

**Resumo:** Os avanços científicos dos últimos 20 anos tornaram evidente que a adição a drogas é uma doença crônica que resulta dos efeitos prolongados da exposição do cérebro às drogas de abuso e que envolve um processo biológico: os efeitos da exposição prolongada a um agente biológico (a droga) num substrato biológico (o cérebro) ao longo de um período de tempo. Deste modo, o *discurso biológico* é crucial na integração das múltiplas vertentes de abordagem das toxicodpendências.

Este trabalho aborda os aspectos da investigação biológica dos efeitos de drogas de abuso, designadamente da cocaína e metanfetamina, no desenvolvimento dos circuitos neuronais numa abordagem multidisciplinar que abrange as áreas da neuromorfologia, da neuroquímica e do neurocomportamento. Os resultados permitem concluir que as drogas psicoactivas afectam a biologia do desenvolvimento do Sistema Nervoso Central levando a disrupção da embriogénese com padrões de diferente vulnerabilidade consoante as regiões cerebrais, a idade e os tipos de células atingidas. Estes resultados constituem importante base de dados no esclarecimento da sequência pela qual os eventos moleculares modificam os eventos celulares que, por seu lado, produzem alterações profundas e permanentes na cognição, na motivação e no comportamento.

**Palavras-Chave:** Drogas; Biologia; Cocaína; Metanfetamina; Desenvolvimento; Sistema Nervoso Central.

**Résumé:** Les progrès scientifiques des 20 dernières années ont montré à l'évidence que la dépendance de drogues est une maladie chronique, que résulte des effets durables de l'exposition du cerveau aux drogues d'abus et comprend un processus biologique: les effets d'exposition durable face à un agent biologique (la drogue) dans un substrat biologique (le cerveau), pendant une période de temps. De cette façon, le *discours biologique* est crucial pour l'intégration des multiples versants de l'approche des toxicodpendances.

Cet étude envisage les aspects de la recherche biologique des effets de drogues d'abus, en particulier de cocaïne et metanphétamine, dans le développement des circuits neuronaux d'après une approche multidisciplinaire qui comprend des aires de la neuromorphologie, de la neurochimie et de neuro-comportement. Les résultats permettent conclure que les drogues psychoactives affectent la biologie du développement du système nerveux central, menant à la disruption de l'embryogenèse, selon des modèles de vulnérabilité différente, selon les régions cérébrales, l'âge et les types de cellules atteintes. Ces résultats constituent une base de données importante pour éclaircir la séquence dans laquelle les événements moléculaires modifient les événements cellulaires, qui, à son tour, produisent des altérations profondes et permanentes dans la cognition, la motivation et le comportement.

**Mots Clé:** Drogues; Biologie; Cocaïne; Metanphétamine; Développement; Système nerveux central.

**Summary:** The scientific achievements in the last 20 years demonstrate that drug addiction is a chronic brain disease resulting from the prolonged effects of drug exposure that involves a biological process: the effects of prolonged exposure to a biological agent (the drug) upon a biological substrate (the brain) along a period of time. In this context, the *biological discourse* is crucial towards the integration of the multiple views of drug dependencies.

This work deals with the aspects of a research line focusing the biological effects of drug exposure, namely cocaine and methamphetamine, on the development of the neuronal circuitries in a multidisciplinary perspective integrating morphology, neurochemistry and behaviour. The results allow to advance that psychoactive drugs affect the developmental biology of the central nervous system, leading to the disruption of embryogenesis, displaying different patterns of vulnerability according to the brain areas, animal age and cell types.

These results constitute an important data base towards the understanding of the sequence by which the molecular events can modify the cellular events which will produce striking and permanent alterations in cognition, motivation and behavior.

**Key Words:** Drugs; Biology; Cocaine; Methamphetamine; Development; Central Nervous System.

## Drogas de Abuso - O Discurso da Biologia\*

Maria Amélia Tavares(\*\*), A. Silva-Araújo(\*\*\*),  
I. Lopes(\*\*\*\*), J. Gomes-da-Silva(\*\*\*\*), L. de Sousa(\*\*\*\*\*)

### Introdução

*"Understanding the neurobiological mechanisms of addiction requires an integration of basic neuroscience with social psychology, experimental psychology, and psychiatry"* (Koob e Le Moal, 1997).

No Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto e no Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC), Porto tem-se vindo a estudar os efeitos da exposição a drogas psicoestimulantes no desenvolvimento da estrutura e da neuroquímica dos circuitos neuronais do Sistema Nervoso Central (SNC) do rato, designadamente nos sistemas sensoriais e nas áreas de origem e projecção das vias dopaminérgicas (Silva-Araújo e col. 1991, 1993, 1994, 1995 a,b, 1996 a,b, Gomes-da-Silva, Silva, Tavares, 1998; Tavares e Silva-Araújo, 1996; Tavares, 1998, Salgado-Borges e col., 1998). Nos últimos anos têm também sido avaliados os efeitos desta exposição no comportamento (De Sousa *et al.*, 1998, Magalhães e col., 2001 a,b, Summavielle e col., 2002) e de modo muito particular a eventual associação entre alterações comportamentais e a expressão de neuromediadores monoaminérgicos (Magalhães e col., 2001 a,b, Summavielle e col., 2002).

A ADIÇÃO é um fenómeno complexo com importantes causas e consequências médicas, psicológicas e sociais. Contudo, no seu centro, envolve um processo biológico: os efeitos da exposição prolongada a um agente biológico (a droga) num substrato biológico (o cérebro) ao longo de um período de tempo. Como resultado final, as alterações que a exposição à droga induz nos neurónios altera o seu funcionamento que, por seu lado, altera o funcionamento dos circuitos nervosos nos quais esses neurónios estão integrados. Estes factos levam a comportamentos complexos (dependência, tolerância, sensibilização, etc.) que caracterizam a toxicodpendência (Nestler e Aghajanian, 1997). No campo da investigação

das toxicodependências os avanços científicos nos últimos 20 anos mostraram que a adição a drogas é uma doença crónica, que resulta dos efeitos prolongados da exposição às drogas no cérebro (Leshner, 1997). Exposto a estas substâncias, o cérebro "addicted" é reconhecidamente diferente do "nonaddicted", como pode ser demonstrado nas alterações da actividade metabólica cerebral, disponibilidade dos receptores, expressão génica, resposta a alterações ambientais. Assim, progressivamente, ganha corpo a ideia de que a adição é, no seu aspecto mais central, consequência de alterações fundamentais da função cerebral. Contudo, é crucial a ideia emergente de que a "adição não é simplesmente uma doença do cérebro" - mas também é uma doença do cérebro para a qual os contextos sociais nos quais se desenvolveu e está expressa, são condições criticamente importantes (Leshner, 1997). Do mesmo modo, sabe-se também hoje que o substrato morfológico e neuroquímico que fundamenta este processo de dependência é extensível a outras situações designadas no conjunto de "behavioral addictions" (Holden, 2001).

Houve, nestas duas décadas, a aquisição de dados que contribuíram, de modo muito positivo, para os saberes na área das drogas de abuso: a identificação de circuitos neuronais, o reconhecimento da existência de vias neuronais comuns a diferentes drogas, a identificação dos receptores das drogas de abuso, a sequenciação das principais cascatas neuroquímicas, a identificação de um substrato comum às adições. Contudo, há a considerar a dissociação existente, e persistentemente presente, entre os conhecimentos científicos, a sua aplicação prática, a percepção do público acerca do uso de drogas e da adição e o atraso na transferência dos conhecimentos progressivamente adquiridos para as políticas de combate à droga e às toxicodependências.

## A diáda "Droga-Sistema Nervoso Central"

O desenvolvimento do SNC é um processo complexo que abrange diferentes e sequentes estádios que contemplam a expressão génica, a especificação da replicação e diferenciação celulares, a migração, a sinaptogénese, a selecção de neurotransmissores e receptores e a padronização da resposta sináptica. Se estes passos são o fundamento da plasticidade e, conseqüentemente, da aprendizagem e

adaptação durante o desenvolvimento, a mesma sequência temporal e espacial contribui inequivocamente para aumentar a vulnerabilidade do SNC às influências externas, como é o caso do consumo de drogas.

No rato, o desenvolvimento do SNC inicia-se precocemente no período fetal, e prossegue durante a vida pós-natal (Dobbing, 1979), sendo aceite que é possível traçar homologias entre o desenvolvimento temporal do SNC do rato e do Homem. Com efeito, considera-se que o desenvolvimento do SNC do rato durante o período de vida fetal corresponde (grosso modo) ao do feto humano durante o primeiro semestre da gravidez, e o desenvolvimento do SNC do rato desde o nascimento até ao fim do primeiro mês de vida, corresponde ao desenvolvimento do SNC humano no último trimestre da gravidez.

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 (Choi e *col.*, 1998), podendo conduzir a alterações permanentes na expressão de uma das enzimas da cadeia da biossíntese das catecolaminas, a tirosina hidroxilase (TH) (Karoum, Suddath e Wyatt, 1990; Mirmiran e Swaab, 1992; Meyer e *col.*, 1993; Seidler e *col.*, 1995; Choi e *col.*, 1998). Está hoje também demonstrada a implicação de outros sistemas neurotransmissores na capacidade adictiva (de reforço) da cocaína, nomeadamente o sistema serotoninérgico (Giros e *col.*, 1996; Rocha e *col.* 1998 a,b; Sora e *col.*, 1998). A investigação realizada neste âmbito aponta para que os agentes que potenciam a actividade serotoninérgica reduzam a auto-administração de cocaína nos roedores (Richardson e Roberts, 1991; McGregor, Lacosta e Roberts, 1993).

A relação neuroanatómica entre os sistemas (*DAnérgico*) e serotoninérgico, bem como evidências neuroquímicas, sugerem que a triptófano hidroxilase (5-HT) poderá interagir com a transmissão (*DAnérgica*) mesocortico-límbica, quer a nível do soma quer a nível dos terminais sinápticos (Parsons e Justice, 1993; Ali e *col.*, 1994).

É ainda de referir que as drogas de abuso - e neste caso, os psicoestimulantes - induzem indirectamente a expressão de diversos genes (de resposta imediata "immediate early genes", que são induzidos em poucos minutos e genes de resposta tardia, que são induzidos após algumas

horas) que, no contexto da síntese proteica, activam diversas vias bioquímicas em neurónios cerebrais<sup>(1)</sup>. Os efeitos da exposição às anfetaminas e à cocaína sobre a expressão génica têm sido alvo de investigação recente, (Thiriet e col., 2001) tendo em vista o esclarecimento dos mecanismos bioquímicos e de biologia molecular subjacentes à acção desta substância (Cadet e col., 2001, Freeman e col., 2001, Uslaner e col., 2001; Xie e col., 2002). Sabe-se que o gene que codifica para a TH é um gene de resposta tardia, influenciado por diversos agentes ou condições como sejam estímulos *muscarínicos*, nicotínicos, glucocorticóides, agentes geradores de AMPc (por ex. cocaína e anfetaminas) e por despolarização da membrana. Deste modo, a regulação da actividade da TH que, a curto prazo, é conseguida pela *fosforilação* da enzima TH (Zigmond e col., 1989), é obtida a longo prazo pela alteração da expressão génica da TH.

No que concerne aos efeitos das drogas de abuso têm sido publicados diferentes e diferenciais efeitos, quer de índole global quer específica em diferentes modelos experimentais. Esta variabilidade provavelmente reflecte a utilização de diferentes espécies animais e diferentes paradigmas de administração de drogas<sup>(2)</sup>.

## Os psicoestimulantes: a cocaína e a metanfetamina

O consumo de cocaína tem aumentado de forma acentuada nos países ocidentais, nos últimos anos, incluindo em Portugal (Musto, 1989, Balsa e col., 2001). Estudo recente demonstrou que, em Portugal, no ano de 2001, a prevalência de consumo de cocaína no último ano era de 0,4% da população, sendo de 0,7% no grupo etário dos 15-24 anos e 0,5% no grupo dos 25-34 (Balsa e col., 2001). Dado que o consumo desta droga é efectuado particularmente por indivíduos jovens (Balsa e col., 2001), em idade fértil, tem-se verificado grande aumento do número de recém-nascidos expostos *in-utero* a esta substância (Chasnoff e col., 1985, 1986, 1989; Church e col., 1991, 1998; Adams e col., 1989; Fulroth e col., 1989; Musto, 1989; Keller e Snyder-Keller, 2000). Na Europa, até aos anos 80, o abuso de anfetamina e seus análogos era raro, com a excepção, dos países nórdicos e do Reino Unido. Entretanto, no final da década de 80 e com maior relevância e de modo crescente nos anos 90,

vários países europeus relataram o aumento da popularidade das anfetaminas nas camadas jovens da população, associada à frequência de discotecas e festas, explorando as suas características estimulantes e de indução de euforia. Dados estatísticos, provenientes do *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction* (EMCDDA, 1997), mostram que cerca de 10% da população inglesa com 15-16 anos admitem já ter experimentado anfetaminas. Sendo esta avaliação estendida à Comunidade Europeia e limitada à faixa etária dos 18 aos 20 anos, estes valores oscilam entre 3-4% e 9-10% da população (EMCDDA, 1997). Embora os valores divulgados apontem para que a exposição à metanfetamina não apresente grande risco mortal, uma vez que o consumo é estimado em vários milhões de doses e o número de mortes é inferior ao da heroína, a preocupação mantém-se no que se refere a possível morbidade a longo prazo decorrente do uso repetido da droga por uma população muito jovem.

### A cocaína

Desde há mais de uma década que têm vindo a ser publicados, com frequência crescente, resultados que demonstram os efeitos deletérios da cocaína no desenvolvimento do 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 cocaína dos de outros factores sistematicamente associados ao consumo de drogas de uso ilícito no Homem.

A cocaína (benzoilmetilecgonina) é um alcalóide extraído das folhas da planta *Erythroxylon coca* com propriedades estimulantes do SNC (Johanson e Fischman, 1989; McKim, 1991; Volpe, 1992) produzindo euforia, sensação de aumento da auto-estima e do bem estar, aumento da acuidade mental e das capacidades físicas. O apetite e necessidade de sono diminuem (Jaffe, 1990).

O seu efeito farmacológico consiste na inibição da recaptação dos neuromediadores monoaminérgicos (noradrenalina, dopamina e serotonina) da fenda sináptica, tendo efeito agonista nestes sistemas de mediadores (Cregler e Mark, 1986; Nunes e Rosecan, 1987; Johanson e Fischman, 1989; Volpe, 1992). Este efeito é devido à ligação que a cocaína estabelece com as proteínas da membrana celular responsáveis pelo transporte destes mediadores para o

interior das células, resultando no aumento da concentração e da semivida destes mediadores no espaço extracelular (Rocha e *col.*, 1998 a). Esta família de proteínas inclui o transportador da dopamina (DAT), da noradrenalina (NET) e da serotonina (SERT) (Rocha e *col.*, 1998 a).

É vulgarmente aceite que a dependência da cocaína e o seu mecanismo de reforço estão relacionadas com a estimulação das vias dopaminérgicas, particularmente às vias mesolímbica e mesolímbocortical, que induziria um estado de euforia e prazer que levaria ao reforço do comportamento adictivo (Kuhar e *col.*, 1991; Volpe, 1992; Rocha e *col.*, 1998 a; Maharajan e *col.*, 2001).

Qualquer que seja a via de administração, a cocaína atinge níveis plasmáticos elevados, atravessa a barreira placentária e a barreira hemato-encefálica (Chasnoff e *col.*, 1985; Dow-Edwards e *col.*, 1989; Nunes e Rosecan, 1987; Johanson e Fischman, 1989; Volpe, 1992; Keller e Snyder-Keller, 2000). O reduzido nível de esterases existentes quer na mulher grávida, quer no feto, eleva o nível plasmático e prolonga a semivida da cocaína em ambos (Keller e Snyder-Keller, 2000). Por outro lado, como o pH do feto é inferior ao materno é facilitada a difusão da cocaína para este (Keller e Snyder-Keller, 2000).

A exposição à cocaína durante a gravidez afecta a diada mãe-filho, associando-se a hipertensão, placenta prévia, atraso de crescimento intra-uterino, trabalho de parto prematuro, prematuridade, baixo peso e morte fetal (Johanson e Fischman, 1989; Volpe, 1992; Keller e Snyder-Keller, 2000). O sistema cardiovascular do feto é gravemente afectado pela cocaína, de que resultam hipóxia fetal, dificuldade na transferência de nutrientes para o feto com atraso de desenvolvimento e em lesões isquémicas de múltiplos órgãos (Webster e *col.*, 1979; Johanson e Fischman, 1989; Volpe, 1992; Fisher e *col.*, 1994; Zimmerman e *col.*, 1994; Silva-Araújo e *col.* 1995 a,b; Silva-Araújo e Tavares 1996), sendo considerado o principal mecanismo fisiopatológico envolvido na génese das lesões (Silva-Araújo e Tavares 1996; Plessinger e Woods, 1998).

Além de ser atribuído à cocaína papel importante na teratogénese neurocomportamental, também se suspeita que provoca lesões estruturais no cérebro em desenvolvimento (Dow-Edwards, 1991; Gingras e *col.*, 1992; Spear e Heyser, 1992; Hutchings, 1993). Os mecanismos propostos que contribuirão para estes efeitos relacionam-se por um

lado com uma acção da cocaína na circulação produzindo isquemia da placenta levando a que o feto tenha um menor aporte de oxigénio e nutrientes (e.g. Woods e *col.*, 1987; Koegler e *col.*, 1991), por outro lado com os efeitos da cocaína no próprio cérebro em desenvolvimento, inibindo a mitose (Anderson-Brown e *col.*, 1990) e interferindo com a diferenciação celular (e.g. Seidler e Slotkin, 1993).

Neste contexto, diferentes linhas de investigação têm demonstrado que a exposição a drogas psicoactivas, provoca alterações em diferentes sistemas orgânicos, em particular no SNC, quer no Homem, quer em modelos experimentais, e em qualquer período do desenvolvimento (Seidler e *col.*, 1995; Spear, Kirstein e Fambres, 1989; Gingras e *col.*, 1992; Volpe, 1992). Tal asserção está fundamentada em estudos efectuados com o recurso a diferentes métodos de análise, nomeadamente através de determinações morfométricas, imunocitoquímicas e neuroquímicas avaliando no desenvolvimento do animal, por exemplo, alterações no peso corporal, estrutura de áreas do SNC e da organização da retina e nervo óptico (Silva-Araújo *et al.*, 1993, 1995 a,b; Tavares e Silva-Araújo, 1996; Xavier e *col.*, 1995); quantificando níveis de neurotransmissores e seus metabolitos (Karoum, Suddath e Wyatt, 1990; Mirmiran e Swaab, 1992; Meyer e *col.*, 1993). Deste modo, e em resumo, a exposição pré-natal à cocaína provoca efeitos deletérios a nível do sistema nervoso central que incluem lesões celulares (Volpe, 1992; Friedman e Wang, 1998; Lidow e Song, 2001), alterações nos sistemas neuronais monoaminérgicos, particularmente nos dopaminérgicos (Choi e *col.*, 1998; Spear e *col.*, 1989; Keller e Snyder-Keller, 2000) e atraso na maturação de estruturas neuronais (Webster e *col.*, 1979; Chasnoff e *col.*, 1985, 1986; Nunes e Rosecan, 1987; Fulroth e *col.*, 1989; Church e *col.*, 1990, 1991, 1998; Dominguez e *col.*, 1991; Volpe, 1992; Tavares e Silva, 1993). No que concerne aos órgãos dos sentidos, estão descritas alterações a nível ocular, tanto em recém-nascidos como em animais de laboratório (Dixon e *col.*, 1987; Dominguez e *col.*, 1991; Good e *col.*, 1992; Salgado-Borges e *col.*, 1992; Silva-Araújo e *col.*, 1995, 1995 a,b, 1996 a,b; Silva-Araújo e Tavares, 1996; Summavielle e *col.*, 2000).

### A metanfetamina

A metanfetamina é um psicoestimulante sintético, análogo da anfetamina, cujo consumo tem crescido a nível mundial, a partir do início dos anos 90 do século passado. Os efeitos

psicoestimulantes das anfetaminas assemelham-se aos provocados pela cocaína e traduzem-se por uma reacção de tipo orgasmático, violenta e imediata ("rush" ou "flash"), desencadeada durante o consumo, seguida de excitação física e psíquica (Hoffman e Lefkowitz, 1990).

De entre os efeitos físicos são de realçar que são múltiplos e dependentes das alterações funcionais induzidas em diversos sistemas orgânicos; os mais frequentemente descritos incluem, entre outros, broncodilatação, hipertermia, taquicardia, *trismus*, náusea, ataxia, hipersudorese, mialgias, insónia e anorexia (Cho, 1990; Hoffman e Lefkowitz, 1990; McKim, 1991). Por outro lado, de entre os efeitos psíquicos descritos, são de salientar o aumento da acuidade mental e melhoria do humor, diminuição da fadiga e sensação (subjectiva) de aumento da energia e força muscular, autoconfiança e euforia, com a instalação posterior neste quadro de sensação de cansaço (por exemplo, McKim, 1991). No impulso para o consumo deste psicoestimulante, o "rush" é a sensação procurada pelos anfetaminómanos que, numa fase de consumo compulsivo, não ingerem alimentos, têm ausência de sono, e desenvolvem um quadro depressivo podendo, se progressivo, gerar um quadro clínico muito semelhante ao quadro da esquizofrenia paranóica (Cho, 1990; Hoffman e Lefkowitz, 1990; McKim, 1991).

As anfetaminas são substâncias lipofílicas que atravessam facilmente os tecidos, incluindo a barreira hematoencefálica sendo os seus efeitos detectáveis rapidamente após a administração (Jaffe, 1990). A eliminação da anfetamina do plasma implica a acção de enzimas de distribuição e actividade relativamente limitadas (Baba e col., 1988; Jaffe, 1990), o que resulta numa semivida longa, quando comparada, por exemplo, com a semivida da cocaína (NIDA, 1998).

## Modelos experimentais - A perspectiva da investigação

No início da década de 90, diversos investigadores entre os quais Middaugh (1989) prenunciaram que a exposição pré-natal a anfetaminas (e, em extensão, a outros psicoestimulantes como a cocaína) poderia ter consequências comportamentais a longo prazo, uma vez que: (I) os sistemas orgânicos em desenvolvimento rápido são muito sensíveis e vulneráveis à acção de *noxa*s externas; (II) os

sistemas monoaminérgicos estão em desenvolvimento rápido durante a gestação tardia e nos períodos neonatais precoces, (III) os psicoestimulantes afectam os sistemas monoaminérgicos no feto e no adulto e (IV) o sistema hipófise-supra-renal, vulnerável à acção precoce dos psicoestimulantes, influencia o comportamento dos indivíduos adultos e poderá condicionar o comportamento de animais em desenvolvimento.

A constatação de que a placenta é permeável à passagem de drogas de abuso, como a cocaína (revisto por Plessinger e Woods, 1993) e a anfetamina (Maickel e Snodgrass, 1973), e de que o consumo destas substâncias é predominante nas camadas etárias mais jovens (em idade de procriação), levou à necessidade de caracterizar potenciais efeitos sobre a descendência.

O papel dos modelos animais é relevante na problemática da toxicodependência, designadamente na avaliação dos efeitos de consumo nas fases mais vulneráveis do desenvolvimento. Estes estudos permitem ultrapassar a confusão de conceitos em particular os que confrontam moralidade com ciência na área das toxicodependências permitindo a discriminação dos efeitos das drogas "per se" dos relacionados com outros factores associados (Coles, 1993). Neste sentido, e mais acentuadamente na última década, foram desenvolvidos diferentes modelos experimentais de exposição às drogas de abuso, usando geralmente o rato ou o macaco como animal experimental. Contudo, e para encetar estudos de índole metabólica, também foram utilizadas outras espécies animais, como a ovelha e menos frequentemente (por impedimentos económicos e/ou éticos), o macaco. As primeiras avaliações experimentais com o recurso a modelos animais, efectuadas de modo sistemático e bem controladas nos factores associados ao consumo das drogas, foram obtidas sobretudo em modelos de exposição à cocaína durante o desenvolvimento, dado o avolumar da evidência clínica decorrente do consumo de cocaína durante a gravidez (revisto por Chasnoff e col., 1989). Os modelos animais permitem isolar os efeitos da exposição a uma droga e discriminar esses efeitos de outros factores associados que, no caso do consumo de drogas de abuso, estão reconhecidamente dependentes do policonsumo de substâncias (por ex., tabaco, álcool, tranquilizantes), situações de hiponutrição (Galler e Tonkiss, 1998), comorbilidade e deficiente acompanhamento médico da

gravidez (por exemplo, Chasnoff e *col.*, 1989; Kosofsky e Hyman, 2001).

O desenvolvimento desses modelos animais bem controlados permitiu ultrapassar, ou minimizar, algumas das variáveis mais correntemente associadas ao consumo de cocaína durante a gestação na díade materno-fetal (Koren, 1993) de que se realçam: a variabilidade na farmacocinética materna da cocaína, a variabilidade na transferência placentária da cocaína, a variabilidade na resposta *vásculo-placentária* à cocaína e a variabilidade na farmacodinâmica fetal.

Em trabalho recente de Lidow e Song (2001), realizado em primatas, foram mais uma vez demonstrados os efeitos deletérios da exposição pré-natal à cocaína no SNC pela demonstração de que a exposição no período da neurogênese neocortical dá origem a redução do volume cortical, redução da densidade de neurónios sem que, contudo, tenham sido detectadas alterações no número de células gliais no neocórtex.

Há grande evidência, recolhida em estudos pré-clínicos, de que a cocaína e outras drogas de abuso são neuroteratogénicos e podem produzir alterações graves no desenvolvimento do cérebro. O que continuamos a aprender é que o impacto comportamental destas alterações do SNC dependem ainda de outros factores pós-natais, onde se incluem, entre outros, factores ambientais específicos e a vulnerabilidade genética.

A título de exemplo, e no que se refere à metanfetamina, do ponto de vista morfológico foi observado, em modelo experimental com a administração de dose única e elevada de MA (100 mg/kg), efeitos prolongados (eventualmente permanentes) com destruição dos terminais DA do sistema nigroestriado, sem perda de corpos celulares da parte compacta da SN e ATV (Sonsalla, Riordan e Heikkila, 1991). Também foi demonstrada a destruição de terminais sinápticos 5-HT (De Vito e Wagner, 1989) e a diminuição da densidade de varicosidades no córtex parietal, hipotálamo, ACB, neostriado, globo pálido, amígdala, bolbo olfativo, hipocampo e área pré-óptica (Fukui e *col.*, 1989). No ratinho adulto, exposto de forma aguda a doses elevadas de MA (40 ou 80 mg/kg, administrada em 4 tomas, de 2 em 2 horas), foi descrita a redução do número de corpos celulares TH positivos na SN (Sonsalla, Riordan e Heikkila, 1991).

Em modelo de administração crónica de MA (em doses equivalentes às do consumo humano), no rato adulto, a

TH parece ser permanentemente afectada havendo redução prolongada da marcação da TH em axónios e terminais pré-sinápticos no núcleo caudado e córtex frontal (Trulson e *col.*, 1985, 1987). Contudo, é de salientar a variação da distribuição da marcação nas diferentes áreas cerebrais: enquanto que na área tegmentar ventral a imunoreactividade está distribuída uniformemente em toda a célula, na parte compacta da SN os corpos celulares são menos reactivos (Trulson e *col.*, 1987). Semelhante resposta é extensível ao sistema serotoninérgico. Axt e Molliver (1991) verificaram que, no rato, a exposição aguda a MA provocava depleção rápida, a curto e longo prazo, dos axónios 5-HT não-mielinizados.

A identificação de efeitos neurotóxicos e teratogénicos em modelos experimentais de exposição a diferentes drogas levou ao desenvolvimento de estudos de índole epidemiológica, abordando a possível ocorrência de efeitos similares nos filhos de mulheres consumidoras de psicoestimulantes. Numa investigação clínica pioneira nesta área Oro e Dixon (1987) e Dixon e Bejar (1989), avaliaram uma amostra de crianças expostas prenatalmente a metanfetamina, cocaína ou ambas as drogas, comparando-as com outras sem história de consumo de droga, com etnia, idade de maternidade e cuidados pré-natais similares. Nos grupos com história de consumo de droga a taxa de prematuridade era mais elevada, o crescimento intra-uterino estava atrasado e o perímetro cefálico era menor, quando comparado com o grupo controlo; acresce a elevada frequência que apresentavam de alterações comportamentais, caracterizadas por alteração do normal padrão de sono ano, anorexia, tremores e hipertonia. O grupo com exposição a ambas as drogas (cocaína+MA) apresentava maior número de hemorragias placentárias e a associação das duas drogas correlacionava-se negativamente com a idade de gestação, peso à nascença, comprimento e perímetro cefálico (Oro e Dixon, 1987).

Martin e Hansen (1998) em estudo efectuado em crianças de idades compreendidas entre os 5 e 7 anos expostas em período pré-natal a MA e/ou cocaína, com APGAR (3) normal, verificaram que o seu desenvolvimento cognitivo era significativamente inferior ao grupo de controlo (não exposto a drogas, mas do mesmo meio socioeconómico) em relação a aspectos específicos de aprendizagem e memória (Martin e Hansen, 1998).

Os efeitos da exposição pré-natal à MA são ainda relativamente mal conhecidos, tendo sido recentemente recomendado pelo National Institute on Drug Abuse (NIDA)<sup>(4)</sup> (Marwick, 2000) maior investimento nesta área da investigação. No entanto, dados clínicos e experimentais já disponíveis evidenciam os efeitos deletérios da exposição à MA neste período, quer isoladamente quer no contexto de policonsumo de drogas (por exemplo, cocaína) (Oro e Dixon, 1987; Dixon e Bejar, 1989; Stewart e Meeker, 1997). Maior base de dados tem sido já publicada acerca dos efeitos decorrentes da exposição durante a gestação à cocaína<sup>(5)</sup>.

### Dados experimentais dos modelos da exposição à cocaína e metanfetamina no desenvolvimento

Dos resultados clínicos e experimentais publicados na literatura, ressaltam as discrepâncias existentes na caracterização dos efeitos (directos ou indirectos) das drogas psicoestimulantes sobre o desenvolvimento. Desde 1989, têm sido realizadas numerosas investigações de índole experimental na tentativa de discriminar os efeitos destas substâncias de outros factores que, no Homem, estão sistematicamente associados ao consumo de drogas de abuso, especialmente da cocaína e anfetaminas. Estes estudos, para os quais investigadores do Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto e da Unidade de Neurocomportamento do IBMC deram notável contribuição (Silva-Araújo e col., 1993, 1994, 1995 a,b, 1996 a,b, Silva-Araújo e Tavares, 1996, Xavier e col., 1995, Tavares e Silva, 1993), demonstraram que os psicoestimulantes afectam o desenvolvimento do SNC de roedores e do Homem, causando atraso da maturação de diferentes áreas do sistema nervoso, alteração da expressão dos sistemas neurotransmissores mais vulneráveis à acção destas drogas, o que condiciona marcadas alterações da organização morfológica, neuroquímica e do funcionamento delas dependentes.

Nos modelos experimentais que estão na base deste conjunto de trabalhos foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*), da estirpe *Wistar*, provenientes do Instituto Gulbenkian de Ciência (Oeiras, Portugal). Os animais foram mantidos em condições de fotoperíodo (luz das 7:00 às 19:00), tempera-

tura ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e humidade controladas. Tiveram acesso *ad libitum* a água; o alimento (dieta de roedores) foi fornecido sem restrições no caso do modelo neonatal. No modelo pré-natal procedeu-se à obtenção de um grupo nutricionalmente controlado, designado genericamente por "pair-fed". Os animais foram expostos no período pré-natal, entre os dias 8 e 22 da gestação quer a cocaína quer a d-anfetamina ou metanfetamina e ainda no período neonatal às mesmas drogas, durante períodos bem definidos do desenvolvimento pós-natal.

No dia do nascimento as ninhadas foram reduzidas a 8 elementos (sempre que possível 8 machos). Os animais, do sexo masculino, foram sacrificados em diferentes estádios do seu desenvolvimento pós-natal, sendo cada um dos grupos estudados constituído por animais provenientes de pelo menos 3 ninhadas, no total de 6 animais por grupo. A selecção dos animais para cada grupo foi realizada pelo método de Permutação Aleatória de Blocos.

A análise dos diferentes parâmetros foi efectuada recorrendo a diferentes técnicas que contemplam diferentes abordagens metodológicas. Porque se encontram descritas em referências deste grupo de investigação passam-se a enumerar: Avaliação da morfologia e organização quantitativa das áreas de origem dos sistemas dopaminérgicos e suas áreas de projecção (córtex pré-frontal, hipocampo, área tegmental ventral, substância negra, amígdala, retina); Estudos neuroquímicos do conteúdo de dopamina e seus metabolitos e de serotonina (córtex pré-frontal, amígdala, núcleo caudado e *accumbens*, substância negra e área tegmental ventral); Análise da expressão génica da tirosina hidroxilase (substância negra e área tegmental ventral) estudos comportamentais, utilizando os mesmos paradigmas experimentais.

Em resumo, e para possibilitar a percepção dos processamentos, refere-se que o cérebro foi rapidamente removido e congelado de imediato em isopentano arrefecido em gelo seco. Os olhos foram removidos, recolhidos em soro fisiológico e imediatamente dissecados com o auxílio do microscópio cirúrgico. As retinas foram isoladas das membranas envolventes e congeladas pelo processo anteriormente descrito. O material obtido foi mantido a  $-70^\circ\text{C}$ , até ser processado para análise. Nessa altura, foram separados os cérebros a usar na técnica de hibridização *in situ* do ARNm da TH. Estes cérebros foram seccionados

em crióstato, e as secções (de 20  $\mu\text{m}$  de espessura) das áreas seleccionadas (substância negra e área tegmental ventral) foram recolhidas para lâminas gelatinadas, livres de RNase. Os tecidos (áreas cerebrais e retinas) usados para determinações neuroquímicas (concentração de dopamina e seus metabolitos e actividade da TH), foram organizados de modo a que, em cada dia de determinações, fossem sempre avaliados animais tratados e respectivos controlos, de cada grupo experimental. Cada grupo experimental era composto por 6 a 11 animais, provenientes de 3 a 5 ninhadas distintas.

A actividade da TH e as concentrações de DA, DOPAC e NE foram analisadas por cromatografia líquida de elevada performance (HPLC) com detecção electroquímica (HPLC-EC) em diversas áreas do SNC de ratos de distintas idades (DPN 7, 14 e 30), expostos pré-natal ou neonatalmente às drogas: cocaína ou metanfetamina e respectivos grupos de controlo. As áreas do cérebro foram dissecadas nos hemisférios direito e esquerdo, tendo como referência o atlas do cérebro do rato de Paxinos e Watson (1986, 1997).

Estes trabalhos, demonstraram - no decurso de 10 anos de investigações - que a exposição precoce e crónica a psicoestimulantes provoca alterações qualitativas e quantitativas no desenvolvimento pós-natal do sistema visual do Homem (Silva-Araújo e Tavares, 1996, Silva-Araújo e col., 1996 a), designadamente nos fotoreceptores e camada de células ganglionares da retina e no nervo óptico do rato (Silva-Araújo e col., 1991, 1993, 1994, 1995, Silva-Araújo e Tavares, 1996). Estes efeitos também são evidenciados por alterações neuroquímicas no sistema dopaminérgico da retina (Silva-Araújo e col., 1996 b), que podem ser de carácter transitório (Silva-Araújo e col., 1996 b).

A alteração ocular macroscópica detectada mais frequentemente foi a presença de hemorragias retinianas macroscópicas, usualmente do tipo "dot and blot", num olho ou nos dois olhos, quer no modelo experimental da exposição à cocaína, quer no da metanfetamina. A ocorrência de hemorragias retinianas nos animais expostos prenatalmente à MA foi significativamente maior do que nos animais de controlo aos 7 e 14 dias, mas não aos 30 dias de idade.

A ocorrência e caracterização de hemorragias retinianas associadas à exposição pré-natal a psicoestimulantes durante o desenvolvimento foi previamente comunicada por alguns elementos do grupo de Neurocomportamento do

IBMC, em estudos clínicos e experimentais sobre a cocaína (Silva-Araújo e Tavares, 1996, Silva-Araújo e col., 1996 a,b). Verificou-se que a exposição pré-natal à cocaína resultou na ocorrência de hemorragias retinianas macroscópicas em 18 % dos ratos dos DPN 7 e 14, e em 10% dos ratos do DPN 30 (Silva-Araújo e col., 1996 a,b). Os resultados obtidos com o modelo experimental da metanfetamina sugerem tendência semelhante, já que a exposição pré-natal à MA estava associada ao aumento da frequência de hemorragias retinianas nos animais dos DPN 7 e DPN 14, mas o efeito já não era observado nos animais do DPN 30, sugerindo que poderia estar já resolvido quando os animais se aproximam da puberdade. No DPN 14, a frequência das hemorragias retinianas aumentou em todos os grupo, expostos à droga e controlos. No rato, este é o dia da abertura das pálpebras, no qual se desencadeiam marcadas alterações, por estímulo da luz, que poderão contribuir para o aumento da frequência de hemorragias retinianas, quando comparado com os outros grupos etários. As hemorragias retinianas decorrentes da exposição pré-natal ou neonatal à cocaína foram atribuídas à vasoconstrição provocada por esta substância, de que resultariam fenómenos hipóxicos/isquémicos, edema e hemorragias<sup>(6)</sup>.

Relatos clínicos correlacionaram o consumo de MA com a presença de hemorragias intra-retinianas (Wallace e col., 1992). As alterações oculares relatadas são microftalmia e anoftalmia no ratinho, e microftalmia e cicloplegia no coelho (Kasirsky e Tansy, 1971). No rato (da estirpe *Sprague-Dawley*), a exposição pré-natal à MA causou alterações oculares relacionadas com o período de exposição à droga: a exposição precoce foi relacionada com a ocorrência de anoftalmia e microftalmia, enquanto a exposição mais tardia (entre os DG 13 e 18) causou pregueamento da retina (Accuff-Smith e col., 1993, 1996).

No rato (*Sprague-Dawley*) exposto prenatalmente à d-MA foram também descritas - como acontece com a cocaína - alterações oculares (Accuff-Smith, 1993, Accuff-Smith e col., 1996), relacionadas com a dose e período de exposição (Accuff-Smith e col., 1996), designadamente aumento de incidência de anoftalmia ou pregueamento da retina. No mesmo trabalho são referidas outras alterações decorrentes da afectação do desenvolvimento geral dos animais como a diminuição do ganho de peso na gestação, aumento da mortalidade. Na exposição mais tardia foram



descritas outras alterações, como aumento da mortalidade da grávida e das crias, bem como diminuição do crescimento das crias, que também apresentavam atraso no desenvolvimento da locomoção.

A exposição pré-natal à metanfetamina está associada à diminuição dos níveis de NE da retina de ratos do DPN 30, efeito que é apenas uma tendência nos machos, mas é altamente significativo nas fêmeas. Apesar da importância funcional da NE na retina não estar ainda bem esclarecida, foi proposto que esta substância poderá ter um papel neurotrófico (Shelke e col., 1997), tal como noutras áreas do SNC (Felten e col., 1982). Com efeito, inicialmente, foi proposto que a NE estaria associada a neurónios dos vasos sanguíneos da retina (Osborne, 1981). No entanto, outros estudos verificaram que a NE é intrínseca à retina (Iuvone e Neff, 1978, Shelke e col., 1997) e é detectável na retina do rato por métodos neuroquímicos desde o DPN 6 (Shelke e col., 1997). Neste âmbito, e com base nestes resultados, adianta-se a hipótese de que a diminuição dos níveis de NE na retina dos ratos com 30 dias de idade, expostos à MA durante o período de gestação, poderá estar relacionada com alterações a longo prazo dos sistemas catecolaminérgicos da retina.

Embora os estudos pré-natais abordem os efeitos das drogas na divisão e migração celulares, o período pós-natal precoce nos ratos representa um período activo de diferenciação celular e de sinaptogénese. Além disto, 80% das enzimas que sintetizam as catecolaminas e locais de recaptação de alta afinidade desenvolvem-se no período pós-natal nos roedores (Coyle e Axelrod, 1972; Johnston e Coyle, 1981). Neste estudo, verificamos que a administração crónica de cocaína a ratos no período pós-natal precoce durante os primeiros 30 dias de vida levou a uma diminuição dos níveis de DA na amígdala com provável consequência no aumento do turnover da DA (Magalhães, 2001 a,b). Não foi detectada alteração dos níveis de 5-HT ou do seu metabolito na amígdala destes animais; porém, no grupo de ratos exposto à cocaína as fêmeas apresentaram maior número de células com imuno-reatividade para o anticorpo anti-5-HT relativamente aos machos.

## Os estudos do comportamento

Está demonstrado que a administração precoce de cocaína

a ratos induz aumento dos movimentos locomotores e cruzamento de matrizes até aos 21 dias de vida bem como aumento dos comportamentos de "grooming" até aos 35 dias de vida (Spear e Brick, 1979), e o aparecimento de comportamentos de tipo ansioso (Spear, 1997; Blanchard e col., 1998; Blanchard e Blanchard, 1999; Herbert e col., 1999), aumento de comportamentos de fuga e defesa, de imobilidade (Blanchard e col., 1998), de hipersensibilidade (Bilitzke e Church, 1992) e comportamentos de medo (Blanchard e Blanchard, 1999), que caracterizam os estados depressivos. As respostas comportamentais precoces à exposição à cocaína podem indicar que a imaturidade dos sistemas neurotransmissores que as justificam são capazes de ser estimulados de modo a poderem ser responsáveis por esses efeitos (Spear e Brick, 1979).

O Teste de Natação Forçada (TNF) tem sido usado experimentalmente para estudar a depressão (e.g. Weiss, Lierpial e West., 1998). Quando os roedores são expostos ao TNF tipicamente assumem uma postura imóvel, que é atribuída a um estado de desespero comportamental, considerando que os animais perderam a esperança de escapar (Porsolt e col., 1978). De entre outros testes comportamentais utilizados para avaliar os efeitos da exposição precoce às drogas de uso ilícito, ressalta o *open-field*, introduzido por Calvin Hall em 1932 (referido em Walsh e Cummins, 1976) e consiste em medir os comportamentos provocados pela colocação dum sujeito num espaço aberto novo de onde a fuga é impedida por uma parede limitativa. Neste trabalho o teste de *open-field* permitiu avaliar os índices de descarga motora e de equilíbrio autonómico (Royce, 1977). É um teste muito usado pois requer aparelhagem simples, permite a medição fácil e rápida de comportamentos bem definidos e a interpretação destes comportamentos é amplamente aceite (Walsh e Cummins, 1976). Foi descrito que a exposição pré-natal à cocaína quando efectuada de forma intermitente aumenta significativamente a actividade no *open-field* dos ratos no DPN60 (Johns e col., 1992); a administração pré-natal de cocaína nas fases média e tardia da gestação provocou níveis mais elevados do comportamento de levantar nos machos do que nas fêmeas e inibiu significativamente o comportamento sexual nas fêmeas ao contrário dos machos nos quais se verificou facilitação do comportamento sexual (Vathy e col., 1993). A exposição de ratos adultos a injeção de cocaína diária

(durante 5 dias) provocou aumento da actividade no open-field quando testados 30 dias depois de terminada a exposição, relativamente ao grupo de controlo, enquanto que os que receberam cocaína continuamente foram menos activos (Zeigler e col., 1991). Neste mesmo modelo foi observado aumento da actividade de levantar bem como do *grooming* mútuo no *open-field* social quando os animais expostos à cocaína são testados 30 dias depois de terminada a exposição, relativamente ao grupo controlo (Zeigler e col., 1991). Os resultados obtidos demonstram alterações comportamentais significativas e redução da capacidade de resposta a situações de stress nos animais expostos à cocaína durante o desenvolvimento (Magalhães e col., 2001 a,b).

Este conjunto de trabalhos, associado à revisão da extensa literatura sobre modelos animais e casos no Homem, demonstra inequivocamente a pertinência e adequação do discurso biológico sobre as drogas de abuso. Tal como sugerido por Koob e Bloom (1998) o grande desafio da comunidade científica consiste agora em encontrar uma sequência interna consistente que explique a sequência pela qual os eventos moleculares modificam os eventos celulares que, por seu lado, produzem alterações profundas e permanentes na cognição, motivação e comportamento. Deste modo, será possível modificar de modo dramático a resposta do Homem, de cada Homem, ao consumo de drogas.

## Agradecimentos

Este trabalho traduz a concretização de grande número de investigações que foram levadas a cabo com colaborações desenvolvidas com vários investigadores, clínicos e docentes de instituições nacionais e estrangeiras, em diferentes fases do tempo e dos métodos. De entre estes é de salientar os Doutores Maria Carolina Silva, J. Salgado-Borges, Syed F. Ali, J. Nguyen-Legros, J. Fernández-Ruiz. Ainda a colaboração da Dra. Irene Flores e Rui Carolino foi crucial para o estudo dos recém-nascidos.

Estes trabalhos foram subsidiados por Projectos concedidos pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, designadamente PMCT/C/SAU/10/90, STRDA/SAU/304/92 PECS/C/SAU/87 /95, PSAU/C/SAU/8/96, PBIA/14239/98, PRAXIS/P/SAU/12287/98 ■

### Contacto:

Profª Doutora Maria Amélia Tavares  
Instituto de Anatomia  
Faculdade de Medicina do Porto  
Alameda Hernâni Monteiro  
4200-319 Porto  
Tel. 351-22-5096808  
FAX - 351-22-5505640  
e-mail - anatclin@med.up.pt

---

### Notas

- \* Trabalho apresentado no VII Encontro - SPTT - *Cultura e Dependências*, 6 e 7 de Dezembro, 2001, Forum da Maia, Maia, Portugal.
- (\*\*) Instituto de Anatomia da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (IAFM) e Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC), Porto.
- (\*\*\*) IBMC e Hospital Padre Américo, Penafiel.
- (\*\*\*\*) IAFM e IBMC .
- (\*\*\*\*\*) IAFM e IBMC .
- (\*\*\*\*\*) IBMC e Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto.
- (1) Para revisão, ver Torres e Horowitz, 1999.
- (2) Para revisão, ver Dow-Edwards, 1996; Levitt, 1998; Mayes, 1999.
- (3) APGAR (teste): "Método de avaliação global do estado de uma criança à nascença [...]". in *Dicionário Médico*, p. 70. Lisboa: CLIMEPSI editores, 2000.
- (4) US Department of Health and Human Services.
- (5) Para revisão ver Church e col., 1998.
- (6) Para revisão, ver Silva-Araújo e Tavares, 1996.

## Referências Bibliográficas

- Acuff-Smith K.D. (1993). *Neurobehavioral, neurochemical, and ocular effects of prenatal methamphetamine exposure in rats as a function of dose and gestational stage*: University of Cincinnati. 189 p.
- Acuff-Smith K.D., George M., Lorens S.A., Vorhees C.V. (1992). "Preliminary evidence for methamphetamine-induced behavioral and ocular effects in rat offspring following exposure during early organogenesis". *Psychopharmacology* 109: 255-263.
- Acuff-Smith K.D., Schilling M.A., Fisher J.E., Vorhees C.V. (1996). "Stage-specific effects of prenatal d-methamphetamine exposure on behavioral and eye development in rats". *Neurotoxicol Teratol* 18: 199-215.
- Adams, E.H., Gfoerer, J.C., Rouse, B.A. (1989). "Epidemiology of substance abuse including alcohol and cigarette smoking". *Prenatal Abuse of Licit and Illicit Drugs*. (Hutchings D.E., Ed.). *Ann NY Acad Sci* 562: 14-20.
- Ali S.F., David S.N., Newport G.D., Cadet J.L., Slikker W. Jr. (1994) MPTP-"Induced oxidative stress and neurotoxicity are age-dependent: evidence from measures of reactive oxygen species and striatal dopamine levels". *Synapse* 18: 27-34.
- Anderson-Brown T., Slotkin T.A., Seidler F.J. (1990). "Cocaine acutely inhibits DNA synthesis in developing rat brain regions: evidence for direct actions". *Brain Res* 537: 197-202.
- Axt K.J., Molliver M.E. (1991). "Immunocytochemical evidence for methamphetamine-induced serotonergic axon loss in the rat brain". *Synapse* 9: 302-313.
- Baba T., Yamada H., Oguri K., Yoshimura H. (1988) "Participation of cytochrome P-450 isozymes in N-demethylation, N-hydroxylation and aromatic hydroxylation of methamphetamine". *Xenobiotica* 18: 475-484.
- Balsa C., Farinha T., Nunes J. P., Chaves M. (2001). *Inquérito nacional ao consumo de substâncias psicoativas na população portuguesa*. CEOS, Fac. de Ciências Sociais e Humanas, Universidade Nova de Lisboa.
- Bilitzke P.J., Church, M W. (1992). "Prenatal cocaine and alcohol exposure affect rat behavior in a stress test (the Porsolt swim test)". *Neurotoxicol Teratol* 14, 359-364.
- Blanchard D.C., Blanchard R J. (1999). "Cocaine potentiates defensive behaviors related to fear and anxiety". *Neurosci Biobehav Rev* 23, 981-991.
- Blanchard R.J., Hebert M.A., Dulloog L., Kaawaloa N., Nishimura O., Blanchard D.C. (1998). "Acute cocaine effects on stereotypy and defense: an ethoexperimental approach". *Neurosci Biobehav Rev* 23: 179-188.
- Cadet J.L., Jayanthi S., McCoy M.T., Vawter M., Ladenheim B. (2001). "Temporal profiling of methamphetamine-induced changes in gene expression in the mouse brain: Evidence from cDNA array". *Synapse* 41: 40-48.
- Chasnoff I.J., Lewis D.E., Giffith D.R., Willey S. (1989). "Cocaine and pregnancy: clinical and toxicological implications for the neonate". *Clin Chem* 35: 1276-1278.
- Chasnoff I.J., Burns K.A., Burns W.J., Schnoll S.H. (1986) "Prenatal drug exposure: effects on neonatal and infant growth and development". *Neurobehav. Toxicol. Teratol* 8: 357-362.
- Chasnoff I.J., Burns W.J., Schnoll S.H., Burns K.A. (1985). "Cocaine use in pregnancy". *New Engl J Med* 313: 666-669.
- Cho A.K. (1990) "Ice: a new dosage form of an old drug". *Science* 249: 631-634.
- Choi S-J., Mazzio E., Kolta M.G., Soliman K.F.A. (1998) "Prenatal cocaine exposure affects postnatal dopaminergic systems in various regions of the rat brain". *Ann NY Acad Sci* 846: 293-302.
- Church M.W., Kaufmann R.A., Keenan J.A., Martier S.S., Savoy-Moore R.T., Ostrea, E.M., Subramanian M.G., Welch R.A., Zajac C.S. (1991) "Effects of prenatal cocaine exposure (chapter 8)". In *Biochemistry and Physiology of substance abuse*, vol.III. (Watson R. R, ed) CRC Press, Boca Raton.
- Church M.W., Crossland W.J., Holmes P.A., Overbeck G.W., Tilak J.P. (1998) "Effects of prenatal cocaine on hearing, vision, growth and behavior". *Ann NY Acad Sci* 846: 12-28.
- Church M.W., Dintcheff B.A., Gessner P.K. (1988) "Dose-dependent consequences of cocaine on pregnancy out-come in the Long-Evans rat". *Neurotoxicol Teratol* 10: 51-58.
- Coles C.D. (1993) Saying "goodbye" to the "crack baby". *Neurotoxicology Teratology* 15: 290-292.
- Coyle J.T., Axelrod J. (1972) "Tyrosine hydroxylase in rat brain: developmental characteristics". *J Neurochem* 19, 1117-1123.
- Cregler L.L., Mark H. (1986) "Medical complications of cocaine abuse". *New Engl J Med* 315: 1495-1500.
- De Sousa, L., Xavier M.R., Tavares M.A. (1998). "Early visual deprivation and early exposure to amphetamine". *Arq. Med.* 12 Supl. 1: 167-169.
- De Vito M.J., Wagner G.C. (1989). "S Functional consequences following methamphetamine-induced neuronal damage". *Psychopharmacol* 97: 432-435.
- Dixon S.D., Bejar R. (1989). "Echoencephalographic findings in neonates associated with maternal cocaine and methamphetamine use: incidence and clinical correlates". *J Pediatr* 115: 770-778.
- Dixon S.D., Coem R.W., Crutchfield S. (1987). "Visual dysfunction in cocaine exposed infants". *Pediatr Res* 21: 395A.
- Dobbing J., Sands J. (1979) "Comparative aspects of the brain growth spurt". *Early Brain Dev* 3: 79-83.
- Dominguez R.D., Vila-Coro A., Slopis J.M., Bohan T.P. (1991). "Brain and ocular abnormalities in infants with in utero exposure to cocaine and other street drugs". *A. J Dis Child* 145: 688-695.
- Dow-Edwards, D.L. (1991). "Cocaine effects on fetal development: a comparison of clinical and animal research findings". *Neurotoxicol Teratol* 13: 347-352.
- Dow-Edwards D. (1996). "Comparability of human and animal studies of developmental cocaine exposure". *NIDA Res Monogr* 164: 146-174.
- Dow-Edwards D., Fico T.A., Osman M., Gamagaris Z., Hutchings D. E. (1989). "Comparison of oral and subcutaneous routes of cocaine administration on behavior, plasma drug concentration and toxicity in female rats. *Pharmacol. Biochem. Behav* 33: 167-173.
- European Monitoring Centre for Drug Addiction (EMCDDA) (1997). *Annual Report on the State of the Drugs Problem in the European Union*. Mike Ashton (ed).
- Felten D.L., Hallman H., Jonsson G. (1982) "Evidence for a neurotropic role of noradrenaline neurons in the postnatal development of rat cerebral cortex". *J Neurocytol* 11: 119-135.
- Fisher J.E., Potturi R.B., Collins M., Resnick E., Zimmerman E.F. (1994) "Cocaine-induced embryonic cardiovascular disruption in mice". *Teratol* 49: 182-191.
- Freeman W.M., Brebner K., Lynch W.J., Robertson D.J., Roberts D.C.S., Vrana K.E. (2001). "Cocaine-responsive gene expression changes in rat hippocampus". *Neuroscience* 108: 371-380.
- Friedman E., Wang H.-Y. (1998). "Prenatal cocaine exposure alters signal transduction in the brain D1 dopamine receptor system". *Ann NY Acad Sci* 846: 238-247.
- Fukui K., Kariyama H., Kashiba A., Kato N., Kimura H. (1986). "Further confirmation of heterogeneity of the rat striatum: different mosaic patterns of dopamine fibers after administration of methamphetamine or reserpine". *Brain Res* 382: 81-86.
- Fulroth R., Phillips B., Durand D.J. (1989). "Perinatal outcome of infants exposed to cocaine and/or heroin in utero". *Am J Dis Child* 143: 905-910.

- Galler J.R., Tonkiss J (1998) "The effects of prenatal protein malnutrition and cocaine on the development of the rat". *Ann NY Acad Sci* 846: 29-39.
- Gingras J.L., Weese-Mayer D.E., Hume R.F. Jr., O'Donnell K.J. (1992) "Cocaine and development: mechanisms of fetal toxicity and neonatal consequences of prenatal cocaine exposure". *Early Hum Dev* 31: 1-24.
- Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG (1996). "Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter". *Nature* 379: 606-612.
- Gomes-da-Silva J., Perez-Rosado A., de Miguel R., Fernandez-Ruiz J., Silva M.C., Tavares M.A. (2000) "Neonatal methamphetamine in the rat: evidence for gender-specific differences upon tyrosine hydroxylase enzyme in the dopaminergic nigrostriatal system". *Ann NY Acad Sci* 914: 431-438.
- Good W.V., Ferriero D.M., Golabi M., Robori J.A. (1992) "Abnormalities of the visual system in infants exposed to cocaine". *Ophthalmology* 99: 341-346.
- Herbert M.A., Blanchard D.C., Blanchard R.J. (1999) "Intravenous cocaine precipitates panic-like flight responses and lasting hyperdefensiveness in laboratory rats". *Pharmacol Biochem Behav* 63: 349-360.
- Hoffman B.B., Lefkowitz R.J. (1990). "Catecholamines and sympathomimetic drugs". *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, (pp 187-220) A.F. Goodman Gilman, T.W. Rall, A.S. Nies e P. Taylor (eds.) 8ª ed, Pergamon Press.
- Holden C. (2001) "Behavioral" addictions: do they exist?. *Science* 294: 980-982.
- Hutchings D.E. (1993). "The puzzle of cocaine's effects following maternal use during pregnancy: are there reconcilable differences?" *Neurotoxicol Teratol* 15, 281-286.
- Iuvone P.M., Galli C.L., Garison-Gund C.K., Neff N.H. (1978) "Retinal tyrosine hydroxylase activity and dopamine synthesis in retinal amacrine neurons". *Science* 202: 901-902.
- Jaffe J.H. (1990) "Drug addiction and drug abuse". *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, (pp. 522-573) A.F. Goodman Gilman, T.W. Rall, A.S. Nies e P. Taylor (eds.), 8ª ed. Pergamon Press.
- Johanson C.-E., Fischman M.W. (1989) "The pharmacology of cocaine related to its abuse". *Pharmacol Rev* 41: 3-52
- Johns J.M., Means M.J., Anderson D.R., Means L.W., McMillen B.A. (1992) "Prenatal exposure to cocaine. II: Effects on open-field activity and cognitive behavior in Sprague-Dawley rats". *Neurotoxicol Teratol* 14: 343-349.
- Johnston M.V., Coyle J.T. (1981) "Development of central neurotransmitter systems". *Ciba Found Symp* 86: 251-270.
- Karoum F, Suddath, RL, Wyatt, R.J. (1990) "Chronic cocaine and rat brain catecholamines: long-term reduction in hypothalamic and frontal cortex dopamine metabolism". *Eur J Pharmacol* 186: 1-8.
- Kasirsky G., Tansy M.F. (1971) "Teratogenic effects of methamphetamine in mice and rabbits". *Teratology* 4: 131-134.
- Keller R. W., Snyder-Keller A. (2000) "Prenatal cocaine exposure". *Ann NY Acad Sci* 909: 217-232.
- Koegler S.M., Seidler F.J., Spencer J.R., Slotkin T.A. (1991) "Ischemia contributes to adverse effects of cocaine on brain development: suppression of ornithine decarboxylase activity in neonatal rat". *Brain Res Bull* 27: 829-834.
- Koob G.F., Bloom F.E. (1998) "Cellular and molecular mechanisms of drug dependence". *Science* 242: 715-723.
- Koob G.F., Le Moal M. (1997) "Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation". *Science* 278: 52-58.
- Koren G. (1993) "Cocaine and the human fetus: the concept of theratophilia". *Neurotoxicol Teratol* 15: 301-304.
- Kosofsky B.E., Hyman S.E. (2001) "No time for complacency: the fetal brain on drugs". *J Comp Neurol* 435: 259-262.
- Kuhar M.J., Ritz M.C., Boja J.W. (1991) "The dopaminergic hypothesis of the reinforcing properties of cocaine". *TINS* 14:299-302.
- Leshner A. I. (1997) "Addiction is a brain disease, and it matters". *Science* 278: 45-47.
- Levitt P. (1998) "Prenatal effects of drugs of abuse on brain development". *Drug Alcohol Depend* 51: 109-125.
- Lidow M.S., Song Z-M. (2001) "Primates exposed to cocaine in utero display reduced density and number of cerebral cortical neurons". *J Comp Neurol* 435: 263-275.
- Magalhães, A., Summavielle T., Tavares M.A., de Sousa L. (2001a) Open-field activity along the development of rats postnatally exposed to cocaine. Livro de resumos do "8th Meeting of the International Neurotoxicology Association". 120.
- Magalhães A., Castro-Vale I., Tavares M.A., de Sousa L. (2001b) The effects of postnatal cocaine exposure in the performance of rats in a forced swim test. Livro de resumos do "8th Meeting of the International Neurotoxicology Association". 121.
- Maharajan P, Maharajan V, Ravagnan G., Pain G. (2001) "The weaver mouse: a model to study the ontogeny of dopamine transmission systems and their role in drug addiction". *Prog. Neurobiol*: 64: 269-276.
- Maickel R.P., Snodgrass W.R. (1973) "S Physicochemical factors in maternal-fetal distribution of drugs". *Toxicol Appl Pharmacol* 26: 218-230.
- Martin N.A., Hansen R.L. (1998) "Effect of prenatal drug exposure on cognitive development in 5 to 7 year old children". *Pediatr Res* 43: 14A.
- Marwick C. (2000) NIDA seeking data on effect of fetal exposure to methamphetamine. *Jama* 283: 2225-2226.
- Mayes L.C. (1999) "Developing brain and in utero cocaine exposure: effects on neural ontogeny". *Dev Psychopathol* 11: 685-714.
- McGregor A, Lacosta S, Roberts DC. (1993) "L-tryptophan decreases the breaking point under a progressive ratio schedule of intravenous cocaine reinforcement in the rat". *Pharmacol Biochem Behav* 44: 651-655.
- McKim W.A. (1991) "Psychomotor stimulants". *Drugs and Behavior. An Introduction to Behavioral Pharmacology*. (pp. 201-226). William A. McKim (ed.) 2ª ed, Prentice Hall, New Jersey.
- Meyer J.S., Shearman L.P., Collins L.M., Maguire R.L. (1993) "Cocaine binding sites in fetal rat brain: implications for prenatal cocaine action". *Psychopharmacol* 112: 445-451.
- Middaugh L.D. (1989) Prenatal amphetamine effects on behavior: possible mediation by brain monoamines. *Ann N Y Acad Sci* 562: 308-318.
- Mirmiran M, Swaab DF. (1992) "Influence of drugs on brain neurotransmission and behavioural stages during development". *Dev Pharmacol Ther* 10: 377-384.
- Musto D.F. (1989) "Evolution of American attitudes toward substance abuse". Prenatal Abuse of Licit and Illicit Drugs (Hutchings D.E, Ed.). *Ann. N.Y. Acad. Sci* 562: 3-7.
- Nestler E.J., Aghajanian G.K. (1997) Molecular and cellular basis of addiction. *Science* 278: 58-63.
- NIDA. (1998) Methamphetamine abuse and addiction. NIDA Research Report Series. 8 p.
- Nunes E.V., Rosecan J.S. (1987). "Human neurobiology of cocaine". *Cocaine Abuse: New directions in treatment and research* (pp. 48-93) (Spitz H.I., Rosecan J.S, Eds.). Brunner/Hazel Publisher: New York, USA.
- Oro A.S., Dixon S.D. (1987). "Perinatal cocaine and methamphetamine

- exposure: maternal and neonatal correlates". *J Pediatr* 111: 571-578.
- Osborne N.N. (1981). "Noradrenaline, a transmitter candidate in the retina". *J Neurochem* 36: 17-27.
- Parsons L.H., Justice J.R. (1993). "Perfusate serotonin increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by in vivo microdialysis". *Brain Res* 606: 195-199.
- Paxinos G., Watson C. (1997). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York.
- Plessinger M.A., Woods J.R. Jr. (1993). "Maternal, placental and fetal pathophysiology of cocaine exposure during pregnancy". *Clin Obstet Gynecol* 36: 267-278.
- Plessinger M.A., Woods J.R. (1998). "Cocaine in pregnancy. Recent data on maternal and fetal risks". *Obstet Gynecol Clin North Am* 25: 99-118.
- Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. (1978). "Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments". *Eur J Pharmacol* 47: 379-391.
- Richardson N.R., Roberts D.C. (1991). "Fluoxetine pretreatment reduces breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous cocaine self-administration in the rat". *Life Sci* 49:833-840.
- Rocha B. A., Fumagalli F., Gainetdinov R.R., Jones S.R., Ator R., Giros B., Miller G.W., Caron M.G. (1998a). "Cocaine self-administration in dopamine-transporter knockout mice". *Nature Neurosci* 1:132-137.
- Rocha B.A., Searce-Levie K., Lucas J.J., Hiroi N., Castanon N., Crabbe J.C., Nestler E. J., Hen R. (1998b). "Increased vulnerability to cocaine in mice lacking the serotonin-1B receptor". *Nature* 393:175-178.
- Royce J.R. (1977). "On the construct validity of open-field measures". *Psychol Bull* 84: 1098-1106.
- Salgado-Borges J.M., Silva-Araújo A., Tavares M.A. (1992) "Gestational cocaine exposure in the rat: effects on the morphological organization of the optic nerve". *Europ J Neurosci Suppl.* 5: 253.
- Salgado-Borges J., Gomes-da-Silva J., De-Miguel R., Fernández-Ruiz J., Tavares M.A. (1998) "Tyrosine hydroxylase activity in the rat retina after neonatal exposure to methamphetamine". *Ophthalmic Res* 30 (S1): 111.
- Seidler F.J., Slotkin T.A. (1993). "Prenatal cocaine and cell development in rat brain regions: effects on ornithine decarboxylase and macromolecules". *Brain Res Bull* 30: 91-99.
- Seidler F.J., Temple S.W., McCook E.C., Slotkin T.A. (1995) Cocaine inhibits central noradrenergic and dopaminergic activity during the critical developmental period in which catecholamines influence cell development. *Dev Brain Res* 85: 48-53.
- Shelke R.R., Lakshmana M.K., Ramamohan Y., Raju T.R. (1997). "Levels of dopamine and noradrenaline in the developing of retina - effect of light deprivation". *Int J Dev Neurosci* 15: 139-143.
- Silva-Araújo A., Abreu-Dias P., Salgado-Borges J., Tavares M. (1994) "Retinal changes induced by neonatal cocaine exposure in the rat". *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 232: 162-166.
- Silva-Araújo A., Abreu-Dias P., Silva M.C., Tavares M.A. (1995). "Effects of prenatal cocaine exposure in the retinal ganglion cell layer of the rat". *Mol Neurobiol* 11: 87-97.
- Silva-Araújo A., Salgado-Borges J., Cardoso V., Silva M.C., Castro-Correia J., Tavares M.A. (1993). "Changes in retinal ganglion cell layer and optic nerve in neonatal rats exposed to cocaine". *Exp Eye Res* 56: 199-206.
- Silva-Araújo A., Salgado-Borges J., Tavares M.A. (1991) . "Morphological changes in the optic nerve after chronic exposure of neonatal rats to cocaine and amphetamine". *Ophthalmic Res* 23: 295-304.
- Silva-Araújo A., Silva M.C., Simon A., Nguyen-Legros J., Ali S.F., Tavares M.A. (1996a). "The effects of prenatal exposure to cocaine on the dopaminergic cells in the rat retina. An immunocytochemical and neurochemical study". *Exp Eye Res* 62: 696-708.
- Silva-Araújo A., Tavares M.A. (1996). "Development of the eye after gestational exposure to cocaine. Vascular disruption in the retina of rats and humans". *Ann N Y Acad Sci* 801: 274-288.
- Silva-Araújo A., Tavares M.A., Patacão M.H., Carolino R.M. (1996b). "Retinal hemorrhages associated with in utero exposure to cocaine. Experimental and clinical findings". *Retina* 16: 411-418.
- Silva-Araújo A., Silva M.C., Abreu-Dias P., Tavares M.A. (1995b). "Effects of prenatal cocaine exposure in the retinal ganglion layer of the rat. A morphometric analysis". *Mol Neurobiol* 11: 87-97.
- Silva-Araújo A., Tavares M.A., Salgado-Borges J. (1995c). "Retinal vascular disruption associated with gestational exposure to cocaine". *Vis Res* 35: S114.
- Sonsalla P.K., Riordan D.E., Heikkila R.E. (1991). "Competitive and non-competitive antagonists at N-methyl-D-aspartate receptors protect against methamphetamine -induced dopaminergic damage in mice". *J Pharmacol Exp Ther* 256: 506-512.
- Sora I., Wichems C., Takahashi N., Li X.F., Zeng Z., Revay R., Lesch K.P., Murphy D.L., Uhl G.R. (1998). "Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine and in serotonin-transporter knockout mice". *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 7699-7704.
- Spear L.P. (1997) "Neurobehavioral abnormalities following exposure to drugs of abuse during development". In B.A. Johnson, J.D. Roache (eds), *Drug Addiction and its Treatment: Nexus of Neuroscience and Behavior* (pp. 233-255)
- Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. Spear L.P., Brick, J. (1979) "Cocaine-induced behavior in the developing rat". *Behav Neural Biol* 26: 401-415.
- Spear L.P., Heyser C.J. (1992) "Cocaine and the developing nervous system: laboratory findings". In I.S. Zagon & T.A. Slotkin (eds.), *Maternal Substance Abuse and the Developing Nervous System* (pp. 155-175) San Diego: Academic Press.
- Spear L.P., Kirstein C.L., Frambes N.A. (1989). Cocaine effect on developing central nervous system: Behavioral, Psychopharmacological and neurochemical studies. *Ann NY Acad Sci* 562: 290-307.
- Stewart J.L., Meeker J.E. (1997). "Fetal and infant deaths associated with maternal methamphetamine abuse". *J Anal Toxicol* 21: 515-517.
- Summavielle T., Magalhães A., Castro-Vale I., de Sousa L., Tavares M.A. (2002). "Neonatal exposure to cocaine: altered dopamine levels in the amygdala and behavioral outcomes in the developing rat". *Ann N Y Acad Sci*, in press.
- Tavares M.A., Silva M.C. (1996). "Differential effects of prenatal exposure to cocaine and amphetamine on growth parameters and morphometry of the prefrontal cortex in the rat". *Ann N.Y. Acad Sci* 801: 256-273.
- Tavares M.A., Silva M.C. (1993). "Body weight gain and hippocampal volumes of rats exposed neonatally to psychostimulants". *Brain Res* 619, 137-145.
- Tavares M.A. (1998). "Gestational exposure to drugs of abuse in the prefrontal cortex of the rat". *Arq Med* 12 Supl. 1: 63-66.
- Thiriet N., Zwiller J., Ali S.F. (2001). "Induction of the immediate early genes egr-1 and c-fos by methamphetamine in mouse brain". *Brain Res* 919: 31-40.
- Torres G., Horowitz J.M. (1999). "Drugs of abuse and brain gene expression". *Psychosom Med* 61: 630-650.
- Trulson M.E., Cannon M.S., Faegg T.S., Raese J.D. (1985). "Effects of chronic methamphetamine on the nigral-striatal dopamine system in rat brain: tyrosine hydroxylase immunocytochemistry and quantitative light microscopic studies". *Brain Res Bull* 15: 569-577.

Trulson M.E., Cannon M.S., Faegg T.S., Raese J.D. (1987). "Tyrosine hydroxylase immunocytochemistry and quantitative light microscopic studies of the mesolimbic dopamine system in rat brain: effects of chronic methamphetamine administration". *Brain Res Bull* 18: 269-277.

Uslaner J., Badiani A., Day H.E.W., Watson S.J., Akil H., Robinson T.E. (2001). "Environmental context modulates the ability of cocaine and amphetamine to induce c-fos mRNA expression in the neocortex, caudate nucleus, and nucleus accumbens". *Brain Res* 920: 106-116.

Vathy I., Katay L., Mini K.N. (1993). "Sexually dimorphic effects of prenatal cocaine on adult sexual behavior and brain catecholamines in rats". *Dev Brain Res* 73: 115-122.

Volpe J.J. (1992). "Effect of cocaine use on the fetus". *New Engl J Med* 327: 399-407.

Wallace R.T., Brown G.C., Benson W., Sivalingham A. (1992). "Sudden retinal manifestations of intranasal cocaine and methamphetamine abuse". *Am J Ophthalmol* 114: 158-60.

Walsh R.N., Cummins R.A. (1976). "The open-field test: a critical review". *Psychol Bull* 83: 482-504.

Webster W.S., Woodman P.D.C.B., Lipson A.H., Ritchie H.E. (1979). "Fetal brain damage in the rat following prenatal exposure to cocaine". *Neurotoxicol Teratol* 13: 621-626.

Weiss J.M., Cierpial M.A., West C.H. (1998). "Selective breeding of rats for high and low motor activity in a swim test: toward a new animal model of depression". *Pharmacol Biochem Behav* 61: 49-66.

Woods J.R., Jr., Plessinger M.A., Clark K.E. (1987). Effect of cocaine on uterine blood flow and fetal oxygenation. *Jama* 257: 957-961.

Xavier M.R., Tavares M.A., Machado J.D., Silva-Araújo A. (1995). "Effects of prenatal cocaine exposure in the prefrontal cortex of the rat". *Mol Neurobiol* 11: 99-110.

Xie T., Tong L., Barrett T., Yuan J., Hatzidimitriou G., McCann U.D., Becker K.G., Donovan D.M., Ricaurte G.A. (2002) "Changes in gene expression linked to methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity". *J Neurosci* 22: 274-283.

Zeigler S., Lipton J., Toga A., Ellison G. (1991). "Continuous cocaine administration produces persisting changes in brain neurochemistry and behavior". *Brain Res* 552: 27-35.

Zigmond R.E., Schwarzschild M.A., Rittenhouse A.R. (1989) "Acute regulation of tyrosine hydroxylase by nerve activity and by neurotransmitters via phosphorylation". *Annu Rev Neurosci* 12: 415-461.

Zimmerman E.F., Potturi R.B., Reswick E., Fisher J.E. (1994). "Role of oxygen radicals in cocaine-induced vascular disruption in Mice". *Teratol* 49: 192-201.