIN, F. H., ELLINWOOD, E. H.. Cocaine dependence. **Annu. Rev. Med.**, v. 40, p. 149-161, 1989.
- GERACIOTTI, T. D., POST, R. M.. Onset of panic disorder associated with rare use of cocaine. **Biol. Psychiat.**, v. 29, p. 403-406, 1991.
- GLICK, S. D., HINDS, P. A.. Sex differences in sensitization to cocaine-induced rotation. **Eur. J. Pharmacol.** v. 99, p. 119-121, 1984.
- GOGERTY, J. H., PENBERTHY, C., IORIO, L. et al.. Pharmacological analysis of a new anorexic substance: 5-hydroxy-5-(4-chlorophenyl)-2,3-dihydro-5h-imidazo(1,2-a) isoindole (mazindol). **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 214, p. 285-307, 1975.

- GÖTESTAM, K. G., GUNNE, L. M.. Subjective effects of two anorexigenic agents fenfluramine and AN 448 in amphetamine-dependent subjects. **Br. J. Addict.**, v. 67, p. 39-44, 1972.
- GOUDIE, A. J., EMMETT-OGLESBY, M. V.. Tolerance and sensitization: overview. In: GOUDIE, A. J., EMMETT-OGLESBY, M. V. (Eds). **Psychotropic drugs: tolerance and sensitization**. New Jersey: Human Press, 1989. p. 1-14.
- GRAEFF, F. G.. Abuso e dependência de drogas. In: GRAEFF, F. G.. **Drogas psicotrópicas e seu modo de ação**. São Paulo : E.P.U., 1990. p. 101-135.
- GRIFFITHS, R. H., BIGELOW, G. E., HENNINGFIELD, J. E.. Similarities in animal and human drug-taking behavior. In: MELLO, N. K. (Ed.). **Advances in substance abuse**. Greenwich, CT : JAI Press, 1980. v. 1, p. 1-90.
- GROVES, P. M., THOMPSON, R. F.. Habituation: a dual-process theory. **Psychol. Rev.**, v. 77, p. 419-450, 1970.
- GUAN, X. M., MCBRIDE, W. J.. Serotonin microinfusion into the ventral tegmental area increases accumbens dopamine metabolites. **Brain Res. Bull.**, v. 23, p. 541-547, 1989.
- GYSLING, K., WANG, R. Y.. Morphine-Induced activation of A10 dopamine neurons in the rat brain. **Brain Res.**, v. 277, p. 119-127, 1983.

- HAHN, B., ZACHARKO, R. M., ANISMAN, H.. Alterations of amphetamine elicited perseveration and locomotor excitation following acute and repeated stressor application. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 25, p. 29-33, 1986.
- HALL, C. S., BALLEHEY, E. L.. A study of the rats behavior in a field: A contribuição to method in comparative psichology. **Psychology**, v. 6, p. 1-12, 1934.
- HEMBY, S. E., JONES, G. H., JUSTICE, J.B., NEILL, D. B.. Conditioned locomotor activity but not conditioned place preference following intra-accumbens infusions of cocaine. **Psychopharmacology**, v. 106, p. 330-336, 1992.
- HERNANDEZ, L., HOEBEL, B. G.. Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialyis. **Life Sci.**, v. 42, p. 1705-1712, 1988.
- HORGER, B., SHELTON, K., SCHENK, S.. Prexposure sensitizes rats to the rewarding effects of cocaine. **Pharm. Biochem. Behav.**, v. 37, p. 707-711, 1990.
- IZENWASSER, S. ROSENBERGER, J.G., COX, B. M.. Inhibition of [<sup>3</sup>H]dopamine and [<sup>3</sup>H]serotonin uptake by cocaine: comparison between chopped tissue slices and synaptosomes. **Life Sci.**, v. 50, p. 541-547, 1992.
- JAVITCH, J. A., BLAUSTEIN, R. O., SNYDER, S. H.. [3H] Mazindol binding associated with neuronal dopamine uptake sites in corpus striatum membranes. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 90, p. 461-462, 1983.

- JAVITCH, J. A., BLAUSTEIN, R. O., SNYDER, S. H.. [3H]-Mazindol binding associated with neuronal dopamine and norepinefrine uptake sites. **Mol. Pharmacol.**, v. 26. p. 35-44, 1984.
- JOHANSON, C. E., SCHUSTER, C. R.. Animal models of drug self-administration. In: MELLO, N. K. (Ed.). **Advances in substance abuse**. 2. ed. Greenwich, CT : JAI Press, 1981. v. 2, p. 219-297.
- KALANT, H., LE BLANC, A. E., GIBBINS, R.J.. Tolerance to, and dependence on, some non-opiate psychotropic drugs. **Pharm. Rev.**, v. 23, p. 135-191, 1971.
- KALIVAS, P. W., TAYLOR, S., MILLER, J. S.. Sensitization to repeated enkephalin administration to the ventral tegmental area of the rat I. Behavioral characterization. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 235, p. 537-543, 1985.
- KALIVAS, P. W., DUFFY, P.. Sensitization to repeated morphine injection in the rat : possible involvement of A10 dopamine neurons. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 241, p. 204-212, 1987.
- KALIVAS, P. W., WEBER, B.. Amphetamine injection into the ventral mesencephalon sensitizes rats to peripheral amphetamine and cocaine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 245, p. 485-492, 1988.
- KALIVAS, P. W., DUFFY, P.. Similar effects of daily cocaine and stress on mesocorticolimbic dopamine neurotransmission in the rat. **Biol. Psychiat.**, v. 25, p. 48-58, 1989.

- KALIVAS, P. W., DUFFY, P.. Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. **Synapse**, v. 5, p. 48-58, 1990.
- KALIVAS, P.W., STEWART, J.. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Res. Rev.**, v. 16, p. 223-244, 1991.
- KATZ, R. J., GORMEZANO, G.. A rapid and inexpensive technique for assessing the reinforcement effects of opiate drugs. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 11, p. 231-234, 1979.
- KLEIN, W. L., SULLIVAN, J., SKORUPA, A. et al. Plasticity of neuronal receptors. **FASEB Journal**, v. 3 p. 2132-2140, 1989.
- KOKKINIDIS, L., ANISMAN, H.. Amphetamine models of paranoid schizophrenia : an overview and elaboration of animal experimentation. **Psychol. Bull.**, v. 88, p. 551-579, 1980.
- KOLTA, M. G., SHREVE, P., URETSKY, N. J.. Effect of methylphenidate pretreatment on the behavioral and biochemical responses to amphetamine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 117, p. 279-282, 1985.
- KOOB, G. K., BLOOM, F. E.. Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. **Science**, v. 242, p. 715-723, 1988.
- KRAMER, J. C., FISCHMAN, V. S., LITTLEFIELD, D. C.. Amphetamine abuse. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 201, p. 305-309, 1967.

- KRUK, Z. L., ZARRINDAST, M. R.. Mazindol anorexia is mediated by activation of dopaminergic mechanisms. **Br. J. Pharmacol.**, v. 58, p. 367-372, 1976.
- KUZCENSKI, R.. Biochemical actions of amphetamine and other stimulants. In: CREESE, I. (Ed.). **Stimulants : neurochemical, behavioral and clinical perspectives**. New York : Raven Press, 1983. p. 31-61.
- LACEY, M. G., MERCURI, N. B., NORT, R. A.. Two cell types in rat substantia nigra zona compacta distinguished by membrane properties and the actions of dopamine and opioids. **J. Neurosci.**, v. 9, p. 1233-1241, 1989.
- LAYER, R. T., KADDIS, F. G., WALLACE, L. J.. The NMDA receptor antagonist MK-801 elicits conditioned place preference in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 44, p. 245-247, 1993.
- LÊ, A. D., KHANNA, J. M.. Dispositional mechanisms in drug tolerance and sensitization. In: GOUDIE, A. J., EMMETT-OGLESBY, M. W. (Eds). **Psychoactive drugs: tolerance e sensitization**. Clifton: Humana Press, 1989. p.17-114.
- LEE, T. F., MORA, F., MYERS, R. D.. Dopamine and thermoregulation : an evaluation with special reference to dopaminergic pathways. **Neurosci. & Biobehav. Rev.**, v. 9, p. 589-598, 1985.
- LEIBOWITZ, S. F.. The role of serotonin in eating disorders. **Drugs**, v. 39, p. 33-48, 1990. Suppl. 3.

- LEITH, N. J., KUCZENSKI, R.. Two dissociable components of behavioral sensitization following repeated amphetamine administration. **Psychopharmacology**, v. 76, p. 310-315, 1982.
- LETT, B. T.. Repeated exposures intensify rather than diminish the rewarding effects of amphetamine, morphine, and cocaine. **Psychopharmacology**, v. 98, p. 357-362, 1989.
- LEYTON, M., STEWART, J.. Preexposure to foot-shock sensitizes the locomotor response to subsequent systemic morphine and intra-nucleus accumbens amphetamine. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 37, p. 303-310, 1990.
- LISTER, R. G.. The use of a plus maze to measure anxiety in mouse. **Psychopharmacology**, v. 92, p. 180-185, 1987.
- LISTER, R. G.. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharm. Ther.**, v. 46, p. 321-340, 1990.
- MARTIN-INVERSON, M. T., ORTMANN, R., FIBIGER, H. C.. Place preference conditioning with methylphenidate and nomifensine. **Brain Res.**, v. 332, p. 59-67, 1985.
- MASUR, J. SCHUTZ, M. T., BOERNGEN, R. Gender differences in open-field behavior as a function of age. **Dev. Psychobiol.** v. 13, p. 107-110, 1980.
- MATTHEWS, R., GERMAN, D. C.. Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine. **Neuroscience**, v. 11, p. 617-628, 1984.

- MICZEK, K. A.. Tolerance to the analgesic, but not discriminative stimulus effects of morphine after brief social defeat in rats. **Psychopharmacology**, v. 104, p. 181-186, 1991.
- MOORE, K. E.. . In: IVERSEN, L. L., IVERSEN, S. D., SNYDER, S. H. (Eds.). **Handbook of psychopharmacology**. New York : Plenum Press, 1978. v. 11, p. 41-98.
- MYERS, R. D.. Temperature regulation in the conscious monkey : chemical mechanisms in the hypothalamus. In: INT. BIOMETEROL CONGRESS., **Proceedings...** 1966. p. 125.
- MYERS, R. D.. Catecholamines and the regulation of body temperature. In: SZEKERES, L. (Ed.). **Handbook of experimental pharmacology**. Heidelberg : Springer-Verlag, 1980. v. 54/1, p. 549-567.
- MYERS, R. D., YAKSH, T. L.. Control of body temperature in the unanesthetized monkey by cholinergic and aminergic systems in the hypothalamus. **J. Physiol. (Lond)**, v. 202, p. 483-500, 1969.
- NAPPO, S. A.. Consumo de anorexígeno tipo-anfetamina (dietilpropiona, fenoproporex, mazindol) e de fenfluramina no Brazil : prejuízo ou benefício para a saúde. **J. Bras. Psiq.**, v. 41, p. 417-421, 1992.
- PANARETTO, B. A.. Pimozide and p-chlorophenylalanine blockade in DL-amphetamine and pargyline-treated rats held at two environmental temperatures. **Experientia**, v. 35, p. 1223-1224, 1979.

- PARSONS, L. H., JUSTICE, JR J. B.. Serotonine and dopamine sensitization in the nucleus *accumbens*, ventral tegmental area, and dorsal raphe nucleus following repeated cocaine administration. **J. Neurochem.**, v. 61, p. 1611-1619, 1993.
- PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S. E. et al.. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze: as a measure of anxiety in the rat. **J. Neurosci. Meth.**, v. 14, p. 149-167, 1985.
- PIAZZA, P. V., DEMINIERE, J., LE MOAL, M. et al. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. **Science**, v. 254, p. 1511, 1989.
- PIAZZA, P. V., DEMINIERE, J. M., LE MOAL, M. et al. Stress- and pharmacologically induced behavioral sensitization increases vulnerability to acquisition to amphetamine self-administration. **Brain Res.**, v. 514, p. 22-26, 1990.
- PÖGÜN, S., SCHEFFEL, U., KUCHAR, M.J.. Cocaine displaces [<sup>3</sup>H] WIN 35428 binding to dopamine uptake sites in vivo more rapidly than mazindol ou GBR 12909. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 198, p. 203-205, 1991.
- PORRINO, L. J., RITZ, M. C., GOODMAN, N. L. et al. Differential effects of the pharmacological manipulation of serotonin ssystems on cocaine and amphetamine self-administration in rats. **Life Sci.**, v. 45, p. 1529-1535, 1989.
- POST, R. M.. Cocaine psychoses : a continuum model. **Am. J. Psychiat.**, v. 132, p. 225-231, 1975.

- POST, R. M., ROSE, H.. Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. **Nature**, v. 260, p. 731-732, 1976.
- POST, R. M., WEISS, S. R. B.. Sensitization and Kindling : implications for the evolution of psychiatric symptomatology. In: KALIVAS, P. W., BARNES, C. D. (Eds.). **Sensitization in the nervous system**. Caldwell, NJ : Telford Press, 1988. p. 257-292.
- POST, R. M., WEISS, S., PERT, A. et al. Chronic cocaine administration : sensitization and kindling effects. In: FISHER, S., RASKIN, A., UHLENHUTH, S. H. (Eds.). **Cocaine : clinical and biobehavioral aspects**. New York : Raven Press, 1987. p. 109-173.
- REITH, M. E. A., MEISLER, B. E, SESHEN, H. et al. Structural requirements for cocaine congeners to interact with dopamine and serotonin uptake sites in mouse brain and to induce stereotyped behavior. **Biochem. Pharmacol.**, v. 35, p. 1223-1229, 1986.
- RICHARDSON, N. R., ROBERTS, D. C. S.. Fluoxetine pretreatment reduces breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous cocaine self-administration in the rat. **Life Sci.**, v. 49, p. 833-840, 1991.
- RISNER, M. E., SILCOX, D. L.. Psychostimulant self-administration by beagle dogs in a progressive-ratio paradigm. **Psychopharmacology**, p. 75-25, 1981.
- RITZ, M. C., LAMB, R. J., GOLDBERG, S. R. et al. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration. **Science**, v. 237, p. 1219-1223, 1987.

- RITZ, M., LAMB, R. J., GOLDBERG, S. R. et al. Cocaine self-administration appears to be mediated by dopamine uptake inhibition. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.**, v. 12, p. 233-239, 1988.
- ROBERTS, D. C. S., KOOB, G. F.. Disruption of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the ventral tegmental area in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 17, p. 901-904, 1982
- ROBINSON, R. E., ANGUS, A. L., BECKER, J. B.. Sensitization to stress : the enduring effects of prior stress on amphetamine-induced rotation behavior. **Life Sci.**, v. 37, p. 1039-1042, 1985.
- ROBINSON, T. E., BECKER, J. B.. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration : a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res.**, v. 11, p. 157-198, 1986.
- ROBINSON, T. E., BECKER, J. B., PRESTY, S. K.. Long-term facilitation of amphetamine-induced rotational behavior and striatal dopamine release produced by a single exposure to amphetamine : sex differences. **Brain Res.**, v. 253, p. 231-241, 1982.
- ROGÉRIO, R., TAKAHASHI, R. N.. Anxiogenic action of acute but not repeated cocaine administration in handling-habituated mice in the plus-maze test. **Bras. J. Med. Biol. Res.**, v. 25, p. 713-716, 1992a

- ROGÉRIO, R. TAKAHASHI, R.N.. Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 43, p. 631-633, 1992b
- SACHENK, S., HUNT, T., MALOVCHKO, R. et al. Differential effects of isolation housing on the conditioned place preference produced by cocaine and amphetamine. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 24, p. 1973-1976, 1986.
- SALMI, P., JIMENEZ, P., AHLENIUS, S.. Evidence for specific involvement of dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors in the regulation of body temperature in the rat. **Eur. J. Pharmacol.** v. 236, p. 395-400, 1993.
- SATO, M., CHEN. C. C., AKIYAMA, K. et al. Acute exacerbation of paranoid psychotic state after long-term abstinence in patients with previous methamphetamine psychosis. **Biol. Psychiat.**, v. 18, p. 429-440, 1983.
- SEGAL, D. S., KUCZENSKI, R.. Individual differences in responsiveness to single and repeated amphetamine administration : behavioral characteristics and neurochemical correlate. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 242, p. 917-926, 1987.
- SEGAL, D. S., GEYER, M. A., SCHUCKIT, M. A.. Stimulant-induced psychosis : an evaluation of animal models. In: YODIM, M. B. H., LOVENBERG, W., SHARMAN, D. F. (Eds.). **Essay in neurochemistry and neuropharmacology**. London : John Wiley, 1981. p. 95-129.
- SEGAL, D. S., MANDELL, A. J.. Long-term administration of d-amphetamine : progressive augmentation of motor activity and stereotypy. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 2, p. 249-255, 1974.

- SEGAL, D. S., SCHUCKIT, M. A.. Animal models of stimulant-induced psychosis. In: CREESE, I. (Ed.). **Stimulants : neurochemical, behavioral, and clinical perspectives**. New York : Raven Press, 1983. p. 131-167.
- SHILLITO, E. E.. A method for investigating the effect of drugs on the exploratory behavior of mice. **Brit. J. Pharmacol.**, v. 40, p. 113-123, 1970.
- SMITH, J. B.. Situational specificity of tolerance to decreased operant responding by morphine and l-mantradol. **Psychopharmacology**, v. 103, p. 115-120, 1991.
- SMITH, J. E., SHULTZ, K., CO, C. et al. Effects of 5, 7-dihydroxytryptamine lesions of the nucleus accumbens on rat intravenous morphine self-administration. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 26, p. 607-612, 1987.
- SNEDECOR, G.W., COCHRAN, G.C.. **Statistical methods**. 6 ed. USA, The IOWA STATE UNIVERSITY PRESS, 1967, 273p.
- STEKETEE, J. D., SORG, B. A., KALIVAS, P. W.. The role of the nucleus accumbens in sensitization to drugs of abuse. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.**, v. 16, p. 237-246, 1992.
- STEWART, J., BADIANI, A.. Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. **Behav. Pharmacol.**, v. 4, p. 289-312, 1993.
- STEWART, J., VEZINA, P.. Conditionig and behavioral sensitization. In: KALIVAS, P. W., BARNES, C. D. (Eds.). **Sensitization in the nervous system**. Caldwell, N.J. : Telford Press, 1988. p. 207-224.

- SUMMERS, R. J.. The effect of monoamine oxidase inhibitors on the rectal temperature of the rat. **J. Pharm Pharmacol.**, v. 26, p. 335-343, 1974.
- TAMURA, M.. Japan : stimulant epidemics past and present. **Bull. Narcot.**, v. 41, p. 83-93, 1989.
- TARR, J. E., MACKLIN, M.. Cocaine. **Pediatr. Clin. North Am.**, v. 34, p. 319-331, 1987.
- TREIT, D., MENARD, J., ROYAN, C.. Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 44, p. 463-469, 1993.
- TRICKLEBANK, M. D.. Interactions between dopamine and 5-HT<sub>3</sub> receptors suggest new treatments for psychosis and drug addiction. **Trends Pharmacol. Sci.**, v. 10, p. 127-128, 1989.
- TRUJILLO, K.A., AKIL, H.. Opiate tolerance and dependence: recent findings and synthesis. **New Biol.**, v. 3, p.915-923, 1991.
- VEZINA, P., STEWART, J.. The effect of dopamine receptor blockade on the development of sensitization to the locomotor activating effects of amphetamine and morphine. **Brain Res.**, v. 499, p. 108-120, 1989.
- WASHTON, A. M., GOLD, M. S.. Chronic cocaine abuse : evidence for adverse effects on health and functioning. **Psychiatr. Ann.**, v. 14, p. 733-739, 1984.
- WILSON, M. C., SCHUSTER, C. R.. Mazindol self-administration in the rhesus monkey. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 4, p. 207-210, 1976.

- WISE, R.. The neurobiology of craving : implications for the understanding and treatment of addiction. **J. Abnorm. Psychol.**, V. 97, p. 118-132, 1988.
- WISE, R. A., BOZARTH, M. A.. A psychomotor stimulant theory of addiction. **Psychol. Rev.**, v.94, p. 469-492, 1987.
- WISE, R. A., ROMPRE, P. P.. Brain dopamine and reward. **Ann. Rev. Psychol.**, v. 40, p.191-225, 1989.
- YANG, X.-M., GORMAN, A. L., DUNN, A. J. et al. Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 41, p. 643-650, 1992.
- YEHUDA, S., WURTMAN, R. J.. Release of brain dopamine as a probable mechanism for the hypothermic effect of D-amphetamine. **Nature**, v. 240, p. 477-478, 1972.
- YEHUDA, S., WURTMAN, R. J.. Dopaminergic neurons in the nigro-striatal and mesolimbic pathways : mediation of specific effects of d-amphetamine. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 30, p. 154-158, 1975.
- YOSHIMOTO, K., MCBRIDE, W. J.. Regulation of nucleus accumbens dopamine release by the dorsal raphé nucleus in the rat. **Neurochem. Res.**, v. 17, p. 401-407, 1992.
- ZAMBOTTI, F., CARRUBA, M. O., BARZAGHI, F. et al. Behavioral effects of a new non-phenylethylamine anorexigenic agent : mazindol. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 36, p. 405-412, 1976.

ZIANCE, R. J., SIPES, I. G., KINNARD, W. J. et al. Central nervous system effects of fenfluramine hydrochloride. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, .v. 180, p. 110-117, 1972.

## DIVULGAÇÃO DOS RESULTADOS

O presente trabalho deu origem à publicação:

ZANIN, M., TAKAHASHI, N. R.. Sex difference in sensitization to the locomotor effects of mazindol in rats. **Brain Res. Bull** v. 34 p. 385-387, 1994. (Em anexo).



0361-9230(94)E0038-2

# Sex Difference in Sensitization to the Locomotor Effects of Mazindol in Rats

MARLENE ZANIN AND REINALDO N. TAKAHASHI<sup>1</sup>*Departamento Farmacologia, CCB, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 88015-420 Brasil*

Received 4 October 1993; Accepted 28 January 1994

ZANIN, M. AND R. N. TAKAHASHI. *Sex difference in sensitization to the locomotor effects of mazindol in rats.* BRAIN RES BULL 34(4) 385-387, 1994.—Male and female rats were treated daily for 7 days with mazindol (5, 10, and 20 mg/kg), an anorectic drug, and tested in the open field. Mazindol developed sensitization to its locomotor stimulatory effect in both sexes on day 7 with a nondose-dependent pattern of response. However, the locomotor activity appeared to be sex dependent, female rats being more sensitive. Following a challenge dose of mazindol (10 and 20 mg/kg) on day 10, a marked enhancement of locomotion was seen in female rats. These findings indicate that repeated administration of mazindol produces sex-dependent sensitization to its effect on locomotor behavior.

Mazindol	Dopamine	Sensitization	Locomotor activity	Male rats	Female rats
----------	----------	---------------	--------------------	-----------	-------------

MAZINDOL is a nonphenylethylamine anorectic drug known to block dopamine (DA) uptake mechanism in a similar way to potent psychostimulants like cocaine and methamphetamine (6,17). These drugs have traditionally been viewed as belonging to the same pharmacological class, because they produce numerous physiological, behavioral, and subjective effects in common (11). For example, in laboratory animals, moderate doses of cocaine and amphetamine produces self-administration and increases in locomotor activity, while higher doses induce stereotypy, disruption of behavior, and death (10,26,33,37). It is generally believed that the behavioral effects of these drugs are mediated primarily by actions on dopaminergic neurons, with a resultant increase in dopaminergic neurotransmission (16,27). However, the mechanisms by which these drugs interact with dopaminergic neurons appear to differ (19,30).

Several reports have shown that repeated administration of cocaine-like stimulants results in an altered behavioral response to the subsequent administration of the drug (1,23). This enhancement of sensitivity, frequently referred to as sensitization, has been suggested to provide an animal model for stimulant-induced psychosis in humans (31). Thus, sensitization to cocaine in rodents is usually associated with locomotor activity, stereotypies, and circling behavior (12,22,30).

Similar to cocaine and amphetamine, mazindol is known to induce increased locomotor activity, circling behavior, and stereotypies in experimental animals (17,34). In addition, mazindol is self-administered by some animals (25,33), while it appears to have minimal abuse liability in humans (9). However, despite the latter evidence and contrasting with other countries, a recent report from Brasil has shown a high consumption of amphetamine-like anorectic drugs, mazindol being one of the most used (20).

Further, a survey carried out by the Brazilian Center for Information on Psychotropic Drugs (CEBRID) reported that among the first and second grade students of several Brazilian cities, inhalants, benzodiazepines, and amphetamine-like drugs are the most preferred, in that order (8).

Although there is abundant evidence demonstrating the behavioral sensitization effects of effective reinforcers such as cocaine and amphetamine, there is a paucity of information describing the effects following repeated administration of mazindol in animals. Therefore, the aim of this study was to examine the locomotor stimulant effects of mazindol after repeated injection for 7 days. In addition, male-female differences in locomotor response to mazindol were also considered.

## METHOD

### Animals

Male and female Wistar rats, 3 months at the beginning of the experiment, were used. The animals were housed in groups of six per cage, under a 12L:12D cycle, and temperature at  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ . Food and tap water were available ad lib. Female rats were tested without monitoring estrus cycle.

### Drugs

Mazindol (Instituto Químico Campinas, IQC, São Paulo) was dissolved in 0.025% carboxymethylcellulose and diluted with distilled water. Control solution consisted of distilled water plus vehicle. All solutions were administered via intraperitoneal, IP, route in a volume of 1 ml/kg body weight.

<sup>1</sup> Requests for reprints should be addressed to Dr. R. N. Takahashi, Departamento de Farmacologia, CCB-UFSC, R. Ferreira Lima, 82, 88015-420 Florianópolis Santa Catarina, Brasil.

sitive to mazindol, was detected on day 10 when challenge doses of drug were administered. In this regard, it is of interest to note that some available studies provide strong evidence for sex differences in the sensitization produced by stimulant drugs. For example, it is known that repeated amphetamine treatment produces a greater enhancement in rotational behavior, in stereotypies, and motor activity in female than in male rats (7,28). Further, Glick and Hinds (12) also suggest that sensitization to cocaine-induced rotation occurs in females more than male rats. This sex difference in responsivity to activating stimuli appears to be due to enduring changes in mesotelencephalic DA systems (7). Nonetheless, the exact mechanism for this sensitized response to mazindol reported here remains to be established.

In conclusion, these data indicate the development of behavioral sensitization to mazindol in rats and that females are more susceptible to the activating effects of repeated mazindol administration. Also, in view of the prevalence of the anorectic mazindol consumption among females in Brazil, these laboratory findings may have relevance to the analysis of human drug abuse problems in relation to repeated drug taking.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ, Brasil). The authors thank Instituto Química Campinas (IQC) for their gift of mazindol.

#### REFERENCES

- Aizenstein, M. L.; Segal, D. S.; Kuczenski, R. Repeated amphetamine and fenfluramine: Sensitization and reciprocal cross-sensitization. *Neuropsychopharmacology* 3:283–290; 1990.
- Archer, L. Rodent, sex differences in emotional and related behavior. *Behav. Biol.* 14:457–479; 1975.
- Baker, L. E.; Riddle, E. E.; Saunders, R. B.; Apell, J. B. The role of monoamine uptake in the discriminative stimulus effects of cocaine and related compounds. *Behav. Pharmacol.* 4:69–79; 1993.
- Baldo, B. A.; Kelly, A. E. Cross-sensitization between cocaine and GBR 12909, a dopamine uptake inhibitor. *Brain Res. Bull.* 27:105–108; 1991.
- Beatty, W. W.; Fessler, R. G. Ontogeny of sex differences in open-field behavior and sensitivity to electric shock in the rat. *Physiol. Behav.* 16:413–417; 1976.
- Bennett, B. A.; Hyde, C. E.; Pecora, J. R.; Clodfelter, J. E. Differing neurotoxic potencies of methamphetamine, mazindol and cocaine in mesencephalic cultures. *J. Neurochem.* 60:1444–1452; 1993.
- Camp, M. D.; Robinson, T. E. Susceptibility to sensitization. I. Sex differences in the enduring effects of chronic D-amphetamine treatment on locomotion, stereotyped behavior and brain monoamines. *Behav. Brain Res.* 30:55–68; 1988.
- Carlini, E. A.; Carlini-Cotrim, B.; Nappo, S. Illicit use of psychotropic drugs in Brazilian cities: 1987–1989. In: CEWG proceedings of epidemiologic trends in drug abuse. DHHS Publication No. (ADM) 90-1.724; 1990:1114–1115.
- Chait, L. D.; Uhlenhuth, E. H.; Johanson, C. E. The reinforcing and subjective effects of several anorectics in normal human volunteers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 242:777; 1987.
- George, F. R.; Porrino, L. J.; Goldberg, S. R. Differences in locomotor activation and lethality in response to acute administration of cocaine across several rat genotypes. *Behav. Gen.* 17:622; 1987.
- George, F. R.; Porrino, L. J.; Ritz, M. C.; Goldenberg, S. R. Inbred rat strain comparisons indicate different sites of action for cocaine and amphetamine locomotor stimulant effects. *Psychopharmacology (Berlin)* 4:457–462; 1991.
- Glick, S. D.; Hinds, P. A. Sex differences in sensitization to cocaine-induced rotation. *Eur. J. Pharmacol.* 99:119–121; 1984.
- Javitch, J. A.; Blaustein, R. O.; Snyder, S. H. [<sup>3</sup>H]-Mazindol binding associated with neuronal dopamine and norepinephrine uptake sites. *Mol. Pharmacol.* 26:35–44; 1984.
- Kalivas, P. W.; Duffy, P.; DuMars, L. E.; Skinner, C. Behavioral and neurochemical effects of acute and daily cocaine administration in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 245:485–492; 1988.
- Kelly, P. H.; Iversen, S. D. Selective 6-OHDA-induced destruction of mesolimbic dopamine neurons: Abolition of psychostimulant-induced locomotor activity in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 40:45–56; 1975.
- Kelly, P. H. Drug-induced motor behavior. In: Iversen, L. L.; Snyder, S. H., eds. *Handbook of psychopharmacology*. New York: Raven Press; 1977:295–311.
- Kruk, Z. L.; Zarrindast, M. R. Mazindol anorexia is mediated by activation of dopaminergic mechanisms. *Br. J. Pharmacol.* 58:367–372; 1976.
- Kuczenski, K.; Leith, N.J. Chronic amphetamine: Is dopamine a link in or a mediator of the development of tolerance and reverse tolerance? *Pharmacol. Biochem. Behav.* 15:405–413; 1981.
- Langer, S. Z.; Arbilla, S. The amphetamine paradox in dopaminergic neurotransmission. *Trends Pharmacol. Sci.* 4:387–390; 1981.
- Nappo, S. A. Consumo de anorexígeno tipo-anfetamina (diethylpropiona, fenproporex, mazindol) e de fenfluramina no Brasil: Prejuízo ou benefício para a saúde. *J. Bras. Psiqu.* 41:417–421; 1992.
- Pöğün, S.; Scheffel, U.; Kuhar, M. J. Cocaine displaces [<sup>3</sup>H] WIN 35428 binding to dopamine uptake sites in vivo more rapidly than mazindol or GBR 12909. *Eur. J. Pharmacol.* 198:203–205; 1991.
- Post, R. M.; Rose, H. Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. *Nature* 260:731–732; 1976.
- Post, R. M.; Contel, N. R. Human and animal studies of cocaine: Implications for development of behavioral pathology. In: Creese, I., ed. *Stimulants: Neurochemical, behavioral, and clinical perspectives*. New York: Raven Press; 1983:169–203.
- Post, R. M.; Weiss, S.; Pert, A.; Uhde, T. W. Chronic cocaine administration: Sensitization and kindling effects. In: Fisher, S.; Raskin, A.; Uhlenhuth, S. H., eds. *Cocaine: Clinical and biobehavioral aspects*. New York: Raven Press; 1987:109–173.
- Risner, M. E.; Silcox, D. L. Psychostimulant self-administration by beagle dogs in a progressive-ratio paradigm. *Psychopharmacology (Berlin)* 75:25; 1981.
- Ritchie, J. M.; Greene, N. M. Local anesthetics. In: Gilman, A. G.; Goodman, L. S.; Rall, T. W.; Murad, F., eds. *The pharmacological basis of therapeutics* 7th. New York: McMillan; 1985:302–321.
- Ritz, M. C.; Lamb, R. J.; Goldberg, S. R.; Kuhar, M. J. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration. *Science* 237:1219–1223; 1987.
- Robinson, T. E.; Becker, J. B.; Presty, S. K. Long-term facilitation of amphetamine-induced rotational behavior and striatal dopamine release produced by a single exposure to amphetamine: Sex differences. *Brain Res.* 253:231–241; 1982.
- Robinson, T. E.; Becker, J. B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: A review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res. Rev.* 11:157–198; 1986.
- Scheel-Krüger, J.; Braestrup, C.; Nielson, M.; Golembowska, K.; Mogilnicka, E. Cocaine: Discussion on the role of dopamine in the biochemical mechanism of action. In: Ellinwood, E. H.; Kiebey, M. M., eds. *Cocaine and other stimulants*. New York: Plenum Press; 1977: 373-407.
- Segal, D. S.; Schuckit, M. Animal models of stimulant-induced psychosis. In: Creese, I. ed. *Stimulants: Neurochemical, behavioral and clinical perspectives*. New York: Raven Press; 1983:131–167.
- Spealman, R. D.; Kelleher, R. T.; Goldberg, S. R. Stereoselective behavioral effects of cocaine and a phenyltropic analog. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 225:509–514; 1983.
- Wilson, M. C.; Schuster, C. R. Mazindol self-administration in the rhesus monkey. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 4:207–210; 1991.
- Zambotti, F.; Carruba, M. O.; Barzaghi, F.; Vicentini, L.; Gropetti, A.; Mantegazza, P. Behavioral effects of a new nonphenylethylamine anorexic agent: Mazindol. *Eur. J. Pharmacol.* 36:405–412; 1976.