



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BIANCA RODRIGUES MELO DA SILVA

**SUSCETIBILIDADE À CRISES EPILÉPTICAS E ALTERAÇÕES  
COMPORTAMENTAIS EM FÊMEAS DE GERAÇÃO F1 RESULTANTES DA  
EXPOSIÇÃO MATERNA À PIRÓLISE DO CRACK**

MACEIÓ

2022

BIANCA RODRIGUES MELO DA SILVA

**SUSCETIBILIDADE À CRISES EPILÉPTICAS E ALTERAÇÕES  
COMPORTAMENTAIS EM FÊMEAS DE GERAÇÃO F1 RESULTANTES DA  
EXPOSIÇÃO MATERNA À PIRÓLISE DO CRACK**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção da graduação em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Olagide Wagner de Castro

MACEIÓ

2022

**Catálogo na Fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

S586s Silva, Bianca Rodrigues Melo da.  
Susceptibilidade a crises epiléticas e alterações comportamentais em fêmeas de geração F1 resultantes da exposição materna à pirólise do *crack* / Bianca Rodrigues Melo da Silva. – 2022.  
35 f. : il.

Orientadora: Olagide Wagner de Castro.  
Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 30-34.  
Anexo: f. 35.

1. Psicotrópicos. 2. Epilepsia. 3. Ansiedade. 4. Depressão. 5. Memória. I. Título.

CDU: 615.32

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me acompanhou e guiou em toda essa caminhada, nos momentos bons e ruins e que me sustentou e ajudou a superar cada obstáculo. Gratidão por me permitir encerrar e iniciar mais um ciclo em minha vida. Graças te dou!!

Aos meus pais, que me deram a vida, me criaram e foram e são meu alicerce, meu exemplo e meu colo. Obrigada por serem meu porto seguro sempre, me apoiarem e entenderem minhas ausências. Painho e mainha, amo vocês!!

Ao meu irmão, a pessoa que mais me irrita nesse mundo, mas que também é a pessoa que sempre me escuta com paciência, que me ajuda nos momentos de desespero (e foram muitos kkk) e que sempre me fala das filosofias tiradas de animes. Júnior, obrigada por me socorrer com os desenhos e com os meus perrengues de informática. Amo você!!

A toda minha família, voinha, tias, tios, primas que sempre torceram por mim e me apoiaram nessa jornada. Ju e Lu, obrigada pelos conselhos acadêmicos e por sempre me motivarem a continuar nessa caminhada acadêmica, mesmo com todos os obstáculos.

Aos meus amigos da vida toda, Gabriel, Caio, Paloma, Dandara, Andreza, Lorena e Carlinhos. Que sempre reclamam das minhas ausências, mas que entendem e vibram por mim, mesmo que a distância.

Aos meus amigos da Graduação, em especial Thiago João, Gabriel, Alysson e Nathan, obrigada por tornarem essa caminhada mais leve. Jeyse, Franxis e Lavínia, não tenho palavras que expressem meus sentimentos por vocês, Gratidão a Deus por esse encontro, não imagino passar pela graduação sem dividir essa experiência com vocês. Pinxes, amo vocês!!

Ao LNFI, que se tornou minha segunda casa, Maisa, Igor, Yngrid e Nanda que me receberam tão bem. Amanda e Juci que me acolheram e sempre estiveram a disposição para o que fosse necessário. Rayssa e Milenna, que pude conviver mais durante a pandemia e ter boas conversas. Keyllinha e Bruno, com quem tenho dividido a experiência desse mundo, novo, das pesquisas e que sempre me apoiaram e estiveram a disposição para o que fosse necessário. E por fim, ao meu orientador Prof. Olagide, que me aceitou no laboratório, conduziu e orientou nas pesquisas, que sempre está aberto para ouvir seus alunos, que orienta de forma humana. Gratidão!!

*É hora de recomeçar tudo outra vez,  
sem ilusão e sem pressa,  
mas com a teimosia do inseto  
que busca um caminho no terremoto.*

Carlos Drummond de Andrade

## RESUMO

O *crack* é uma droga psicoativa derivada da pasta base da cocaína que atua no Sistema Nervoso Central. O uso abusivo dessa substância, vem crescendo, e já é considerado um grave problema de saúde pública no Brasil. O uso da cocaína em sua forma fumada acarreta em diversos problemas sociais, além de distúrbios físicos e alterações neurológicas, como exemplo, os transtornos mentais. A literatura evidencia, que a exposição materna a cocaína gera consequências nocivas na prole, como déficits cognitivos, comportamentais e crises convulsivas, no entanto estudos referente as consequências da exposição materna ao *crack* ainda são escassos. Com isso, o objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos neurocomportamentais e suscetibilidade às crises epiléticas nas fêmeas da prole (geração F1) oriundas de ratas grávidas expostas a pirólise do *crack* durante o período gestacional. Para isso, as ratas foram expostas ao *crack* durante o período gestacional e após o nascimento da geração F1, as ratas fêmeas foram submetidas aos seguintes testes comportamentais: de ansiedade (labirinto em cruz elevado; LCE), de locomoção (Campo Aberto; CA), de depressão (teste do nado forçado; TNF) e de memória (esquiva inibitória; EI). Além disso, foi avaliada a suscetibilidade para *Status Epilepticus*. O presente estudo evidenciou que a prole de ratas grávidas expostas a pirólise do *crack*, durante o período gestacional exibiu uma diminuição do tempo e da frequência de entrada nos braços abertos do LCE, indicando um comportamento do tipo ansioso, bem como, um aumento do tempo de imobilidade no TNF, caracterizando um comportamento do tipo depressivo. Além disso, apresentou uma redução no tempo de descida no teste de EI, demonstrando a presença de déficits na consolidação da memória e uma redução brusca do limiar para crises epiléticas, seguido de um aumento na severidade das crises. Com isso, o vigente trabalho demonstrou uma maior predisposição das fêmeas da geração F1 expostas ao *crack* durante o período gestacional apresentarem alterações neurológicas comportamentais e cognitivas.

**Palavras-chave:** drogas psicoativas; epilepsia; ansiedade; depressão; memória.

## ABSTRACT

*Crack* is a psychoactive drug derived from cocaine base paste that acts on the Central Nervous System. The abuse of this substance has been growing and is already considered a serious public health problem in Brazil. The use of cocaine in its smoked form causes several social problems, besides physical disturbances and neurological alterations, such as mental disorders. The literature shows that the maternal exposure to cocaine generates harmful consequences in the offspring, such as cognitive and behavioral deficits and seizures, however, studies regarding the consequences of maternal exposure to *crack* are still scarce. Thus, the objective of this study was to evaluate the neurobehavioral effects and susceptibility to epileptic seizures in the female offspring (F1 generation) of pregnant rats exposed to *crack* pyrolysis during gestation. For this, the rats were exposed to *crack* during gestation and after the F1 generation was born, the female rats were submitted to the following behavioral tests: anxiety (elevated plus maze; EPM), locomotion (open field; OF), depression (forced swim test; FST) and memory (inhibitory avoidance; IA). In addition, susceptibility to Status Epilepticus was assessed. The present study evidenced that the offspring of pregnant rats exposed to *crack* pyrolysis, during the gestational period exhibited a decrease in the time and frequency of entry into the open arms of the LCE, indicating an anxious type behavior, as well as, an increase in the immobility time in the TNF, characterizing a depressive type behavior. Furthermore, he presented a reduction in the descent time in the IS test, demonstrating the presence of deficits in memory consolidation and a sudden reduction in the threshold for epileptic seizures, followed by an increase in seizure severity. Thus, the present work demonstrated a greater predisposition of F1 generation females exposed to *crack* during the gestational period to present behavioral and cognitive neurological alterations.

Keywords: psychoactive drugs; epilepsy; anxiety; depression; memory.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ilustração do aparato para exposição das ratas prenhas a pirólise do <i>crack</i> .....	14
Figura 2 - Ilustração do labirinto em cruz elevado utilizado no Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI) – UFAL.....	15
Figura 3 – Ilustração da arena de campo aberto utilizado no laboratório de neurofarmacologia e fisiologia integrativa (LNFI) - UFAL.....	16
Figura 4 - Aparato de esquiva inibitória utilizado no laboratório de neurofarmacologia e fisiologia integrativa (LNFI) - UFAL.....	17
Figura 5 - Número de entradas nos braços abertos no labirinto em cruz elevado da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack.....	19
Figura 6 - Tempo de Permanência nos braços abertos no labirinto em cruz elevado da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack.....	19
Figura 7 - Teste de campo aberto para avaliação da atividade locomotora da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack.....	21
Figura 8 - Teste do nado forçado para avaliação do comportamento depressivo da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack.....	22
Figura 9 - Teste de esquiva inibitória para avaliação de memória na fase juvenil.....	24
Figura 10 - Teste de esquiva inibitória para avaliação da memória na fase adulta.....	24
Figura 11 – Latência, frequência e tempo total de crises da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack.....	26
Figura 12 - Frequência e severidade das crises por classe da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack.....	27

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

SNC - Sistema Nervoso Central  
EPI - Equipamento de Proteção Individual  
LCE - Labirinto em Cruz Elevado  
CA - Campo Aberto  
NF - Nado Forçado  
EI - Esquiva Inibitória  
TRO - Teste de Reconhecimento de Objeto  
SE - Status Epilepticus  
CTRL - Controle  
EXP - Exposta  
CRH - Hormônio Liberador de Corticotrofina  
ACTH - Hormônio Adrenocorticotrófico  
HPA - Hipotálamo Hipófise Adrenal  
PILO SUB - Pilocarpina Subconvulsivante  
PILO CONV - Pilocarpina Convulsivante  
CPF - Córtex Pré-Frontal  
NAc – Núcleo Accumbens

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>13</b>
3.1 Grupos experimentais.....	13
3.2 Acasalamento.....	13
3.3 Aquisição do <i>crack</i> .....	13
3.4 Exposição ao <i>crack</i> .....	14
3.5 Testes comportamentais.....	14
3.5.1 Teste do labirinto em cruz elevado (LCE).....	14
3.5.2 Teste do campo aberto (CA).....	15
3.5.3 Teste do nado forçado (NF).....	16
3.5.4 Teste de esquivas inibitória (EI).....	16
3.6 Cirurgia estereotáxica.....	17
3.7 Microinjeção.....	17
3.8 Análises estatísticas.....	18
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>19</b>
4.1 A exposição materna à pirólise do <i>crack</i> , durante o período gestacional, induz um comportamento do tipo ansiogênico em ratas F1.....	19
4.2 A exposição materna à pirólise do <i>crack</i> , durante o período gestacional, não altera a locomoção das ratas F1.....	21
4.3 A exposição materna à pirólise do <i>crack</i> , durante o período gestacional, induz um comportamento do tipo depressivo em ratas F1.....	22
4.4 A exposição materna à pirólise do <i>crack</i> , durante o período gestacional, induz déficits na memória de ratas F1 adultas .....	23
4.5 A exposição materna à pirólise do <i>crack</i> , durante o período gestacional, aumentou a susceptibilidade à crises epilépticas em ratas F1.....	25
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O *crack* é uma droga psicoativa que atua no Sistema Nervoso Central (SNC), sendo considerado uma droga de abuso por ser um subproduto da pasta base da cocaína. Por sua vez, a cocaína configura-se como um alcalóide psicoestimulante produzido biossinteticamente, a partir das folhas da espécie *Erythroxylum coca*, e apresenta-se na forma de pó branco, acrescido de bicarbonato de sódio e outras substâncias (DUAILIBI et al., 2010). Diferentemente da cocaína, que é mais comumente administrada por aspiração nasal ou injetada diretamente na corrente sanguínea, o *crack* é sólido, em forma de pedra, sendo assim é queimado e fumado. Os primeiros registros científicos do consumo de *crack* foram descritos na década de 1980 nos Estados Unidos. No Brasil, o *crack* chegou no final da década de 1980 no Estado de São Paulo e em 1990 houve um crescimento elevado do seu uso em detrimento do uso de cocaína, tornando o *crack* uma das principais drogas ilícitas utilizadas no país (CARVALHO, 2009).

O uso do *crack*, assim como o uso de outras drogas psicoativas, está estritamente ligado ao aumento da violência, uma vez que do ponto de vista psicofarmacológico comportamentos violentos e agressivos são consequências diretas do uso dessa substância. Além disso, o aumento da prática de delitos como furtos e roubos, assim como, do tráfico estão associados ao consumo do *crack* (TOLEDO et al., 2017).

Além do aumento da violência, o uso de drogas, de maneira geral, pode acarretar diversos distúrbios físicos e transtornos comportamentais (SILVA et al., 2016). A literatura mostra que diversas substâncias psicoativas (e.g., *crack*, cocaína, heroína, álcool e metanfetamina) estão associadas com doenças cardiovasculares (TALARICO et al., 2017), nefropatias (DETTMEYER et al., 2005). Adicionalmente, estas substâncias apresentam potencial neurotóxico causando transtornos neurocognitivos, como déficits na memória, prejuízos na neuroproteção, convulsões, ansiedade e depressão (GONÇALVES et al., 2015; COTTO et al., 2018; KRAMER et al., 1990; MÉNDEZ, 2019; FRAZER et al., 2018). Na última década diversos estudos foram publicados apresentando correlação entre drogas perturbadoras do SNC, a exemplo da maconha, drogas estimulantes do SNC como a cocaína e as anfetaminas, e episódios convulsivos, ou até mesmo, crises epiléticas (KAHAN et al., 2021; GOUNDER et al., 2020; BROWN et al., 2011).

A epilepsia é uma condição neurológica crônica caracterizada por crises recorrentes e espontâneas (WREDE et al., 2021), resultantes de descargas elétricas irregulares em um grupo de neurônios, podendo manter-se localizada ou tornar-se generalizada (BRODIE et al., 2016).

Essa condição acarreta diversas consequências neurobiológicas e psicossociais, comprometendo a qualidade de vida do portador (FERNANDES, 2006). Além disso, apresenta alta prevalência, principalmente, em países de baixa renda (BEGHI, 2020). Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) cerca de 50 milhões de pessoas são portadoras de epilepsia no mundo todo e 3 milhões de pessoas no Brasil (LIGA BRASILEIRA DE EPILEPSIA, 2021).

Além das consequências físicas, o uso de drogas de abuso pode causar distúrbios psicológicos e de comportamento como ansiedade e depressão, consideradas as doenças do século, principalmente em períodos de abstinência, uma vez que o abuso dessas drogas e a abstinência provocam desbalanço na liberação dos neurotransmissores, alterações morfológicas e variações a níveis moleculares (MARQUES et al., 2006; GIARDIM et al., 2015).

No entanto, a literatura aponta que homens e mulheres respondem de forma diferente ao comportamento do vício (BECKER et al., 2017). As mulheres evoluem para a adicção de maneira muito mais rápida quando comparada aos homens. Em estudos pré-clínicos, foi constatado que ratas, fêmeas, quando postas em uma câmara de condicionamento operante adquiriram a cocaína, por autoadministração, de forma mais rápida e mais frequente que os machos. Este fato pode está associado a variação dos hormônios ovarianos, a exemplo do estradiol, que está presente em maior quantidade nas mulheres (BECKER, 2016).

Ademais, as mulheres, também, são mais acometidas por alguns transtornos psicológicos, como depressão e ansiedade, em relação aos homens (GOODWILL et al., 2019). Por exemplo, a depressão e a ansiedade tem uma prevalência duas vezes maior em mulheres (LABAKA et al., 2018; JALNAPURKAR et al., 2018).

Além disso, diversos estudos demonstraram que drogas psicoativas como álcool, heroína, cocaína e crack atravessam a barreira placentária e atingem o feto ocasionando alterações morfológicas, fisiológicas e de comportamento, tanto a curto quanto a longo prazo (TETRO et al., 2018; HETEA et al., 2019; LIU, 2019). Entretanto, estudos que avaliem essas alterações e as consequências do uso de drogas ilícitas, como o *crack*, na prole de mães grávidas, ainda são escassos.

Com todas as consequências físicas, psicológicas e sociais negativas, principalmente para o sexo feminino, o abuso de drogas psicoativas apresenta-se como um problema de saúde pública que se torna ainda mais grave quando ocorre o uso durante a gestação. Mas, ainda são necessários estudos mais completos para avaliar os danos causados pelo uso de drogas durante a gestação, principalmente quanto ao uso de *crack*, analisando as complicações causadas na

prole a curto e longo prazo e a possível correlação entre o *crack* e a epilepsia, uma vez que a droga pode atuar no aumento da predisposição para crises convulsivas.

Desse modo, diante do que já existe na literatura referente a outras drogas psicoativas, se supôs que a exposição materna de ratas ao *crack* implicaria em alterações neurobiológicas (e.g., comportamento do tipo ansioso e depressivo, déficits de memória e aumento na suscetibilidade para *status epilepticus*) na prole, mencionada na literatura como “*crack babies*”. E com isso, este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do *crack* nos comportamentos relacionados a ansiedade, depressão e memória, assim como, na susceptibilidade às crises epiléticas na prole de ratas grávidas expostas à pirólise do crack no período gestacional.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as alterações cognitivas e comportamentais apresentadas pelas ratas, na fase jovem, decorrentes da exposição materna ao *crack*, bem como avaliar a suscetibilidade para o desenvolvimento de *Status epilepticus* (SE) nas fêmeas (geração F1) durante a fase adulta.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a suscetibilidade para SE em ratas fêmeas, adultas, (F1) expostas a pirólise do crack durante o período gestacional;
- Averiguar a suscetibilidade e gravidade do SE em ratas fêmeas, adultas, (F1) expostas a pirólise do crack durante o período gestacional;
- Investigar os comportamentos do tipo ansioso e depressivo em ratas fêmeas, jovens, (F1) expostas a pirólise do crack durante o período gestacional;
- Verificar a consolidação da memória em ratas fêmeas, jovens e adultas, expostas a pirólise do crack durante o período gestacional (F1);

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS**

Foram utilizados ratos Wistar (30 fêmeas e 15 machos), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Os animais foram acondicionados sob temperatura controlada ( $22 \pm 24^{\circ}\text{C}$ ) e submetidos a um ciclo claro-escuro (de 12h-12h) no biotério setorial do Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS). Os animais receberam água e ração *ad libitum*. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFAL (nº 54/2017).

#### **3.2 ACASALAMENTO**

Foram utilizados ratos machos e fêmeas com 60 dias de vida para o acasalamento. A princípio os machos foram dispostos individualmente nas caixas de acrílico por 24 horas. Após este período, os mesmos foram retirados e as fêmeas foram inseridas na mesma caixa para entrar em contato com os feromônios do macho (POILEY, 1960 – Fio cruz, 1994). Quatro dias após esse processo, os animais foram acasalados na proporção 2 fêmeas:1 macho. Para confirmar que ocorreu o acasalamento, no dia posterior, às 07h:00min foi realizado uma lavagem no canal vaginal das fêmeas com 20  $\mu\text{L}$  de solução de cloreto de sódio a 0,9%, utilizando uma pipeta. O material colhido foi transferido para lâminas de vidro e feito esfregaço para verificar em microscópio ótico a existência, ou não, de espermatozoides, quando positivo era considerado, o dia 0 do período gestacional.

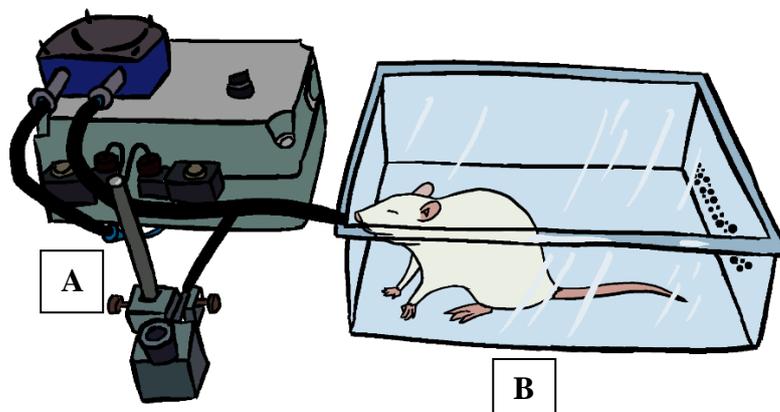
#### **3.3 AQUISIÇÃO DO CRACK**

As amostras de *crack* foram previamente apreendidas pela delegacia de entorpecentes da cidade de Maceió – Alagoas. Mediante a autorização da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e ordem judicial, a substância foi entregue e armazenada no LNFI/ICBS/UFAL. Toda a manipulação da substância foi realizada com os devidos equipamentos de proteção individual (EPI's): vestimentas e respiradores apropriados.

### 3.4 EXPOSIÇÃO AO CRACK

As ratas gestantes foram divididas em dois grupos: 15 pertencentes ao grupo Controle (CTRL) e 15 ao grupo Expostas ao *crack* (EXP). As ratas do grupo EXP foram expostas individualmente a 200 mg de *crack* por dia, a partir do 5º dia de gestação até o 21º, totalizando 16 dias de exposição (PACHECO et al, 2021). Primeiramente, as ratas foram colocadas para ambientação por um tempo de 5 minutos na caixa acrílica acoplada ao sistema desligado, logo em seguida o sistema era ligado e dava-se início a exposição. O *crack* era depositado no cachimbo, onde foi realizada a queima e por meio do sistema, a fumaça gerada foi sugada e levada até a caixa de acrílico acoplada, em que as ratas permaneciam por 10 minutos após a queima (FIGURA 1). No 21º dia após o nascimento, as fêmeas da prole foram desmamadas e realocadas em gaiolas com no máximo 5 animais, divididos em grupos CTRL e EXP até atingirem a puberdade (30 dias; ratas jovens) e a fase adulta (60 dias; ratas adultas) para serem divididas e utilizadas nos respectivos protocolos experimentais.

**Figura 1 – Ilustração do aparato para exposição das ratas prenhas a pirólise do *crack***



Fonte: Autor, 2022.

(A) bomba geradora de fumaça. (B) caixa de acrílico onde os animais foram colocados

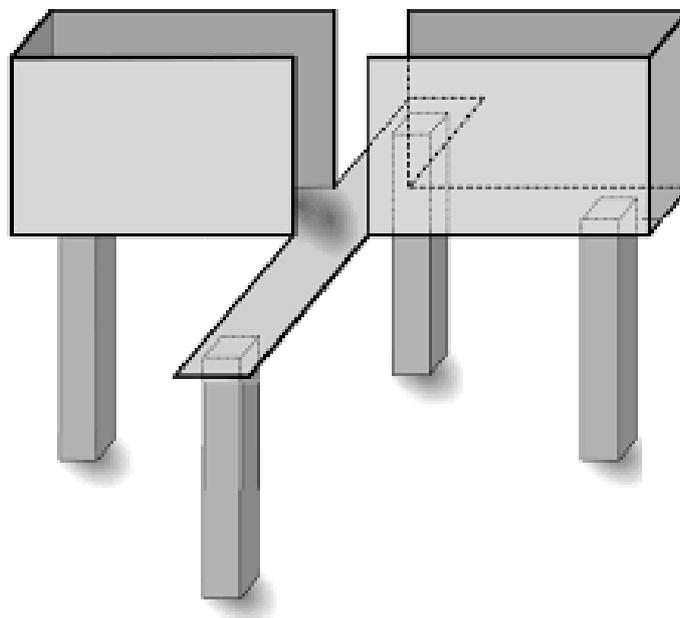
### 3.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

#### 3.5.1 TESTE DO LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO (LCE)

O LCE é um teste usado para avaliar comportamentos relacionados com a ansiedade (ENNACEUR,2016). O aparato do teste utilizado consiste em um labirinto em formato de cruz

com 40 centímetros de altura, sendo dois braços abertos e dois braços fechados em oposição (FIGURA 2). Após trinta dias do nascimento, as ratas jovens foram divididas em dois grupos, CTRL (n=8) e EXP (n=10), e foram colocadas individualmente na parte central do labirinto com a cabeça voltada para um dos braços fechados. Cada animal permaneceu no labirinto por 5 minutos para avaliação dos seguintes parâmetros comportamentais: número de entradas nos braços abertos e fechados e o tempo de permanência nos braços abertos e fechados.

**Figura 2 – Ilustração do labirinto em cruz elevado utilizado no Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI) - UFAL**



Fonte: puc-rio.br. 2021.

### **3.5.2 TESTE DO CAMPO ABERTO (CA)**

O CA é um teste comportamental utilizado para avaliar o comportamento locomotor do animal (SCHOLL et al., 2019). O aparato do teste consiste em uma arena circular dividida em doze partes e delimitada por uma estrutura de acrílico (FIGURA 3). Logo em seguida do LCE, os animais foram colocados individualmente no CA, durante cinco minutos e foram filmados para análise dos seguintes parâmetros comportamentais: número de cruzamentos realizados durante esse tempo.

**Figura 3 – Ilustração da arena de campo aberto utilizado no Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI) - UFAL**



Fonte: scienlabor.com.br. 2021.

### **3.5.3 TESTE DO NADO FORÇADO (NF)**

Esse teste é utilizado para avaliar comportamentos do tipo depressivo em roedores (FERNANDES et al, 2012). Com  $n=8$  para ambos os grupos, o teste foi dividido em dois momentos, o primeiro consistiu no pré-teste, em que as ratas jovens foram colocadas para nadar por 15 minutos em um tanque cilíndrico (22x22x32cm) com temperatura de  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ . O segundo momento ocorreu 24 horas após o pré-teste, as ratas foram novamente inseridas no tanque cilíndrico para nadar e filmadas por cinco minutos. Foram analisados os seguintes parâmetros comportamentais: tempo de imobilidade e latência para a imobilidade. Tanto no pré-teste quanto no teste, ao retirar as ratas do tanque foram colocadas para secar em uma caixa aquecida com o auxílio de uma lâmpada por  $\pm 1$  hora.

### **3.5.4 TESTE DE ESQUIVA INIBITÓRIA (EI)**

Também chamado de *Step Dow Inhibitory*, esse teste é usado para avaliar a capacidade de reter as memórias recentes e as de longo prazo em ratos (RODRIGUES, 2021). O EI, consiste em um aparato composto por uma parte plana, onde o animal é inicialmente colocado, e outra parte com barras paralelas de aço (FIGURA 4). O teste foi realizado em duas etapas: (i) o pré-teste e (ii) teste. No pré-teste, o animal foi colocado sobre a parte plana e ao colocar as quatro patas nas barras de aço recebe uma descarga elétrica de 0,2 mA por 3 segundos. No teste

propriamente dito, que ocorreu 24 horas após o pré-teste, o animal foi novamente colocado na parte plana. No teste foi avaliado a latência da descida dos animais para as barras de ferro durante 5 minutos, mas sem as descargas elétricas. Esse teste foi realizado em dois momentos, nas ratas jovens ( $n = 10$ ) e adultas ( $n = 10$ ).

**Figura 4 - Aparato de esquia inibitória utilizado no Laboratório de Neurofarmacologia e Fisiologia Integrativa (LNFI) - UFAL**



Fonte: Autor, 2022.

### 3.6 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA

As ratas adultas do grupo CTRL ( $n = 8$ ) e do grupo EXP ( $n = 8$ ) foram submetidas a cirurgia estereotáxica para implantação de uma cânula no hipocampo esquerdo. Os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (80mg/kg) e cloridrato de xilazina (10mg/kg) e receberam uma dose de 0,1ml/100g de pentabiótico subcutâneo, além de uma dose de 0,1mg/kg de cloridrato de lidocaína, anestésico local, antes do início da cirurgia. Posteriormente foi implantada uma cânula no hilus do giro dentado do hipocampo, seguindo coordenadas pré-determinadas: -6,30 mm AP (em relação ao bregma); 4,50 mm LL (em relação ao seio sagital) e -4,50 mm DV (em relação à dura-máter), (PAXINOS; WATSON, 2004).

### 3.7 MICROINJEÇÃO

Uma semana após a cirurgia estereotáxica, os animais foram submetidos a microinjeção de 1 $\mu$ L de salina a 0,9% ou 1 $\mu$ L de pilocarpina sub-convulsivante (0,6 mg/ $\mu$ L). Logo após a microinjeção os animais foram colocados em gaiolas de acrílico e filmados

durante 90 minutos para constatar se os mesmos evoluíram para SE e caracterizar a gravidade das crises de acordo com a Escala de RACINE (1972), representada por:

- 0 – Imobilidade;
- 1 – Automatismos faciais;
- 2 – Mioclonia de cabeça e pescoço;
- 3 – Clonia de patas anteriores;
- 4 – Clonia de patas posteriores;
- 5 – Elevação e queda;
- 6 – Várias classes cinco.

Após o período de observação do SE os animais receberam Diazepam em uma dose de 5 mg/kg para abortar as crises epiléticas.

### **3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

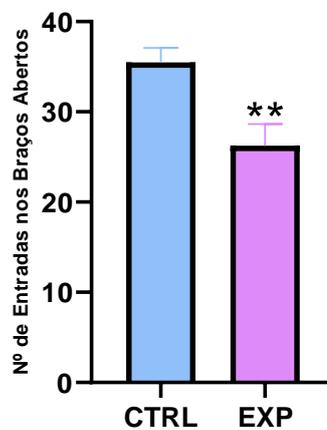
Os testes estatísticos foram conduzidos utilizando o programa *GraphPad Prism* (versão 8.0). Para a comparação os dados foram avaliados quanto à normalidade e variâncias. Os testes paramétricos e não paramétricos foram executados de acordo com o resultado do teste de normalidade. Foram consideradas estatisticamente significativa qualquer diferença com  $p \leq 0,05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 A exposição materna à pirólise do crack, durante o período gestacional, induz um comportamento do tipo ansiogênico em ratas F1

Com relação ao LCE foi observado uma diminuição significativa no número de entradas e no tempo de permanência das ratas do grupo EXP nos braços abertos em relação ao grupo CTRL ( $P=0,0034$  e  $P=0,0006$ , respectivamente (FIGURAS 5 e 6).

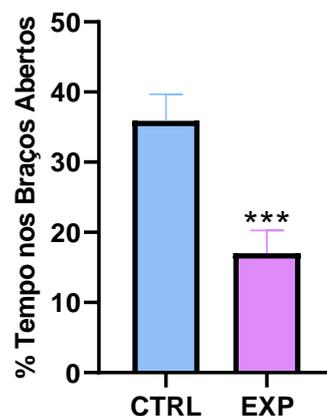
**Figura 5 - Número de entradas nos braços abertos no labirinto em cruz elevado da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack**



Fonte: Autor.

O gráfico acima apresenta uma diminuição no número de entradas nos braços abertos das fêmeas de geração F1 expostas (EXP) ao *crack* durante a gestação em relação as ratas do grupo controle (CTRL), indicando um comportamento do tipo ansiogênico ( $P=0,0034$ ). Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

**Figura 6 - Tempo de Permanência nos Braços Abertos no labirinto em cruz elevado da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack**



Fonte: Autor

O gráfico acima apresenta uma diminuição na porcentagem do tempo de permanência nos braços abertos do LCE em relação ao grupo CTRL nas fêmeas de geração F1 de ratas expostas ao crack, indicando comportamento do tipo ansiogênico ( $P=0,0006$ ). Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

O LCE é um dos principais testes utilizados para identificar comportamentos do tipo ansioso em ratos e camundongos (ENNACEUR,2016) e vem sendo amplamente usado em experimentos com metanfetamina (MACÚCHOVÁ et al., 2016; ETAEE et al., 2017), cocaína (ALVES et al., 2014), nicotina (WANG et al., 2020) e demais substâncias (GHOLAMI et al., 2014; XIE et al., 2021).

No presente experimento o resultado obtido no teste do LCE mostrou-se profundamente relevante, uma vez que as ratas provenientes de mães expostas ao crack durante o período gestacional apresentaram uma diminuição significativa no número de entradas e tempo de permanência nos braços abertos. A diminuição significativa destes parâmetros indica um comportamento do tipo ansioso (ENNACEUR,2016).

Como visto por BEHNKE et al. (2013), o uso de drogas psicoativas, como a cocaína, tanto em modelos animais como em humanos, atravessam facilmente a barreira placentária e a barreira hematoencefálica, resultando em alterações no SNC. Essas alterações interferem significativamente na liberação e inibição dos neurotransmissores na fase de desenvolvimento estimulando estruturas cerebrais como o córtex pré-frontal (CPF), córtex cingulado anterior e a amígdala, induzindo um aumento da atividade nessas áreas. Essas regiões do cérebro que sofrem alterações provenientes do uso da cocaína estão estritamente ligadas ao processo de expressão das emoções, como medo e ansiedade (CHURCH et al., 1998; ROSÁRIO et al., 2019; LIU et al., 2020). Esses achados podem justificar o comportamento do tipo ansiogênico de ratas F1, oriundas de ratas prenhas, expostas ao crack durante o período gestacional no nosso estudo.

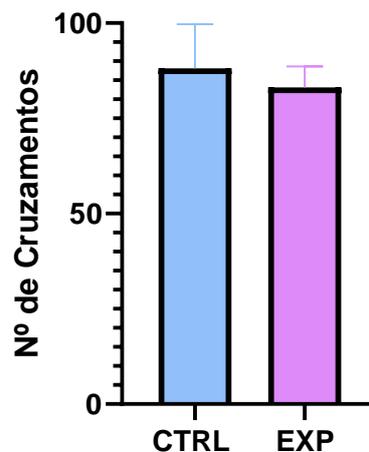
Ademais, estudos anteriores, em camundongos fêmeas, também evidenciaram que a exposição à pasta base de cocaína induziu um comportamento do tipo ansioso e que essa alteração comportamental permaneceu após longos períodos de abstinência. O aumento do comportamento do tipo ansiogênico foi acompanhado por alterações nas expressões de genes precoces imediatos, em regiões como Núcleo Accubens e Córtex Pré-Frontal, que normalmente são vistas em doenças que envolvem anedonia, uma vez que o núcleo accubens (NAc) e o CPF medial estão envolvidos nos mecanismos do sistema recompensa (MANNING et al., 2017; BERARDINO et al., 2019).

Alterações desse tipo também ocorrem, provavelmente com usuários de *crack*, já que a substância ativa do *crack* é a cocaína. No entanto, essas consequências podem ser ainda mais danosas por conta das diferentes vias de administração e dos diversos materiais e substâncias que são adicionados na preparação do *crack*.

#### 4.2 A exposição materna à pirólise do crack, durante o período gestacional, não altera a locomoção das ratas F1

Quanto ao teste de CA, as ratas não apresentaram déficits na atividade locomotora ( $P > 0,05$ ) (FIGURA 7), confirmando os achados de ansiedade e evidenciando uma maior predisposição das ratas oriundas de mães expostas ao *crack* apresentarem comportamentos do tipo ansioso.

**Figura 7 - Teste de Campo Aberto para Avaliação da Atividade Locomotora da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack**



Fonte: Autor

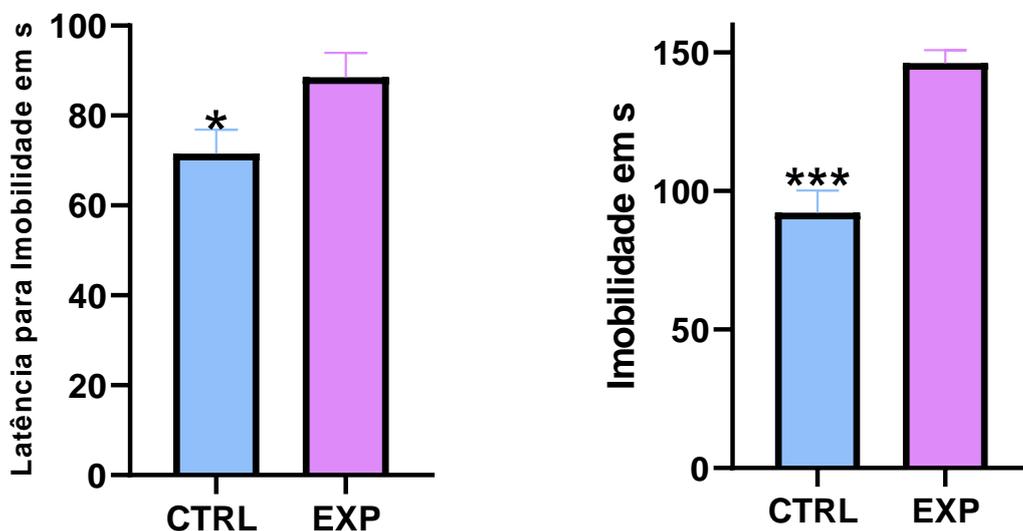
Não houve diferença significativa na atividade locomotora entre as ratas do grupo controle e expostas ao crack durante o período gestacional ( $P > 0,05$ ). Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

O CA foi utilizado no presente estudo para excluir possíveis alterações locomotoras que comprometessem os resultados encontrados nos demais testes comportamentais (SCHOLL et al., 2019; LECORPS et al., 2016). Como não houve alterações locomotoras entre os grupos CTRL e EXP, pode-se inferir que a locomoção não interferiu nos demais testes comportamentais.

### 4.3 A exposição materna à pirólise do crack, durante o período gestacional, induz um comportamento do tipo depressivo em ratas F1

O teste do NF mostrou que as fêmeas F1 EXP, apresentaram um aumento da latência para a imobilidade maior que as fêmeas do grupo CTRL. No entanto, as fêmeas EXP tiveram um aumento significativo ( $P = 0,0002$ ) no tempo de imobilidade do NF (FIGURA 8), indicando o comportamento do tipo depressivo.

Figura 8 – Teste do nado forçado para avaliação do Comportamento Depressivo da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack



Fonte: Autor

Os gráficos acima apresentam um aumento expressivo, da latência para imobilidade e do tempo de imobilidade, indicando comportamento do tipo depressivo, quando comparadas com as fêmeas do grupo CTRL.  $P=0,0002$ . Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

O uso do *crack* está associado aos transtornos psicológicos, como os comportamentos do tipo depressivo e suicidas (ROGLIO et al., 2020), sendo a depressão a comorbidade comportamental mais comum encontrada em pacientes com vício em opioides (WILD et al., 2005). Estudos mostram que mesmo os homens ocupando o maior número de usuários de *crack*, são as usuárias do sexo feminino que estão mais propensas a desenvolver complicações relacionadas com o abuso das drogas, a exemplo da depressão, que gera um ciclo vicioso entre o uso da droga e seus sintomas (BERTONI et al., 2014).

Alguns estudos pré-clínicos evidenciam que os hormônios produzidos nas gônadas estão estritamente ligados as diferenças sexuais presente em transtornos neurocomportamentais

(MIR, 2022). Em camundongos foram testados os efeitos da testosterona, e ao injetar esse hormônio nas fêmeas notou-se que as ratas que não receberam testosterona apresentavam níveis mais elevados de corticosterona quando comparadas as que receberam testosterona e os machos, ademais foi notado que a elevação dos níveis de testosterona nas fêmeas, por fim, reduzia a predisposição das fêmeas para comportamento do tipo ansioso e depressivo, igualando a propensão dos machos em desenvolver comportamento do tipo ansiogênico e depressivo (GOEL, 2008). Por outro lado, fêmeas tratadas com estradiol aumentaram a predisposição para comportamentos do tipo ansioso e depressivo (SEIFFE et al., 2021), confirmando a interferência dos hormônios sexuais nos transtornos de comportamento.

A depressão e o vício em *crack* possuem algumas particularidades neurofisiológicas em comum: em ambos ocorre um aumento dos níveis do Hormônio Liberador de Corticotrofina (CRH), do Hormônio Adrenocorticotrófico ou Corticotrofina (ACTH) e do cortisol. Estes por sua vez são importantes para a resposta adaptativa e comportamental durante picos de estresse, tendo ação direta na regulação do humor (CHANG et al., 2015). Essa hipótese baseia-se na ideia de que o uso do *crack* pode provocar alterações no eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal (HPA), uma vez que o *crack* pode aumentar a liberação de CRH no hipotálamo, aumentando a produção de ACTH e consequentemente aumentando a disponibilidade de cortisol, como também, afetando o *feedback* negativo desses hormônios no eixo HPA (JURUENA et al., 2004; ROVARIS et al., 2016).

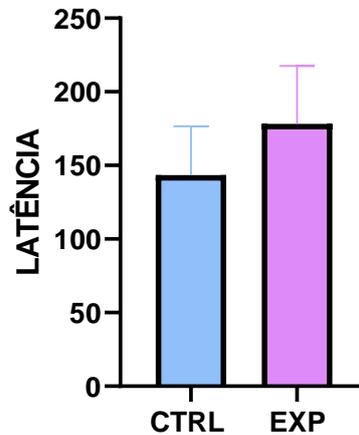
Ademais, sabe-se que drogas como a cocaína e seus derivados, são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica atingindo estruturas do SNC causando neuroinflamação em diversas regiões, a exemplo do sistema límbico e hipocampo. Nestas estruturas cerebrais podem gerar discrepâncias nos níveis de neurotransmissores como serotonina e dopamina e impactar no controle das emoções (ZHU et al., 2018; PIMENTEL et al., 2020). Dessa forma, mecanismos semelhantes podem ocorrer no SNC da prole exposta ao *crack* durante o período gestacional, provocando com a diminuição dos neurotransmissores, a exemplo da serotonina, e consequente indução do comportamento do tipo depressivo.

#### **4.4 A exposição materna à pirólise do crack, durante o período gestacional, induz déficits na memória de ratas F1 adultas**

Para avaliar a memória na fase juvenil, os animais foram submetidos ao teste de EI 30 dias após o nascimento. Os resultados não apresentaram diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre

os grupos EXP e CTRL na latência para a descida da plataforma do teste de EI, demonstrando que o grupo EXP não apresentou deficit de memória na fase juvenil (FIGURA 9).

**Figura 9 - Teste de esQUIVA inibitória para avaliação de memória na fase juvenil**

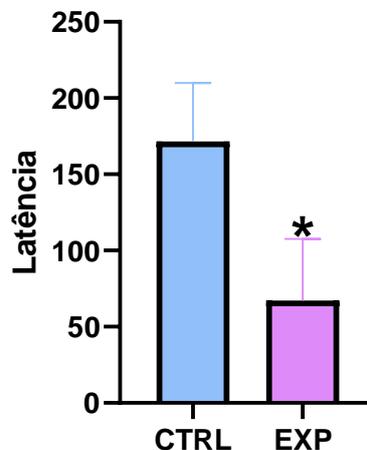


Fonte: Autor

Não houve diferença entre os grupos CTRL e EXP ao crack.  $P > 0,05$ . Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

Para avaliar a memória na fase adulta, os animais foram submetidos ao teste de EI 60 dias após o nascimento. Os resultados não apresentaram uma diminuição significativa na latência para descida ( $P = 0,0286$ ) do grupo EXP em relação ao CTRL na latência para a descida da plataforma do teste de EI, demonstrando que o grupo EXP apresentou deficit de memória na fase adulta (FIGURA 10).

**Figura 10 - Teste de esQUIVA inibitória para avaliação da memória na fase adulta**



Fonte: Autor.

O teste para avaliação de memória de longo prazo apresentou uma diminuição significativa na latência para descida no teste de EI,  $P = 0,0286$ . Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

Na literatura científica, já está bem elucidado que drogas estimulantes do SNC como metanfetamina, cocaína e *crack* têm como consequências prejuízos na aprendizagem, atenção e consolidação da memória. Isso é justificado pelo fato dessas substâncias afetarem áreas responsáveis pelas funções cognitivas como CPF e o hipocampo. O abuso de cocaína acarreta na redução da neuroplasticidade sináptica no hipocampo dorsal, importante área para a formação e manutenção das memórias de longo prazo, além de está intimamente ligada com um desbalanço na liberação de alguns neurotransmissores como dopamina, assim como, nos processos de neurodegeneração e neuroinflamação em áreas específicas (VIOLA et al., 2015; KUTLU, 2016; KIM et al., 2020).

A memória na fase juvenil não foi comprometida em ratas F1 EXP. Estes dados corroboram com outros estudos que também não identificaram diferença significativa na consolidação da memória em experimentos com ratos e camundongos expostos à cocaína (INMAN-WOOD et al., 2000; LU et al., 2012). Alguns desses estudos apontam que em decorrência de adaptações neuroplásticas as mudanças cognitivas, após período significativo de abstinência, acontece a reversão parcial dos déficits na memória ou até mesmo em decorrência do curto período entre o treino e o teste propriamente dito (ALMEIDA et al., 2017).

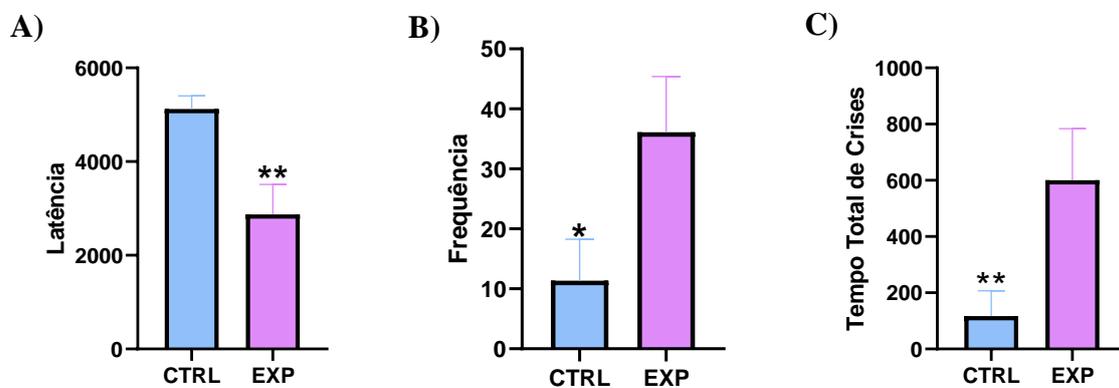
Por outro lado, quando o mesmo experimento foi repetido, nos mesmos animais que foram testados em P30, na fase adulta, as ratas EXP mostraram um déficit significativo na consolidação da memória. Quanto aos déficits cognitivos na fase adulta, da prole EXP a ao *crack* na fase gestacional, são escassos. Mas há estudos pré-clínicos, realizados em roedores, que indicam alterações cognitivas associadas ao abuso de cocaína por até três meses após o início da abstinência (FRAZER et al., 2018). As pesquisas mostram que tanto a cocaína quanto o *crack* desenvolvem e potencializam efeitos deletérios na memória de longo prazo (SANTOS et al., 2018). Inclusive, resultados em humanos, já mostraram que o uso crônico da cocaína promove alterações em estruturas como hipocampo e amígdala; áreas estritamente ligadas ao processo de consolidação de memória (ROSÁRIO et al., 2020). Assim, o presente estudo mostrou que a exposição ao *crack* aumenta a possibilidade de desenvolvimento de déficits de memória, principalmente na fase adulta, em ratas fêmeas.

#### **4.5 A exposição materna à pirólise do crack, durante o período gestacional, aumentou a susceptibilidade à crises epiléticas em ratas F1**

Após as fêmeas terem sido tratadas com pilocarpina para indução de *status epilepticus* (CASTRO et al., 2011), em dose sub-convulsivante de 0,6 mg/ul, foram colocadas em gaiolas

de acrílico e foram filmadas por 90 minutos para que fosse realizada a caracterização das crises. Os resultados obtidos mostraram que a exposição ao *crack* resultou em uma diminuição do limiar para *status epilepticus* quando comparado com as fêmeas que foram apenas tratadas com dose de pilocarpina, uma vez que as fêmeas expostas ao *crack* durante o período gestacional apresentaram uma redução na latência para crises e um aumento na frequência e no tempo total das crises (FIGURA 11), bem como um aumento na frequência e tempo de crise por classe, resultando em crises mais severas no grupo exposto ao *crack* (FIGURA 12).

**Figura 11 - Latência, Frequência e Tempo Total de Crises da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack**

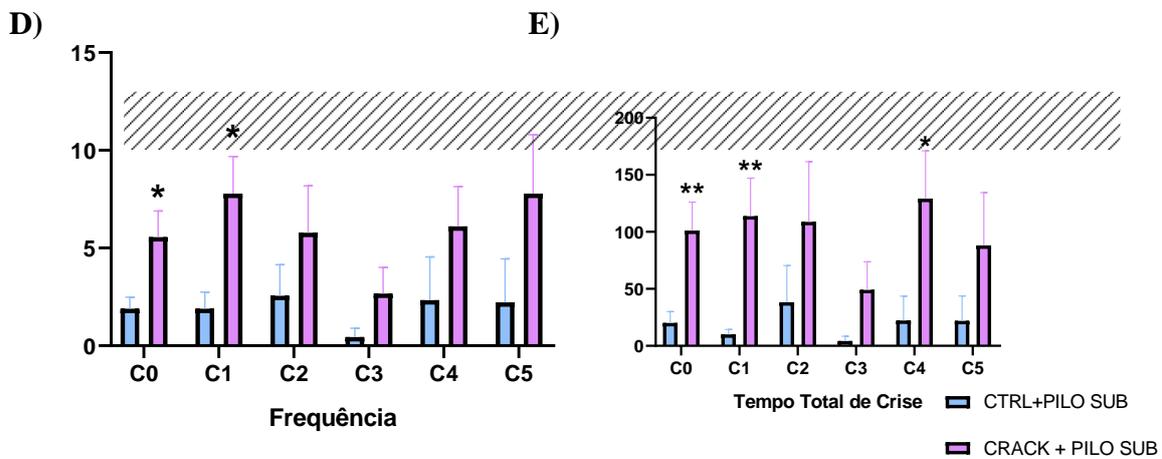


Fonte: Autor

**A** tempo para início das crises, em que as fêmeas apresentaram uma diminuição significativa desse tempo em relação ao grupo controle com  $P= 0,0090$ . **B** aumento significativo na frequência das crises com  $P= 0,0254$ . **C** aumento significativo no tempo total das crises com  $P= 0,0056$ . Valores expressos em erro padrão da média. Teste Nonparametrictest/Mann Whitney.

Além disso, estes animais apresentaram um aumento na frequência e tempo de crise por classe de Racine, resultando em crises mais severas no grupo exposto ao crack, assim como, o tempo total de crise de acordo com a classe (FIGURA 12). Com isso, Os resultados obtidos mostraram que a exposição ao crack resultou em uma diminuição do limiar para SE quando comparado com as fêmeas que foram apenas tratadas com dose de pilocarpina.

**Figura 12 - Frequência e Severidade das Crises por Classe da prole F1 oriunda de ratas prenhas expostas ao crack**



Fonte: Autor.

**D** frequência de crises das ratas por classe, com base na escala de Racine para identificar a severidade das crises. **E** tempo que os animais permaneceram em cada classe durante as crises. Ambos os gráficos demonstraram que as ratas expostas ao crack durante o período gestacional apresentaram mais crises, por mais tempo e mais severas quando comparadas ao grupo controle.  $P < 0,05$ . Valores expressos em erro padrão da média. ANOVA two-way, pós-teste Tukey.

Recentemente, alguns estudos foram realizados associando a epilepsia ao abuso de drogas, principalmente cocaína e álcool. Um desses estudos evidencia uma relação entre o abuso de drogas durante a gestação e crianças que nascem com uma má formação no SNC. Com isso, há uma interferência na migração dos neurônios e a maioria das crianças que apresentam essa condição neurológica desfavorável, apresentam também epilepsia que pode se manifestar tanto na infância quanto na fase adulta (KOPYTA et al., 2020).

Outro estudo relata um vínculo entre o abuso de drogas psicoestimulantes, como a cocaína e as anfetaminas, e a epilepsia. Um número considerável de pessoas que fazem uso de cocaína apresentam SE (ZAGNONI, 2002). Os mecanismos ainda não são bem conhecidos, mas sabe-se que o abuso da cocaína leva a um aumento das catecolaminas e conseqüentemente ao bloqueio da recaptação de dopamina. Sendo assim, há um aumento da estimulação dopaminérgica e excitação elétrica em certas áreas específicas do cérebro incluindo os lobos temporais, desencadeando a epilepsia do lobo temporal (ZAGNONI, 2002).

O *crack*, assim como outras drogas, atua no SNC e estudos mostram que a administração de cocaína, por exemplo, em ratos provocou uma redução dos níveis de glutathiona, importante antioxidante, e da atividade da enzima catalase, responsável pela degradação do peróxido de hidrogênio, em diversas partes do cérebro como no corpo estriado e no córtex frontal, causando um aumento do estresse oxidativo que resultou em morte celular

neuronal e alteração nas funções neurais desencadeando crises convulsivas (RIEZZO et al., 2012).

Ainda se sabe muito pouco sobre essa relação entre o uso de *crack* e a redução do limiar para crises epiléticas, mas é certo que indivíduos que fazem uso de cocaína estão mais suscetíveis a apresentar convulsões. Principalmente quando o uso do *crack* é feito da forma fumada, e sua biodisponibilidade maior, em indivíduos que já apresentam histórico de convulsões e epilepsia passam a exibir as crises de forma mais rápida e frequente após o uso dessas drogas (KOPPEL et al., 1996).

Assim, os dados do presente estudo corroboram com os estudos citados acima, visto que as ratas expostas à pirólise do *crack* durante o período gestacional tornaram-se mais suscetíveis ao SE. Estas ratas apresentaram evolução para crises epiléticas de forma mais rápida, com maior frequência, de forma mais severa e mais duradoura, indicando uma redução do limiar para crises epiléticas.

## 5 CONCLUSÕES

A realização do presente estudo é de suma importância para a sociedade, uma vez que trata de patologias atuais, extremamente relevantes e que são graves problemas de saúde pública no Brasil. O estudo realçou a importância de analisar de forma conjugada as interações entre as doenças de ordem física e os transtornos psicológicos, bem como corroborou com a literatura apresentando as consequências físicas e psicológicas que acometem os filhos de mães que fazem uso de *crack* durante a gestação.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. P. et al. Attention and memory deficits in crack-cocaine users persist over four weeks of abstinence. **Journal of Substance Abuse Treatment**, v. 81, p. 73-78, 2017.
- ALVES, C. J. et al. Long-term effects of chronic cocaine exposure throughout adolescence on anxiety and stress responsivity in a Wistar rat model. **Neuroscience**, v. 277, p. 343-355, 2014.
- BECKER, J. B. ET al. Sex differences, gender and addiction. **Journal of neuroscience research**, v. 95, n. 1-2, p. 136-147, 2017.
- BECKER, J. B. Sex differences and addiction. In: **Sex differences in the central nervous system**. Academic Press, p. 129-147. 2016.
- BEGHI, Ettore. The epidemiology of epilepsy. **Neuroepidemiology**, v. 54, n. 2, p. 185-191, 2020.
- BEHNKE, M. et al. Prenatal substance abuse: short-and long-term effects on the exposed fetus. **Pediatrics**, v. 131, n. 3, p. e1009-e1024, 2013.
- BERARDINO, B. G. et al. Effects of cocaine base paste on anxiety-like behavior and immediate-early gene expression in nucleus accumbens and medial prefrontal cortex of female mice. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 12, p. 3525-3539, 2019.
- BERTONI, N. et al. Exploring sex differences in drug use, health and service use characteristics among young urban crack users in Brazil. **International Journal for Equity in Health**, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2014.
- BRODIE, M. J. et al. Epilepsy, antiepileptic drugs, and aggression: an evidence-based review. **Pharmacological reviews**, v. 68, n. 3, p. 563-602, 2016.
- BROWN, J. W. L. et al. Amphetamine-associated seizures: Clinical features and prognosis. **Epilepsia**, v. 52, n. 2, p. 401-404, 2011.
- CARVALHO, H. B; SEIBEL, S. D. Crack cocaine use and its relationship with violence and HIV. **Clinics**, v. 64, n. 9, p. 857-866, 2009.
- CASTRO, O. W. et al. Comparative neuroanatomical and temporal characterization of FluoroJade-positive neurodegeneration after status epilepticus induced by systemic and intrahippocampal pilocarpine in Wistar rats. **Brain research**, v. 1374, p. 43-55, 2011.
- CHANG, Hun Soo et al. Association analysis for corticotropin releasing hormone polymorphisms with the risk of major depressive disorder and the response to antidepressants. **Behavioural Brain Research**, v. 292, p. 116-124, 2015.
- CHURCH, M. W. et al. Effects of Prenatal Cocaine on Hearing, Vision, Growth, and Behavior a. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 846, n. 1, p. 12-28, 1998.

- COTTO, B. et al. Cocaine and HIV-1 Tat disrupt cholesterol homeostasis in astrocytes: Implications for HIV-associated neurocognitive disorders in cocaine user patients. **Glia**, v. 66, n. 4, p. 889-902, 2018.
- DETTMEYER, R. B. et al. Heroin-associated nephropathy. **Expert opinion on drug safety**, v. 4, n. 1, p. 19-28, 2005.
- DUAILIBI, Lígia Bonacim et al. Perfil dos usuários de cocaína e crack no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 4, p. 545-557, 2008.
- ENNACEUR, A; CHAZOT, P. L. Preclinical animal anxiety research—flaws and prejudices. **Pharmacology research & perspectives**, v. 4, n. 2, p. e00223, 2016.
- ETAEE, F. et al. The effects of methamphetamine and buprenorphine, and their interaction on anxiety-like behavior and locomotion in male rats. **Neuroscience letters**, v. 655, p. 172-178, 2017.
- FERNANDES, E. V. et al. Efeitos comportamentais e imunológicos da fluoxetina em ratos submetidos ao nado forçado. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 28, p. 409-415, 2012.
- FERNANDES, P. T; LI, L. M. Percepção de estigma na epilepsia. **Journal of epilepsy and clinical neurophysiology**, v. 12, n. 4, p. 207-218, 2006.
- FRAZER, K. M. et al. The long-term effects of cocaine use on cognitive functioning: A systematic critical review. **Behavioural brain research**, v. 348, p. 241-262, 2018.
- GHOLAMI, M. et al. Chronic morphine and tramadol re-exposure induced an anti-anxiety effect in prepubertal rats exposed neonatally to the same drugs. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 41, n. 10, p. 838-843, 2014.
- GIARDIN, A. R.; et al. Efeito de diferentes programas de atividade física na fase de abstinência do tratamento de dependentes de crack. **Clinical and biomedical research. Porto Alegre. Vol. 35, n. 2, p. 92-98**, 2015.
- GOEL, N.; BALE, T. L. Organizational and activational effects of testosterone on masculinization of female physiological and behavioral stress responses. **Endocrinology**, v. 149, n. 12, p. 6399-6405, 2008.
- GONÇALVES, J. et al. Effects of drugs of abuse on the central neuropeptide Y system. **Addiction Biology**, v. 21, n. 4, p. 755-765, 2016.
- GOODWILL, H. L. et al. Early life stress leads to sex differences in development of depressive-like outcomes in a mouse model. **Neuropsychopharmacology**, v. 44, n. 4, p. 711-720, 2019.
- GOUNDER, K. et al. The other side of the leaf: Seizures associated with synthetic cannabinoid use. **Epilepsy & Behavior**, v. 104, p. 106901, 2020.
- HETEA, A. et al. Alcohol and Psychoactive Drugs in Pregnancy. **Maedica**, v. 14, n. 4, p. 397, 2019.

- INMAN-WOOD, S. L. et al. Effects of prenatal cocaine on Morris and Barnes maze tests of spatial learning and memory in the offspring of C57BL/6J mice. **Neurotoxicology and teratology**, v. 22, n. 4, p. 547-557, 2000.
- JALNAPURKAR, I.; ET al. Sex differences in anxiety disorders: A review. **J Psychiatry Depress Anxiety**, v. 4, n. 12, p. 3-16, 2018.
- JURUENA, M. F. et al M. The hypothalamic pituitary adrenal axis, glucocorticoid receptor function and relevance to depression. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 26, p. 189-201, 2004.
- KAHAN, M. D. et al. Seizure and Interictal Electroencephalographic (EEG) Changes with Cannabinoid Concentrate Use. **The American Journal of Case Reports**, v. 22, p. e931360-1, 2021.
- KIM, B. et al. Methamphetamine-induced neuronal damage: neurotoxicity and neuroinflammation. **Biomolecules & therapeutics**, v. 28, n. 5, p. 381, 2020.
- KOPPEL, B. S. et al. Relation of cocaine use to seizures and epilepsy. **Epilepsia**, v. 37, n. 9, p. 875-878, 1996.
- KOPYTA, I. et al. Epilepsy in paediatric patients with schizencephaly. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 27, n. 2, 2020.
- KRAMER, L. D. et al. Neonatal cocaine-related seizures. **Journal of Child Neurology**, v. 5, n. 1, p. 60-64, 1990.
- KUTLU, M. G.; GOULD, T. J. Effects of drugs of abuse on hippocampal plasticity and hippocampus-dependent learning and memory: contributions to development and maintenance of addiction. **Learning & memory**, v. 23, n. 10, p. 515-533, 2016.
- LABAKA, A. et al. Biological sex differences in depression: a systematic review. **Biological research for nursing**, v. 20, n. 4, p. 383-392, 2018.
- LECORPS, B. et al. Assessment of anxiety in open field and elevated plus maze using infrared thermography. **Physiology & behavior**, v. 157, p. 209-216, 2016.
- LIU, L.; LIU, X. Contributions of drug transporters to blood-placental barrier. **Drug Transporters in Drug Disposition, Effects and Toxicity**, p. 505-548, 2019.
- LIU, W.Z. et al. Identification of a prefrontal cortex-to-amygdala pathway for chronic stress-induced anxiety. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-15, 2020.
- LU, R. et al. Effects of prenatal cocaine and heroin exposure on neuronal dendrite morphogenesis and spatial recognition memory in mice. **Neuroscience letters**, v. 522, n. 2, p. 128-133, 2012.
- FUNDAÇÃO FIO CRUZ .Manual para técnicos em animais de laboratórios. Rio de Janeiro, 1994.

MACÚCHOVÁ, E. et al. How various drugs affect anxiety-related behavior in male and female rats prenatally exposed to methamphetamine. **International Journal of Developmental Neuroscience**, v. 51, p. 1-11, 2016.

MANNING, C. E.; ET al. Reward network immediate early gene expression in mood disorders. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 11, p. 77, 2017.

MARQUES, M. S. et al. Neurotransmissores centrais envolvidos na dependência alcoólica. **Revista de Estudos Universitários-REU**, v. 32, n. 1, 2006.

MÉNDEZ, S.B; SALAZAR-JUÁREZ, A. Mirtazapine attenuates anxiety-and depression-like behaviors in rats during cocaine withdrawal. **Journal of Psychopharmacology**, v. 33, n. 5, p. 589-605, 2019.

MIR, F. R.; RIVAROLA, M. A. Sex Differences in Anxiety and Depression: What Can (and Cannot) Preclinical Studies Tell Us?. **Sexes**, v. 3, n. 1, p. 141-163, 2022.

Mitos e Verdades. **Liga Brasileira de Epilepsia**. c2021. Disponível em: <<https://www.epilepsia.org.br/mitos-verdades>>. Acesso em: 30 de mar. de 2022.

PACHECO, A. L. D. et al. Maternal crack cocaine use in rats leads to depressive-and anxiety-like behavior, memory impairment, and increased seizure susceptibility in the offspring. **European Neuropsychopharmacology**, v. 44, p. 34-50, 2021.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates (4Eds). 2004.

PIMENTEL, E. et al. Effects of drugs of abuse on the blood-brain barrier: a brief overview. **Frontiers in Neuroscience**, v. 14, p. 513, 2020.

RIEZZO, I. et al. Side effects of cocaine abuse: multiorgan toxicity and pathological consequences. **Current medicinal chemistry**, v. 19, n. 33, p. 5624-5646, 2012.

RODRIGUES, S. L. C.. Efeito do uso de perampanel na capacidade cognitiva de ratos wistar submetidos à sobrecarga de ferro no período neonatal. 2021.

ROGLIO, V. S. et al. Prediction of attempted suicide in men and women with crack-cocaine use disorder in Brazil. **PloS one**, v. 15, n. 5, p. e0232242, 2020.

ROSÁRIO, B. A. et al. Behavioral and neurobiological alterations induced by chronic use of crack cocaine. **Reviews in the Neurosciences**, v. 31, n. 1, p. 59-75, 2020.

ROVARIS, D. L. et al. Glucocorticoid receptor gene modulates severity of depression in women with crack cocaine addiction. **European Neuropsychopharmacology**, v. 26, n. 9, p. 1438-1447, 2016.

SANTOS, J. F. et al. Maternal, fetal and neonatal consequences associated with the use of crack cocaine during the gestational period: a systematic review and meta-analysis. **Archives of gynecology and obstetrics**, v. 298, n. 3, p. 487-503, 2018.

SCHOLL, J. L. et al. Sex differences in anxiety-like behaviors in rats. **Physiology & behavior**, v. 211, p. 112670, 2019.

SEIFFE, A. et al. Early estradiol exposure masculinizes disease-relevant behaviors in female mice. **European Journal of Neuroscience**, v. 53, n. 8, p. 2483-2499, 2021.

SILVA, E. R. et al. DRUG USE IMPACT IN DRUG ADDICTS' PHYSICAL AND MENTAL HEALTH. **Ciencia, Cuidado e Saude**, v. 15, n. 1, 2016.

TALARICO, G. P. et al. Cocaine and coronary artery diseases: a systematic review of the literature. **Journal of Cardiovascular Medicine**, v. 18, n. 5, p. 291-294, 2017.

TETRO, N. et al. The placental barrier: the gate and the fate in drug distribution. **Pharmaceutical research**, v. 35, n. 4, p. 1-16, 2018.

TOLEDO, L. et al. Criminal justice involvement of Crack cocaine users in the city of Rio de Janeiro and Greater Metropolitan Area: Implications for public health and the public security agenda. **International Journal of Drug Policy**, v. 49, p. 65-72, 2017

VIOLA, T. W. et al. Brain-derived neurotrophic factor and delayed verbal recall in crack/cocaine dependents. **European addiction research**, v. 21, n. 5, p. 273-278, 2015.

WANG, Y. et al. Isoliquiritigenin attenuates anxiety-like behavior and locomotor sensitization in rats after repeated exposure to nicotine. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

WILD, T. C. et al. Comorbid depression among untreated illicit opiate users: results from a multisite Canadian study. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 50, n. 9, p. 512-518, 2005.

WREDE, V. R. et al. Cannabidiol in the Treatment of Epilepsy. **Clinical drug investigation**, v. 41, n. 3, p. 211-220, 2021.

XIE, D. et al. Anxiolytic Effect of Two Tobacco Essential Oils (*Nicotiana tabacum* Linn.) on Mice. **Molecules**, v. 26, n. 14, p. 4171, 2021.

ZAGNONI, P. G.; ALBANO, C. Psychostimulants and epilepsy. **Epilepsia**, v. 43, p. 28-31, 2002.

ZHU, R. et al. Toll-like receptor 3 modulates the behavioral effects of cocaine in mice. **Journal of neuroinflammation**, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2018.

## ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "*Experiência maternal aos produtos da pirólise do crack: alterações gestacionais, susceptibilidade e padrão de crises epilépticas na prole durante a fase adulta*", registrada com o nº **54/2017**, sob a responsabilidade do pesquisador **Prof. Olagide Wagner de Castro**, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), em reunião de 28.07.2017.

Vigência da autorização	01.10.2017 a 01.10.2021
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico / Wistar
Nº de animais	112
Peso/idade	150-300g / 60-90 dias
Sexo	56 machos e 56 fêmeas
Origem/Local de manutenção	Biotério Central da UFAL / Biotério Setorial do LNFI – ICBS – UFAL

Maceió, 28 de julho de 2017.