

DESENVOLVIMENTO DOS MECANISMOS DOPAMINÉRGICOS CEREBRAIS: A INFLUÊNCIA DA COCAÍNA

Isabel Alexandra Lopes*, J. Correia-Pinto**, J. Soares-Fortunato

RESUMO

As drogas psicoactivas, designadamente a cocaína, afectam o desenvolvimento do sistema nervoso central quer pela sua acção vasoconstritora, levando a disrupção da embriogénese, quer pela interacção directa com sistemas neurotransmissores, especialmente os sistemas dopaminérgicos, quer ainda pela alteração da regulação génica induzida por essas substâncias. Estas alterações são induzidas com diferente vulnerabilidade consoante as regiões cerebrais, a idade e os tipos de células atingidas.

A cocaína tem elevada afinidade para os transportadores dopaminérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos tendo efeitos sobre a tirosina hidroxilase e níveis de dopamina e seus metabolitos em diferentes áreas do sistema nervoso central. A dopamina actua em locais específicos dos cinco receptores dopaminérgicos existentes, cujas estruturas e funções só agora começam a ser caracterizadas e que constituem peça importante para a explicação da adicção às drogas de uso ilícito.

Para além de alterações comportamentais bem demonstradas, está hoje assente que a exposição a estas substâncias provoca alterações morfológicas, electrofisiológicas e neuroquímicas. Nos últimos anos tem-se recorrido cada vez mais a técnicas de localização de receptores de dopamina do cérebro em desenvolvimento, particularmente do cérebro fetal. Tais ferramentas têm auxiliado na determinação

do padrão ontogénico das vias dopaminérgicas de diferentes áreas do sistema nervoso central que se crê ficar comprometido quando, durante o desenvolvimento, este é exposto à acção de drogas psicoactivas. Este conhecimento é essencial para formular e testar hipóteses sobre os períodos críticos de vulnerabilidade à cocaína.

Palavras-chave: Dopamina; Cocaína; Sistema Nervoso Central.

Abreviaturas: Co - cocaína; SNC - sistema nervoso central; TH - tirosina hidroxilase; DA - dopamina; DANérgicos - dopaminérgico(s).

INTRODUÇÃO

Desde há mais de uma década que têm vindo a ser publicados, com frequência crescente, resultados que demonstram os efeitos deletérios da cocaína (Co) no desenvolvimento do sistema nervoso central (SNC). Estes trabalhos, de índole experimental, surgiram na sequência de descrições de situações clínicas no Homem tendo os modelos animais sido desenvolvidos na tentativa de discriminar os efeitos da Co dos de outros factores sistematicamente associados ao consumo de drogas de uso ilícito no Homem (incluindo o uso de múltiplas drogas e a má nutrição)¹⁻⁵.

Neste contexto, diferentes linhas de investigação têm demonstrado que a exposição a drogas psicoactivas, designadamente a psicoestimulantes, provoca alterações em diferentes sistemas orgânicos, em particular no SNC, quer no Homem, quer em modelos experimentais, e em qualquer período do desenvolvimento⁵⁻⁸. Tal pode ser avaliado por diferentes métodos de análise, nomeadamente através de determinações morfométricas, imunocitoquímicas e neu-

* Aluna de Doutoramento em Biologia Humana na FMP.

** Assistente de Fisiologia da FMP.

*** Regente de Fisiologia da FMP.

roquímicas avaliando no desenvolvimento do animal, por exemplo, alterações no peso corporal, volume de áreas cerebrais e morfologia do nervo óptico⁹⁻¹²; quantificando níveis de neurotransmissores e seus metabolitos^{1,3,7} e analisando a organização estrutural de áreas nervosas^{5, 8-12}.

A Co é uma substância que atravessa facilmente a barreira placentária^{13, 14} e que penetra rapidamente no tecido nervoso⁶. Induz alterações na dinâmica vascular de que resultam fenómenos de hipóxia fetal⁶⁻⁸ e interfere com os mecanismos do desenvolvimento, tendo sido descritas numerosas alterações em crianças expostas *in utero* à Co¹⁴⁻¹⁸ bem como em modelos animais^{2,6,8,9,11-12}. No caso do Rato, género utilizado em vários modelos experimentais, as fases mais activas do desenvolvimento dos circuitos do SNC, e consequentemente mais vulneráveis, abrangem quer o período pré-natal quer o primeiro mês de vida pós-natal, sendo de todo o interesse conseguir estabelecer a relação entre resultados clínicos e experimentais¹⁹.

O desenvolvimento dos circuitos catecolaminérgicos no SNC, em particular os dopaminérgicos (DAnérgicos), pode ser gravemente afectado pela acção produzida pelas substâncias psicoactivas no micro-ambiente das áreas neuronais, podendo conduzir a alterações permanentes na expressão de uma das enzimas da cadeia da biossíntese das catecolaminas, a tirosina hidroxilase (TH)^{1-4,7}. Está hoje também demonstrada a implicação de outros sistemas neurotransmissores na capacidade adictiva (de reforço) da Co, nomeadamente o sistema serotoninérgico²⁰⁻²³. A investigação realizada neste âmbito aponta para que os agentes que potenciam a actividade serotoninérgica reduzam a auto-administração de Co nos roedores^{24, 25}.

A relação neuroanatômica entre os sistemas (DAnérgico) e serotoninérgico, bem como evidências neuroquímicas, sugerem que a triptofano hidroxilase (5'-HT) poderá interactuar com a transmissão (DAnérgica) mesocortico-límbica, quer a nível do soma quer a nível dos terminais sinápticos^{26, 27}.

Com base na sùmula de dados experimentais disponiveis, a dopamina (DA) é o principal neurotransmissor envolvido nas propriedades gratificantes da Co e a literatura actual encon-

tra-se repleta de estudos que abordam especificamente este sistema, na investigação de potenciais tratamentos. Como o efeito primário da Co é a inibição da recaptação de DA e norepinefrina pela membrana pré-sináptica, os compostos que antagonizem a sua acção nos transportadores DAnérgicos poderão inibir o aumento extracelular dos níveis de DA, o mesmo ocorrendo com estratégias que modifiquem indirectamente as vias DAnérgicas²⁸. Esta abordagem poderá, contudo, vir a ser revista em breve em virtude dos avanços que as técnicas de biologia molecular têm permitido, demonstrando que o mecanismo de acção da DA, nomeadamente a sua capacidade adictiva, está para além dos transportadores da DA, uma vez que foi demonstrado que murganhos sem esse tipo de transportadores auto-administravam a droga^{20, 29}.

COCAÍNA COMO DROGA DE ABUSO

Alvos encefálicos

A Co é uma poderosa droga de reforço que pode interferir com o normal funcionamento do cérebro e causar adicção e alterações comportamentais, após exposição crónica³⁰. Apesar de, pelo menos, três diferentes aminas serem afectadas pela Co, os efeitos eufóricos e as propriedades adictivas desta droga parecem estar mais associados ao excesso de DA^{31,32}, embora não unicamente^{20, 29}.

A Co liga-se ao transportador da DA presente nos terminais nervosos DAnérgicos, aumentando a concentração de DA na fenda sináptica, por bloquear a sua recaptação. Pensa-se que este aumento fundamenta muitos dos efeitos neurocomportamentais atribuídos a esta droga³¹⁻³³, fazendo-se sentir esta acção também a nível do desenvolvimento cerebral dos fetos de rato². Deste modo, é íntima a relação entre a farmacologia da Co e as suas propriedades adictivas e o sistema DAnérgico⁵.

Uma vez que o efeito mais pronunciado da Co é a sua capacidade de interferir com a recaptação de alguns neurotransmissores monoaminérgicos³² e que a sua acção se parece fazer sentir também no desenvolvimento cerebral dos

fetos de rato,² é credível que a exposição *in utero*, por aumentar a transmissão sináptica, possa influenciar a neurotransmissão na descendência.

Para além de alterações comportamentais bem demonstradas está hoje assente que a exposição à Co provoca alterações morfológicas, electrofisiológicas e neuroquímicas devido ao seu envolvimento nas vias de acção dos agonistas da DA, mecanismos de compensação e integração de centros límbicos e mesencefálicos³¹. A amígdala é uma região cerebral que se pensa estar envolvida no desenvolvimento da sensibilização comportamental à Co. Esta área é frequentemente relacionada com associações condicionadas, respostas ao stress e ansiedade e tais comportamentos, regra geral, devem-se a níveis alterados de DA^{3,5,30}.

Sabe-se ainda que a Co é neurotóxica para várias espécies animais, incluindo roedores e humanos. Os modelos animais têm-se revelado de importância capital na determinação dos efeitos das drogas de abuso *per se*, ultrapassando a maioria dos factores de interferência, em regra associados ao consumo destas substâncias^{5, 27}.

Desenvolvimento cerebral

O uso de psicoestimulantes por mulheres toxicodependentes em idade reprodutiva conduziu a número significativo de fetos expostos a estas substâncias durante períodos de máxima sensibilidade e vulnerabilidade de estruturas do SNC. Esta crescente realidade na sociedade contemporânea levou a interesse acrescido na área de investigação em drogas de abuso, designadamente a Co, face à suspeita de que a exposição pré-natal a esta substância causa teratogénese neurocomportamental e disrupção estrutural no padrão de desenvolvimento cerebral³⁴. O desenho de modelos clínicos convenientemente controlados revelou-se de extrema dificuldade devido à multiplicidade de factores envolvidos. Neste contexto, a maioria dos inconvenientes das avaliações clínicas pode ser minimizado com o desenvolvimento de modelos animais, nomeadamente utilizando como modelo animal o macaco Rhesus, em virtude deste primata ter um desenvolvimento fetal semelhante ao dos humanos^{35, 36}, permitindo fortes associações en-

tre a exposição a psicoestimulantes e efeitos patológicos em humanos: Verificou-se, usando este modelo, que a exposição *in utero* à Co diminui a imunoreactividade da TH e a respectiva expressão do ARNm estão diminuídas no mesencéfalo, substância negra e área tegmental ventral fetal³⁶. Pelo contrário, a expressão do ARNm dos receptores de DA, D₁ e D₂ aumenta significativamente na região do prosencéfalo³⁷. Estes resultados sugerem que o neurocircuito DANérgico que controla a função motora e condiciona o comportamento já se encontra alterado precocemente na gestação dos fetos expostos à Co.

Neste contexto, foram propostos dois possíveis mecanismos contributivos: a) a Co produz isquémia placentária privando o feto de oxigénio e nutrientes³⁸, bem como isquémia cerebral fetal o que tem impacto directo na sobrevivência e função das células cerebrais³⁹; b) relativamente ao desenvolvimento cerebral propriamente dito, a Co inibe a mitose e retarda a diferenciação celular, efeitos que são distintos dos causados pela possível deficiência da circulação⁴⁰.

O processo de desenvolvimento dos neurónios, dentro dos parâmetros do desenvolvimento cerebral, compõe-se basicamente dos seguintes passos: neurogénese, migração neuronal, formação de associações entre neurónios (crescimento axonal e estabelecimento de sinapses, morte celular e regressão axonal) e mielinização. Alterações morfológicas e flutuações dos neurotransmissores e dos seus receptores podem ocorrer durante a ontogenia, possibilidade que parece ser aumentada por exposição a drogas psicoestimulantes⁷.

Seidler e colaboradores⁷ mostraram que, durante o período crítico em que as catecolaminas podem influenciar o desenvolvimento celular, a Co exhibe acções delimitadas no tempo, inibindo a actividade neuronal. No que respeita à DA, o efeito inibitório é eventualmente substituído por características de resposta excitatória do cérebro maduro. Mais ainda, foi demonstrado que esta acção inibitória constitui mecanismo potenciador para os efeitos directos da droga no SNC, mais do que os efeitos mediados pela placenta ou isquémia cerebral. Os seus trabalhos sugeriram ainda que a exposição gestacional à Co pode influenciar o desenvolvimento dos sistemas DANérgicos na medi-

da em que os neurotransmissores cerebrais regulam a proliferação neuronal e o crescimento dendrítico e as alterações pré e pós sinápticas persistem após o nascimento⁴⁰. Foram ainda encontradas evidências de que a exposição gestacional à Co tem efeitos no desenvolvimento dos neurónios DANérgicos, em experiências feitas com macacos Rhesus, através de medições da imunoreactividade da TH e da expressão do respectivo ARNm, que se verificou estar diminuída na substância negra e na área tegmental ventral³⁶.

Apesar de muitos investigadores centrarem a sua atenção no neurodesenvolvimento físico e nos efeitos neurofisiológicos em crianças de tenra idade e em modelos experimentais, ambos sujeitos à exposição pré-natal à Co, os resultados são ainda escassos e frequentemente inconclusivos, sendo de incentivar que este centrar de atenção se transforme num esforço conjunto, uniformizando os modelos animais em estudo⁴¹.

MECANISMOS DOPAMINÉRGICOS

Ação da dopamina

A dopamina constitui 80% do conteúdo catecolaminérgico do cérebro e as projecções que partem das áreas cerebrais onde ela é sintetizada dão origem a quatro vias axonais distintas: nigro-estriada, mesolímbica, mesocortical e tubero-infundibular⁴².

A dopamina pertence a um grupo de neurotransmissores, as catecolaminas, que são caracterizados estruturalmente por possuírem um grupo amina ligado a um anel benzénico com dois grupos hidroxil adjacentes. Tem ainda uma cadeia lateral de etilamina ou de um seu derivado. O precursor para a síntese de dopamina é o aminoácido aromático tirosina. São duas as reacções que transformam a tirosina em dopamina. A primeira é catalisada pela TH que converte a tirosina em L-DOPA (L-1,3-diidroxifenilalanina); A TH é considerada a enzima limitante nesta via de síntese. A segunda é a descarboxilação da DOPA, catalisada pela enzima descarboxilase de L-aminoácidos aromáticos, dando origem à dopamina⁴².

A dopamina é armazenada em vesículas que, sob estimulação neuronal, é libertada na

fenda sináptica. A dopamina liga-se então a proteínas G específicas incorporadas no receptor localizado nos neurónios pré-sinápticos, tendo como resultado a transmissão do impulso. Os autorreceptores DANérgicos do terminal pós-sináptico podem modificar a neurotransmissão inibindo quer a síntese, quer a libertação de dopamina. Além disso os autorreceptores somáticos podem modificar a taxa de descarga dos neurónios DANérgicos, alterando a condutância dos canais de sódio e/ou potássio. O primeiro mecanismo para remoção da dopamina é efectuado através da recaptação por transportadores específicos da DA localizados sinápticamente e extra-sinápticamente.

Posto isto é notório que a via DANérgica apresenta vários pontos onde é possível intervir:

- agonistas ou antagonistas para os receptores DANérgicos possibilitam uma intervenção no neurónio pós-sináptico;
- agonistas ou antagonistas dos autorreceptores DANérgicos intervêm, quer regulando a taxa de descarga a nível do corpo celular, quer alterando a síntese ou libertação de dopamina no terminal nervoso;
- inibidores dos transportadores DANérgicos como a Co potenciam a transmissão DANérgica devido ao aumento extracelular dos níveis de dopamina.

Relativamente à enzima chave da via de síntese da dopamina, convém salientar que se manifesta precocemente no desenvolvimento do SNC, podendo relacionar-se com a diferenciação de grupos neuronais, constituindo assim um marcador altamente específico para neurónios DANérgicos no cérebro em desenvolvimento, bem como no adulto^{43,44}.

Uma vez que a TH parece ficar permanentemente alterada após exposição crónica à Co⁴³, é possível que a acção precoce desta droga sobre a sua expressão génica altere processos do desenvolvimento DANérgico numa fase crítica, alterando os padrões de maturação dos neurónios contendo TH. Tal resultará na disrupção do próprio sistema DANérgico e das suas áreas alvo, conduzindo a alterações prolongadas e irreversíveis⁴⁵.

Como a TH já se encontra presente nos axónios em crescimento mesmo antes de se ter estabelecido o contacto sináptico com os neuróni-

os alvo, supõe-se que interferirá no processo neuroquímico de controlo do crescimento axonal, reconhecimento neuronal e sinaptogénese⁴⁴. Acresce que foi demonstrada a expressão transitória da TH em grupos neuronais que, surgindo apenas no período fetal, tem papel importante no desenvolvimento não só dos neurónios DANérgicos mas também noutros grupos neuronais. Sabe-se que a exposição perinatal a drogas psicoestimulantes afecta a actividade da TH no córtex frontal e no corpo estriado do rato⁴³⁻⁴⁴. É sabido que os sistemas DANérgicos medeiam efeitos comportamentais que são produzidos pela Co⁴⁶ e que a exposição pré-natal a esta droga altera a sensibilidade aos agonistas da DA – um efeito que persiste até ao adulto⁵. Isto sugere que o desenvolvimento de sistemas DANérgicos é importante alvo para a Co, podendo a exposição a esta droga durante a gestação causar alterações permanentes nos mecanismos DANérgicos que resultam em alterações funcionais quando atingirem a idade adulta.

As diversas funções da dopamina resultam da sua capacidade de se ligar a múltiplos receptores da DA que foram identificados nos últimos anos por clonagem molecular e caracterização farmacológica⁴²; receptores tipo D1 estimulam a actividade da adenil ciclase e receptores do tipo D2 inibem a actividade desta mesma enzima em condições específicas. Ambos os receptores são largamente expressos nos cérebros de primatas adultos, surgindo numa fase precoce da gestação³⁷.

Tudo indica que sistema neurotransmissor DANérgico medeia várias funções importantes, intervindo na modulação do humor, comportamentos direccionados, controlo motor e funções endócrinas, tendo-se revelado ser o alvo preferencial da Co⁴⁷⁻⁴⁸. Na verdade, dados provenientes quer de ensaios clínicos¹⁵, quer de modelos experimentais^{1, 4-5} mostram que a Co afecta vários marcadores DANérgicos, como é o caso dos níveis de dopamina, receptores e transportadores da dopamina e actividade da TH. Ainda que controverso, pensa-se que o sistema DANérgico mesocortico-límbico seja determinante no reforço positivo psicomotor³¹.

Receptores da dopamina

As diversas funções da dopamina são medi-

adas pela sua capacidade de ligação a múltiplos receptores, onde actua em locais específicos. Até à data, a clonagem molecular da família de genes dos múltiplos subtipos de receptores da DA, já revelou a existência de cinco receptores distintos da DA que podem ser agrupados em dois tipos: tipo D₁ (receptores de dopamina D₁ e D₅) e tipo D₂ (receptores de dopamina D₂, D₃ e D₄), sendo melhor conhecidas a função e a regulação dos subtipos D₁ e D₂^{42, 49}.

As células contendo receptores da dopamina D₁ localizam-se primariamente no corpo estriado projectando-se caudalmente para várias estruturas cerebrais, incluindo a parte reticulada da substância negra e a área tegmental ventral^{50, 51}. O ARNm e os locais de ligação do receptor da dopamina D₂ localizam-se na parte compacta da substância negra e na área tegmental ventral distribuindo-se de forma similar à dos respectivos neurónios⁴⁹⁻⁵⁰.

Os receptores de dopamina do tipo D₁ e D₂ são proteínas transmembranares que se encontram acopladas a proteínas G que, por sua vez, se ligam aos seus sistemas efectores via proteínas Gs e Gi, respectivamente^{52,53}.

A estimulação destes receptores resulta na activação destas proteínas heterotriméricas levando à conversão de GTP em GDP na sub-unidade α , facilitando a dissociação do trímero. O heterodímero $\beta\gamma$ e a sub-unidade α activada podem, subsequentemente, interactuar com os seus efectores. É assim concebível que a acentuada estimulação dos receptores em resposta à exposição fetal à Co leve a alterações na proteína G ou no acoplamento receptor/proteína G/efector, que resulta em anomalias funcionais nestes sistemas de receptores⁵²⁻⁵³.

Actualmente julga-se que as propriedades adictivas da Co resultam da sua capacidade para bloquear a recaptção de dopamina nas terminações nervosas bem como para activar mecanismos de reforço. O mecanismo de recaptção da dopamina sináptica é controlado pelo transportador de dopamina, uma proteína transportadora dependente de sódio cuja expressão se encontra significativamente alterada nos consumidores de Co⁵⁴⁻⁵⁵.

Sabe-se ainda que um dos mecanismos críticos pelo qual a exposição a drogas durante o

desenvolvimento altera subsequentemente funções bioquímicas, electrofisiológicas e neurocomportamentais, é através da interacção directa com receptores de dopamina do cérebro fetal⁴⁸.

A aplicação de modernas técnicas de localização de receptores, como por exemplo a autorradiografia, imunocitoquímica e hibridização *in situ*, muito têm contribuído para determinar quando estes receptores começam a ser expressos e onde se localizam, o que tem importância vital por fornecer pistas para o decifrar dos sistemas neuronais que possam ser comprometidos pela exposição gestacional a drogas⁵⁶.

Estudos em murganhos alterados geneticamente tem proporcionado avanços notáveis na caracterização funcional dos diferentes receptores de dopamina. Assim e quando sujeitos a tratamento com Co, verificou-se que: a) murganhos sem D₁ não apresentam a hiperactividade locomotora nem os comportamentos estereotipados característicos, contudo existem propriedades de reforço desta droga; b) os receptores de dopamina D₂ apresentam duas isoformas, D_{2s} e D_{2l}, actuando o primeiro a nível das funções de autorreceptor pré-sináptico inibindo as funções mediadas pelo receptor de dopamina D₁, e o segundo, principalmente, a nível pós-sináptico. Os receptores de dopamina D₃ e D₄ são mais sensíveis à acção da Co⁵⁶.

Baseando-se na distribuição tecidual o receptor de dopamina D₅ foi proposto como autorreceptor, constituindo potente alvo para intervenções terapêuticas relativas ao abuso de Co⁵⁶. Este receptor DANérgico tem funções diferentes do D₁, estando provavelmente envolvido na execução de várias funções fisiológicas dirigidas pelo sistema DANérgico⁵⁷.

Este tipo de estudo envolvendo manipulação genética veio também acrescentar novos dados à relação atribuída entre o bloqueio de transportadores DANérgicos e a dependência de drogas de abuso, uma vez que murganhos sem transportadores da DA continuam a auto-administrar Co^{21, 58}.

Estes resultados preliminares vêm questionar a intenção de, aproveitando a discrepância resultante da dopamina e da Co não partilharem os mesmos locais de reconhecimento nos transportadores da DA, procurar sintetizar aná-

logos da Co que suprimissem a sua acção sem afectar o transporte de dopamina⁵⁵.

Têm-se desenvolvido esforços crescentes no sentido de criar uma terapêutica adequada, crendo-se actualmente que são maiores as possibilidades de sucesso recorrendo a agonistas versus a antagonistas dos receptores da DA⁵⁹.

As possíveis diferenças funcionais entre os receptores do tipo D₁, em conjunto com o escasso conhecimento sobre as selectividades dos ligandos para os mesmos, dificultam a predição do valor terapêutico de agentes direccionados para esta subfamília de receptores DANérgicos. Discrepâncias na atribuição de propriedades gratificantes ou não aos agonistas do receptor D₁ podem dever-se à actividade contraditória de mais do que um receptor DANérgico presente²².

De um modo geral, os agonistas dos receptores D₂ apresentam fraca selectividade entre os diferentes membros desta subfamília de receptores sendo, ainda que de modo controverso, maioritariamente recompensatórios, travando a auto-administração, quer em humanos, quer em animais²⁸. Os agonistas dos receptores D₂ podem ter potencial para o desenvolvimento de agentes terapêuticos para o abuso de drogas.

PERSPECTIVAS FUTURAS

As drogas de abuso são um problema crescente, sendo uma das principais causas de morbilidade e mortalidade, em particular nos jovens, em todo o mundo. A administração de Co pode originar mudanças de comportamento a longo prazo e o estudo de alterações estruturais e funcionais induzidas por drogas de abuso pode contribuir significativamente para a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes ao seu modo de acção e, subsequentemente, facilitar o desenvolvimento e validação de novas terapêuticas mais eficazes.

A clarificação absoluta dos mecanismos moleculares pelos quais a exposição pré-natal à Co produz os seus efeitos teratogénicos ainda não foi conseguida e, apesar de especulado o papel dos neurotransmissores, ainda não foi satisfatoriamente investigado nas crianças, nomeadamente no que diz respeito à sensibilização de re-

ceptores em futuros consumidores, quando expostos precocemente à droga.

Embora as alterações do sistema DANérgico decorrentes da exposição gestacional a psicostimulantes estejam bem caracterizadas após o nascimento, a cronologia fetal dos fenómenos subjacentes às alterações pós-natais não está devidamente estudada. A definição dos períodos-críticos dos danos infligidos a este sistema é essencial para o mapeamento dos períodos do desenvolvimento mais vulneráveis à exposição a psicostimulantes. Acresce a possibilidade de estabelecimento de paralelismo temporal nos períodos utilizados no modelo animal e o que se passa no Homem; no Rato, o período pré-natal corresponde aos dois primeiros trimestres de gestação no Homem e o período pós-natal precoce, ao último trimestre de gestação.

Embora um dos mecanismos adiantados para explicar a acção destas substâncias seja a alteração induzida pelas drogas na expressão génica⁶⁰ está ainda longe de se saber se as alterações transitórias e/ou permanentes induzidas em diferentes regiões do SNC por drogas psicoactivas estão (ou não) acompanhadas de alteração na ontogenia da expressão génica da TH. O esclarecimento desta situação pode permitir o conhecimento dos mecanismos moleculares das substâncias neuroactivas que actuam nos sistemas DANérgicos em desenvolvimento no SNC dos vertebrados.

Os mecanismos subjacentes à complexa interacção entre as subfamílias de receptores de DA, D₁ e D₂, ainda não foram completamente esclarecidos⁶¹. Acredita-se que ambas contribuam para as propriedades adictivas da Co, tendo apresentado, em modelos animais, os dois tipos de receptores efeitos opostos no que diz respeito à modulação do comportamento de procura de droga⁶². A síntese de compostos que exibam altas selectividades para as várias famílias e subtipos de receptores é necessária para facilitar o prosseguir dos estudos.

O uso de murganhos "knockout" revelou a existência de locais onde a acção da Co se faz sentir preferencialmente, ainda que na ausência de receptores de DA²³. Ainda que preliminares estes resultados sugerem o envolvimento de outros mecanismos. Um primeiro passo poderá ser

o esclarecimento do "peso relativo" no sistema serotoninérgico, das variações dos níveis do neurotransmissor e dos seus metabolitos. Estes resultados, articulados com os estudos imunocitoquímicos morfológicos, podem contribuir para traçar o mapa cerebral dos importantes centros e vias neurotransmissoras do cérebro exposto à Co durante o desenvolvimento.

Tanto a investigação clínica como a investigação básica, na área das drogas de abuso, são de importância extrema uma vez que elucidar as alterações moleculares e celulares deve ser alvo para a intervenção terapêutica com vista a prevenir ou atenuar as alterações perniciosas do sistema nervoso; assim sendo, são o meio para proporcionar as bases necessárias para programas de saúde para aquele que é um dos principais problemas da sociedade actual.

O valor da investigação com drogas de abuso prende-se ainda com o facto de que a informação que daí advier muito contribuirá para o entendimento do funcionamento do cérebro e sua patologia.

A realidade actual é que, apesar do desenvolvimento do SNC e a interferência de neurotóxicos com o normal desenvolvimento envolver um largo espectro de áreas de investigação com importante impacto não só científico, como também social. Pouco se sabe acerca dos mecanismos que presidem aos efeitos das drogas de abuso no desenvolvimento do circuito neuronal⁶³.

ABSTRACT

Psychostimulant drugs, namely cocaine, have deleterious effects on the development of central nervous system. Cocaine induces changes in vascular dynamics disrupting the normal embryonic patterns of development and interacts with gene regulation and neurotransmitters like dopaminergic systems. These alterations depend on the period of injury of these systems and on the cells affected.

Cocaine has an high affinity to dopaminergic, serotoninergic and noradrenergic systems inducing alterations in the expression of tyrosine hydroxylase and dopamine metabolites levels in dopaminergic-rich regions of the central nervous system. Dopamine has specific targets on the five dopamine receptors whose structure and function, essential to explain the mechanism

of addiction to drugs of abuse, are not complete elucidated.

Besides well documented behavioural changes, it is now clear that exposure to these drugs during pregnancy causes morphological, electrophysiological and neurochemical alterations. Increased evidences have been reported recently applying techniques for the localization of dopamine receptors on the developing brain, namely during foetal neurogenesis. Such knowledge has been used to characterise ontogenically the effects on the dopaminergic system of different areas of central nervous system exposed to psychostimulant drugs during development. These data are essential to formulate and to test hypothesis about critical periods of vulnerability to cocaine.

Key-words: Dopamine; Cocain; Central nervous system.

BIBLIOGRAFIA

- Karoum F, Suddath RL, Wyatt RJ. Chronic cocaine and rat brain catechola-mines: long-term reduction in hypothalamic and frontal cortex dopamine metabolism. *Eur J Pharmacol* 1990; 186: 1-8.
- Meyer JS, Shearman LP, Collins LM, Maguire RL. Cocaine binding sites in fetal rat brain: implications for prenatal cocaine action. *Psychopharmacology* 1993; 112: 445-451.
- Mirmiran M, Swaab DF. Influence of drugs on brain neurotransmission and behavioural stages during development. *Dev Pharmacol Ther* 1992; 10: 377-384.
- Spear LP, Kirstein CL, Bell J, Yoottana-sumpun V, Greenbaum R, O'Shea J, Hoffmann H, Spear NE. Effects of prenatal cocaine exposure on behavior during the early postnatal period. *Neurotoxicol Teratol* 1989; 11: 57-63.
- Spear LP, Kirstein CL, Frambes NA. Cocaine effects on developing central nervous system: behavioral, psycho-pharmacological and neurochemical studies. Use of Licit and Illicit Drugs. *Ann NY Acad Sci* 1989; 562: 290-307.
- Gingras JL, Weese-Mayer DE, Hume RF Jr, O'Donnell KJ. Cocaine and development: mechanisms of fetal toxicity and neonatal consequences of prenatal cocaine exposure. *Early Hum Dev* 1992; 31: 1-24.
- Seidler FJ, Temple SW, McCook EC, Slotkin TA. Cocaine inhibits central noradrenergic and dopaminergic activity during the critical developmental period in which catecholamines influence cell development. *Dev Brain Res* 1995; 85: 48-53.
- Volpe JJ. Effects of cocaine use on the fetus. *N Engl J Med* 1992; 327: 399-407.
- Silva-Araújo A, Abreu-Dias P, Silva MC, Tavares MA. Effects of prenatal cocaine exposure in the photoreceptor cells of the rat retina. *Mol Neurobiol* 1995; 11: 77-86.
- Silva-Araújo A, Salgado-Borges J, Cardoso V, Silva MC, Castro-Correia J, Tavares MA. Changes in retinal ganglion cell layer and optic nerve in neonatal rats exposed to cocaine. *Exp Eye Res* 1993; 56: 199-206.
- Tavares MA, Silva-Araújo A. Glial fibrillary acidic protein as a biomarker for assessment of retinal astrogliosis after neonatal exposure to cocaine and amphetamine. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35: 1788.
- Xavier MR, Tavares MA, Machado JD, Silva-Araújo A, Silva MC. Effects of prenatal exposure to cocaine in the prefrontal cortex of the rat. A morphometric evaluation. *Mol Neurobiol* 1995; 12: 99-110.
- Schenker S, Yang Y, Johnson RF, Downing JW, Schenken RS, Henderson GI, King TS. The transfer of cocaine and its metabolites across the term human placenta. *Clin Pharmacol Ther* 1993; 53: 329-339.
- Chasnoff IJ, Burns KA, Burns WJ, Schnoll SH. Prenatal drug exposure: effects on neonatal and infant growth and development. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1986; 8: 357-362.
- Azuma SD, Chasnoff IJ. Outcome of children prenatally exposed to cocaine and other drugs: a path analysis of three-year data. *Pediatrics* 1993; 92: 396-402.
- Fries MH, Kuller JA, Norton ME, Yankowitz J, Kobori J, Good WV, Ferriero D, Cox V, Donlin SS, Golabi M. Facial features of infants exposed prenatally to cocaine. *Teratology* 1993; 48: 413-420.
- Mayes LC, Bornstein MH, Chawarska K, Granger RH. Information processing and developmental assessments in 3-month-old infants exposed prenatally to cocaine. *Pediatrics* 1995; 95: 539-545.
- Richardson GA, Cowroy ML, Day NL. Prenatal cocaine exposure: effects on the development of school-age children. *Neurotoxicol Teratol* 1996; 18: 627-634.
- Silva-Araújo A, Tavares MA, Patacao MH, Carolino RM. Retinal hemorrhage associated with *in utero* exposure to cocaine. Experimental and clinical findings. *Retina* 1996; 16: 411-418.
- Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG. Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 1996; 379: 606-612.
- Rocha BA, Fumagalli F, Gainetdinov RR, Jones SR, Ator R, Giros B, Miller GW, Caron MG. Cocaine self-administration in dopamine-transporter knockout mice. *Nat Neurosci* 1998; 1: 132-137.
- Rocha BA, Scearce-Levie K, Lucas JJ, Hiroi N, Castanon N, Crabbe JC, Nestler EJ, Hen R. Increased vulnerability to cocaine in mice lacking the serotonin-1B receptor. *Nature* 1998; 393: 175-178.
- Sora I, Wichems C, Takahashi N, Li XF, Zeng Z, Revay R, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR. Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 7699-7704.
- McGregor A, Lacosta S, Roberts DC. L-tryptophan decreases the breaking point under a progressive ratio schedule of intravenous cocaine reinforcement in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 44: 651-655.
- Richardson NR, Roberts DC. Fluo-xetine pretreatment reduces breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous cocaine self-administration in the rat. *Life Sci* 1991; 49: 833-840.
- Parsons, LH Justice, JR. Perfusate sero-tonin increases extracellular dopa-mi-ne in the nucleus accumbens as measured by *in vivo* microdialysis. *Brain Res* 1993; 606: 195-199.
- Ali, SF, David SN, Newport GD, Cadet JL, Slikker W Jr. MPTP-Induced oxidative stress and neurotoxicity are age-dependent: Evidence from measures of reactive oxygen species and striatal dopamine levels. *Synapse* 1994; 18: 27-34.
- Klein M. Research issues related to development of medications for treatment of cocaine addiction. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 844: 75-91.
- Spanagel R, Weiss F. The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci* 1999; 22: 521-527.
- Kiyatkin EA. Dopamine mechanisms of cocaine addiction. *Int J Neurosci* 1994; 78: 75-101.
- Kuhar MJ, Ritz MC, Boja JW. The dopamine hypothesis of the reinforcing properties of cocaine. *Trends Neurosci* 1991; 14: 299-302.
- Ritz MC, Lamb RJ, Goldberg SR, Kuhar MJ. Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science* 1987; 237: 1219-1223.
- Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev* 1993; 18: 247-291.
- Hutchings DE. The puzzle of cocaine's effects following maternal use during pregnancy: are there reconcilable differences? *Neurotoxicol Teratol* 1993; 15: 281-286.
- Gribnau AA, Geijsberts LG. Developmental stages in the *rhesus monkey* (Macaca mulatta). *Adv Anat Embryol Cell Biol* 1981; 68: 1-84.
- Ronnekleiv OK, Naylor BR. Chronic cocaine exposure in the fetal *rhesus monkey*: consequences for early development of dopamine neurons. *J Neurosci* 1995; 15: 7330-7343.
- Choi WS, Ronnekleiv OK. Effects of *in utero* cocaine exposure on the expression of mRNAs encoding the dopamine transporter and the D1, D2 and D5 dopamine receptor subtypes in fetal *rhesus monkey*. *Dev Brain Res* 1996; 96: 249-260.
- Webster WS, Brown-Woodman PD, Lipson AH, Ritchie HE. Fetal brain damage in the rat following prenatal exposure to cocaine.

- Neurotoxicol Teratol* 1991; 13: 621-626.
39. Albuquerque ML, Kurth CD. Cocaine constricts immature cerebral arterioles by a local anesthetic mechanism. *Eur J Pharmacol* 1993; 249: 215-220.
 40. Seidler FJ, Slotkin TA. Fetal cocaine exposure causes persistent noradrenergic hyperactivity in rat brain regions: effects on neurotransmitter turnover and receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 263: 413-421.
 41. Mayes LC. Developing brain and *in utero* cocaine exposure: effects on neural ontogeny. *Dev Psychopathol* 1999; 11: 685-714.
 42. Vallone D, Picetti R, Borrelli E. Structure and function of dopamine receptors. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24: 125-132.
 43. Meyer JS, Dupont SA. Prenatal cocaine administration stimulates foetal brain tyrosine hydroxylase activity. *Brain Res* 1993; 608: 129-137.
 44. Specht, IA, Pickel, WM, Jooh, TH, Reis, DJ. Light microscopic immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase in prenatal rat brain. I. Early ontogeny. *J Comp Neurol* 1981; 199: 233--253.
 45. Bonnin A, de Miguel R, Rodríguez-Manzanique JC, Fernández-Ruiz JJ, Santos A, Ramos JA. Changes in tyrosine hydroxylase gene expression in mesencephalic catecholaminergic neurons of immature and adult male rats perinatally exposed to cannabinoids. *Dev Brain Res* 1994; 81: 147-150.
 46. Burger LY, Martin-Iverson MT. Increased occupation of D1 and D2 dopamine receptors accompanies cocaine-induced behavioral sensitization. *Brain Res* 1994; 639: 228-232.
 47. Di Chiara G. The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Depend* 1995; 38: 95-137.
 48. Le Moal M, Simon H. Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. *Physiol Rev* 1991; 71: 155-234.
 49. Civelli O, Bunzow JR, Grandy DK. Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1993; 33: 281-307.
 50. Kalivas PW. Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res Rev* 1993; 18: 75-113.
 51. Mansour A, Meador-Woodruff JH, Zhou QY, Civelli O, Akil H, Watson SJ. A comparison of D1 receptor binding and mRNA in rat brain using receptor autoradiographic and *in situ* hybridization techniques. *Neuroscience* 1991; 45: 359-371.
 52. Monsma FJ Jr, Mahan LC, McVittie LD, Gerfen CR, Sibley DR. Molecular cloning and expression of a D1 dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 6723-6727.
 53. Senogles SE, Spiegel AM, Padrell E, Iyengar R, Caron MG. Specificity of receptor-G protein interactions. Discrimination of Gi subtypes by the D2 dopamine receptor in a reconstituted system. *J Biol Chem* 1990; 265: 4507-4514.
 54. Chen L, Segal DM, Moraes CT, Mash DC. Dopamine transporter mRNA in autopsy studies of chronic cocaine users. *Mol Brain Res* 1999; 73: 181-185.
 55. Kitayama S, Shimada S, Xu H, Markham L, Donovan DM, Uhl GR. Dopamine transporter site-directed mutations differentially alter substrate transport and cocaine binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7782-7785.
 56. Jensen AA, Pedersen UB, Din N, Andersen PH. The dopamine D1 receptor family: structural and functional aspects. *Biochem Soc Trans* 1996; 24: 163-169.
 57. Khan ZU, Gutierrez A, Martin R, Penafiel A, Rivera A, de la Calle A. Dopamine D5 receptors of rat and human brain. *Neuroscience* 2000; 100: 689-699.
 58. Caine SB. Cocaine abuse: hard knocks for the dopamine hypothesis? *Nat Neurosci* 1998; 1: 90-92.
 59. Smith MP, Hoepfing A, Johnson KM, Trzcinska M, Kozikowski AP. Dopaminergic agents for the treatment of cocaine abuse. *Drug Discov Today* 1999; 4: 322-332.
 60. Kosofsky, BE, Genova, LM, Hyman, SE. Postnatal age defines specificity of immediate early gene induction by cocaine in developing rat brain. *J Comp Neurol* 1995; 351: 27-40.
 61. Ali SF, Itzhak Y. Effects of 7-nitroindazole, an NOS inhibitor on methamphetamine-induced dopaminergic and serotonergic neurotoxicity in mice. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 844: 122-130.
 62. Self DW, Barnhart WJ, Lehman DA, Nestler EJ. Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D1- and D2-like dopamine receptor agonists. *Science* 1996; 271: 1586-1589.
 63. Frost DO, Cadet JL. Effects of methamphetamine-induced neurotoxicity on the development of neural circuitry: a hypothesis. *Brain Res Rev* 2000; 34: 103-118.