

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS MÉDICAS - PSIQUIATRIA



**TESE DE DOUTORADO**

**TRAUMA, RESILIÊNCIA E DEPENDÊNCIA QUÍMICA: UM ESTUDO SOBRE  
SEUS ASPECTOS CLÍNICOS E BIOLÓGICOS EM UMA AMOSTRA DE  
USUÁRIOS DE CRACK**

ANNE ORGLER SORDI

Orientador: Prof. Dr. Flavio Pechansky

Co-orientadora: Dra. Simone Hauck

Porto Alegre, Brasil.

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS MÉDICAS - PSIQUIATRIA



**TESE DE DOUTORADO**

**TRAUMA, RESILIÊNCIA E DEPENDÊNCIA QUÍMICA: UM ESTUDO SOBRE  
SEUS ASPECTOS CLÍNICOS E BIOLÓGICOS EM UMA AMOSTRA DE  
USUÁRIOS DE CRACK**

Tese de Doutorado a ser apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Médicas: Psiquiatria como requisito  
parcial à obtenção do título de Doutor em  
Psiquiatria

ANNE ORGLER SORDI

**Orientador: Prof. Dr. Flavio Pechansky**

Porto Alegre, Brasil.  
2015

### CIP - Catalogação na Publicação

Sordi, Anne Orgler  
TRAUMA, RESILIÊNCIA E DEPENDÊNCIA QUÍMICA: UM  
ESTUDO SOBRE SEUS ASPECTOS CLÍNICOS E BIOLÓGICOS EM  
UMA AMOSTRA DE USUÁRIOS DE CRACK / Anne Orgler  
Sordi. -- 2015.  
134 f.

Orientador: Flavio Pechansky.  
Coorientadora: Simone Hauck.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto  
Alegre, BR-RS, 2015.

1. cocaína. 2. trauma infantil. 3. crack. 4.  
dependência química. 5. biomarcadores. I. Pechansky,  
Flavio, orient. II. Hauck, Simone, coorient. III.  
Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

“Existe um ponto chamado *toilet bowl* no Havaí,  
onde a corrente vazante se choca com a enchente  
e produz um grande redemoinho...  
E, se você cai da prancha e arrastado para esse redemoinho,  
fica muito difícil de aflorar outra vez...  
Apesar de tudo, você tem que ficar quieto lá no fundo  
e deixar que as ondas o massacrem...  
Mas se você não domina esse tipo de pavor,  
nunca será um bom surfista.  
Você tem de se ver frente a frente com a morte,  
conhecê-la e vencê-la”

*Haruki Murakami*

Ao Tomás e ao Vicente que deram um novo sentido a minha vida

Aos meus pais e à Jaque que sempre foram minha inspiração

Ao meu orientador, Flavio Pechansky, pela amizade, competência e dedicação, por ter me oferecido tantas oportunidades ao longo destes anos e por ter apostado e confiado em mim no desenvolvimento da minha carreira assistencial e científica

A minha co-orientadora, Simone Hauck, por ter sido uma das primeiras pessoas a me incentivar e dar a oportunidade de trabalhar com pesquisa em psiquiatria, e por me oferecer um importante modelo de como conciliar o lazer, a família e a vida profissional

À banca, Prof. Dra Márcia Kauer Sant'Anna, Prof. Dr. Rodrigo Grassi de Oliveira e ao Prof. Dr. Marcelo Ribeiro de Araújo

Ao Prof. Felix Kessler e à Dra. Lisia Von Diemen, pela amizade e por estarem sempre ao meu lado, me auxiliando e me aconselhando em todos os momentos, com certeza este trabalho não seria possível sem a intensa participação deles

À Cleide Bittencourt pela intensa dedicação em possibilitar os trabalhos desenvolvidos pelo CPAD

À Joana Narvaez, Silvia Halpern, Sílvia Schuch, Helen Laitano, Renata Limberger, Luciano Guimarães e Giovanni Salum, pela cooperação com os artigos nos últimos anos do doutorado

A toda equipe do CPAD que auxiliou na organização e na coleta de dados, e que estiveram envolvidas no projeto desde o início

Aos assistentes de pesquisa do CPAD pela dedicação, tornando possível o desenvolvimento dos estudos

À equipe do Laboratório de Psiquiatria Molecular, em especial ao Prof. Flávio Kapczinski

À Renata Brasil, que deu o apoio para a coleta de dados no Hospital São Pedro

À equipe da SENAD e FIPE/HCPA que financiou o projeto e deu estrutura para que ele acontecesse

Aos pacientes que tornaram possível que o projeto acontecesse

Aos professores do Departamento de Psiquiatria e aos contratados e residentes do Serviço de Psiquiatria, que sempre me receberam com muito respeito

Aos colegas da UAA, pelo intenso incentivo, apoio e pelas risadas

Ao André Lopes pela amizade e companheirismo

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado

A toda minha família, pelo carinho e por constantemente incentivarem o desenvolvimento acadêmico com muito bom humor

À Jaque, minha irmã, que é meu grande exemplo de competência e de como aproveitar a vida sem deixar de lado as "coisas sérias"

Aos meus pais que sempre foram a minha maior inspiração, que sempre me deram muito amor e me apoiaram em todos os momentos para que eu pudesse arriscar e alcançar novas metas

Ao Tomás, meu amor, que eu tanto admiro, meu parceiro de todos os momentos e que me trouxe alegria e leveza para que a minha vida se tornasse ainda mais feliz

Ao Vicente, meu maior presente, que em breve vem ao mundo para completar as nossas vidas com muito amor

## SUMÁRIO

Índice de Figuras e Tabelas .....	7
Abreviaturas e Siglas .....	8
Resumo .....	10
Abstract .....	13
Prefácio .....	15
Introdução .....	17
A cocaína e o Crack .....	17
Histórico e Epidemiologia .....	17
O Sistema de Recompensa Cerebral .....	19
Experiências Precoces e a Dependência Química .....	22
Conceitos sobre Trauma e Resiliência .....	23
Trauma, Resiliência e a Dependência Química .....	24
A psicobiologia do Trauma, Resiliência e sua Intersecção com Dependência Química .....	26
Peptídeos .....	28
NPY , Trauma e Resiliência .....	28
NPY e Transtornos Aditivos .....	30
Estresse Oxidativo Radicais Livres, Espécies Reativas e Anti-Oxidantes .....	32
Estresse Oxidativo, Trauma e Resiliência .....	35
Estresse Oxidativo e Transtornos Aditivos .....	36
Neurotrofinas .....	39
BDNF , Trauma e Resiliência .....	40
BDNF e Transtornos Aditivos .....	41

Objetivos .....	44
Objetivo Geral .....	44
Objetivos Específicos .....	44
Artigos .....	45
Artigo 1 .....	45
Artigo 2 .....	66
Artigo 3 .....	91
Conclusões e Considerações Finais.....	112
Perspectivas Futuras e Resultados Preliminares.....	116
Referências Bibliográficas .....	120
Anexos .....	133
Anexo 1 – Artigos Publicados durante o período de doutorado .....	133
Anexo 2 – Prêmios recebidos durante o período de doutorado .....	134

## ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

Tabela I. Diferenças entre as características do consumo de cocaína segundo a via de administração.....	18
Figura I Modelo integrador entre a história de trauma infantil, resiliência e alterações em marcadores biológicos na dependência de crack.....	114
Figura II. Estudos coordenados pelo Centro de Pesquisas em Álcool e Drogas do HCPA.....	115
Tabela II. Características sociodemográficas e padrão do uso de crack.....	117
Tabela III. BDNF e TBARS em pacientes que completaram ou não o tratamento.....	117

### Figuras e tabelas dos artigos

Tabela 1. Características demográficas e padrões de uso entre casos e controles.....	63
Tabela 2. Níveis TBARS e BDNF na alta entre os mais e menos graves usuários de crack .....	64
Figura 1. Correlação entre BDNF e TBARS na alta.....	65
Figura 2. Correlação entre TBARS e BDNF com a gravidade do uso de crack na alta.....	65
Tabela 3. Variáveis sociodemográficas.....	85
Tabela 4. Correlação entre trauma e resiliência .....	86
Tabela 5. Trauma na infância e resiliência entre usuários de crack com e sem TEPT.....	87
Tabela 6. Trauma na infância, resiliência e a chance de ser usuário de crack.....	88
Figura 3. Resiliência entre usuários de crack e controles.....	89
Figura 4. Trauma na infância entre usuários de crack e controles.....	89
Tabela 7. Descrição da amostra estratificada por níveis de trauma.....	110
Figura 5. BDNF e TBARS entre os grupos por níveis de trauma na desintoxicação.....	111



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS - síndrome da imunodeficiência adquirida, do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*

ATP – trifosfato de adenosina, do inglês *adenosine triphosphate*

ATV - área tegmental ventral

BDNF - fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*

CAT - catalase

CPF - córtex pré-frontal

CRF - fator liberador de corticotrofin, do inglês *corticotropin releasing factor*

CRH - hormônio liberador de corticotrofina, do inglês *corticotropin releasing hormone*

EROs - espécies reativas de oxigênio

EUA - Estados Unidos da América

GP-px - glutaciona peroxidase

GSH – glutaciona

HPA - eixo hipotálamo hipófise adrenal, do inglês *hypothalamus hypophysis axis*

mRNA – ácido ribonucleico mensageiro, do inglês *messenger ribonucleic acid*

NAC - núcleo accumbens

NE - noradrenalina

NPY - neuropeptídeo Y

PP - peptídeo pancreático

SNC - sistema nervoso central

SNP - sistema nervoso periférico

SOD - superóxido dismutase

TBARS - ácido tiobarbitúrico, do inglês *Thyobarbituric Acid Reactive Species*

TDAH - transtorno de déficit de atenção e hiperatividade

TEPT - transtorno de estresse pós-traumático

TrK - tirosina-kinase

## RESUMO

**Introdução:** O consumo de drogas - em especial o crack - tem se tornado alvo de preocupação em diversos países devido ao impacto que uso desta substância provoca no indivíduo, na família e na sociedade. A complexidade deste tema permeia questões políticas e científicas que buscam uma solução para esse problema, levando em consideração medidas de prevenção e de tratamento para os usuários. Dessa maneira, entender os fatores de vulnerabilidade que predisõem ao consumo desta substância, bem como de que maneira estes fatores interferem na fisiopatologia do desenvolvimento da dependência química se tornou foco de muitas pesquisas. Recentemente, tem-se voltado à atenção para o estudo de alguns marcadores biológicos “candidatos” que possam auxiliar no entendimento dos mecanismos que permeiam o estabelecimento e o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos, incluindo a dependência química.

**Objetivos:** Avaliar as alterações nos níveis séricos de BDNF e TBARS durante o processo de abstinência precoce em usuários de crack e sua relação com a gravidade do uso da substância; avaliar a história de trauma na infância e a capacidade de resiliência em usuários de crack em comparação com indivíduos saudáveis; e avaliar como as alterações destes marcadores biológicos, bem como o do NPY, estão associados a intensidade de trauma infantil reportado pelos usuários de crack.

**Método:** Este é um estudo longitudinal que avaliou o total de 218 usuários de crack, 18 anos ou mais, internados no Hospital Psiquiátrico São Pedro, na cidade de Porto Alegre, Brasil. Destes, os primeiros 49 usuários de crack masculinos que aceitaram coletar sangue na baixa e na alta foram selecionados através de uma amostra consecutiva para a avaliação dos níveis séricos de TBARS e de BDNF, e destes 33 também foram selecionados consecutivamente para a avaliação dos níveis séricos de NPY na alta e em jejum. As dosagens séricas dos neuromarcadores não foram realizadas em toda a amostra devido a limitações nos recursos financeiros do projeto. Além disso, foram avaliados 215 controles saudáveis moradores de um bairro da cidade de Canoas, com condições sociodemográficas semelhantes aos casos. Destes, 97 foram selecionados por uma amostra consecutiva e tiveram seu sangue coletado para avaliação dos níveis séricos de TBARS e BDNF. Todos os casos apresentaram teste de urina positivo para cocaína na entrada ao estudo, e todos os controles apresentaram teste de urina negativo para cocaína, além de reportarem não usar a substância. As entrevistas dos casos foram realizadas por entrevistadores treinados e supervisionados semanalmente pelos

coordenadores do estudo, e ocorreram entre o 5º e 7º dia de internação. Características do consumo de drogas foram avaliadas através do Addiction Severity Index 6ª versão (ASI-6), a história de trauma na infância foi avaliada pelo Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) e a capacidade de resiliência foi avaliada através da Escala de Resiliência.

**Resultados:** O artigo 1 avaliou 49 pacientes usuários de crack e demonstrou uma correlação positiva, na alta hospitalar, entre os níveis séricos de TBARS e a gravidade do uso de crack ( $R=0,304$ ;  $p=0,04$ ), bem como uma correlação negativa entre os níveis séricos de BDNF e a gravidade do uso de crack ( $R=-0,359$ ;  $p=0,01$ ). Além disso, foi verificada uma correlação inversa entre os níveis séricos de TBARS e BDNF na alta ( $R=-0,294$ ;  $p=0,004$ ). O artigo 2 avaliou 218 usuários de crack e 215 controles saudáveis e mostrou que usuários de crack reportam níveis mais altos de trauma na infância, exceto por abuso sexual, do que os controles ( $p<0.001$ ). Escores de resiliência foram mais baixos nos usuários de crack ( $p<0.01$ ); e apresentar níveis mais altos de trauma na infância, bem como escores mais baixos de resiliência, aumentou a chance de vir a ser um usuário de crack, independentemente do diagnóstico de transtorno de estresse pós-traumático (TEPT). O artigo 3 avaliou 33 usuários de crack e demonstrou que o BDNF aumenta durante a abstinência precoce, independentemente dos níveis de trauma na infância. Por outro lado, o TBARS apresentou uma interação significativa entre tempo e trauma ( $F[2,28]=6,357$ ;  $p=0.005$ ;  $\eta_p^2=0,312$ ). Aqueles com baixos escores de trauma diminuíram o TBARS, enquanto aqueles com altos escores de trauma aumentaram o TBARS durante a abstinência precoce. Além disso, os níveis séricos de NPY apresentaram uma correlação negativa com todos os tipos de trauma, exceto por abuso sexual (negligência física  $r=-0,396$ ;  $p=0,034$ ; negligência emocional  $r=-0,391$ ;  $p=0,036$ ; abuso físico  $r=-0,427$ ;  $p=0,021$ ; abuso emocional  $r=-0,419$ ;  $p=0,024$ ; abuso sexual  $r=-0,190$ ;  $p=0,323$ ).

**Conclusões:** Os achados deste estudo demonstram que usuários de crack possuem escores mais elevados de trauma na infância e escores mais baixos de resiliência, quando comparados a indivíduos saudáveis. As alterações nos níveis de TBARS durante a abstinência precoce parecem ser influenciadas pela intensidade do trauma infantil, e os níveis séricos de NPY parecem estar inversamente correlacionados à intensidade deste trauma. Além disso, os níveis de BDNF e TBARS no momento da alta parecem estar associados à gravidade do uso de crack. Dessa forma, sugere-se que trauma infantil e baixa capacidade de resiliência possam ser fatores de risco para o uso de crack. A intensidade do trauma infantil e a gravidade do uso de crack parecem ser fatores que influenciam os mecanismos neurobiológicos relacionados ao desenvolvimento da dependência desta substância, bem como ao processo de abstinência. Os

resultados apresentados nos 3 artigos se complementam no sentido de proporcionar uma maior compreensão das inter-relações entre fatores psicossociais de proteção e vulnerabilidade para a dependência de crack e as alterações neurobiológicas associadas tanto à história de trauma na infância, quanto à gravidade do uso de drogas. Dessa forma, esses achados podem contribuir para a construção do conhecimento a respeito dos processos que medeiam o desenvolvimento da dependência química.

## ABSTRACT

**Introduction:** Drug consumption - particularly crack cocaine - has become a matter of concern in many countries because of its impact on the individual, family and society. The complexity of this issue permeates political and scientific questions that aim to find a solutions, taking into account strategies of prevention and treatment for crack cocaine users. Thus, understanding the vulnerability factors that predispose to drug use, as well as how these factors influence the pathophysiology of addiction has become the focus of many studies. Recently, there is a growing body of evidence suggesting that “candidate” biological markers can help to understand the mechanisms that underlie the establishment and development of psychiatric disorders, including substance abuse.

**Method:** This was a longitudinal study that evaluated 218 crack cocaine users, at least 18 years old, admitted to Hospital Psiquiátrico São Pedro in the city of Porto Alegre, Brazil. Of these, 49 male patients had blood samples collected at intake and discharge for the evaluation of TBARS and BDNF serum levels, and 33 had their blood also collected at discharge for the evaluation of NPY serum levels. In addition, we evaluated 215 healthy controls who lived in a neighborhood with sociodemographic conditions similar to cases, in the city of Canoas. Of these, 97 had blood collected for the evaluation of TBARS and BDNF serum levels. All cases had a positive urine test for cocaine at intake. All controls had negative urine test for cocaine and reported not to use this substance. The interviews of the cases were conducted by trained interviewers and supervised weekly by study coordinators, and occurred between 5 and 7 days of hospitalization. Characteristics of drug use were evaluated using the Addiction Severity Index 6th version (ASI -6), the history of childhood trauma was assessed by the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ), and resilience was evaluated by the Resilience Scale.

**Results:** The first paper evaluated 49 crack cocaine users. We found a positive correlation between TBARS levels and severity of crack cocaine use ( $R=0.304$ ,  $p=0.04$ ) and a negative correlation between BDNF and severity of crack cocaine use ( $R=-0.359$ ,  $p=0.01$ ) at discharge. We found an inverse correlation between TBARS and BDNF levels ( $R=-0.294$ ,  $p=0.004$ ) at discharge. The second paper reported that childhood trauma was significantly higher among crack cocaine users in all trauma domains ( $p<0.001$ ) - except for sexual abuse - and resilience scores were lower among crack cocaine users ( $p<0.01$ ). We also demonstrated that having higher scores of childhood trauma and lower scores of resilience increases the odds to become a crack cocaine user ( $p<0.001$ ), despite the diagnosis of post-traumatic stress disorder (PTSD).

Finally, the third paper shows a significant increase in BDNF levels from admission to discharge, which did not differ by the childhood trauma subgroups. For TBARS levels, we found significant time by trauma interaction ( $F[2,28]=6.357, p=0.005, \eta_p^2=0.312$ ). Those with low trauma levels decrease TBARS, while those with a high trauma levels increase TBARS during early withdrawal. NPY levels were negatively correlated with all types of childhood trauma, except for sexual abuse (physical neglect  $r=-0.396, p=0.034$ ; emotional neglect  $r=-0.391, p=0.036$ ; physical abuse  $r=-0.427, p=0.021$ ; emotional abuse  $r=-0.419, p=0.024$ ; sexual abuse  $r=-0.190, p=0.323$ ).

**Conclusions:** Results of this study demonstrate that crack cocaine users have higher scores of childhood trauma and lower resilience scores when compared to healthy subjects. Changes in the level of TBARS during early withdrawal, as well as NPY serum levels at discharge seems to be influenced by the intensity of childhood trauma. In addition, BDNF and TBARS levels at discharge appear to be associated with the severity of crack cocaine use. Thus, it is suggested that childhood trauma and low resilience may be risk factors for crack cocaine use. Also, the intensity of childhood trauma and severity of crack cocaine use appear to influence the neurobiological mechanisms related to the development of crack cocaine dependence and withdrawal. The results presented in the 3 articles complement each other in order to provide a greater understanding of the interrelationships between psychosocial factors of vulnerabilities and protection for crack addiction, and the neurobiological changes associated with both childhood trauma and the severity of drug use. Thus, these findings may contribute to the construction of knowledge about the processes that underlies the development of addiction.

## PREFÁCIO

Este material compõe a tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria em março de 2015 como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Psiquiatria.

Este trabalho se divide em diferentes sessões: introdução, objetivos gerais e específicos, apresentação de três artigos, conclusões, perspectivas futuras e resultados preliminares de análises interinas e anexos.

A introdução apresenta inicialmente um breve histórico sobre o crack como droga de consumo mundial e dados epidemiológicos sobre o seu uso na atualidade, bem como as características farmacocinéticas da substância. Em seguida, são apresentados de uma forma bastante sucinta os mecanismos do Sistema de Recompensa Cerebral que será abordado ao longo dos artigos que compõem a tese. A segunda parte da introdução discorre sobre o conceito de resiliência e sobre como o trauma infantil parece estar implicado no desenvolvimento de psicopatologias, em especial da dependência química, e na alteração de mecanismos cerebrais envolvidos nesse processo. A terceira e última parte da introdução apresenta, através de uma revisão da literatura, os três marcadores cerebrais que fizeram parte deste estudo: brain-derived neurotrophic factor (BDNF), ácido tiobarbitúrico (TBARS) e o neuropeptídeo (NPY).

Em seguida, são apresentados o objetivos geral e os específicos, e os artigos da tese. Os três artigos são resultado de um braço de um projeto que se iniciou em 2012 e que objetivou avaliar usuários de crack em 5 diferentes regiões do Brasil, através do financiamento da Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD), decorrente do Plano Integrado de Enfrentamento ao Crack. Todos os dados apresentados nesta tese, exceto os achados preliminares, são provenientes da mesma metodologia de coleta de dados que ocorreu na cidade de Porto Alegre, na unidade para tratamento de dependência química do Hospital São Pedro, e que recebeu financiamento da SENAD e Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA).

Os resultados dos três artigos pretendem demonstrar possíveis inter-relações entre fatores de proteção e vulnerabilidade ao uso de drogas tanto do ponto de vista psicossocial, quanto neurobiológico. O primeiro artigo - já publicado na revista *Psychopharmacology (Berl)* - discute as alterações que ocorrem no BDNF e no TBARS durante a abstinência precoce de



usuários de crack, bem como a associação destes marcadores com a gravidade do uso de crack. O segundo artigo procurar analisar a dependência de crack a partir de um ponto de vista mais teórico, explorando a história de trauma na infância, diagnóstico TEPT e capacidade de resiliência como fatores de vulnerabilidade ou proteção ao desenvolvimento deste transtorno. O terceiro artigo procura integrar os conceitos abordados nos anteriores, avaliando como a história de trauma na infância pode alterar os níveis séricos destes marcadores durante a abstinência precoce do uso de crack, bem como associação de trauma na infância com o NPY.

Em continuidade aos artigos, são apresentadas as considerações finais e uma discussão que procura integrar os dados apresentados nos três artigos. Através de um modelo teórico objetiva-se levantar hipóteses que procurem contribuir para o entendimento da dependência de crack através de um modelo integrador que envolve aspectos clínicos, psicodinâmicos e neurobiológicos, muito mais do que gerar conclusões sobre este tema tão complexo.

Por fim, descrevo a maneira como estamos dando continuidade a este estudo com novas coletas de dados, agora realizadas na Unidade Álvaro Alvim do HCPA, bem como a integração deste estudo com outras pesquisas que estão sendo desenvolvidos por nosso centro. Nesta seção, são apresentados resultados preliminares de dados que já foram possíveis de analisar neste novo banco.

## INTRODUÇÃO

### A Cocaína e o Crack

#### *Histórico e Epidemiologia*

Apesar de os riscos associados ao consumo de cocaína começarem a provocar preocupação a partir da década de 80, esta é uma substância que tem suas origens há cerca de 3000 A.C. Ela era utilizada pelos povos Andinos da América Central com a finalidade de diminuir a sensação de hipóxia, enquanto trabalhavam nas plantações em grandes altitudes (Rivera *et al.*, 2005). Durante anos, a planta era levada em viagens para a Europa, mas como as propriedades da folha mascada eram muito discretas, pouco conhecimento se difundia sobre a substância. Foi em 1860, porém, que o químico alemão Albert Niemann isolou a cocaína a partir das folhas de coca e publicou seu primeiro trabalho sobre as propriedades da droga. Em seguida, a cocaína passou a fazer parte de produtos que prometiam um efeito estimulante, como o vinho Mariani, “tônico estimulante para fadiga e mente e corpo sobrecarregados” (Karch, 1999). Nessa mesma época, diversos trabalhos começaram a ser publicados referindo os efeitos anestésicos e estimulantes da cocaína. Freud (1884), em seu artigo “Über coca” referia que a substância produzia efeito estimulante, anestésico e proporcionava a cura de várias patologias, citando-a como uma droga “milagrosa” (Koller, 1884). No ano seguinte, a fábrica Merck já passava a produzir toneladas de cocaína refinada destinadas para venda.

Não levou muito tempo para que os prejuízos associados à substância comesçassem a aparecer (Karch, 1989). A partir da constatação de seus efeitos adversos, vários trabalhos foram publicados, fato que reduziu seu consumo. (Bose, 1902; Wishart, 1911; Bose, 1913). A literatura relacionada à cocaína então ressurgiu a partir da década de 60, concomitante ao início de um novo aumento no consumo da substância, simultaneamente ao aumento do consumo de heroína. Mas foi na década de 80 que houve o pico do consumo de cocaína nos Estados Unidos (EUA), chegando a uma prevalência de uso na vida de 15% da população norte-americana, tanto na forma inalada, quanto injetável (Adams *et al.*, 1984; Kleber, 1988).

No final da década de 80, começaram a aparecer os primeiros artigos demonstrando uma preocupação ainda maior em relação ao uso da cocaína na forma fumada. Ela recebeu nesta mesma época o nome de crack, devido ao barulho provocado pelos cristais fumados em cachimbos no momento em que entravam em contato com o fogo. Em 1989, John Strang e Griffith Edwards publicaram um artigo no *British Medical Journal* em que referiam “o crack tem

se mostrado uma droga fatal, como algo unicamente diabólico, enquanto a cocaína, para alguns, tem sido considerada uma droga que provoca diversão isenta de riscos. Porém o crack nada mais é do que a cocaína que foi separada do seu hidrocloreto de sal” (Strang et al., 1989).

Apesar de serem derivados originalmente da folha de coca, a cocaína consumida na forma aspirada tem efeitos bastante distintos do uso na forma fumada (crack). Isso se deve às etapas envolvidas na produção das substâncias e à via de administração. Inicialmente, a solução de cocaína é produzida através do maceramento das folhas de coca junto a querosene, gasolina e ácido sulfúrico. O segundo passo, é a produção da pasta-base de cocaína, resultante da adição de cal e amoníaco a esta solução. Desta pasta-base, pode ser formado o cloridrato de cocaína (forma em pó), a merla ou o crack. O crack pode ser produzido a partir do cloridrato de cocaína ou da pasta-base ao se adicionar amônia, bicarbonato de sódio e água, e fornecer um aquecimento leve. O *freebase*, precursor do crack, tem um processo de produção semelhante, mas demanda aquecimento muito elevado, provocando explosões e trazendo risco para quem o produz, por isso seu uso não tomou proporções parecidas com uso de crack (Inciardi, 1991; Perrenoud et al., 2012).

A principal diferença, porém, entre os efeitos do cloridrato de cocaína e do crack se dá na forma de administração. Conforme pode ser observado na tabela abaixo, a via de administração fumada do crack tem um início de ação mais rápido, tempo de efeito mais curto e pico plasmático mais intenso do que qualquer outra forma de administração da cocaína, o que a torna uma substância altamente dependógena (Donato et al., 2010).

Tabela I. Diferenças entre as características do consumo de cocaína segundo a via de administração

Via	Início de ação (seg)	Duração do efeito (min)	Pico plasmático (ng/mL)
Oral	300-600	45-90	150
Intranasal	120-180	30-45	150
Endovenosa	30-45	10-20	300-400
Inalatória	<b>8-10</b>	<b>5-10</b>	<b>300-800</b>

A expansão do uso de crack nos EUA teve seu pico na década de 90 e passou a se estabilizar no ano 2000 (Cornish et al., 1996; Riehm et al., 2008). Os usuários de crack eram em sua maioria jovens, usuários de cocaína inalada, que muitas vezes optavam por essa forma de administração devido ao preço mais baixo, efeito mais euforizante, além da percepção de

menor risco de infecção pela AIDS, considerando que esse também era um momento de grande difusão do vírus devido ao uso das drogas injetáveis (Hamid, 1991; Hamid, 1992). Porém, ainda hoje, o crack tem sido responsável por cerca de 10% da busca por tratamento por uso de drogas nos EUA, estando atrás apenas de álcool, maconha e heroína (NIDA, 2011).

Os primeiros relatos da chegada de crack no Brasil datam da década de 90 e são provenientes da imprensa ou de órgãos policiais (Procópio, 1999). Por esses relatos, parece que o consumo de crack teve início na região Sudeste, especialmente na cidade de São Paulo, para depois se alastrar para as demais regiões brasileiras. Em 1997, estudos epidemiológicos com meninos de rua já apontavam uma prevalência de uso na vida de 46% na amostra (Noto, 1998). Enquanto o consumo de crack diminuiu ou estabilizou nos Estados Unidos e Inglaterra, o consumo só passou a aumentar no Brasil. Os dois levantamentos domiciliares (2001 e 2005) realizados pelo Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas (CEBRID) apontaram que o consumo da droga praticamente dobrou ao longo desses 4 anos. Na região sul, especificamente, o consumo na vida aumentou de 0,5% para 1,1% (SENAD, 2005). Os motivos pela busca da substância também foram se modificando: enquanto nos anos 90 os usuários referiam utilizar crack pela “sensação de prazer”, na década seguinte o consumo era justificado pela “compulsão, dependência e dificuldade de lidar com problemas familiares e frustrações” (Perrenoud *et al.*, 2012).

Um dado bastante interessante é o diferente perfil da evolução do uso de crack que pôde ser observado ao longo desses anos de consumo. Um estudo que observou usuários de crack ao longo de oito anos de seguimento demonstrou que existem 3 padrões de consumo de crack: no primeiro (14% da amostra) 90% atingiram a abstinência; no segundo (22% da amostra), 40% conseguiram atingir a abstinência; e no terceiro (64% da amostra), somente 5% atingiram a abstinência (Daniulaityte *et al.*, 2007). Estudos realizados no Brasil demonstraram que a média de anos de consumo de crack fica em torno de 11 anos e que cerca de 5% destes usuários utilizam o crack de maneira ininterrupta (Ribeiro *et al.*, 2007; Dias *et al.*, 2011). Porém, chama atenção que existem poucos estudos demonstrando quais são as características psicossociais e biológicas que determinam essas diferenças entre os usuários e seus padrões de consumo (Cruz *et al.*, 2014; Bastos, 2012; Inciardi *et al.*, 2006)

### *O Sistema de Recompensa Cerebral*

As primeiras teorias que procuravam explicar de maneira mais sustentada o fenômeno da dependência química tiveram início em meados do século XX, quando estudos observaram

que certos roedores, após a implantação de eletrodos em regiões cerebrais específicas, faziam uma auto-estimulação exagerada em detrimento de outras atividades como alimentar-se e dormir (Olds, 1969). A partir disso, descobriu-se que existiam áreas específicas no cérebro responsáveis pela sensação de prazer e recompensa e que essas áreas eram estimuladas mais intensamente pelo uso de drogas. Esse sistema reforçador foi denominado *Sistema de Recompensa Cerebral*.

O desenvolvimento da dependência química depende de uma série de neuroadaptações que acontecem no sistema nervoso central (SNC) e que envolvem, além da sensação provocada diretamente pela administração da droga, todo um processo de aprendizado e memória relacionado ao uso da substância. Para que ocorra o estabelecimento da dependência, há o desenvolvimento de tolerância e sensibilização aos efeitos provocados pela administração da droga, resultando num aumento progressivo da quantidade e da frequência de uso, em comportamentos compulsivos desencadeados pela sensação de fissura e perpetuação do uso apesar dos prejuízos físicos e psicossociais (Dietz *et al*, 2009).

Nos humanos, essas regiões responsáveis pelo sistema de recompensa abrangem dois principais sistemas: o mesolímbico e o mesocortical. O sistema mesolímbico é composto pela área tegmental ventral (ATV), núcleo accumbens (NAc) e amígdala. A amígdala tem um papel central no desenvolvimento da dependência química, pois é a principal responsável pela resposta emocional provocada pelo uso da droga. O NAc tem um importante papel no aprendizado e valorização dos estímulos, enquanto a ATV abriga os neurônios dopaminérgicos que irão se projetar e encaminhar esses estímulos para diversas outras áreas cerebrais. O sistema mesocortical é composto pela ATV, córtex pré-frontal, córtex órbito-frontal e giro do cíngulo. Esse é o principal sistema responsável pelo aprendizado e pela sequência de ações que acontecem após estímulos relacionados à droga, incluindo controle de impulsos e tomada de decisões (Koob *et al.*, 1998; Lima *et al.* 2012).

Apesar de o principal neurotransmissor envolvido neste processo ser a dopamina, hoje se sabe que uma série de outros neurotransmissores como serotonina, noradrenalina, glutamato e GABA também atuam nesse sistema. A dopamina é o neurotransmissor responsável pela sensação de euforia provocada pelo uso de cocaína e crack. Ao entrar em contato com o SNC, a droga provoca a ativação dos neurônios localizados na ATV, bloqueando o recaptador de dopamina e, dessa forma, aumentando sua disponibilidade. Sabe-se que a administração de cocaína pode provocar um aumento de dopamina na fenda sináptica mil

vezes maior do que o provocado por um estímulo natural de reforço (Lima *et al.* 2012). A cadeia de conexões que se estabelecem a partir disso vai proporcionar um comportamento de busca por mais recompensa. Quando o córtex pré-frontal se mostra incapaz de exercer o comportamento inibitório sobre esse estímulo, o comportamento compulsivo ganha força. Além disso, o uso contínuo da droga é capaz de alterar a transmissão do glutamato, responsável pela aprendizagem e memória relacionada ao consumo e o consequente desenvolvimento da fissura (Kessler *et al.*, 2013; Koob *at al.*, 1998).

Atualmente, tem-se atentado para os processos de neuroadaptação provocados pelo uso repetido de estimulantes, pois acredita-se que, ao modificar cronicamente o funcionamento dos neurônios do sistema mesolímbico e mesocortical, a cocaína possa alterar a neuroplasticidade cerebral aumentando comportamentos impulsivos, alterando o humor e reforçando o comportamento de busca compulsiva pela substância. Dessa forma, a compreensão de como se dão essas neuroadaptações, de como fatores de vulnerabilidade intensificam o desencadeamento dessas reações, e de como as neurotrofinas e neuropeptídeos participam desse processo se torna muito importante tanto para compreender o funcionamento do sistema de recompensa, quanto para futuro desenvolvimento de terapêuticas mais eficazes que possam atuar nesse processo.

## Experiências Precoces e a Dependência Química

### *Conceitos sobre Trauma e Resiliência*

O termo resiliência engloba um conceito que transita entre aspectos físicos, biológicos e psíquicos. Do latim *resiliens*, significa voltar para trás, recolher-se. Do inglês *resilient*, significa elasticidade, capacidade de recuperação (Pinheiro, 2004). Este conceito tem suas origens na física, significando a propriedade de um corpo de recuperar a sua forma original após sofrer choque ou deformação (Sordi, 2011). Pode também ser chamado de *robustness*, remetendo a ideia de que uma organização estável, frente a uma perturbação, teria a capacidade de se manter intacta, ou de organizar-se ao redor de outro fator a fim de manter a estabilidade, podendo este conceito ser aplicada a todo tipo de matéria. A evolução do conceito de resiliência para a biologia incorporou a noção de adaptabilidade. Dessa forma, este termo pode ser aplicado tanto ao ser vivo, considerando-se todas as interações orgânicas que ocorrem mesmo em nível intracelular, a fim de que uma organização viva e funcional possa ser gerada; ou em nível de ecossistema, que muitas vezes necessita sofrer reorganizações frente a adversidades para se manter preservado (Lesne, 2008). Quando aplicada à psicologia, a resiliência refere-se à capacidade do indivíduo de enfrentar as adversidades, manter uma capacidade adaptativa, ser transformado por elas, recuperar-se, ou conseguir superá-las (Gamerzy, 1991; Pinheiro, 2004).

O desenvolvimento da capacidade de resiliência tem suas origens nas experiências infantis primitivas, remetendo à formação de vínculo mãe-bebê. Bowlby foi um dos principais autores a estudar a importância da formação de vínculos primitivos no desenvolvimento da personalidade e vulnerabilidade à psicopatologia (Bowlby, 1960; Bowlby, 1984b; Bowlby, 1984a). Na ausência da mãe, a criança passa a desenvolver sintomas de medo e ansiedade. Ele compara esse sentimento com o sentimento de luto, que considera ocorrer tanto na vida primitiva, quanto na vida adulta (Bowlby, 1960). Esse sistema de apego que é desenvolvido entre a mãe e o bebê é utilizado posteriormente para modular o apego ou afastamento de outros indivíduos em qualquer idade, com flexibilidade conforme a mudança de condições que a pessoa está vivenciando (Bowlby, 1960). Dessa forma, a teoria postula que um indivíduo é biologicamente predisposto a manter o apego, especialmente em situações de perigo (Sable, 2004). Quando as experiências primitivas são inadequadas, como, por exemplo, na falta de estímulo e contato emocional, negligência ou abuso físico, estruturas cerebrais envolvidas neste sistema não se desenvolvem adequadamente, afastando o indivíduo da capacidade de resiliência e aproximando-o de um desenvolvimento emocional disfuncional (Sable, 2004). De

acordo com Bowlby, experiências primitivas de apego são gradualmente internalizadas e organizadas para posteriormente regular as relações e os comportamentos adultos. Experiências de apego muito intensas ou insuficientes podem desenvolver uma sensação mais acentuada de insegurança em momentos de stress, diminuindo a capacidade do indivíduo de lidar com situações adversas (Bowlby, 1960; Sable, 2004).

Com o avanço da ciência, todos esses conceitos foram tomando forma no momento em que se passou a entender como essas experiências precoces estariam relacionadas com a formação de estruturas e sistemas cerebrais que se iniciam na infância e perpetuam-se na vida adulta. O sistema límbico integra componentes fisiológicos e emocionais que vão determinar a resposta do indivíduo aos estímulos ambientais. A formação do sistema límbico e as suas relações com a plasticidade sináptica, desenvolvimento do medo e memória é altamente influenciada pelas relações de apego que se iniciam precocemente na vida (Sullivan *et al.*, 2006). Trauma físico ou emocional precoce pode interferir no desenvolvimento destas estruturas cerebrais deixando o indivíduo mais vulnerável a desenvolver problemas de linguagem, transtornos de personalidade e diminuição da capacidade intelectual, além do desenvolvimento de uma série de psicopatologias, incluindo a dependência química (Sullivan *et al.*, 2006).

Estudos em modelos animais e em humanos demonstraram que negligência emocional precoce está relacionada a uma super-estimulação do funcionamento do sistema límbico e diminuição do funcionamento do córtex pré-frontal, áreas cerebrais reesponsáveis pela regulação emocional, deixando os indivíduos mais reativos a situações de medo durante a vida adulta, mesmo quando o fator estressor é removido (Malter Cohen *et al.*, 2013). As alterações neuroquímicas que se desenvolvem após a exposição ao estresse e privação social precoce provocam um desequilíbrio na produção de neurotransmissores no sistema límbico, especialmente no sistema catecolaminérgico (Sullivan *et al.*, 2006). Uma série de estudos avaliou que a ativação do eixo hipotálamo-hipófise adrenal (HPA) que ocorre durante a separação materna precoce modula a ação de neurotransmissores monoaminérgicos durante a vida adulta e pode deixar o indivíduo mais vulnerável ao desenvolvimento de psicopatologias (Sullivan *et al.*, 2006). Por outro lado, alguns indivíduos apesar de terem sido expostos a situações traumáticas precoces acabam não apresentando alterações tão importantes no desenvolvimento na vida adulta, ou as apresentam em intensidade menor. O interesse pelo conceito de resiliência tem desenvolvido um novo campo de pesquisa que procura focar mais intensamente nas qualidades do indivíduo, do que em seus déficits. Da mesma maneira, direciona a atenção mais para os desfechos positivos do que negativos. Assim, procura



valorizar os aspectos saudáveis do ser humano e analisar quais dessas qualidades podem favorecê-lo frente a fatores estressores (Atkinson *et al.*, 2009). Muitas áreas da psiquiatria têm valorizado este conceito no estudo das psicopatologias. Alguns estudos têm sido realizados para avaliar por que indivíduos expostos a um evento estressante conseguem se recuperar de uma maneira saudável, enquanto outros parecem apresentar uma piora dos sintomas. Em um estudo realizado com veteranos de guerra encontrou-se que aqueles que apresentavam maior resiliência também apresentavam maior proteção contra o TEPT, depressão, risco de suicídio e consumo de álcool (Green *et al.*, 2010). Outro estudo que seguiu crianças desde o nascimento até os 21 anos de idade mostrou que grande parte daquelas expostas a adversidades desenvolveram predisposição a psicopatologia na vida adulta; porém, outras não a desenvolveram e isso estaria relacionado com a capacidade de resiliência e vivências que podem ter aprimorado esta capacidade, como uma boa experiência de vínculo, busca de novidades e permanência na escola (Fergusson, 2003). Dessa forma, os estudos sobre resiliência têm voltado sua atenção para o tema da pobreza, violência e da prevalência de maus tratos na criança, o consequente desenvolvimento de psicopatologias, bem como, os fatores protetores que podem prevenir desfechos negativos.

#### *Trauma, Resiliência e Dependência Química*

O tema resiliência tem uma implicação muito importante quando pensamos no tratamento de indivíduos que fazem abuso de substâncias químicas. São poucos os estudos que analisam a relação entre resiliência e abuso de substâncias, e dentre estes a maioria se refere ao consumo de álcool e tabaco (Becoña, 2007). Os estudos têm mostrado que existe uma clara associação entre experiências primitivas infantis, como a baixa qualidade de vínculo parental e história de maus-tratos, com a predisposição a psicopatologias na vida adulta, incluindo a predisposição ao desenvolvimento de dependência química (Anda *et al.*, 1999; Perkins *et al.*, 2004; Werner *et al.*, 2004). Em um recente estudo, Pettenon *et al.* demonstram que a percepção de ter tido uma mãe negligente e pais controladores e deficientes de afeto parece estar associada a um maior risco de usar crack (Pettenon *et al.*, 2014).

Por outro lado, tem-se voltado a atenção para a capacidade de resiliência como um fator de proteção ao abuso de substâncias. A resiliência estaria superposta a diversos fatores - dentre os quais podemos citar a inteligência, habilidade de resolução de problemas, interesses externos, apego, vínculo parental e temperamento (Fergusson, 2003). Assim, podemos pensar que esta é uma qualidade dinâmica do indivíduo e que pode se modificar em diferentes contextos, ou com diferentes tipos de intervenções (Rutter, 2007).

Nos últimos 20 anos, o Brasil tem se deparado com o aumento do uso de *crack*, mas as estratégias de tratamento empregadas para ajudar esses usuários ainda têm apresentado muitas falhas. A maioria dos autores afirma que a abordagem deve ser multidisciplinar, envolvendo um atendimento biopsicossocial, técnicas cognitivo-comportamentais, focada em estratégias de prevenção, manejo da fissura e prevenção de recaídas (Kessler, 2008; Kessler *et al.*, 2008). O uso de psicofármacos pode auxiliar, mas não existe ainda nenhuma medicação considerada eficaz para o tratamento da dependência de *crack* (Kessler, 2008). Assim, percebe-se que os usuários de *crack* são uma população exposta a diversos fatores adversos, e a capacidade de enfrentamento dessas situações parece ser indispensável no processo de recuperação do usuário. Ainda não são conhecidas as razões das limitações técnicas às terapêuticas empregadas, mas acredita-se que dentre os usuários de *crack* seja possível encontrar diferentes perfis de indivíduos, com vulnerabilidades e resiliências distintas, tanto do ponto de vista psicodinâmico quanto neurobiológico. Buscar entender essas diferenças e limitações é certamente um fator relevante no desenvolvimento de uma terapêutica mais efetiva para cada um destes indivíduos, e um dos objetivos intrínsecos desta linha de pesquisa.

## Psicobiologia do Trauma, Resiliência e sua Intersecção com Dependência Química

Uma forte atenção tem sido atribuída aos fatores psicobiológicos relacionados à capacidade do indivíduo de lidar com situações adversas. Estudos têm identificado que as capacidades de solucionar problemas e de enfrentamento de medo estão estruturadas em funções neurobiológicas que englobam o funcionamento do HPA, que por sua vez tem seu funcionamento modulado pela herança genética, bem como por vivências experimentadas principalmente nos primeiros anos de vida (Nestler, 2004; Feder *et al.*, 2009). Muitos são os mediadores dessa cadeia de reações químicas que acontecem no indivíduo. Dentre esses inúmeros mediadores, têm chamado atenção as evidências em relação à associação do neuropeptídeo Y (NPY) com o desenvolvimento da resiliência (Eaton *et al.*, 2007; Feder *et al.*, 2009; Sah *et al.*, 2013). Evidências têm surgido também em relação à associação dos níveis séricos de NPY tanto com experiências traumáticas, quanto com a predisposição ao abuso de substâncias. Por outro lado, o NPY parece atuar de forma independente no mecanismo de adição mediado pelas vias cerebrais relacionadas à dopamina. Esta associação parece estar direcionada para questões emocionais relativas ao uso de substância e funções da amígdala na manifestação da ansiedade frente ao comportamento aditivo (Koob *et al.*, 1998). Além deste marcador, fatores relacionados à neuroplasticidade cerebral e ao dano neuronal ocasionado tanto pela intoxicação aguda quanto pela síndrome de abstinência parecem apresentar um papel importante neste processo. Já está demonstrado que o uso de substâncias químicas ocasiona um aumento no dano oxidativo de estruturas cerebrais, e que fatores neurotróficos, como BDNF, podem contribuir para a recuperação desse dano (Narvaez *et al.*, 2013; von Diemen *et al.*, 2013). Tanto o dano oxidativo, quanto a plasticidade cerebral são também influenciados por experiências infantis.

É interessante e contemporâneo pensarmos na dependência química através de um modelo integrador que engloba aspectos clínicos, psicodinâmicos e neurobiológicos. Durante seu desenvolvimento, o ser humano pode adquirir capacidades para lidar com as adversidades, valendo-se de recursos psíquicos estruturados nas vivências precoces. As teorias psicodinâmicas defendem que quando essas experiências são traumáticas, o indivíduo pode recorrer ao uso de drogas como uma maneira de compensar por essas falhas do desenvolvimento e atenuar sentimentos negativos (Mariani *et al.*, 2014; Treece *et al.*, 1986). Isso corrobora a teoria da “auto-medicação” de Khantzian, que sugere que a dependência de drogas está associada a uma série de condições psicopatológicas, como problemas na expressão do afeto, dificuldade com relações objetais, personalidade narcisista, dificuldade na

capacidade de julgamento e auto-cuidado (Treece *et al.*, 1986). As neurociências entram então com um papel complementar a essas teorias, com um embasamento científico que procura explicar esses fenômenos a partir do ponto de vista neurobiológico.

Considerar os processos de pensamento e de simbolização de emoções - bem como as bases neurobiológicas desses fenômenos - é de fundamental importância para se compreender o desenvolvimento da dependência química, e do quanto o uso de drogas interfere nesses mecanismos. Tão importante quanto isso, é o conhecimento dos fatores que estão relacionados ao desenvolvimento das habilidades de evitar o uso da droga. No entanto, sabe-se ainda muito pouco sobre os fatores neurobiológicos que medeiam essas relações, bem como sobre a capacidade de resiliência destes indivíduos, especialmente em usuários de crack. Ao compreendermos estes aspectos de uma maneira integrada, podemos dispor de um embasamento maior para aprimorar técnicas de prevenção ao desenvolvimento do abuso de substâncias em crianças e em adultos, bem como o desenvolvimento de tratamentos psicoterápicos e farmacológicos que favoreçam o aumento da capacidade de resiliência do usuário de substâncias.

A revisão a seguir, procura caracterizar as evidências que existem atualmente sobre o papel de marcadores biológicos específicos tanto nos processos de traumatização e resiliência quanto no desenvolvimento da dependência química. Esses são os marcadores biológicos que serão abordados nos artigos que compõem esta tese.

## Peptídeos

Os estudos que procuram entender o papel exercido pelos peptídeos têm se mostrado promissores no que se refere à compreensão de diversos processos neurobiológicos do organismo. Cada vez mais, evidências têm apontado para a sua participação no mecanismo da fome e saciedade, do medo, da resposta ao estresse, no desenvolvimento de ansiedade e, mais recentemente, no processo das adições. Estudos pré-clínicos têm evidenciado o papel do NPY em diversos transtornos psiquiátricos como depressão, ansiedade, transtornos alimentares, esquizofrenia e transtorno do pânico, dependência de álcool e cocaína (Sajdyk *et al.*, 2004; Sajdyk *et al.*, 2006; Yehuda *et al.*, 2006; Eaton *et al.*, 2007; Menyhért *et al.*, 2007; Gutman *et al.*, 2008; Sajdyk *et al.*, 2008; Gilpin, 2012; Schiavone *et al.*, 2013).

Uma das particularidades dos neuropeptídeos, quando comparados a outros neurotransmissores, é o fato de que eles podem alcançar longas distâncias para produzir seu efeito. Enquanto neurotransmissores aminoácidos agem rapidamente em receptores ionotrópicos e discretamente em sítios adjacentes, os neuropeptídeos conseguem alcançar distâncias maiores em sítios pós-sinápticos localizados em axônios diferentes dos de origem, recrutando um maior número de sinalizações neuronais para produzir o efeito fisiológico. Como exemplo, a leptina que é secretada pelo tecido adiposo, a grelina que é secretada no estômago, e a insulina secretada pelo pâncreas agem em receptores localizados no SNC como sinalizadores da homeostase de energia. Além disso, eles também apresentam um tempo de ação mais prolongado do que os demais neurotransmissores e não são rapidamente removidos da fenda sináptica pelos transportadores e recaptadores (Sajdyk *et al.*, 2004; van den Pol, 2012).

O NPY, um peptídeo formado por 36 aminoácidos altamente conservados, foi isolado pela primeira vez há cerca de 40 anos e é um importante neuromodulador do funcionamento cerebral em mamíferos (Larhammar *et al.*, 2001; Sajdyk *et al.*, 2004). O NPY, o peptídeo YY e o polipeptídeo pancreático (PP) compreendem uma família de peptídeos com estrutura semelhante. Enquanto o NPY é abundante no SNC e sistema nervoso periférico (SNP), o peptídeo YY e o PP aparecem primariamente como peptídeos endócrinos. Desde o seu descobrimento, o NPY tem sido estudado em função da sua participação em diversos processos comportamentais que incluem a modulação do apetite, da ansiedade, do medo e da dependência de substâncias (Sajdyk *et al.*, 2004; Eaton *et al.*, 2007; Menyhért *et al.*, 2007; Sajdyk *et al.*, 2008; Gilpin, 2012).

O efeito fisiológico do NPY é mediado por receptores de proteína-G, sendo que cinco deles já foram clonados: Y1, Y2, Y4, Y5 e Y6. Destes, os receptores Y1, Y2 e Y5 estão presentes em grande quantidade no SNC, enquanto o Y4 é encontrado em maior quantidade nos tecidos periféricos e o Y6 não se mostrou funcional na maioria dos mamíferos. Os neurônios que contribuem para o processo de sinalização através do NPY são abundantes no SNC, especialmente nas áreas que compõem a região límbica como hipocampo, amígdala, núcleo estriado e córtex, exercendo um papel importante na regulação de emoções (Charney, 2004; Eaton *et al.*, 2007).

O neuropeptídeo Y foi inicialmente definido como um componente do circuito promotor da fome e saciedade. Ele é um peptídeo orexígeno, ou seja, age como uma antagonista da leptina, produzindo a sensação de fome. A infusão crônica de NPY em ratos promove hiperfagia e hiperinsulinemia (Zarjevski *et al.*, 1993; Adam *et al.*, 2007). Estudos sugerem que o mecanismo da fome é regulado por uma relação de *feedback* entre glicocorticoides, leptina, insulina e NPY modulados pela ativação do HPA. Nessa relação de *feedback*, existe um balanço entre a liberação de NPY e hormônio liberador da corticotrofina (CRH), e esta relação provavelmente explica a participação do NPY na modulação dos sintomas de ansiedade.

#### *NP Y, Trauma e Resiliência*

Recentemente, o NPY tem sido reconhecido como um importante fator neuroquímico relacionado ao desenvolvimento do processo de traumatização e resiliência. Altos níveis de neuropeptídeo Y são encontrados no hipotálamo, área primária responsável pela resposta ao estresse. Além disso, outras duas áreas cerebrais onde são encontrados níveis elevados do NPY são a substância cinzenta periaquedutal e o septum, regiões envolvidas com a modulação do medo e ansiedade. Uma das hipóteses que reforça o papel do NPY na modulação da resposta ao estresse é a sua relação com a cadeia de sinalizações responsáveis pelos efeitos ansiolíticos e ansiogênicos no SNC (Morgan *et al.*, 2003; Yehuda *et al.*, 2006; Eaton *et al.*, 2007; Feder *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2012).

Evidências apontam que o NPY modula a reação ao estresse no SNC inibindo a atividade de neurotransmissores promotores de estresse. Este efeito é baseado nas similaridades entre as ações do NPY e de agentes gabaérgicos (como benzodiazepínicos e barbitúricos), com um possível efeito sedativo e anticonvulsivante observado na administração de NPY no cérebro de ratos (Heilig *et al.*, 1987; Heilig *et al.*, 1989; Baraban *et al.*, 1997).

Estudos com injeções de NPY em zonas cerebrais específicas têm sido interessantes para distinguir o efeito ansiolítico do NPY de seu efeito orexígeno. Estes estudos identificaram substratos anatômicos como a amígdala, substância cinzenta periaquedutal e *locus cerúleos* como possíveis mediadores do efeito do NPY sobre a ansiedade. A administração direta de NPY na amígdala de ratos também demonstrou a diminuição do estresse no teste de interação social (Kask *et al.*, 2002; Heilig, 2004). Os efeitos ansiolíticos do NPY parecem ser mediados pelo receptor Y1, Y2 e Y5. Enquanto os receptores Y1 e Y2 apresentam uma ação importante na capacidade de interação social e sedação, o receptor Y5 parece estar envolvido com a capacidade de *coping* frente a situações de estresse (Kask *et al.*, 2002; Tschenett *et al.*, 2003; Sørensen *et al.*, 2004).

A relação mais estabelecida do papel do NPY na regulação do estresse e ansiedade se deve a sua interação com o CRH, noradrenalina (NE) e o HPA. O CRH é um peptídeo formado por 39 aminoácidos, sendo um importante modulador de resposta endócrina através do HPA, resultando na produção do hormônio adrenocorticotrofina (CFR) pela glândula pituitária e cortisol pela glândula adrenal. Os receptores de CRH estão amplamente distribuídos no SNC mediando a resposta fisiológica ao estresse, atuando em regiões como hipotálamo, córtex cerebral e amígdala. A ação do CRH na amígdala parece ser um dos principais promotores da resposta ansiogênica, através da sua ação nos receptores CRH-1 e CRH-2. O NPY age nesse sistema limitando a atividade do CRH e da NE e dessa forma, promove um efeito ansiolítico controlando a resposta ao estresse (Gilligan *et al.*, 2000; Eaton *et al.*, 2007). A injeção de NPY no núcleo basolateral da amígdala prioritariamente ao agonista de CRF bloqueia significativamente o desenvolvimento do comportamento evitativo em testes em modelos animais (Sajdyk *et al.*, 2006). Assim, entende-se que o CRH é um importante fator que dá início à cascata de reações biológicas ao estresse, e a produção e liberação de NPY segue-se a esse evento agindo como um fator modulador e necessário para manter a homeostase, controlando a ação do CRH. Dessa forma, o estresse crônico promove um desequilíbrio desse sistema, aumentando a ação tanto do CRH quanto do NPY, especialmente no núcleo basolateral da amígdala, a fim de atingir um novo ponto de equilíbrio que mantenha a homeostase do sistema (Sadjik 2004, NPY1). Quando esse equilíbrio não é possível, aumenta-se a resposta ao estresse e conseqüentemente há um maior aumento da vulnerabilidade ao desenvolvimento de psicopatologias frente ao estresse e/ou a situações traumáticas.

A relação entre NPY e a resposta a situações traumáticas tem sido bastante estudada em modelos animais, mas poucas pesquisas existem para demonstrar se o mesmo padrão

ocorre em humanos. Um aumento agudo significativo de NPY é observado em soldados de guerra que foram submetidos a altos níveis de estresse durante interrogatórios (Morgan *et al.*, 2000). Por outro lado, níveis mais baixos de NPY foram encontrados em indivíduos que apresentavam TEPT e depressão (Rasmusson *et al.*, 2000; Heilig, 2004). Yehuda e colaboradores compararam a dosagem sérica de NPY em 11 veteranos de guerra expostos a situações traumáticas e que não desenvolveram TEPT, 12 veteranos de guerra com diagnóstico presente de TEPT e 11 veteranos de guerra não expostos. Foi verificada uma correlação entre níveis séricos mais elevados de NPY em veteranos expostos a trauma sem TEPT em relação àqueles com TEPT. Neste mesmo estudo, o maior preditor do aumento do NPY foi a melhora dos sintomas de TEPT (Yehuda *et al.*, 2006). Outro estudo avaliou o cortisol plasmático e NPY em 22 mulheres com história de vitimização pelo parceiro, sendo destas 10 com diagnóstico atual de TEPT e 12 delas com diagnóstico passado de TEPT, e 16 mulheres sem história de violência. Os níveis de cortisol se mostraram significativamente mais altos nas mulheres vitimizadas, mas não houve diferença em relação ao diagnóstico de TEPT. Em relação aos níveis séricos de NPY, não houve diferença significativa entre os grupos apesar de que, dentre as mulheres vitimizadas, houve uma tendência ao aumento do NPY no grupo sem diagnóstico de TEPT (Seedat *et al.*, 2003). Estudos com tamanho de amostra mais significativo ainda são escassos na literatura.

Da mesma forma que a redução dos níveis de NPY promovem uma maior vulnerabilidade ao desenvolvimento de TEPT, o aumento dos níveis desse peptídeo estão relacionados à resiliência. Estudos em ratos mostraram que a administração de NPY antes da exposição ao trauma demonstrou um efeito protetor na promoção de resiliência, além de inibir o desenvolvimento do medo condicionado (Gutman *et al.*, 2008; Feder *et al.*, 2009; Cohen *et al.*, 2012). Dessa forma, novos fármacos como o NPY intranasal estão sendo testados para diminuição da resposta ao estresse (Sah *et al.*, 2013).

#### *NPY e Transtornos Aditivos*

A ação dos neuropeptídeos na amígdala tem gerado curiosidade quando se procura entender a neurobiologia dos transtornos aditivos. Recentemente, evidências tem apontado para uma possível relação entre o NPY e desenvolvimento do alcoolismo, pois a modulação desse peptídeo parece estar bastante alterada em animais que apresentam uma grande quantidade de consumo de álcool, provavelmente contribuindo para o aumento de emoções negativas durante o período de abstinência (Ciccocioppo *et al.*, 2009; Lindell *et al.*, 2010;



Gilpin, 2012). Ratos que preferem uma ingestão maior de álcool apresentam níveis mais baixos de NPY mRNA e de NPY na região da amígdala (Janak *et al.*, 2006). Além disso, ratos que exibem um aumento dos sintomas de ansiedade apresentam menor quantidade de NPY na amígdala, provavelmente decorrentes de alterações epigenéticas. A ativação dos sistemas relacionados ao NPY na amígdala reduz o consumo de álcool mesmo nos ratos que já eram mais vulneráveis para este consumo e para o desenvolvimento de sintomas de ansiedade (Primeaux *et al.*, 2006; Gilpin *et al.*, 2008). A administração crônica de NPY prévia ao desencadeamento de sintomas de abstinência alcoólica reduz o aumento do consumo de álcool durante o período de abstinência (Gilpin *et al.*, 2011). Um estudo realizado com 14 homens em abstinência alcoólica e 14 controles demonstrou que a exposição aguda ao estresse provocou tanto um aumento de BDNF quanto aumento de NPY em relação aos níveis basais, apesar de não ter sido encontrada uma diferença significativa entre os grupos (Meng *et al.*, 2011). Estudos em humanos que avaliem as alterações nos níveis de NPY resultante do efeito do estresse crônico em relação ao desenvolvimento da dependência química ainda são muito incipientes.

Pesquisas que avaliem o papel do NPY no desenvolvimento da dependência de cocaína são ainda mais escassas. Foi demonstrado que ratos alterados geneticamente para apresentar deficiência de NPY tiveram um aumento da sensibilidade ao efeito do psicoestimulante. (Sørensen *et al.*, 2004). Wetherill e colaboradores estudaram a associação entre variações do gene do receptor de NPY (NPY1R, NPY2R e NPY3R) e a dependência de álcool e cocaína, encontrando que o polimorfismo para um único nucleotídeo no NPY2R estava associado tanto à dependência de álcool, quanto cocaína (Wetherill *et al.*, 2008). Esses achados estimulam o interesse por se compreender o papel dos peptídeos no processo do desenvolvimento da dependência química e, especialmente, na intensidade e qualidade dos sintomas de abstinência e risco de recaída.

## Estresse Oxidativo

Enquanto o oxigênio é essencial para a vida aeróbica, excesso de radicais livres derivados do oxigênio pode ser tóxico para o organismo, teoria esta chamada de “*oxigen paradox*” (paradoxo do oxigênio). Dessa forma, os radicais livres têm importante papel na sinalização celular, respostas imunológicas e mitose. Por outro lado, por serem moléculas bastante instáveis, podem gerar dano celular através da sua toxicidade em proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA. Para proteger o organismo destes radicais livres, existem diversos mecanismos que atuam na manutenção de uma concentração adequada de oxigênio entre o ambiente e o organismo, na produção de enzimas antioxidantes que promovem a remoção de radicais livres e na reparação do dano celular causado pela influencia destes radicais (Kovacic, 2005b; Tata *et al.*, 2007).

A oxidação é caracterizada pelo ganho de oxigênio ou pela perda de elétrons, enquanto a redução é caracterizada pela perda de oxigênio ou ganho de elétrons. Os fatores oxidantes são aqueles que promovem dano oxidativo, e os anti-oxidantes são os fatores que atrasam, previnem esse processo, ou removem o dano (Gutteridge *et al.*, 2010).

Em cada átomo, ocorre um emparelhamento de elétrons em seus orbitais, de maneira que dois elétrons ocupem o mesmo orbital e girem em sentidos opostos. Quando estes elétrons não se encontram emparelhados, o átomo possui uma maior reatividade, denominando-se um radical livre (Halliwell, 1994). A reatividade deste átomo propicia que ele interaja com outros átomos através da combinação entre elétrons livres (ligação covalente), doação ou recebimento de elétrons. No momento em que um átomo doa seu radical para outro e torna um elétron livre em sua órbita, ele se torna um radical livre. Por isso, considera-se que essas reações tendem a acontecer em cadeia (Halliwell, 1989).

Os radicais livres derivados do oxigênio, denominados espécies reativas do oxigênio (EROs), representam a classe mais importante de radicais produzidos pelo organismo e estão implicados na patogênese de uma série de doenças, incluindo as doenças neurodegenerativas e as doenças psiquiátricas (Valko *et al.*, 2007; Tsaluchidu *et al.*, 2008). As EROs são produzidas normalmente durante diversos processos internos metabólicos, como respiração mitocondrial das células, processos inflamatórios e metabolização de substâncias. Além disso, também podem ser produzidos a partir de fatores externos como alimentos, radiação ultra-violeta, poluentes e tabagismo (Dvořáková *et al.*, 2010; Gutteridge *et al.*, 2010). Quando atingem

grandes concentrações, as EROs podem provocar dano celular, principalmente por alterar a estrutura da membrana celular através do dano em proteínas e lipídeos (Halliwell, 2006a).

Como maneira de proteger o organismo do excesso de radicais livres, vários agentes atuam contrapondo-se a esse processo. Isso ocorre de três maneiras:

- 1) Prevenindo a formação de radicais livres.
- 2) Transformando radicais livres em metabólitos não-tóxicos
- 3) Reparando o dano celular provocado pelos radicais livres

Estes processos são realizados através de enzimas antioxidantes, como a superóxido desmutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GP-px). Outros anti-oxidantes podem ser obtidos a partir de medidas externas (dieta, medicações, cremes, etc) como o ácido-ascórbico (vitamina C), o  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), caroteno e flavonoides. Porém, alguns estudos sobre o potencial anti-oxidante destes agentes externos ainda é controverso (Halliwell, 2000; Halliwell, 2009; Gutteridge *et al.*, 2010).

Estresse oxidativo é o resultado de uma grande produção de radicais livres, sem uma capacidade do organismo de produzir as defesas anti-oxidantes necessárias. Quando ocorre esse excesso de EROs, o dano provocado em lipídeos, proteínas e DNA não consegue ser reparado, podendo desencadear um processo de morte celular. Dessa forma, o estresse oxidativo tem implicação no envelhecimento e na patogênese de diversas doenças como câncer, cardiopatias, e doenças neurodegenerativas (Halliwell, 2001).

O cérebro é particularmente suscetível ao estresse oxidativo devido ao seu consumo aumentado de oxigênio em comparação a outros órgãos, aumentando desta forma a produção de EROs. Isso é consequência da grande quantidade de ATP necessária para a propagação do potencial de ação entre os neurônios (Halliwell, 2006a). Além disso, o cérebro conta com uma modesta reação de defesas anti-oxidantes e uma grande quantidade de lipídios na constituição das membranas celulares o que provém substrato para a oxidação. Ainda, certos neurotransmissores possuem um potencial de redução aumentado, bem como a presença de metais como ferro e cobre que contribuem para esse processo (Halliwell, 2006b; Valko *et al.*, 2007; Ng *et al.*, 2008).

Dentre os transtornos psiquiátricos, a maior quantidade de estudos relacionando o estresse oxidativo à patogênese destes distúrbios concentra-se na depressão, transtorno

afetivo bipolar e esquizofrenia. Uma quantidade mais restrita de dados são referentes a estudos que englobam transtornos de ansiedade, transtorno por uso de substâncias, autismo e déficit de atenção e hiperatividade (TDAH) (Ng *et al.*, 2008).

A avaliação do estresse oxidativo em patologias psiquiátricas tem sido realizada através de estudos em humanos e animais que medem fatores oxidantes e anti-oxidantes. Em relação à esquizofrenia, estudos apontam para um aumento óxido nítrico (NO), bem como uma diminuição da glutathiona (um dos maiores anti-oxidantes intra-celulares), SOD, CAT e GP-px (Akyol *et al.*, 2002; Ranjekar *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2006). Nos transtornos depressivos, as evidências apontam para uma diminuição de glutathiona, GP-px e vitamina C, bem como um aumento de NO (Pal *et al.*, 1994; Eren *et al.*, 2007). Em relação ao Transtorno Afetivo Bipolar, estudos apontam para um aumento da peroxidação lipídica, medida pelo *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS), independentemente da fase da doença, enquanto o aumento de GP-px foi observado apenas em fase de eutimia (Kuloglu *et al.*, 2002; Ozcan *et al.*, 2004; Machado-Vieira *et al.*, 2007). Aumento de SOD e CAT foram associados como a fase de mania (Andreazza *et al.*, 2007).

#### *Estresse Oxidativo, Trauma e Resiliência*

Estudos em humanos e animais demonstram que os traumas de abuso e a negligência, especialmente quando ocorrem durante a infância, enquanto o cérebro ainda está em processo de desenvolvimento, estão consistentemente associados ao desenvolvimento de transtornos psiquiátricos na vida adulta e o estresse oxidativo pode ter um papel importante nesse fenômeno (Bremner *et al.*, 1993; Kessler *et al.*, 1997; Bremner *et al.*, 2003; Kauer-Sant'Anna *et al.*, 2007; Narvaez *et al.*, 2012). Esses achados demonstram alterações estruturais e fisiológicas persistentes, secundárias à exposição ao estresse precoce, que podem constituir marcadores de vulnerabilidade a longo prazo.

Uma das maneiras de se estudar trauma infantil em animais é através do modelo de separação materna em ratos. A qualidade da interação materno infantil em ratos pode ser avaliada pela maneira de a rata mãe lambar, amamentar e treinar a sua prole, e isso está diretamente relacionado à resposta de desenvolvimento do eixo-HHA (Caldji *et al.*, 1998; Francis *et al.*, 1999). Períodos repetidos de separação materna resultam em aumento dos níveis séricos de corticosteroides, aumento da resposta do CRF em situações de estresse na vida adulta, bem como alterações nos sistemas serotonérgicos e glutamatérgicos (Daniels *et al.*, 2004). Além disso, a separação materna em ratos pode desencadear aumento persistente

na peroxidação lipídica e diminuição da resposta anti-oxidante em cérebro de ratos na vida adulta (Schiavone *et al.*, 2013).

Outra maneira de reproduzir um modelo de negligência em modelo animal é através do modelo de isolamento social. Ratos que são expostos a longos períodos de solidão nos primeiros dias de vida podem se tornar mais agressivos, fóbicos e ansiosos (Serra *et al.*, 2005). Estudos mais recentes apontam que o estresse oxidativo cerebral pode estar diretamente relacionado ao desenvolvimento de patologias desencadeadas pelo modelo de isolamento social, representados pelo aumento de SOD e CAT no hipocampo de ratos. O aumento inicial da resposta anti-oxidante se torna insuficiente quando o trauma se cronifica, levando a um aumento basal do estresse oxidativo cerebral (Schiavone *et al.*, 2013).

Estudos em humanos relacionando estresse oxidativo ao trauma infantil ainda são muito incipientes. Existe uma clara associação entre abuso infantil, especialmente o abuso sexual, e o desenvolvimento de psicopatologias como TEPT, depressão, transtorno de personalidade borderline, risco de suicídio e transtornos alimentares (Zlotnick *et al.*, 2001). Sabe-se que existe uma associação entre estas patologias e o aumento de estresse oxidativo cerebral, mas estudos que meçam estresse oxidativo em crianças e adolescentes ainda são muito escassos. Um dos parâmetros usuais que representa indiretamente um aumento de estresse oxidativo é através do encurtamento de telômeros em estudos genéticos. Telômeros encurtados estão associados principalmente com a negligência física e emocional (McIntosh *et al.*, 1996; Tyrka *et al.*, 2010). Dessa forma, percebe-se que os traumas na infância provocam alterações fisiopatológicas enquanto o cérebro ainda está em processo de formação, podendo provocar alterações permanentes que deixam o indivíduo mais vulnerável ao desencadeamento de futuras psicopatologias, e o estresse oxidativo parece ser um importante mediador deste processo.

#### *Estresse Oxidativo e o Transtornos Aditivos*

Muitas evidências sugerem a implicação do estresse oxidativo na patogênese de doenças psiquiátricas, incluindo os transtornos aditivos (Halliwell, 2006b; Narvaez *et al.*, 2013). O mecanismo de ação das substâncias psicoativas envolve a transferência de elétrons em diversas reações cerebrais, seja pela ação da substância em si, ou de seus metabólitos (Kovacic, 2005b). Estudos pré-clínicos apontam para um aumento do estresse oxidativo desencadeado pelo uso de álcool, tabaco, álcool, opióides, benzodiazepínicos, anfetaminas,

metanfetamina e cocaína (Kovacic, 2005b; Kovacic, 2005a; Tata *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2009). Os metabólitos que medeiam as reações específicas de cada substância variam.

O álcool é uma das mais prevalentes substâncias químicas utilizadas, visto que a prevalência da dependência de álcool se apresenta em torno de 12% na população brasileira. Ao ser metabolizado no fígado pela enzima aldeído desidrogenase, o álcool é convertido ao final do processo em ácido acético e isso envolve a produção de EROs, peroxidação lipídica e diminuição da atividade anti-oxidante. Por ter uma ação sistêmica, o álcool é uma substância que provoca aumento de estresse oxidativo em diversos órgãos como o fígado, sistema cardiovascular, sistema reprodutivo e SNC (Kovacic *et al.*, 2002). O uso de metanfetamina provoca aumento da ação do glutamato e dopamina, resultando também em aumento de estresse oxidativo cerebral. A ação da metanfetamina determina o aumento de radicais livres documentados pela produção de metabólitos de salicilato e d-fenilalanina no *striatum*. Além disso, a administração crônica de metanfetamina reduz anti-oxidantes endógenos como GSH (glutationa) (Tata *et al.*, 2007). No caso dos opióides, o estresse oxidativo parece estar relacionado ao dano em macrófagos, resultado em apoptose celular. Em estudos com dependentes de heroína, níveis séricos de lipoperoxidases e óxido nítrico estavam significativamente aumentados (Kovacic, 2005b).

O uso de cocaína provoca rapidamente um aumento da produção e liberação de dopamina no sistema de recompensa cerebral e o acúmulo de dopamina na fenda sináptica pode provocar aumento do estresse oxidativo a nível celular, visto que a recaptura da dopamina ocorre por auto-oxidação. Dietrich e colaboradores demonstraram que a administração repetida de cocaína em ratos provoca aumento das EROs no córtex cerebral e *striatum*. Além disso, eles encontraram que a peroxidação lipídica provocada pela ação da cocaína estava correlacionada diretamente a disfunção mitocondrial intra-celular (Dietrich *et al.*, 2005). Walker e colaboradores também demonstraram que usuários de cocaína apresentam menos defesas oxidantes do que indivíduos que não utilizam drogas estimulantes (Walker *et al.*, 2014). Por outro lado, as evidências relacionadas ao uso da cocaína administrada na forma inalada, sob a forma de crack, ainda são muito escassas.

Apesar de as evidências apontarem para o papel do estresse oxidativo como mediador do dano celular causado pelas substâncias químicas em diversos órgãos, pouco se sabe sobre os mecanismos que medeiam as diversas reações bioquímicas que as substâncias provocam na intoxicação aguda, no desenvolvimento do processo de dependência e na síndrome de

abstinência. Entender se a abstinência prolongada pode reverter esse processo de dano oxidativo é muito importante na determinação da terapêutica mais adequada a ser empregada em cada caso e na estimativa do prognóstico da patologia.

## Neurotrofinas

As neurotrofinas são responsáveis pela mediação de diversos processos biológicos fundamentais no desenvolvimento do SNC, atuando na proliferação, diferenciação, migração, estabilidade, e apoptose das células neuronais. Dessa forma, participam de um papel crucial na neuroplasticidade cerebral (Bartkowska *et al.*, 2010). A ação das neurotrofinas se dá principalmente através da sua interação com receptores tirosina-kinase (TrK), cada uma se liga a um tipo de receptor TrK (TrKA, TrKB, TrKC) e todas se ligam ao receptor p75. Existem quatro neurotrofinas que são encontradas em mamíferos: o BDNF, NGF, NT-3 e NT4/5. (Bartkowska *et al.*, 2010) Dentre estas, o *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) é o mais amplamente expresso no SNC (McGinty *et al.*, 2010).

Assim como outras neurotrofinas, o BDNF é sintetizado como um pró-peptídeo (32 KDa) e posteriormente processado para sua forma madura (13KDa). Porém, alguns neurônios secretam BDNF diretamente na sua forma madura. A importância disso é que a forma pró-peptídeo atua como um fator pró-apoptótico celular, enquanto a forma madura atua promovendo a sobrevivência da célula através de sua ligação com receptores TrKB (McGinty *et al.*, 2010). A ação do BDNF em receptores TrKB se dá através de 3 vias de sinalização intracelular: 1) MAP Kinase, implicada na diferenciação celular e crescimento neuronal; 2) PI3-Kinase, implicada no processo de apoptose celular; 3) PLC-gama; envolvido na plasticidade e transmissão sináptica (McCarthy *et al.*, 2012). Isso representa a complexidade das ações do BDNF no SNC.

O BDNF está implicado na base fisiológica de diversos transtornos psiquiátricos, como depressão, transtorno do humor bipolar, TEPT, esquizofrenia e a dependência de substâncias (Kauer-Sant'Anna *et al.*, 2007; Hauck *et al.*, 2010; Meng *et al.*, 2011). A maior parte das evidências tem apontado que em crises agudas da doença, existe uma tendência ao aumento dos níveis séricos de BDNF, como uma possível resposta adaptativa do cérebro. Porém, na cronificação destes transtornos, tem-se observado uma diminuição dos níveis séricos do BDNF e por isso ele tem sido estudado como um possível marcador de estadiamento destas patologias (Kauer-Sant'Anna *et al.*, 2007; Kapczinski *et al.*, 2008; Hauck *et al.*, 2010).

Por atuar na plasticidade sináptica, essa neurotrofina exerce um importante papel no processo de aprendizagem, memória, cognição e humor (Autry *et al.*, 2012). Ela atua em várias áreas do SNC que incluem a amígdala, córtex pré-frontal, *striatum*, áreas que compreendem o



sistema de recompensa cerebral (Corominas *et al.*, 2007). Dessa forma, o BDNF influencia a ação de neurônios dopaminérgicos, serotoninérgicos, glutamatérgicos.

#### *BDNF, Trauma e Resiliência*

Uma série de estudos vem demonstrando uma associação entre os níveis de BDNF, trauma e resiliência (Sordi, 2011). Como o BDNF age na proteção neuronal, entende-se que quando o cérebro passa por um evento de estresse agudo (seja por um transtorno de estresse agudo, intoxicação química, agudização de sintomas de humor ou psicose), existe uma resposta de “recuperação” cerebral que provoca aumento dos níveis de BDNF como uma forma de proteger o tecido neuronal do dano ocasionado. Estudos realizados em ratos mostraram que durante o desenvolvimento cerebral, o BDNF parece agir no hipocampo e córtex pré-frontal, duas regiões que têm um importante papel no aprendizado emocional e, consequentemente, em uma série de patologias psiquiátricas (Corominas *et al.*, 2007; Roth *et al.*, 2009; Maddox *et al.*, 2013). Além disso, mudanças nos níveis desta neurotrofina estão relacionadas ao ambiente no qual estes animais se desenvolvem, bem como na qualidade de relação entre as ratas mães e sua prole (Cirulli *et al.*, 1998; Cirulli *et al.*, 2009). A separação materna em modelos animais tem demonstrado afetar a expressão do BDNF mRNA em regiões límbicas nas duas primeiras semanas pós-natal (Cirulli *et al.*, 2009). Também foi demonstrado um aumento de BDNF em córtex pré-frontal e hipocampo em curto prazo, mas uma diminuição do BDNF em córtex pré-frontal a longo prazo relacionado a separação materna precoce (Roceri *et al.*, 2004). Além disso, a separação materna crônica resultou em uma diminuição dos níveis de BDNF maduro em hipocampo e *striatum*, impactando na proliferação, diferenciação e sobrevivência celular (Lippmann *et al.*, 2007). A diminuição do BDNF em hipocampo de ratos expostos a trauma precoce parece estar associada a uma maior vulnerabilidade ao desenvolvimento de depressão. Da mesma forma, roedores que tiveram a produção de BDNF induzida em NAc também apresentaram maior vulnerabilidade ao desenvolvimento de sintomas depressivos, e o oposto se mostrou associado a uma maior capacidade de resiliência neste modelo (Feder *et al.*, 2009). Isso demonstra a complexidade dos efeitos do BDNF em diferentes áreas cerebrais.

Estudos em humanos são mais escassos e controversos. Kauer-Sant’Anna e colaboradores estudaram 163 pacientes com transtorno afetivo bipolar e demonstraram uma diminuição dos níveis de BDNF naqueles pacientes que relataram eventos traumáticos durante a infância, bem como uma maior comorbidade com transtorno de ansiedade e abuso de álcool

(Kauer-Sant'Anna *et al.*, 2007). Hauck e colaboradores avaliaram 34 pacientes que sofreram trauma recente e estes apresentaram níveis de BDNF aumentados em relação ao grupo controle sem trauma (Hauck *et al.*, 2010). Por outro lado, Angelucci F e colaboradores demonstraram que indivíduos que desenvolveram TEPT apresentavam níveis mais reduzidos de BDNF em relação a indivíduos que sofreram trauma mas não desenvolveram TEPT (Angelucci *et al.*, 2014). De maneira geral, podemos inferir que trauma agudo induz a um aumento de BDNF como uma forma reativa da plasticidade neuronal. Mais estudos são necessários para se conhecer qual é a associação entre estas alterações do nível de BDNF e a área de correspondência cerebral, pois esses achados distintos podem representar a ação do BDNF em diferentes áreas cerebrais. Além disso, uma recente revisão da literatura demonstrou que existe uma variação importante na metodologia de dosagem dos níveis de BDNF em humanos, o que pode contribuir para essa discrepância nos resultados dos estudos apresentados (Teche *et al.*, 2013).

#### *BDNF e o Transtornos Aditivos*

Recentemente, uma série de estudos tem sido desenvolvidos para se entender o papel do BDNF no desenvolvimento da dependência química. Por apresentar ações diferentes em regiões cerebrais específicas, o BDNF possui uma ação bastante complexa, que perpassa desde o processo de aprendizado do uso das substâncias, até o desenvolvimento da dependência, fissura e impulsividade levando ao processo de recaída (McCarthy *et al.*, 2012).

Algumas das áreas cerebrais que atuam diretamente na ação de busca pela substância incluem estruturas do córtex pré-frontal (CPF) e núcleo acumbens (NAc). Ambas as regiões recebem inervação dopaminérgica da (ATV), constituindo o sistema de recompensa cerebral (McGinty *et al.*, 2010). Muitas das neuroadaptações provocadas pelo uso repetido de drogas excitatórias, como a cocaína, advém de alterações na plasticidade deste eixo, e os neurônios piramidais que partem do CPF são uma das fontes mais importantes da secreção de BDNF no SNC (McGinty *et al.*, 2010).

Muitas das evidências de como o BDNF atua nestas vias vêm de estudos em modelo animais e que avaliam questões epigenéticas relacionadas ao uso da cocaína, sendo menor o número de estudos em humanos (Roth *et al.*, 2009; McGinty *et al.*, 2010; McCarthy *et al.*, 2012; Fürst *et al.*, 2013; Frodl *et al.*, 2014). Em uma revisão realizada por McGinty J e colaboradores, foi descrito que a administração aguda de cocaína, anfetamina e álcool provoca um aumento na expressão de BDNF mRNA no CPF, córtex cingulado e *striatum*. Nesse mesmo

estudo, demonstram que administração crônica dessas mesmas substâncias estaria relacionada ao aumento do BDNF mRNA em áreas cerebrais prosencefálicas (Fumagalli *et al.*, 2007; McGinty *et al.*, 2010). A variação da expressão do BDNF nas projeções glutamatérgicas que vão do CPF ao NAc parece constituir um elemento importante na neuroplasticidade induzida pela cocaína nos neurônios corticais e mesolímbicos, visto que esta via é regulatória para o processo de recaída (McGinty *et al.*, 2010).

É importante ressaltar que os estudos em modelos animais permitem entender os diferentes tipos de ação do BDNF, dependendo da área cerebral onde é expresso. A infusão de BDNF em áreas subcorticais como NAc e VTA aumenta o comportamento de busca por cocaína e opióides em ratos (Lu *et al.*, 2004; Vargas-Perez *et al.*, 2009), enquanto a administração de um inibidor da ação do BDNF em NAc durante a administração crônica de cocaína diminuiu esse comportamento de busca (Graham *et al.*, 2007). Por outro lado, a infusão de BDNF em CPF provoca a supressão do comportamento de busca pela substância (Berglind *et al.*, 2009). Achados semelhantes foram encontrados em estudos envolvendo modelo de depressão, sugerindo que o BDNF teria um efeito antidepressivo quando injetado em hipocampo, e pró-depressor quando injetado em ATV (Shirayama *et al.*, 2002).

Outra maneira como o BDNF parece estar envolvido com sistema de recompensa cerebral é através da sua ação em vias glutamatérgicas. As vias glutamatérgicas que partem do CPF dorsomedial e se projetam para o NAc são ativadas durante o comportamento de busca pela cocaína. O BDNF aumenta a transmissão glutamatérgica através do aumento da produção de vesículas pré-sinápticas, aumento da liberação de glutamato e ativação dos receptores NMDA (Lessmann, 1998) Essa ação do BDNF tem implicação no processo de memória e aprendizado relacionado ao uso da droga, pois aumenta a sensibilização dos receptores de potencial de curta e longa ação, bem como o crescimento dendrítico em córtex cerebral e hipocampo (Tyler *et al.*, 2002).

Estudos relacionando as alterações do BDNF em relação ao uso de cocaína em humanos são bem mais escassos e, algumas vezes, com resultados controversos. D'Sa e colaboradores avaliaram 35 pacientes usuários de cocaína internados e demonstraram uma correlação positiva entre o aumento dos níveis de BDNF após 3 semanas de abstinência e a chance de recaída no uso da substância (D'Sa *et al.*, 2011). Corominas-Roso e colaboradores avaliaram 23 pacientes usuários de crack e demonstraram um aumento de BDNF durante o processo de desintoxicação, bem como uma correlação positiva com os sintomas de fissura,

ansiedade e depressão (Corominas-Roso *et al.*, 2013). Estes achados sugerem que níveis mais altos de BDNF parecem estar associados à sintomatologia mais grave. Por outro lado, Von Diemen e colaboradores demonstraram da mesma forma aumento do BDNF durante o período de abstinência precoce, porém com uma correlação inversa entre este aumento e o número de pedras de crack usadas nos últimos 30 dias e anos de uso, sugerindo que os pacientes mais graves apresentaram um aumento menor dos níveis séricos de BDNF durante a desintoxicação. Recentemente Viola e colaboradores estudaram alterações nos níveis séricos de neurotrofinas em 144 mulheres usuárias de crack durante o período de abstinência e demonstraram que os níveis plasmáticos das neurotrofinas GDNF e NT4/5 foram associados a trauma precoce (Viola *et al.*, 2014). Isso demonstra que alterações nos níveis séricos de neurotrofinas em usuários de crack pode estar associado a uma série de fatores, como a gravidade da dependência, história de traumas na infância e comorbidades psiquiátricas.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Principal**

Avaliar a relação entre história de trauma na infância, resiliência e variáveis neurobiológicas com a dependência de crack.

### **Objetivos Específicos**

- Avaliar a relação entre BDNF e TBARS com a gravidade do uso de crack
- Avaliar a correlação entre os níveis séricos de BDNF e TBARS durante a desintoxicação por uso de crack
- Avaliar a relação entre trauma na infância, TEPT, resiliência e a vulnerabilidade ao uso de crack
- Avaliar a relação entre trauma na infância e alterações no BDNF durante o processo de desintoxicação por crack
- Avaliar a relação entre trauma na infância e alterações no TBARS durante o processo de desintoxicação por crack
- Avaliar a relação entre a dosagem sérica de NPY e história de trauma na infância em usuários de crack

## **ARTIGOS**

### **ARTIGO 1**

ESTRESSE OXIDATIVO E BDNF COMO POSSÍVEIS MARCADORES DA GRAVIDADE DO USO DE CRACK NA ABSTINÊNCIA PRECOCE

OXIDATIVE STRESS AND BDNF AS POSSIBLE MARKERS FOR THE SEVERITY OF CRACK COCAINE USE IN EARLY WITHDRAWAL

Anne Orgler Sordi; Flavio Pechansky; Felix Henrique Paim Kessler; Flávio Kapczinski; Bianca Pfaffenseller; Carolina Gubert; Bianca Wollenhaupt de Aguiar; Joana Correa de Magalhães Narvaez; Felipe Ornell; Lisia von Diemen

**Publicado na revista:** *Psychopharmacology (Berl)* (2014) 231(20):4031-9

DOI 10.1007/s00213-014-3542-1

Fator de Impacto: 3.98

## **Oxidative stress and BDNF as possible markers for the severity of crack cocaine use in early withdrawal**

Anne Orgler Sordi, MD<sup>1</sup>; Flavio Pechansky, MD, PhD<sup>2</sup>; Felix Henrique Paim Kessler, MD, PhD<sup>1</sup>; Flávio Kapczinski MD, PhD<sup>3</sup>; Bianca Pfaffenseller, BSc, MSc<sup>4,5</sup>; Carolina Gubert Msc<sup>4,5</sup>; Bianca Wollenhaupt de Aguiar, BSc, MSc<sup>4,5</sup>; Joana Correa de Magalhães Narvaez, MSc<sup>1,4</sup>; Felipe Ornell<sup>1</sup>; Lisia von Diemen, MD, PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Drug and Alcohol Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Director, Center for Drug and Alcohol Research, HCPA, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil. Department of Legal Medicine and Psychiatry, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>3</sup>National Institute of Science and Technology for Translational Medicine, HCPA, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil. Bipolar Disorder Program and Molecular Psychiatry Laboratory, HCPA, Porto Alegre, RS, Brazil. Department of Legal Medicine and Psychiatry, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>4</sup> Bipolar Disorder Program and Molecular Psychiatry Laboratory, HCPA, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>5</sup>Graduate Program in Biological Sciences: Biochemistry, Department of Biochemistry, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

## Abstract

*Rationale:* An important goal of addiction research is to discover neurobiological markers that could predict the severity of addiction and help to determine appropriate treatment. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) are being related to cerebral plasticity and impairment caused by substance abuse. *Objectives:* Evaluate alteration of TBARS and BDNF levels among crack cocaine users during early drug withdrawal and its relationship to severity of drug use. *Methods:* 49 adults crack cocaine users were recruited at a public psychiatric hospital with a specialized addiction treatment unit. Blood sample was collected at intake and discharge for the analysis of TBARS and BDNF measures. Information about drug use was assessed by the Addiction Severity Index - 6th Version (ASI-6). Detailed information about crack cocaine use was obtained through the "Profile of the crack cocaine user". Severity of crack use was estimated using information from age of first crack use, years of crack use and crack rocks used in the previous 30 days. *Results:* There is a positive correlation between TBARS levels and severity of crack cocaine use ( $R=0.304$ ,  $p=0.04$ ) and a negative correlation between BDNF and severity of crack cocaine use ( $R=-0.359$ ,  $p=0.01$ ) at discharge. Also, we found an inverse correlation between TBARS and BDNF levels ( $R=-0.294$ ,  $p=0.004$ ) at discharge. *Conclusions:* Our findings suggest that BDNF and TBARS could be possible markers for the severity of drug use. Further studies may show how those markers could be related to staging, prognosis and treatment in crack cocaine dependence.

Keywords: abstinence, cocaine, drug abuse, BDNF, plasticity, oxidative stress



## **Oxidative stress and BDNF as possible markers for severity of crack cocaine use in early withdrawal**

### **Introduction**

There is a growing body of evidence implicating oxidative stress in the pathogenesis of many psychiatric disorders, including drug addiction (Calabrese *et al.*, 2001; Kovacic *et al.*, 2005; Halliwell, 2006; Valko *et al.*, 2007). While oxygen is essential for aerobic life, excessive amounts of free radical metabolic by-products are toxic causing damage to cellular proteins, lipids, carbohydrates and nucleic acids; they can also evoke malfunction in many organs, including the brain (Davies, 1995; Kovacic, 2005; Filomeni *et al.*, 2006; Ng *et al.*, 2008; Muriach *et al.*, 2010). Pre-clinical studies have suggested that oxidative stress markers are increased in alcohol, cocaine, methamphetamine, nicotine and opioid abuse and can contribute to the impairment caused by the chronic use of these substances, leading to damage of brain cells and apoptosis (Kovacic *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2009b; Pomierny-Chamiolo *et al.*, 2012). Clinical studies conducted with alcohol and methamphetamine users have corroborated animal findings that show elevated lipid peroxidation and reduced anti-oxidant defenses (Govitrapong *et al.*, 2009; Huang *et al.*, 2009b). Besides that, malondialdehyde (MDA) levels, an oxidative stress marker, have been correlated to years of alcohol dependence and severity of alcohol withdrawal in the first day of detoxification, suggesting that alterations in the brain caused by years of alcohol use could evoke worst symptoms of alcohol abstinence (Huang *et al.*, 2009a). However, there is lack of information on how oxidative stress is involved in the etiopathogenesis and prognosis of cocaine and crack cocaine use.

There are different ways to estimate oxidative stress, since many compounds make part of this process. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) are low-molecular weight substances, consisting largely of malondialdehyde (MDA), which are formed by the decomposition of unstable lipid peroxidation products and react with thiobarbituric acid to form fluorescent adducts (Fukunaga *et al.*, 1998). Lipid peroxidation is the first cytotoxic cell event and can be used as an indicator of cellular oxidative stress. TBARS levels are elevated in plasma, platelets, erythrocytes and leukocytes in severe brain illnesses such as schizophrenia (Ng *et al.*, 2008). The intensity of oxidative stress is related to the stage of some diseases - especially in more advanced stages. Among bipolar patients, a variety of mechanisms has been suggested to explain cocaine toxicity, including the possibility that cocaine induces an increase in oxidative stress due to excessive oxidation of dopamine (e.g. dopamine quinone), or by redox

cycling of cocaine oxidized metabolites (Numa *et al.*, 2008; Kapczinski *et al.*, 2010; Magalhães *et al.*, 2012). Also, the development of an addiction disorder with compulsive drug seeking behavior can increase the severity of oxidative stress that occurs in the brain caused by its consumption (Pomierny-Chamiolo *et al.*, 2012). However, the association between oxidative status in the brain and cocaine induced-behavior during withdrawal and course of the disorder is poorly understood.

On the other hand, neurotrophins play an important role in various processes of neuronal protection, contributing to their proliferation, migration, differentiation, survival and apoptosis, thus acting in synaptic plasticity (Bartkowska *et al.*, 2010). Among the neurotrophins, Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) has the more established evidence about its influence in synaptic plasticity. BDNF has an implication on the bases of pathophysiology, prognosis and response to treatment of various neuropsychiatric disorders, including the addictions (Castren, 2004; McGinty *et al.*, 2011). Most of the existing knowledge concerning the importance of BDNF in cocaine addiction comes from animal model studies, showing that BDNF might act directly on cocaine-induced neuroadaptation, which is related to the development of dependence, symptoms of craving, relapse, and drug sensitization (Corominas *et al.*, 2007; McGinty *et al.*, 2010). Initial findings showed that local infusion of BDNF in the ventral tegmental area and nucleus accumbens (NAc) increase booster responses to cocaine use, and an overall decrease in BDNF exerts opposite effects (Lu *et al.*, 2004). However, studies in humans are scarce. There are a few human studies that show how BDNF is expressed after cessation of drug use. BDNF levels seem to have a trend to increase during the process of crack cocaine withdrawal, coming back to normal levels (healthy controls), which may be an indicative of brain recovery (von Diemen *et al.*, 2013).

The significance of changes in the levels of BDNF in substance users is still controversial. In patients using alcohol, marijuana, methamphetamine and heroin, BDNF levels do not seem to be different when compared with controls, but some studies show either decrease or elevation of BDNF levels (Kim *et al.*, 2005; Angelucci *et al.*, 2007; Huang *et al.*, 2008; Angelucci *et al.*, 2010; Heberlein *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2011; Heberlein *et al.*, 2011; D'Sa *et al.*, 2012). In ecstasy (MDMA) users BDNF levels appear to be elevated (Angelucci *et al.*, 2010). Among cocaine users, BDNF levels increase during the early period of abstinence, but not during late abstinence (Grimm *et al.*, 2003; McGinty *et al.*, 2010). Moreover, the acute administration of cocaine tends to alter the levels of BDNF in different brain regions when compared to chronic administration of the substance (Fumagalli *et al.*, 2007; McGinty *et al.*,

2010; Fumagalli *et al.*, 2013; Giannotti *et al.*, 2014). Increased levels of BDNF appear to be correlated with reduced craving at the beginning of cocaine withdrawal, but this finding cannot be sustained throughout the whole period (Li *et al.*, 2013; St Laurent *et al.*, 2013). On the other hand, the increase of BDNF during early cocaine abstinence seems to be positively associated with the likelihood of early relapse, and with the amount of inhaled cocaine within 90 days (Corominas-Roso *et al.*, 2013). Thus, the implication of the variation in BDNF in the prognosis of the disorder is even more controversial.

Although crack cocaine has arisen in the United States in the late 80's, there are still very few studies about this type of cocaine use; it is known that the clinical effects resulting from crack cocaine appear to be even more harmful than other forms of cocaine administration (Hamid, 1992; Henskens *et al.*, 2008; von Diemen *et al.*, 2010; Paim Kessler *et al.*, 2012). Therefore, it becomes very important to understand which brain mechanisms are related to the specific use of crack cocaine and its detoxification process. To the best of our knowledge, only one study evaluated levels of BDNF and oxidative stress in crack cocaine users, and it showed that crack cocaine use in a sample of outpatients was associated with higher BDNF levels when compared to controls, but there were no significant differences in oxidative damage between groups and controls (Narvaez *et al.*, 2013). The aim of this study is to evaluate alteration of oxidative stress molecules and BDNF among crack cocaine users during early drug withdrawal and its relationship with severity of drug use.

## **Experimental Procedures**

### *Sample Selection*

Forty nine male crack cocaine users at the age of 18 years or more and positive urine cocaine test (Bioeasy<sup>®</sup> cocaine test, Alere<sup>™</sup>, Belo Horizonte, Brazil) were recruited at a public psychiatric hospital with a specialized addiction treatment unit in Porto Alegre, Brazil. Subjects were excluded if they were considered unable to participate based on clinical and psychiatric examination (ex. severe psychosis or depression) or a measured intelligence quotient <70, or did not agree to sign a written informed consent. For the control group, 97 male non crack/cocaine users, 18 years or more, were recruited from records of a Primary Care center from neighborhoods similar to the crack users original surroundings (described elsewhere).(von Diemen *et al.*, 2013) Controls were excluded if they reported cocaine use in the last year, had positive urine screening for cocaine, or refused to sign a written informed consent.

### *Procedures*

Patients were invited to participate in the study as soon as they were able to understand study objectives. Interviews were conducted between the fifth and seventh day of detoxification to circumvent potential cognitive impairment on the first days of hospitalization. Controls were visited at their home and asked if they would accept to participate in the study. If so, a urine screening test for crack/cocaine was performed. All subjects who self-reported not to be a crack/cocaine user and presented a negative urine test for cocaine were interviewed and had a blood sample collected.

Information about drug use was assessed by the Addiction Severity Index- 6th Version (ASI-6), validated for Brazilian Portuguese (Kessler *et al.*, 2012). Detailed information about crack cocaine use was obtained through a questionnaire in development by our group but not yet validated - the "Profile of the crack user". This is a scale that comprises 27 questions about the intensity, impact and evolution of crack use. It is in process of validation by the author Rosemeri Pedroso. Intelligence quotient was estimated using vocabulary and block design tests from the Wechsler Adult Intelligence Scale<sup>®</sup> – third edition (WAIS III) (NASCIMENTO, 2002).

### *Blood collection and processing*

For inpatients, ten milliliters of blood were collected by venipuncture into a free-anticoagulant vacuum tube on the first 24 hours of hospitalization and in the 24 hours previous to hospital discharge. Controls had a blood collection by the time they responded to the interview at home. For inpatients and controls, blood was centrifuged at 4,000 rpm for 10 minutes and serum was aliquoted immediately after being obtained, and then labeled and stored at -80°C until assayed. In case the patient was not able to sign the written informed consent at the first blood collection, it was stored until the patient had mental conditions to provide it. If the patient refused participation, the sample was discarded.

### *Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) assay*

The levels of lipid peroxidation were measured by the method of TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) using the TBARS assay kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor), according to the manufacturer's instructions. In this method, the quantification of lipid peroxidation products is performed by serum formation of substances reacting to 2-thiobarbituric acid (TBA), which is the analysis of the final products of lipid peroxidation (lipid

peroxides, malondialdehyde and other aldehydes of low molecular weight) that react with TBA to form Schiff bases. These complexes exhibit color and its concentration can be determined spectrophotometrically at 535 nm. The results are expressed in  $\mu\text{M}$  of malondialdehyde (MDA).

#### *Brain-Derived Neurotrophic-Factor assay*

The levels of serum BDNF concentrations were measured using a sandwich ELISA method with monoclonal antibodies specific for BDNF from R&D Systems (Minneapolis, USA). Human BDNF MAb (Clone 37129) - a mouse IgG2a isotype, was used as the capture antibody, and human BDNF biotinylated MAb (Clone 37141), another mouse IgG2a isotype, was used as the detection antibody. Briefly, microtiter plates (96-well, flat-bottom) were coated overnight at 4 °C with the anti-BDNF capture antibody at 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in phosphate buffered saline (PBS). Then, plates were washed with wash buffer (PBS, pH 7.4, with 0.05% Tween 20) and blocked for 1 hour at room temperature with PBS containing 5% nonfat milk powder. After washing, plates were coated overnight at 4 °C with the samples diluted 1:200 in PBS with 1% bovine serum albumin; the standard curve of BDNF ranged from 7.8 to 500  $\text{pg}/\text{mL}$ . Plates were washed and the anti-BDNF detection antibody (0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was added for another 2-hour incubation. After washing, incubation with streptavidin-peroxidase conjugate (diluted 1:200 in sample diluent) was performed for 20 minutes at room temperature. Finally, plates were washed again and incubated with a substrate solution for 20 minutes, followed by a stop solution ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M). BDNF levels were determined by absorbance at 450 nm with correction at 540 nm. The standard curve demonstrated a direct relationship between optical density (OD) and BDNF concentration.

#### *Statistical Analysis*

Variables with normal and asymmetrical distribution were compared using Student's *t* test and Mann-Whitney test, respectively. Variables with a normal distribution were presented by the mean and standard deviation. Variables with an asymmetric distribution were presented by the median and interquartile range. Correlations between two variables with normal and asymmetrical distribution were performed through Pearson and Spearman correlation test, respectively. Categorical variables were compared using Chi-square test. Crack rocks used in the last 30 days were estimated by  $[(\text{rocks per week}/7) * \text{number of days using crack in the previous 30 days}]$ . Severity of crack use was estimated using information from age of first crack use, years of crack use and crack rocks used in the previous 30 days. First crack use at age 11

years old was considered as 10 points, with a reduction of one point per year until 20 years ( 1 point) and zero to 21 years old or above; years of crack use was valued as 1 point per year; number of crack rocks in the last 30 days was valued as lowest thru 5.99=1, 6 thru 21=2, 22 thru 40=3, 41 thru 72=4, 73 thru 103=5, 104 thru 142=6, 142 thru 200=7, 201 thru 343=8, 344 thru 515=9 and 516 or more=10. Numbers obtained in these three variables were added to generate a *severity score of crack use*. More and less severe crack users were categorized into two groups divided by the median.

### *Ethics*

The study was approved by the Institutional Review Board and Ethics Committee of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre and of the Hospital São Pedro. All participants provided written informed consents.

## **Results**

### *Demographic Characteristics*

Crack users were similar to controls in terms of age and race, although they had fewer years of education and lower intelligence quotient (IQ) ( $p<0.05$ ;  $p<0.001$  respectively). Crack users consumed more alcohol and drugs other than crack when compared to controls (Table 1).

**(Please insert Table 1 about here)**

### *TBARS and BDNF serum levels in crack users and controls*

TBARS levels were not different from controls at admission ( $p=0.63$ ) and discharge ( $p=0.58$ ), although a tendency toward higher levels was observed at admission. BDNF levels were smaller than controls at admission ( $p<0.001$ ) and discharge ( $p=0.08$ ) (Table 1). At discharge, there was a negative correlation between BDNF and TBARS levels (Figure 1).

**(Please insert Figure 1 about here)**

Also, TBARS and BDNF levels were correlated to severity of crack use even when controlled for age and inpatient days (Figure 2).

**(Please insert Figure 2 about here)**

Subjects were divided into two groups by the median of severity of crack use. Crack users with  $>14.90$  ( $n=25$ ) points were considered severe and crack users showing scores below this cutoff

were considered less severe (n=23). BDNF levels were significantly lower in those subjects with a more severe crack use when compared to those with a less severe crack use and TBARS levels were significantly higher in those subjects with a more severe crack use when compared with those with a less severe crack use at discharge (Table 2).

**(Please insert Table 2 about here)**

## **Discussion**

To the best of our knowledge, this is the first clinical longitudinal study that compares alterations in BDNF and TBARS blood levels in crack cocaine users during early withdrawal. Results show that there is a significant correlation between alteration of TBARS and BDNF at discharge and severity of crack use.

Our findings show that subjects with less severity of crack use are correlated with the increase in BDNF levels after early withdrawal. Also, similar results can be found in studies with alcohol-dependent subjects, which have reported increased BDNF levels after withdrawal (Huang *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2009). It has been shown in different studies that the evolution of psychiatric disorders is associated with lower levels of BDNF (Duman *et al.*, 2006). In bipolar patients there is a correlation between lower levels of BDNF and increase in lipid peroxidation with the recurrence of manic episodes, and this is related to the severity of symptoms (Kapczinski *et al.*, 2008). Subjects with acute stress disorder tend to present with higher levels of BDNF when compared to controls, although they tend to decrease levels of BDNF over time. This may be to a healthy response of the brain to recover from acute stress. On the other hand, those who develop chronic post-traumatic stress disorder tend to present lower levels of BDNF than controls (Hauck *et al.*, 2009; Hauck *et al.*, 2010). This phenomenon could explain why we couldn't find a difference in BDNF levels at discharge between cases and controls in our study when we consider the whole sample. It probably represents patients with an acute drug use as much as patients with chronic use. When we consider the severity of crack use, it became clearer that years and intensity of crack cocaine use is related to lower levels of BDNF.

At the same time, we found a direct correlation between severity of crack cocaine use and TBARS levels. In cocaine use, increase in oxidative stress is associated with apoptosis in cardiac cells, but still there is a lack of information on how crack cocaine could cause impairment in brain cells (Cerretani *et al.*, 2012). Oxidative stress could damage cell functioning and evoke cell death by necrosis or apoptosis (Halliwell, 2006). It would be appropriate to think that apoptosis could play a part on the difficulty of regeneration and homeostasis of the brain neurophysiology. Stress oxidative mechanisms have been linked to a

variety of psychiatric disorders, like affective disorders (Andreazza *et al.*, 2008), major depression (Sarandol *et al.*, 2007), anxiety disorders (Kuloglu *et al.*, 2002) and attention deficit hyperactive disorder (Dvorakova *et al.*, 2006). A study with amphetamine users showed that TBARS levels were increased when compared to healthy controls while anti-oxidant agents were decreased (Govitrapong *et al.*, 2009). Also, animal model studies show that an increase in free radicals and a decrease in anti-oxidant agents in the pre-frontal cortex and hippocampus are related to animal self administration of cocaine when compared to those who receive the drug passively, demonstrating how oxidative stress is related to addictive behavior (Nestler, 2004; Pomierny-Chamiolo *et al.*, 2012). We could not find a significant difference between TBARS in crack cocaine users and controls, although there was a tendency towards higher levels of TBARS in crack cocaine users. This could be due to a small sample size, and therefore future studies would be important to confirm or reject this find. Alternatively, we could consider that the sample had different profiles of severity of substance use, and when we compared the more severe with the less severe, we could find a significant difference in TBARS levels at discharge, which is in accordance to previous studies (Dias *et al.*, 2011; Magalhães *et al.*, 2012).

An interesting finding of our study is the inverse correlation that we found between BDNF and TBARS levels at discharge. It shows that while BDNF levels increases in the brain of those crack cocaine patients, oxidative stress decreases, which could represent that those subjects with more preserved brain plasticity could overcome acute oxidative stress. It also shows that there are different profiles of brain recovery in this sample of patients. There is evidence that oxidative stress is associated to cognitive impairment and that increasing in BDNF is positively correlated with semantic generation tasks. (Asevedo *et al.*, 2013) Therefore severity of crack use and alterations in BDNF and TBARS levels could be an important subject of study to understand why some patients respond to cognitive behavioral treatments while a group of patients does not seem to have much improvement with this type of psychotherapy (Henskens *et al.*, 2008; Dias *et al.*, 2011).

One limitation of our study is that data were collected in a public psychiatric clinic and all patients were hospitalized - which could represent a more severe substance use disorder when compared to outpatients. Also, it is difficult to determine if alterations in BDNF and TBARS are due to impairment caused by years of drug use or a result of intrinsic mechanisms that could occur in a greater abstinence syndrome in those with a more severe addiction disorder. Previous findings of our group suggest that a more severe drug use is related to



decrease in BDNF levels (von Diemen *et al.*, 2013). To know that there is an inverse correlation between BDNF and TBARS levels at discharge reinforce the hypothesis that BDNF could be a marker of brain plasticity and TBARS could be a marker of brain impairment caused by crack cocaine. A large portion of crack cocaine users tend to use other types of drugs as tobacco and alcohol as well. (Usdan *et al.*, 2001) Previous studies of our group showed that comorbidity with other types of drug use were not a confounding factor of the alteration of BDNF during crack cocaine withdrawal. (von Diemen *et al.*, 2013) Moreover, the effect of crack cocaine use isolated from other substances is very difficult to measure in a human sample and it also wouldn't represent the reality of crack cocaine users since most of them are a multiple drug user.

Biological markers are still a very incipient subject in most substance use disorders studies, and staging crack cocaine dependence is a very complex task considering the variety of clinical, psychosocial and biological things that evolve substance use disorder. The inverse correlation that we found between TBARS and BDNF levels as much as its correlation to the severity of crack cocaine use suggests that neuroplasticity could be more preserved on those patients with a less severe drug use. This could be an important matter towards staging crack cocaine use in the future. A recent study showed that higher levels of BDNF after withdrawal are related to early relapse in cocaine users, suggesting that BDNF could be a marker of prognosis for those patients.(D'Sa *et al.*, 2011) Different from our study, they did not find a correlation between measures of severity of cocaine use and alterations in BDNF. However, inhaled cocaine and smoked crack cocaine are related to different forms of drug administration and therefore could have a different impact in the brain.

As we still have difficulty to determine specific biological markers for substance use disorder, the knowledge that there is a correlation between the severity of crack cocaine use and brain alterations in plasticity and oxidative stress could help determine individualized treatments in order to improve treatment outcomes and therapeutic strategies. Our findings suggest that BDNF and TBARS could be possible markers for the severity of drug use. Also, results show that after early withdrawal we can identify different groups of patients in terms of the severity of crack cocaine use and how it is associated to those neurobiological alterations. Further studies could show the behavior of those biological markers in a long term withdrawal and it's correlation to the trajectory of crack use after discharge.

## Statement of Interest

None.

## References

- Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, *et al.* (2008). Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord* **111**(2-3): 135-144.
- Angelucci F, Ricci V, Martinotti G, Palladino I, Spalletta G, Caltagirone C, *et al.* (2010). Ecstasy (MDMA)-addicted subjects show increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor, independently from a rise of drug-induced psychotic symptoms. *Addict Biol* **15**(3): 365-367.
- Angelucci F, Ricci V, Pomponi M, Conte G, Mathé AA, Attilio Tonali P, *et al.* (2007). Chronic heroin and cocaine abuse is associated with decreased serum concentrations of the nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *J Psychopharmacol* **21**(8): 820-825.
- Asevedo E, Gadelha A, Noto C, Mansur RB, Zugman A, Belangero SI, *et al.* (2013). Impact of peripheral levels of chemokines, BDNF and oxidative markers on cognition in individuals with schizophrenia. *J Psychiatr Res* **47**(10): 1376-1382.
- Bartkowska K, Turlejski K, Djavadian RL (2010). Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* **70**(4): 454-467.
- Calabrese V, Scapagnini G, Giuffrida Stella AM, Bates TE, Clark JB (2001). Mitochondrial involvement in brain function and dysfunction: relevance to aging, neurodegenerative disorders and longevity. *Neurochem Res* **26**(6): 739-764.
- Castren E (2004). Neurotrophins as mediators of drug effects on mood, addiction, and neuroprotection. *Mol Neurobiol* **29**(3): 289-302.
- Cerretani D, Fineschi V, Bello S, Riezzo I, Turillazzi E, Neri M (2012). Role of oxidative stress in cocaine-induced cardiotoxicity and cocaine-related death. *Curr Med Chem* **19**(33): 5619-5623.
- Corominas M, Roncero C, Ribases M, Castells X, Casas M (2007). Brain-derived neurotrophic factor and its intracellular signaling pathways in cocaine addiction. *Neuropsychobiology* **55**(1): 2-13.
- Corominas-Roso M, Roncero C, Eiroa-Orosa FJ, Gonzalvo B, Grau-Lopez L, Ribases M, *et al.* (2013). Brain-derived neurotrophic factor serum levels in cocaine-dependent patients during early abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol* **23**(9): 1078-1084.

- Costa MA, Girard M, Dalmay F, Malauzat D (2011). Brain-derived neurotrophic factor serum levels in alcohol-dependent subjects 6 months after alcohol withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* **35**(11): 1966-1973.
- D'Sa C, Dileone RJ, Anderson GM, Sinha R (2012). Serum and plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in abstinent alcoholics and social drinkers. *Alcohol* **46**(3): 253-259.
- D'Sa C, Fox HC, Hong AK, Dileone RJ, Sinha R (2011). Increased serum brain-derived neurotrophic factor is predictive of cocaine relapse outcomes: a prospective study. *Biol Psychiatry* **70**(8): 706-711.
- Davies KJ (1995). Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* **61**: 1-31.
- Dias AC, Vieira DL, Gomes LS, Araujo MR, Laranjeira R (2011). Longitudinal outcomes among a cohort of crack users after 12 years from treatment discharge. *J Addict Dis* **30**(3): 271-280.
- Duman RS, Monteggia LM (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* **59**(12): 1116-1127.
- Dvorakova M, Sivonova M, Trebaticka J, Skodacek I, Waczulikova I, Muchova J, *et al.* (2006). The effect of polyphenolic extract from pine bark, Pycnogenol on the level of glutathione in children suffering from attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Redox Rep* **11**(4): 163-172.
- Filomeni G, Ciriolo MR (2006). Redox control of apoptosis: an update. *Antioxid Redox Signal* **8**(11-12): 2187-2192.
- Fukunaga K, Yoshida M, Nakazono N (1998). A simple, rapid, highly sensitive and reproducible quantification method for plasma malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* **12**(5): 300-303.
- Fumagalli F, Di Pasquale L, Caffino L, Racagni G, Riva MA (2007). Repeated exposure to cocaine differently modulates BDNF mRNA and protein levels in rat striatum and prefrontal cortex. *Eur J Neurosci* **26**(10): 2756-2763.
- Fumagalli F, Moro F, Caffino L, Orrù A, Cassina C, Giannotti G, *et al.* (2013). Region-specific effects on BDNF expression after contingent or non-contingent cocaine i.v. self-administration in rats. *Int J Neuropsychopharmacol* **16**(4): 913-918.
- Giannotti G, Caffino L, Calabrese F, Racagni G, Riva MA, Fumagalli F (2014). Prolonged abstinence from developmental cocaine exposure dysregulates BDNF and its signaling network in the medial prefrontal cortex of adult rats. *Int J Neuropsychopharmacol* **17**(4): 625-634.

Govitrapong P, Boontem P, Kooncumchoo P, Pinweha S, Namyen J, Sanvarinda Y, *et al.* (2009). Increased blood oxidative stress in amphetamine users. *Addict Biol* **15**(1): 100-102.

Grimm JW, Lu L, Hayashi T, Hope BT, Su TP, Shaham Y (2003). Time-dependent increases in brain-derived neurotrophic factor protein levels within the mesolimbic dopamine system after withdrawal from cocaine: implications for incubation of cocaine craving. *J Neurosci* **23**(3): 742-747.

Halliwel B (2006). Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* **97**(6): 1634-1658.

Hamid A (1992). The developmental cycle of a drug epidemic: the cocaine smoking epidemic of 1981-1991. *J Psychoactive Drugs* **24**(4): 337-348.

Hauck S, Gomes F, Silveira Júnior EeM, Almeida E, Possa M, Ceitlin LH (2009). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in acute and posttraumatic stress disorder: a case report study. *Rev Bras Psiquiatr* **31**(1): 48-51.

Hauck S, Kapczinski F, Roesler R, de Moura Silveira E, Magalhães PV, Kruehl LR, *et al.* (2010). Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with trauma psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**(3): 459-462.

Heberlein A, Muschler M, Frieling H, Lenz B, Wilhelm J, Gröschl M, *et al.* (2011). Decreased galanin serum levels are associated with alcohol-craving during withdrawal. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **35**(2): 568-572.

Heberlein A, Muschler M, Wilhelm J, Frieling H, Lenz B, Groschl M, *et al.* (2010). BDNF and GDNF serum levels in alcohol-dependent patients during withdrawal. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **34**(6): 1060-1064.

Henskens R, Garretsen H, Bongers I, Van Dijk A, Sturmans F (2008). Effectiveness of an outreach treatment program for inner city crack abusers: compliance, outcome, and client satisfaction. *Subst Use Misuse* **43**(10): 1464-1475.

Huang MC, Chen CC, Peng FC, Tang SH, Chen CH (2009a). The correlation between early alcohol withdrawal severity and oxidative stress in patients with alcohol dependence. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **33**(1): 66-69.

Huang MC, Chen CH, Liu SC, Ho CJ, Shen WW, Leu SJ (2008). Alterations of serum brain-derived neurotrophic factor levels in early alcohol withdrawal. *Alcohol Alcohol* **43**(3): 241-245.

Huang MC, Chen CH, Peng FC, Tang SH, Chen CC (2009b). Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdrawal in alcoholic patients. *J Formos Med Assoc* **108**(7): 560-569.

Kapczinski F, Dal-Pizzol F, Teixeira AL, Magalhaes PV, Kauer-Sant'Anna M, Klamt F, *et al.* (2010). A systemic toxicity index developed to assess peripheral changes in mood episodes. *Mol Psychiatry* **15**(8): 784-786.

Kapczinski F, Vieta E, Andreazza AC, Frey BN, Gomes FA, Tramontina J, *et al.* (2008). Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. *Neurosci Biobehav Rev* **32**(4): 675-692.

Kessler F, Cacciola J, Alterman A, Faller S, Souza-Formigoni ML, Cruz MS, *et al.* (2012). Psychometric properties of the sixth version of the Addiction Severity Index (ASI-6) in Brazil. *Rev Bras Psiquiatr* **34**(1): 24-33.

Kim DJ, Roh S, Kim Y, Yoon SJ, Lee HK, Han CS, *et al.* (2005). High concentrations of plasma brain-derived neurotrophic factor in methamphetamine users. *Neurosci Lett* **388**(2): 112-115.

Kovacic P (2005). Unifying mechanism for addiction and toxicity of abused drugs with application to dopamine and glutamate mediators: electron transfer and reactive oxygen species. *Med Hypotheses* **65**(1): 90-96.

Kovacic P, Cooksy AL (2005). Unifying mechanism for toxicity and addiction by abused drugs: electron transfer and reactive oxygen species. *Med Hypotheses* **64**(2): 357-366.

Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan E, Gecici O, Tunckol H, Ustundag B (2002). Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychobiology* **46**(1): 27-32.

Lee BC, Choi IG, Kim YK, Ham BJ, Yang BH, Roh S, *et al.* (2009). Relation between plasma brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in the male patients with alcohol dependence. *Alcohol* **43**(4): 265-269.

Li X, DeJoseph MR, Urban JH, Bahi A, Dreyer JL, Meredith GE, *et al.* (2013). Different roles of BDNF in nucleus accumbens core versus shell during the incubation of cue-induced cocaine craving and its long-term maintenance. *J Neurosci* **33**(3): 1130-1142.

Lu L, Dempsey J, Liu SY, Bossert JM, Shaham Y (2004). A single infusion of brain-derived neurotrophic factor into the ventral tegmental area induces long-lasting potentiation of cocaine seeking after withdrawal. *J Neurosci* **24**(7): 1604-1611.

Magalhães PV, Jansen K, Pinheiro RT, Colpo GD, da Motta LL, Klamt F, *et al.* (2012). Peripheral oxidative damage in early-stage mood disorders: a nested population-based case-control study. *Int J Neuropsychopharmacol* **15**(8): 1043-1050.

McGinty JF, Mendelson JE (2011). Is brain-derived neurotrophic factor a selective biomarker that predicts cocaine relapse outcomes? *Biol Psychiatry* **70**(8): 700-701.

McGinty JF, Whitfield TW, Jr., Berglind WJ (2010). Brain-derived neurotrophic factor and cocaine addiction. *Brain Res* **1314**: 183-193.

Muriach M, López-Pedrajas R, Barcia JM, Sanchez-Villarejo MV, Almansa I, Romero FJ (2010). Cocaine causes memory and learning impairments in rats: involvement of nuclear factor kappa B and oxidative stress, and prevention by topiramate. *J Neurochem* **114**(3): 675-684.

Narvaez JC, Magalhães PV, Fries GR, Colpo GD, Czepielewski LS, Vianna P, *et al.* (2013). Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. *Neurosci Lett* **544**: 80-84.

NASCIMENTO Ed (2002). WISC-III e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil, FIGUEIREDO VLMd (ed) Vol. 15. Porto Alegre: Psicol. Reflex. Crit.

Nestler EJ (2004). Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* **47 Suppl 1**: 24-32.

Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI (2008). Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol* **11**(6): 851-876.

Numa R, Kohen R, Poltyrev T, Yaka R (2008). Tempol diminishes cocaine-induced oxidative damage and attenuates the development and expression of behavioral sensitization. *Neuroscience* **155**(3): 649-658.

Paim Kessler FH, Barbosa Terra M, Faller S, Ravy Stolf A, Carolina Peuker A, Benzano D, *et al.* (2012). Crack users show high rates of antisocial personality disorder, engagement in illegal activities and other psychosocial problems. *Am J Addict* **21**(4): 370-380.

Pomierny-Chamiolo L, Moniczewski A, Wydra K, Suder A, Filip M (2012). Oxidative Stress Biomarkers in Some Rat Brain Structures and Peripheral Organs Underwent Cocaine. *Neurotox Res*.

Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Erdinc S, Vatansever E, Kirli S (2007). Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. *Hum Psychopharmacol* **22**(2): 67-73.

St Laurent R, Helm SR, Glenn MJ (2013). Reduced cocaine-seeking behavior in heterozygous BDNF knockout rats. *Neurosci Lett* **544**: 94-99.

Usdan SL, Schumacher JE, Milby JB, Wallace D, McNamara C, Michael M (2001). Crack cocaine, alcohol, and other drug use patterns among homeless persons with other mental disorders. *Am J Drug Alcohol Abuse* **27**(1): 107-120.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* **39**(1): 44-84.

von Diemen L, De Boni R, Kessler F, Benzano D, Pechansky F (2010). Risk behaviors for HCV- and HIV-seroprevalence among female crack users in Porto Alegre, Brazil. *Arch Womens Ment Health* **13**(3): 185-191.

von Diemen L, Kapczinski F, Sordi AO, de Magalhães Narvaez JC, Guimarães LS, Kessler FH, et al. (2013). Increase in brain-derived neurotrophic factor expression in early crack cocaine withdrawal. *Int J Neuropsychopharmacol*: 1-8.

**Table 1. Demographic characteristics and pattern of use among cases and controls**

Variable	Crack users (n=49) Mean(SD)	Controls (n=97) Mean (SD)	p
Age	27.9(7.38)	30.0(8.37)	0.139
Caucasian – n(%)	35(71.4)	58(59.8)	0.231
8 years or less of schooling – n(%)	32 (65.3)	37(38.5)	<0.05
Intelligence quotient	81.9(9.7)	90.0(12.4)	<0.001
Inpatient days	18.3(4.1)	-	
Drug use disorder (other than crack cocaine)	22 (44.9)	3 (3.1)	<0.001
Alcohol use disorder	17 (34.7)	4 (4.1)	<0.001
Years of crack use (years)*	5 (3-7)	-	
Age of first crack use	21.5(6.6)	-	
Crack rocks used- last 30 days*	120.0 (28.6-285.7)	-	
Severity of crack use	14.90 (6.2)	-	
TBARS at admission (in $\mu$ M of MDA)*	11.0 (7.6 - 15.7)	10.5 (8.6-14.5)	0.63
TBARS at discharge (in $\mu$ M of MDA)*	10.4 (7.9 – 14.6)	10.5 (8.6-14.5)	0.58
BDNF at at admission (in ng/mL)	28.6(11.0)	39.5(10.6)	<0.001
BDNF at discharge (in ng/mL)	35.5(12.3)	39.5(10.6)	= 0.08

SD = Standard Deviation

\* Median (interquartile range)



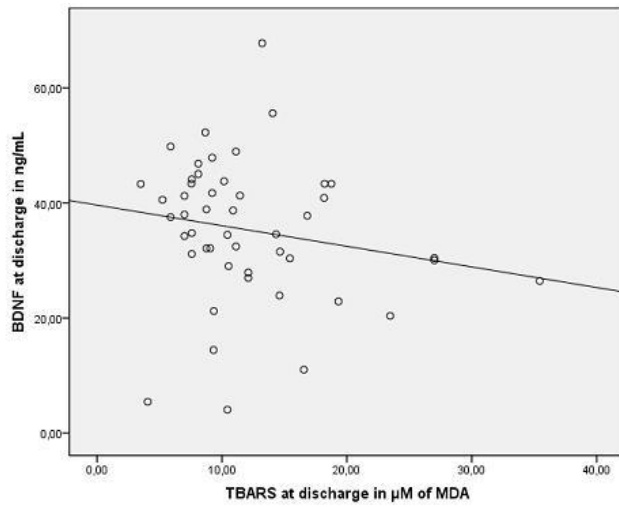
**Table 2. TBARS and BDNF levels among less and more severe crack users at discharge**

	Less Severe(n=25)	More Severe (n=23)	p
	Mean (SD)	Mean (SD)	
BDNF at discharge (SD)	38.9 (12.08)	30.45 (11.06)	0.02
TBARS at discharge (SD)	9.22 (3.29)	12.11 (7.89)	0.035

The significance level is 0.05

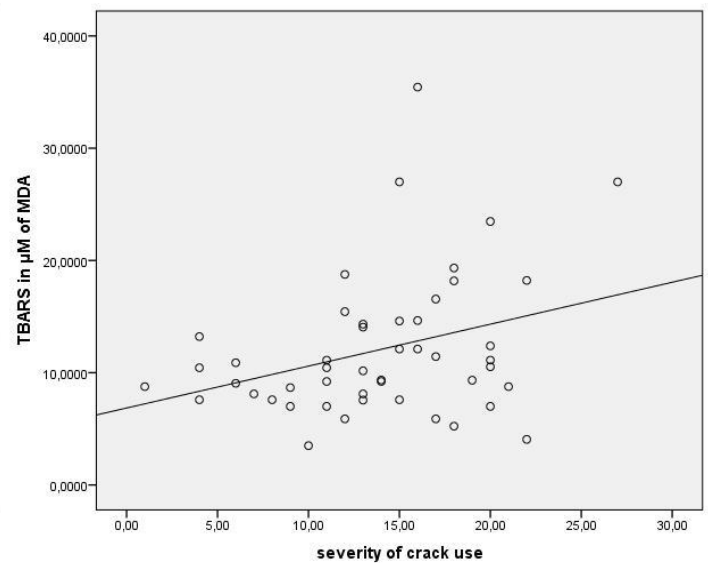
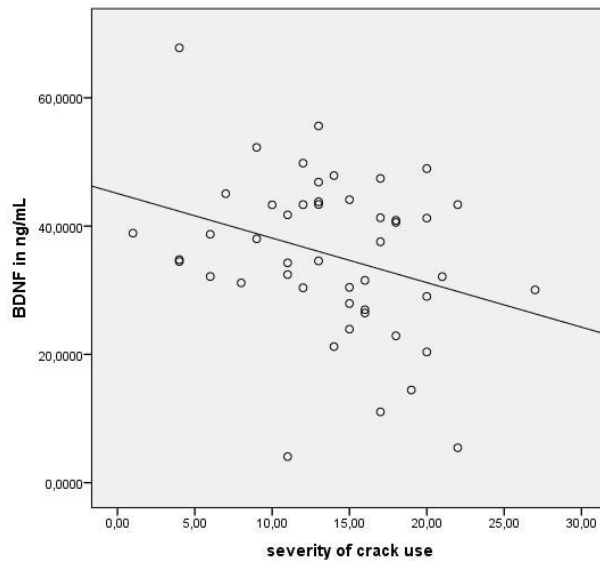
SD = Standard Deviation

**Figure 1. Correlation between BDNF and TBARS at discharge**



Spearman Correlation = -0.294  
p=0.043  
Significance 2-tailed: 0,05 level

**Figure 2. Correlation between TBARS and BDNF with Severity of crack use at discharge**



TBARS and Severity of crack use  
Partial Correlation: 0,304  
Significance 2-tailed: 0,04

BDNF and Severity of crack use  
Partial Correlation: - 0,359  
Significance 2-tailed: 0,01

**Artigo 2**

RESILIÊNCIA E TRAUMA NA INFÂNCIA NA DEPENDÊNCIA DE CRACK: UM ESTUDO DE CASO-  
CONTROLE

RESILIENCE AND CHILDHOOD TRAUMA IN CRACK/COCAINE DEPENDENCE: A CASE-CONTROL  
STUDY

Anne Orgler Sordi; Simone Hauck; Helen Laitano; Silvia Halpern; Silvia Schuch; Felix Kessler,  
Lisia Von Diemen; Joana Narvaez; Luciano S. P. Guimarães; Flávio Pechansky

**Submetido à revista: *Comprehensive Psychiatry***

Fator de Impacto: 2.55

## **Resilience and Childhood Trauma in Crack/Cocaine Dependence: A Case-Control Study**

Anne Orgler Sordi MD<sup>1</sup>; Simone Hauck MD, PhD; Helen Laitano<sup>1</sup>; Silvia Halpern McS<sup>1</sup>; Silvia Schuch MD<sup>1</sup>; Felix Kessler MD PhD<sup>1,2</sup>, Lisia Von Diemen MD PhD<sup>1</sup>, Joana Narvaez McSPHD<sup>1</sup>, Luciano S. P. Guimarães McS<sup>3</sup>; Flávio Pechansky MD PhD<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Center for Drug and Alcohol Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Rua Prof. Álvaro Alvim 400, CEP 90420-020, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup> Professor of the Department of Legal Medicine and Psychiatry, UFRGS. Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>3</sup> Biostatistics Department, HCPA. Rua Ramiro Barcelos 2350, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil.

## **Abstract**

**Background:** Crack cocaine dependence is a health problem of epidemic proportions and there is lack of evidence concerning vulnerability factors that could lead to crack cocaine use. The aim of this study is to investigate characteristics of resilience in a group of crack cocaine users and its association with childhood trauma and PTSD.

**Method:** This is a case-control study in which we evaluated 218 crack cocaine inpatients users and 215 healthy controls, recruited from the capital city of the southern State of Brazil. Childhood Trauma was evaluated with the Childhood Trauma Questionnaire; resilience was evaluated with the Resilience Scale; and post-traumatic stress disorder (PTSD) was evaluated with the Mini-International Neuropsychiatric Interview.

**Results:** Childhood trauma was significantly higher among crack cocaine users in all trauma domains ( $p < 0.001$ ), except for sexual abuse. Most resilience scores was lower among crack cocaine users ( $p < 0.01$ ). To have higher scores of childhood trauma and lower scores of resilience increase the odds to become a crack cocaine user ( $p < 0.001$ ), despite the diagnosis of PTSD.

**Discussion:** Childhood trauma appears to be a risk factor to become a crack cocaine user while resilience features may be a protection factor. To understand factors of vulnerabilities in this population is important for the development of more efficacious treatment and preventive strategies.

**Key Words:** childhood trauma; crack cocaine; PTSD; resilience; substance abuse

## 1. Introduction

Substance abuse is a health problem of epidemic proportions, which interferes in all segments of society and is related to individual vulnerabilities and environment (Pedroso, 2013). Crack cocaine use, in particular, poses a challenge for health professionals and investigators since a wide proportion of users have little motivation for treatment, and its use leads to impairment in many psychosocial aspects such as unemployment, cognitive impairment and risk for infectious diseases due to risky sexual behavior (Chermack, Walton, Fuller, & Blow, 2001; Copeland-Linder, Lambert, & Jalongo, 2010; Dias et al., 2011; Karch, 1999). Although its prevalence is not high among other types of drug use - life use is around 4,2% - it has high potential to cause dependence, and its abuse is associated with a number of negative outcomes for the individual, families and community, including death due to violence and criminal behavior (Paim Kessler et al., 2012; Ribeiro, Dunn, Sesso, Dias, & Laranjeira, 2006). However, there is a group of patients that develop a more stable pattern of use and are somehow more resilient to the impairment caused by this substance (Ribeiro, Dunn, Sesso, Lima, & Laranjeira, 2007).

Substance abuse, especially cocaine dependence, is highly associated with childhood trauma and Post Traumatic Stress Disorder (PTSD) (Nappo, 2014; Wu, Schairer, Dellor, & Grella, 2010). At the same time that traumatic events increase vulnerability to experimentation of psychoactive substances, drug use creates an environment that facilitates the onset of the aforementioned events, which can also affect brain structures and function. When trauma takes place during early development, it becomes a risk factor for the onset of a wide range of psychological manifestations such as major depression, anxiety, eating disorders, bipolar disorder and substance abuse (Khoury, Tang, Bradley, Cubells, & Ressler, 2010; Schiavone, Jaquet, Trabace, & Krause, 2013). Moreover, individuals with severe drug abuse and PTSD have an increased risk of relapse, and often these substances are used for self-medication, especially because during abstinence trauma reliving symptoms could be increased (Ouimette, Coolhart, Funderburk, Wade, & Brown, 2007). Therefore, the investigation of childhood trauma and PTSD must be addressed during treatment.

Literature demonstrates that there are different types of childhood trauma exposure (i.e. emotional, physical, and sexual abuse; emotional and physical neglect) which are associated with the risk of developing psychiatric comorbidity among alcoholic patients (Huang, Schwandt, Ramchandani, George, & Heilig, 2012; Khoury et al., 2010). These events

may lead to a change in the level of awareness of their environment, and an increasing inability to cope with everyday life stressors (Tate, McQuaid, & Brown, 2005). The high prevalence of a hostile environment - not unusual in the crack cocaine population - such as social disorganization, unfavorable economic conditions and violence, emphasizes the predisposition to traumatic events among a population that could be already vulnerable to the development of PTSD (Afful, Strickland, Cottler, & Bierut, 2010). Studies suggest that to evaluate the high co-occurrence PTSD and substance abuse is fundamental to understand the mechanisms of substance dependence, as well as to improve treatment programs (Tull et al., 2009; Wu et al., 2010). For instance, the history of stressful life events could increase oxidative stress in neurons, and lead to alterations in the hypothalamus- hypophysis adrenal axis (HAA-axis) which could interfere in the way brain respond to drug exposure (Schiavone et al., 2013).

On the other hand, despite all the impairment related to traumatic events, some individuals are able to develop effective coping responses, achieving success in one or more important areas of life, such as relationship with others, education, and family, which stands for a positive process of adaptation in a context of adversity and high risk. While coping is related to the development of strategies to use in case of adverse events, resilience is a concept related to the ability of dealing with a traumatic event and evolving with it, in a healthy and adaptive way (Davydov, Stewart, Ritchie, & Chaudieu, 2010; Herrenkohl, 2013; Masten, 2001). Some protective factors during early childhood - like having caring parents, education, the absence of childhood abuse or neglect, and a less conflicted family environment, are promoters of resilience when it comes to later exposure to risky situations such as drug experimentation, or overcoming traumatic events (Sameroff, 2000; Vanderbilt-Adriance & Shaw, 2008).

The assessment of resilience, to be valid, must be understood within the cultural context in which it is ascertained (Ungar, 2012). Studies that evaluate resilience in substance use disorder often use different parameters to measure it, such as time until relapse or subjective perceptions, but there are no studies evaluating resilience among cocaine users with valid psychometric scales (G. M. Wagnild & Young, 1993; Windle, Bennett, & Noyes, 2011) (G. Wagnild, 2009; G. M. Wagnild & Young, 1993). Having a valid measurement of resilience is an important issue in substance abuse studies, since literature suggests that resilience could play an important role in reducing relapse in alcohol and other psychoactive drugs, being considered a protective factor for substance use (Wingo, Ressler, & Bradley, 2014).

Understanding how resilience is expressed among crack cocaine users and its relationship to childhood abuse and the occurrence of PTSD could contribute for the improvement of treatment efficacy and the development of more appropriate public policies (Wingo et al., 2014). There are only a few studies evaluating resilience in substance users, and this is the first study to evaluate resilience in a sample of crack cocaine users. Therefore, the aim of this study was to investigate characteristics of resilience in a group of crack cocaine users and its association with childhood trauma and PTSD.

## **2. Methods**

### *2.1 Participants and procedures*

We recruited 218 crack cocaine users at the age of 18 years or more with positive urine cocaine test (Bioeasy<sup>®</sup> cocaine test, Alere™, Belo Horizonte, Brazil) at Hospital São Pedro, a public psychiatric hospital that has a specialized unit for the treatment of addiction located in Porto Alegre, southern Brazil. Subjects were excluded if they were considered unable to participate based on clinical and psychiatric examination (ex. severe psychosis or depression) or a measured intelligence quotient <70, or refused to sign a written informed consent. For the control group, 215 non-crack/cocaine users, 18 years or more, were recruited from records of a primary care center from neighborhoods similar to the crack users' original surroundings (described elsewhere)(von Diemen et al., 2013). Controls were excluded if they reported cocaine use in the last year, had positive urine screening for cocaine, or refused to sign a written informed consent. All data were collected by psychologist undergraduate students that were trained and supervised weekly by a panel of experts. Data were collected from April 2011 to February 2012

Patients were recruited and invited to participate in the study at the first day of hospitalization or as soon as they were able to understand study objectives. Interviews were conducted between the fifth and seventh day of detoxification to circumvent potential cognitive impairment on the first days of hospitalization.

Controls were visited at their home and asked if they would accept to participate in the study. A urine screening test for crack/cocaine was then performed. All subjects who self-



reported not to be a crack/cocaine user and presented a negative urine test for cocaine were interviewed.

Information about drug use was assessed by the Addiction Severity Index- 6th Version (ASI-6), validated for Brazilian Portuguese (Kessler et al., 2012). Intelligence quotient was estimated using vocabulary and block design tests from the Wechsler Adult Intelligence Scale® – third edition (WAIS III) which was validated to the Brazilian Portuguese (Nascimento, 2002). The diagnostic of other psychiatric disorders was assessed by the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI) - a semi-structured interview that is based on the DSM IV diagnosis. It has been translated into more than 30 different languages and is validated for the Brazilian population (Amorin, 2000).

## *2.2 Measures*

### *2.2.1 Resilience*

Resilience scores were evaluated by the Resilience Scale developed by Wagnild & Young, which measures different levels of adaptation in relation to important life events (G. M. Wagnild & Young, 1993). It consists of 25 Likert-type questions that score 3 factors for resilience: 1) ability to solve situations and personal values that give meaning to life; 2) independence and determination; 3) self-confidence and adaptation. It has been translated into the Portuguese language and validated for the Brazilian population (Pesce et al., 2005).

### *2.2.2 Childhood Trauma*

Childhood trauma was assessed by the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ). This is a Likert scale that has 5 sub-scales to evaluate: 1) Emotional Abuse; 2) Physical Abuse; 3) Sexual Abuse; 4) Emotional Neglect; 5) Physical Neglect. It has been validated for the Brazilian population, although there is no cutoff for the trauma scores (Grassi-Oliveira, Stein, & Pezzi, 2006).

Interviews were conducted by four psychology students who were trained by experts and supervised weekly for the application of instruments. The equivalence in the application of instruments achieved a kappa > 0.8 among the interviewers. Although the CTQ and Resilience

Scale are self-report questionnaires, we chose to apply all the instruments to avoid differences in interpretation due to literacy problems.

### *2.3 Statistics*

A descriptive analysis was conducted to represent the socio-demographic variables separated by case and control groups. Absolute and relative frequency was performed for the categorical variables, and the chi-square test was used to compare these variables within groups. For quantitative variables, initially, the normality Shapiro-Wilk test was performed. For variables with normal distribution the description was represented by mean and standard deviation, and the t test for independent samples was performed when comparing the groups. Variables that showed an asymmetric distribution are represented by quartiles. For comparison between groups we used non-parametric Mann-Whitney test. Quantitative variables were correlated using Spearman's correlation. Variables of trauma and resilience were related to cases and controls using Poisson regression. In a second model the diagnosis of PTSD subjects was entered to verify its influence. Analyses were performed using SPSS v.18. The significance level was set at 0.05.

### *2.4 Ethics*

The study was approved by the Institutional Review Board and Ethics Committee of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre and of the Hospital São Pedro. All participants provided written informed consents.

## **3. Results**

Crack users and controls were mostly male and Caucasian. Crack users had fewer years of education ( $p < 0.001$ ). Prevalence of all psychiatric disorders was higher among crack users, especially post traumatic stress disorder (PTSD) and antisocial personality disorder (ASPD). These findings are shown in **Table 1**.

**Please insert Table 1 about here**

Considering the resilience factors, controls presented significantly higher ability to solve situations and personal values that give meaning to life as well as independence and determination. These findings are shown in Figure 1.

**Please insert Figure 1 about here**

Except for sexual abuse, which did not show a significant difference between cases and controls, all other subtypes of childhood trauma were higher among crack cocaine users. As we do not have a cutoff score for our population, we chose to analyze data as a continuous variable. These findings are shown in **Figure 2**.

**Please insert Figure 2 about here**

In order to see how childhood trauma relates to the construct of resilience, we considered the whole sample of the study, and found that ability to solve situations and personal values that give meaning to life have an inverse correlation with emotional abuse and neglect, and independence and determination had an inverse correlation to emotional neglect. These findings are shown in **Table 2**.

**Please insert Table 2 about here**

When we analyzed all the domains of childhood abuse and resilience among those with and without PTSD, we found a significant difference in levels of emotional abuse and emotional neglect, as well as all levels of resilience factors among crack cocaine users. These findings are shown in **Table 3**.

**Please insert Table 3 about here**

We found no significant difference among controls with and without PTSD, probably because there were only two subjects among controls who reported to have PTSD. A logistic regression was performed to evaluate how every type of childhood trauma and resilience factors increase or decrease the chance of being a crack cocaine user in the sample, considering also the diagnosis of PTSD. Results showed that childhood trauma increases the odds of being a crack cocaine user despite the diagnosis of PTSD. On the other hand, resilience factor 1 and 2 turned out to be a factor of protection, increasing the odds of not becoming a crack cocaine user. These findings are shown in **Table 4**.

**Please insert Table 4 about here**

#### 4. Discussion

This study aimed to investigate the characteristics of resilience in a group of crack cocaine users and its association with childhood trauma and PTSD. Our results demonstrate that there is an inverse correlation between resilience and different types of childhood trauma. When we evaluate these two constructs within the overall study sample, we found that emotional childhood traumas are inversely associated with resilience aspects related to personal competence, self-acceptance, acceptance of life, independence and determination. In addition, crack cocaine users reported to have had more intense childhood trauma (except for sexual abuse) and lower levels of some aspects of resilience when compared to healthy controls.

According to our results, resilience scores are considerably decreased when subjects reported having suffered emotional abuse and neglect during childhood. These vulnerability factors may also increase the chance of using crack cocaine. Several hypotheses may explain this association. Experiences of traumatic events during childhood are strongly associated with higher levels of impulsivity and impairment on neuropsychological measures, which could increase vulnerability to drug experimentation (Francke, Viola, Tractenberg, & Grassi-Oliveira, 2013; Narvaez et al., 2012). Previous studies indicate that childhood trauma could influence the severity, prognosis and evolution of crack cocaine consumption (Gould, 2010). Other studies emphasize this finding, showing that the negative quality of initial liaison with parental care may be associated with the onset of trauma-related disorders, such as substance abuse (Wildschut, Langeland, Smit, & Draijer, 2014). Saddichha et al demonstrated in a distinct sample that patients who are emotionally abused during childhood have higher rates of crack cocaine use, as well as other stimulants (Saddichha et al., 2014). Since early life development, there is an adaptation of the HPA-axis, and the resulting secretion of cortisol is responsible for metabolic, immunologic, cognitive and behavioral adjustments to stress. However, when stress becomes chronic early in life, there is an allostatic overload of the HPA axis, causing impairment to the mechanisms of adaptation to stress, thus promoting a maladaptive response and the consequent decrease of resilience, as well as a higher chance to develop addiction (Badanes, Watamura, & Hankin, 2011; McEwen, 2003).

Regarding the association between childhood trauma and specific aspects of resilience, individuals who reported to suffer emotional abuse and neglect during childhood had lower

ability to solve problems, and less personal values that give meaning to life. Also, crack cocaine users reported to have higher scores of those types of trauma, as well as lower scores of factors 1 and 2 of the Resilience Scale when compared to controls. This finding among crack cocaine users could be explained by the impairment on executive functions among individuals with substance abuse disorder (Cunha, Bechara, de Andrade, & Nicastrí, 2011; De Oliveira et al., 2009; Goldstein & Volkow, 2002; Narvaez et al., 2012). Cunha et al have demonstrated that crack cocaine users have an important deficit in decision making and that these cognitive changes may be associated with a social misfit (Cunha et al., 2011).

Factor 3 of the Resilience Scale, which represents self-confidence and adaptation, was not significantly different between cases and controls. Considering that the involvement with psychoactive substances, in a psychoanalytical perspective, implies a narcissistic relationship with the drug itself and others, the feeling of self-confidence is expected among these patients (Belcher, Volkow, Moeller, & Ferré, 2014). This hypothesis is clinically represented by the need for urgent gratification anywhere and anytime, with orality and omnipotent components of personality (Ramos, 2004). Also, cluster B personality disorders, which include narcissistic personality disorder and antisocial personality disorders, have an important association with the expression of substance abuse. These include personality traits of high self-confidence, even when reality shows a more impaired pattern of adaptation to environment and relationship to others (Albein-Urios, Martínez-González, Lozano-Rojas, & Verdejo-García, 2014). A study conducted by Narvaez et al, showed that individuals with antisocial personality disorders had 10.29 times higher chance of being a crack cocaine user when compared to controls (Narvaez et al., 2014). Also, Albein-Urios et al have demonstrated in a neuroimaging study that cocaine users with cluster B personality disorders have a disruptive way of interpreting emotions because of distinctive patterns of brain activation and connectivity during maintenance and reappraisal of negative emotions, and this is correlated to impulsivity and dysfunctional beliefs (Albein-Urios et al., 2013). Therefore, the drug becomes more attractive in an attempt to regulate affect, be promptly gratified, and control aspects related to unrecognizable and uncomfortable feelings (Boys, Marsden, & Strang, 2001). Despite the destructive aspect of drug use, it is also a way of finding adaptability among traumatic situations in order to promote immediate relief of negative feelings.

It is relevant to discuss that resilience, despite being an individual attribute, is not a static construct, and acts synergistically with environmental factors (Hicks et al., 2014). It is also a complex construct to measure, since it is related to individual characteristics, life

experiences and environment (Back et al., 2008; Belcher et al., 2014). The Resilience Scale assesses various dimensions including self-confidence, problem-solving skills, independence and determination. Presently, it is one of the few validated instruments that evaluate different aspects that determine the ability to overcome adversities throughout life. Thus, when resilience can override traumatic experiences, individuals are less vulnerable to further negative events, which may involve the severity of drug dependence (Somaini et al., 2011). Therefore, the knowledge that resilience is decreased among crack cocaine users, and that the ones who suffered childhood trauma are even more vulnerable to life stress situations, could be an important issue to the development of strategies to increase resilience among this population.

Grassi-Oliveira et al have previously demonstrated that abuse and neglect during childhood are important risk factors for the occurrence of PTSD in female crack cocaine users, calling especial attention to the role of emotional neglect (Francke et al., 2013). This finding was confirmed in our study in a distinct sample. Results also showed a higher prevalence of PTSD in crack cocaine users than in controls. Although literature points toward a relationship between a diagnosis of PTSD and drug abuse, the results of this study show that childhood trauma increases the chance of developing crack cocaine dependence, regardless of whether they had developed PTSD or not. The fact that we could not find a direct association between PTSD and crack cocaine use could be due to the small sample size. Still, our results corroborate the hypothesis that abnormal development standards related to childhood trauma, especially neglect, may increase the chance to develop drug dependence (Wingo et al., 2014). The understanding of risk factors within this group, as well as the identification of patients with low resilience may benefit future interventions, since this is a population with higher rates of PTSD. Thus, treatment for this disorder could increase the chance of abstinence and adherence to treatment (Wrenn et al., 2011).

The present study has a cross-sectional design and therefore does not allow for conclusions about causality and the prognosis of those individuals. Therefore, further investigations on this sample and others could indicate how childhood trauma and resilience may relate to time of relapse and adherence to treatment. Although the results of this study corroborate the hypothesis that childhood trauma and low resilience levels are vulnerability factors for the development of crack cocaine dependence, some of the analyses showed no statistical significance, probably due to the relatively small sample size, especially among controls. Also, crack cocaine patients were hospitalized during data collection, which may

represent a higher severity of the disorder, therefore rendering limits in transposing these results for the outpatient population. In order to overcome cognitive impairment due to withdrawal symptoms, interviews were performed between the fifth and seventh day of hospitalization. However, interviews may have had an effect on the emotional stress, hampering access to specific trauma memories. Despite these limitations, the findings of this study originally provide fundamental information for understanding how resilience aspects are associated with crack cocaine dependence, as well as its association with childhood trauma and the development of PTSD. Understanding this model and vulnerabilities among this population could contribute to tailor more specific strategies of prevention and more effective intervention among crack cocaine users.

## **5. Conclusion**

Crack cocaine users reported a higher score of emotional abuse, emotional neglect, physical abuse and physical neglect when compared to healthy controls. Also they reported to have less resilience in terms of ability to solve situations and personal values that give meaning to life, independence and determination, and it was inversely correlated to childhood trauma scores. Childhood trauma was significantly associated with a higher chance of developing crack cocaine dependence, regardless of whether the individual had developed PTSD or not.

## **Acknowledgement**

This research was supported by the Brazilian Secretariat of Drug Policies (SENAD) and Fundo de Incentivo à Pesquisa (FIPE).

## **References**

- 2008 PHS Guideline Update Panel, L. a., and Staff. (2008). Treating tobacco use and dependence: 2008 update U.S. Public Health Service Clinical Practice Guideline executive summary. *Respir Care*, 53(9), 1217-1222.
- Afful, S. E., Strickland, J. R., Cottler, L., & Bierut, L. J. (2010). Exposure to trauma: a comparison of cocaine-dependent cases and a community-matched sample. *Drug Alcohol Depend*, 112(1-2), 46-53. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.05.012

- Albein-Urios, N., Martinez-Gonzalez, J. M., Lozano-Rojas, O., & Verdejo-Garcia, A. (2014). Executive functions in cocaine-dependent patients with Cluster B and Cluster C personality disorders. *Neuropsychology, 28*(1), 84-90. doi: 10.1037/neu0000007
- Albein-Urios, N., Verdejo-Roman, J., Soriano-Mas, C., Asensio, S., Martinez-Gonzalez, J. M., & Verdejo-Garcia, A. (2013). Cocaine users with comorbid Cluster B personality disorders show dysfunctional brain activation and connectivity in the emotional regulation networks during negative emotion maintenance and reappraisal. *Eur Neuropsychopharmacol, 23*(12), 1698-1707. doi: 10.1016/j.euroneuro.2013.04.012
- Amorin, P. (2000). Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validation of a short structured diagnostic psychiatric interview (Vol. 22, pp. 106-115). Brazil: Rev Bras Psiquiatr.
- Back, S. E., Brady, K. T., Waldrop, A. E., Yeatts, S. D., McRae, A. L., & Spratt, E. (2008). Early life trauma and sensitivity to current life stressors in individuals with and without cocaine dependence. *Am J Drug Alcohol Abuse, 34*(4), 389-396. doi: 10.1080/00952990802122614
- Badanes, L. S., Watamura, S. E., & Hankin, B. L. (2011). Hypocortisolism as a potential marker of allostatic load in children: associations with family risk and internalizing disorders. *Dev Psychopathol, 23*(3), 881-896. doi: 10.1017/S095457941100037X
- Belcher, A. M., Volkow, N. D., Moeller, F. G., & Ferré, S. (2014). Personality traits and vulnerability or resilience to substance use disorders. *Trends Cogn Sci, 18*(4), 211-217. doi: 10.1016/j.tics.2014.01.010
- Boys, A., Marsden, J., & Strang, J. (2001). Understanding reasons for drug use amongst young people: a functional perspective. *Health Educ Res, 16*(4), 457-469.
- Chermack, S. T., Walton, M. A., Fuller, B. E., & Blow, F. C. (2001). Correlates of expressed and received violence across relationship types among men and women substance abusers. *Psychol Addict Behav, 15*(2), 140-151.
- Copeland-Linder, N., Lambert, S. F., & Jalongo, N. S. (2010). Community violence, protective factors, and adolescent mental health: a profile analysis. *J Clin Child Adolesc Psychol, 39*(2), 176-186. doi: 10.1080/15374410903532601



- Cunha, P. J., Bechara, A., de Andrade, A. G., & Nicastrí, S. (2011). Decision-making deficits linked to real-life social dysfunction in crack cocaine-dependent individuals. *Am J Addict, 20*(1), 78-86. doi: 10.1111/j.1521-0391.2010.00097.x
- Davydov, D. M., Stewart, R., Ritchie, K., & Chaudieu, I. (2010). Resilience and mental health. *Clin Psychol Rev, 30*(5), 479-495. doi: 10.1016/j.cpr.2010.03.003
- De Oliveira, L. G., Barroso, L. P., Silveira, C. M., Sanchez, Z. V., De Carvalho Ponce, J., Vaz, L. J., & Nappo, S. A. (2009). Neuropsychological assessment of current and past crack cocaine users. *Subst Use Misuse, 44*(13), 1941-1957. doi: 10.3109/10826080902848897
- Dias, A. C., Araújo, M. R., Dunn, J., Sesso, R. C., de Castro, V., & Laranjeira, R. (2011). Mortality rate among crack/cocaine-dependent patients: a 12-year prospective cohort study conducted in Brazil. *J Subst Abuse Treat, 41*(3), 273-278. doi: 10.1016/j.jsat.2011.03.008
- Francke, I. D., Viola, T. W., Tractenberg, S. G., & Grassi-Oliveira, R. (2013). Childhood neglect and increased withdrawal and depressive severity in crack cocaine users during early abstinence. *Child Abuse Negl, 37*(10), 883-889. doi: 10.1016/j.chiabu.2013.04.008
- Goldstein, R. Z., & Volkow, N. D. (2002). Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry, 159*(10), 1642-1652.
- Gould, T. J. (2010). Addiction and cognition. *Addict Sci Clin Pract, 5*(2), 4-14.
- Grassi-Oliveira, R., Stein, L. M., & Pezzi, J. C. (2006). [Translation and content validation of the Childhood Trauma Questionnaire into Portuguese language]. *Rev Saude Publica, 40*(2), 249-255. doi: /S0034-89102006000200010
- Herrenkohl, T. I. (2013). Person-environment interactions and the shaping of resilience. *Trauma Violence Abuse, 14*(3), 191-194. doi: 10.1177/1524838013491035
- Hicks, B. M., Johnson, W., Durbin, C. E., Blonigen, D. M., Iacono, W. G., & McGue, M. (2014). Delineating selection and mediation effects among childhood personality and environmental risk factors in the development of adolescent substance abuse. *J Abnorm Child Psychol, 42*(5), 845-859. doi: 10.1007/s10802-013-9831-z

- Huang, M. C., Schwandt, M. L., Ramchandani, V. A., George, D. T., & Heilig, M. (2012). Impact of multiple types of childhood trauma exposure on risk of psychiatric comorbidity among alcoholic inpatients. *Alcohol Clin Exp Res*, *36*(6), 1099-1107. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01695.x
- Karch, S. B. (1999). Cocaine: history, use, abuse. *J R Soc Med*, *92*(8), 393-397.
- Kessler, F., Cacciola, J., Alterman, A., Faller, S., Souza-Formigoni, M. L., Cruz, M. S., . . . Pechansky, F. (2012). Psychometric properties of the sixth version of the Addiction Severity Index (ASI-6) in Brazil. *Rev Bras Psiquiatr*, *34*(1), 24-33.
- Khoury, L., Tang, Y. L., Bradley, B., Cubells, J. F., & Ressler, K. J. (2010). Substance use, childhood traumatic experience, and Posttraumatic Stress Disorder in an urban civilian population. *Depress Anxiety*, *27*(12), 1077-1086. doi: 10.1002/da.20751
- Masten, A. S. (2001). Ordinary magic. Resilience processes in development. *Am Psychol*, *56*(3), 227-238.
- McEwen, B. S. (2003). Mood disorders and allostatic load. *Biol Psychiatry*, *54*(3), 200-207.
- Nappo, S. A. (2014). Is there a crack epidemic among students in Brazil? comments on media and public health issues. In L. A. R. Zila M Sanchez (Ed.), (Vol. 28(9), pp. 1643-1649). Brazil: Cadernos de Saúde Pública.
- Narvaez, J. C., Jansen, K., Pinheiro, R. T., Kapczinski, F., Silva, R. A., Pechansky, F., & Magalhaes, P. V. (2014). Psychiatric and substance-use comorbidities associated with lifetime crack cocaine use in young adults in the general population. *Compr Psychiatry*, *55*(6), 1369-1376. doi: 10.1016/j.comppsy.2014.04.021
- Narvaez, J. C., Magalhães, P. V., Trindade, E. K., Vieira, D. C., Kauer-Sant'anna, M., Gama, C. S., . . . Kapczinski, F. (2012). Childhood trauma, impulsivity, and executive functioning in crack cocaine users. *Compr Psychiatry*, *53*(3), 238-244. doi: 10.1016/j.comppsy.2011.04.058
- Nascimento, E. d. (2002). WISC-III e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. In V. L. M. d. Figueiredo (Ed.), (Vol. 15). Porto Alegre, Brazil.: Psicol. Reflex. Crit.

- Ouimette, P., Coolhart, D., Funderburk, J. S., Wade, M., & Brown, P. J. (2007). Precipitants of first substance use in recently abstinent substance use disorder patients with PTSD. *Addict Behav*, *32*(8), 1719-1727. doi: 10.1016/j.addbeh.2006.11.020
- Paim Kessler, F. H., Barbosa Terra, M., Faller, S., Ravy Stolf, A., Carolina Peuker, A., Benzano, D., . . . Group, B. A. (2012). Crack users show high rates of antisocial personality disorder, engagement in illegal activities and other psychosocial problems. *Am J Addict*, *21*(4), 370-380. doi: 10.1111/j.1521-0391.2012.00245.x
- Pedroso, R. (2013). Treatment among female and male inpatient crack users: a qualitative study. In F. Kessler (Ed.), (Vol. 35, pp. 36-45). Brazil: Trends in Psychiatry and Psychotherapy.
- Pesce, R. P., Assis, S. G., Avanci, J. Q., Santos, N. C., Malaquias, J. V., & Carvalhaes, R. (2005). [Cross-cultural adaptation, reliability and validity of the resilience scale]. *Cad Saude Publica*, *21*(2), 436-448. doi: /S0102-311X2005000200010
- Ramos, S. e. P. (2004). What can we learn from psychoanalysis and prospective studies about chemically dependent patients? *Int J Psychoanal*, *85*(Pt 2), 467-487. doi: 10.1516/002075704773889841
- Ribeiro, M., Dunn, J., Sesso, R., Dias, A. C., & Laranjeira, R. (2006). Causes of death among crack cocaine users. *Rev Bras Psiquiatr*, *28*(3), 196-202.
- Ribeiro, M., Dunn, J., Sesso, R., Lima, M. S., & Laranjeira, R. (2007). Crack cocaine: a five-year follow-up study of treated patients. *Eur Addict Res*, *13*(1), 11-19. doi: 10.1159/000095810
- Saddichha, S., Fliers, J. M., Frankish, J., Somers, J., Schuetz, C. G., & Krausz, M. R. (2014). Homeless and incarcerated: An epidemiological study from Canada. *Int J Soc Psychiatry*. doi: 10.1177/0020764014522776
- Sameroff, A. J. (2000). Developmental systems and psychopathology. *Dev Psychopathol*, *12*(3), 297-312.
- Schiavone, S., Jaquet, V., Trabace, L., & Krause, K. H. (2013). Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. *Antioxid Redox Signal*, *18*(12), 1475-1490. doi: 10.1089/ars.2012.4720

- Somaini, L., Donnini, C., Manfredini, M., Raggi, M. A., Saracino, M. A., Gerra, M. L., . . . Gerra, G. (2011). Adverse childhood experiences (ACEs), genetic polymorphisms and neurochemical correlates in experimentation with psychotropic drugs among adolescents. *Neurosci Biobehav Rev*, *35*(8), 1771-1778. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.11.008
- Tate, S. R., McQuaid, J. R., & Brown, S. A. (2005). Characteristics of life stressors predictive of substance treatment outcomes. *J Subst Abuse Treat*, *29*(2), 107-115. doi: 10.1016/j.jsat.2005.05.003
- Tull, M. T., Trotman, A., Duplinsky, M. S., Reynolds, E. K., Daughters, S. B., Potenza, M. N., & Lejuez, C. W. (2009). The effect of posttraumatic stress disorder on risk-taking propensity among crack/cocaine users in residential substance abuse treatment. *Depress Anxiety*, *26*(12), 1158-1164. doi: 10.1002/da.20637
- Ungar, M. (2012). Researching and theorizing resilience across cultures and contexts. *Prev Med*, *55*(5), 387-389. doi: 10.1016/j.ypmed.2012.07.021
- Vanderbilt-Adriance, E., & Shaw, D. S. (2008). Protective factors and the development of resilience in the context of neighborhood disadvantage. *J Abnorm Child Psychol*, *36*(6), 887-901. doi: 10.1007/s10802-008-9220-1
- von Diemen, L., Kapczinski, F., Sordi, A. O., de Magalhães Narvaez, J. C., Guimarães, L. S., Kessler, F. H., . . . Pechansky, F. (2013). Increase in brain-derived neurotrophic factor expression in early crack cocaine withdrawal. *Int J Neuropsychopharmacol*, 1-8. doi: 10.1017/S146114571300103X
- Wagnild, G. (2009). A review of the Resilience Scale. *J Nurs Meas*, *17*(2), 105-113.
- Wagnild, G. M., & Young, H. M. (1993). Development and psychometric evaluation of the Resilience Scale. *J Nurs Meas*, *1*(2), 165-178.
- Wildschut, M., Langeland, W., Smit, J. H., & Draijer, N. (2014). Survivors of early childhood trauma: evaluating a two-dimensional diagnostic model of the impact of trauma and neglect. *Eur J Psychotraumatol*, *5*. doi: 10.3402/ejpt.v5.21824
- Windle, G., Bennett, K. M., & Noyes, J. (2011). A methodological review of resilience measurement scales. *Health Qual Life Outcomes*, *9*, 8. doi: 10.1186/1477-7525-9-8

- Wingo, A. P., Ressler, K. J., & Bradley, B. (2014). Resilience characteristics mitigate tendency for harmful alcohol and illicit drug use in adults with a history of childhood abuse: a cross-sectional study of 2024 inner-city men and women. *J Psychiatr Res*, *51*, 93-99. doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.01.007
- Wrenn, G. L., Wingo, A. P., Moore, R., Pelletier, T., Gutman, A. R., Bradley, B., & Ressler, K. J. (2011). The effect of resilience on posttraumatic stress disorder in trauma-exposed inner-city primary care patients. *J Natl Med Assoc*, *103*(7), 560-566.
- Wu, N. S., Schairer, L. C., Dellor, E., & Grella, C. (2010). Childhood trauma and health outcomes in adults with comorbid substance abuse and mental health disorders. *Addict Behav*, *35*(1), 68-71. doi: 10.1016/j.addbeh.2009.09.003

Table 1. Sociodemographic Variables

		Cases (n=218)	Control (215)	p
		n (%)	n (%)	
Gender	Male	208 (95.4)	211 (98.1)	0.183
Age*		29.5 (8.1)	29.1 (7.9)	0.605
Race	Caucasian	140 (64.2)	137 (64.3)	0.106
	African American	42 (19.3)	28 (13.1)	
	Other	36 (16.5)	48 (22.5)	
Schooling	Non Alphabetized	1 (0.5)	0	<0.001
	1-4th grade	10 (4.7)	12 (5.7)	
	5-8th grade	83 (39.0)	52 (24.5)	
	High School	78 (36.6)	121 (57.1)	
	College	41 (19.2)	27 (12.7)	
		<b>(%)</b>	<b>(%)</b>	
Drug use Disorder (other than crack)		54	13	<0.001
PTSD		11	0.9	<0.001
Major Depression		28	6.2	<0.001
Alcohol use disorder		34.6	8.2	<0.001
Any anxiety disorder		25.5	5.3	<0.001
ASPD		41.7	4.8	<0.001
Bipolar Disorder		12	4.8	<0.001

\*Medium (SD)

Note: For categorical variables, the chi-square test was used for comparison among groups. For variables with normal distribution we performed the t test for independent samples when comparing the groups. Psychiatric disorders were evaluated by the Mini International Neuropsychiatric Interview.

Table 2. Correlation between Trauma and Resilience

	Resilience		
	Factor1	Factor2	Factor3
Emocional_Abuse	-0.193*	-0.068	-0.006
Physical_Abuse	-0.051	-0.034	0.099
Sexual_Abuse	-0.057	-0.037	-0.016
Emocional_Neglect	-0.152*	-0.147*	-0.042
Physical_Neglect	-0.050	-0.089	0.084

Factor 1: ability to solve situations and personal values that give meaning to life; Factor 2: independence and determination; Factor 3: self-confidence and adaptation

Spearman Correlation Test

\*p<0.001

Table 3. Childhood Trauma and Resilience among crack users with and without PTSD

	PTSD		p
	Yes (n=22)	No (n=186)	
	Median (q1;q2)	Median (q1;q2)	
Emocional_Abuse	11.5 [8.75; 14.25]	9 [6;13]	0.018
Physical_Abuse	8.5 [6.75; 13.5]	8 [6; 11]	0.148
Sexual_Abuse	5 [5; 11.5]	5 [5; 5]	0.1
Emocional_Neglect	12 [9; 16]	10 [7; 13]	0.042
Physical_Neglect	7 [5; 12.25]	7 [5; 9]	0.503
Resilience Factor 1	4.57 [3.78; 5.2]	5.4 [4.73; 6]	0.001
Resilience Factor 2	5 [4.18; 5.75]	5.5 [4.75; 6.5]	0.038
Resilience Factor 3	4.17 [3.79; 5.08]	5.17 [4.5; 6]	0.002

Factor 1: ability to solve situations and personal values that give meaning to life; Factor 2: independence and determination; Factor 3: self-confidence and adaptation

Mann-Whitney Test

Significance 2-tailed: 0,05



Table 4. Childhood trauma, Resilience and the chance of being a crack cocaine user

	Crack cocaine users (n=218) OR* [q1;q2]	p	Crack cocaine users with PTSD (n=22) OR* [q1;q2]	p
Emocional_Abuse	1.15 [1.1;1.21]	<0.001	1.7 [0.99;4.56]	0.158
Physical_Abuse	1.13 [1.07;1.19]	<0.001	0.920 [0.71;1.22]	0.510
Sexual_Abuse	1.1 [1.02;1.22]	0.033	x	
Emocional_Neglect	1.08 [1.03; 1.13]	0.001	1.11 [0.82;1.77]	0.566
Physical_Neglect	1.13 [1.05;1.23]	0.001	1.23 [0.79;3.17]	0.495
Resilience Factor 1	0.05 [0.34;0.58]	<0.001	x	
Resilience Factor 2	0.64 [0.53;0.77]	<0.001	x	
Resilience Factor 3	0.95 [0.79;1.14]	0.564	x	

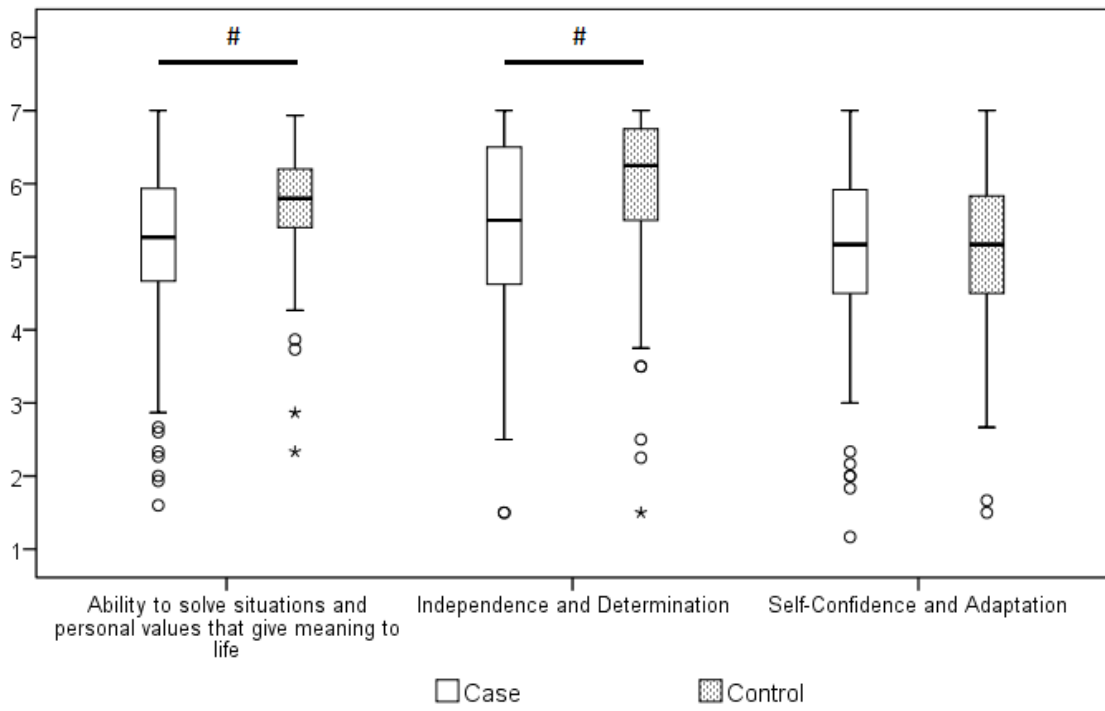
Factor 1: ability to solve situations and personal values that give meaning to life; Factor 2: independence and determination; Factor 3: self-confidence and adaptation

Logistic Regression

x: Statistical analysis were not able to be performed because of the small number of crack cocaine users who reported to have PTSD.

\* OR: Odds Ratio

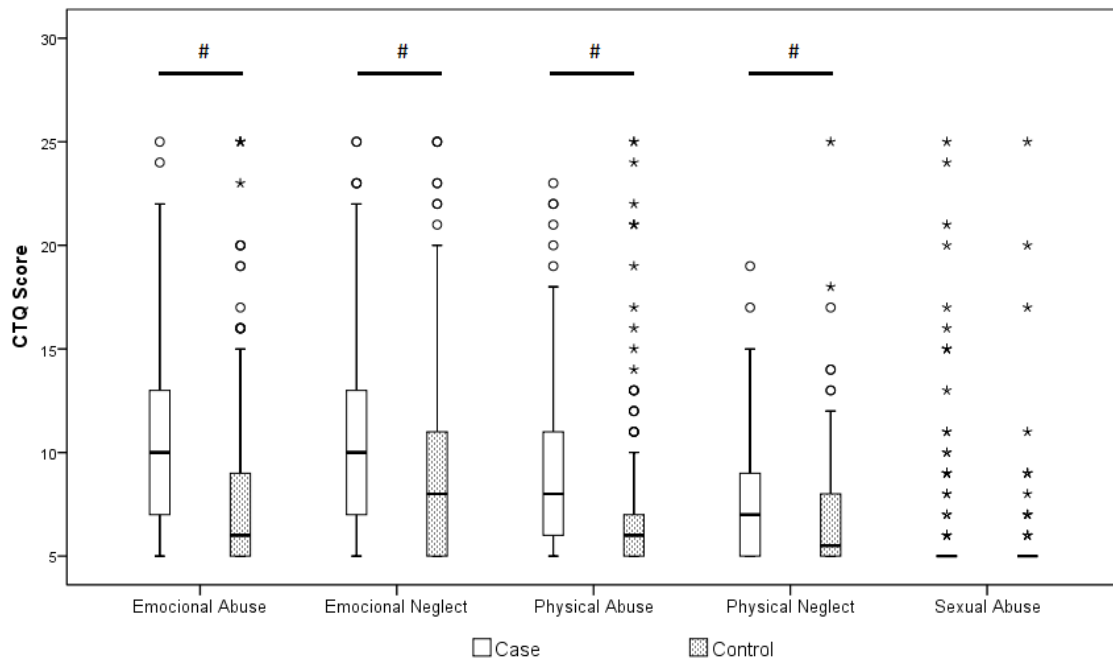
Figure 1. Resilience among Crack Users and Controls



Mann-Whitney Test.

# p<0.01

Figure 2. Childhood Trauma among Crack Users and Controls



Mann-Whitney Test.

# p<0.001

### Artigo 3

EFEITOS DO TRAUMA NA INFÂNCIA NOS NÍVEIS DE BDNF, TBARS E NPY DURANTE A  
ABSTINÊNCIA PRECOCE DE USO DE CRACK

CHILDHOOD TRAUMA EFFECTS ON BDNF, TBARS AND NPY LEVELS DURING CRACK-COCAINE  
WITHDRAWAL

Anne Orgler Sordi, Simone Hauck, Lisia von Diemen, Felix Henrique Paim Kessler, Flávio Kapczinski, Bianca Pfaffenseller, Carolina Gubert, Bianca Wollenhaupt de Aguiar, Renata Limberger, Giovanni Abrahão Salum, Flavio Pechansky

**A ser submetido para a revista:** *European Psychopharmacology*

Fator de Impacto: 5.395

## **Childhood trauma effects on BDNF, TBARS and NPY during crack-cocaine withdrawal**

Anne Orgler Sordi, MD<sup>1</sup>; Simone Hauck; Lisia von Diemen, MD, PhD<sup>1</sup>, Felix Henrique Paim Kessler, MD, PhD<sup>1</sup>; Flávio Kapczinski MD, PhD<sup>2</sup>; Bianca Pfaffenseller, BSc, MSc<sup>3,4</sup>; Carolina Gubert Msc<sup>3,4</sup>; Bianca Wollenhaupt de Aguiar, BSc, MSc<sup>3,4</sup>; Renata Limberger PhD<sup>5</sup>; Giovanni Abrahão Salum<sup>6</sup>; Flavio Pechansky, MD, PhD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Drug and Alcohol Research, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>2</sup>National Institute of Science and Technology for Translational Medicine, HCPA, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil. Bipolar Disorder Program and Molecular Psychiatry Laboratory, HCPA, Porto Alegre, RS, Brazil. Department of Legal Medicine and Psychiatry, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>3</sup>Bipolar Disorder Program and Molecular Psychiatry Laboratory, HCPA, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>4</sup>Graduate Program in Biological Sciences: Biochemistry, Department of Biochemistry, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>5</sup>Faculty of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

<sup>6</sup>Graduate Program in Medical Sciences: Psychiatry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brazil.

## Abstract

**Introduction:** Although there is a high prevalence of childhood trauma (CT) among crack cocaine users, little is known about how CT could interfere on biological mechanisms underlying addiction. The aim of this study is to evaluate the association between CT and alterations in BDNF, TBARS and NPY during crack cocaine withdrawal. **Method:** BDNF and TBARS serum levels were evaluated at intake and discharge, and NPY serum levels were evaluated at discharge in a sample of 33 crack cocaine male inpatients. Information about drug use was assessed by the Addiction Severity Index-6th Version (ASI-6). CT was reported throughout the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ). CTQ scores were calculated based on latent analysis model that divided the sample into low, medium and high trauma levels groups. **Results:** There was a significant increase in BDNF levels from admission to discharge, which did not differ by the CT subgroups. For TBARS levels, we found significant time by trauma interaction ( $F[2,28]=6.357, p=0.005, \eta_p^2=0.312$ ). Those with low trauma level decrease TBARS, while those with a high trauma level increase TBARS during early withdrawal. NPY levels were negatively correlated to all types of CT, except for sexual abuse (physical neglect  $r=-0.396, p=0.034$ ; emotional neglect  $r=-0.391, p=0.036$ ; physical abuse  $r=-0.427, p=0.021$ ; emotional abuse  $r=-0.419, p=0.024$ ; sexual abuse  $r=-0.190, p=0.323$ ). **Discussion:** TABRS showed different patterns among trauma levels in crack cocaine patients during withdrawal. Lower levels of NPY were highly associated to CT among these subjects. These results suggest that CT could interfere on biological mechanisms involved with the development of addiction.

**Key Words:** childhood trauma, cocaine, drug abuse, BDNF, oxidative stress, peptide

## 1. Introduction

Crack cocaine use has become a health problem of epidemic proportions in many countries, and is related to both individual vulnerabilities and environmental risks (Copeland-Linder *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2011). Substance abuse, especially cocaine dependence, is highly associated with childhood trauma (Nappo *et al.*, 2014). Moreover, individuals with a history of childhood trauma have an increased risk of relapse, especially because during abstinence trauma reliving symptoms could be increased (Ouimette *et al.*, 2007). Still, there is lack of evidence on how childhood trauma could interfere in brain structures and physiology in order to predispose individuals to substance abuse related disorders and, specially, how it could interfere with crack cocaine acute withdrawal.

There is a growing body of evidence implicating possible neurobiological markers in the pathogenesis of addiction (Calabrese *et al.*, 2001; Halliwell *et al.*, 2006; Kovacic *et al.*, 2005). Pre-clinical studies have suggested that oxidative stress markers are increased in alcohol, cocaine, methamphetamine, nicotine and opioid abuse; and reduced anti-oxidant defenses can contribute to the impairment caused by the chronic use of these substances, leading to brain cell damage (Kovacic *et al.*, 2005; Pomierny-Chamiolo *et al.*, 2012; Zaparte A 2014). Studies correlate oxidative stress with severity of substance abuse, suggesting that alterations in the brain caused by repeated years of alcohol and other substance use could generate an increase in symptomatology during abstinence (Huang *et al.*, 2009, Sordi *et al.* 2014). It is still difficult to measure how much of those alterations are caused by severity of drug use, and how much is due to early life experiences. Animal studies demonstrate that maternal separation could lead to persistent increase in lipid peroxidation and decreased anti-oxidant response in the brain, increasing vulnerability to substance abuse. (Schiavone *et al.*, 2013). The initial increase of antioxidant response turns out to be insufficient when the trauma becomes chronic, leading to an increase in the basal cerebral oxidative stress. (Schiavone *et al.*, 2013). One way of measuring oxidative stress is through thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels. They are low-molecular weight substances, consisting largely of malondialdehyde (MDA) and are formed by the decomposition of unstable lipid peroxidation products and react with thiobarbituric acid to form fluorescent adducts (Fukunaga *et al.*, 1998).

While oxidative stress represents a marker of damage to cell tissue, neurotrophins are implicated in various processes of neuronal protection, contributing to their proliferation,

migration, differentiation, survival and apoptosis, thus acting in synaptic plasticity (Bartkowska *et al.*, 2010). Among the neurotrophins, Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) has the more established evidence about its influence in synaptic plasticity. Most of the existing knowledge concerning the importance of BDNF in cocaine addiction comes from animal model studies, and shows that BDNF might act directly on cocaine-induced neuroadaptation (Fumagalli *et al.*, 2007). Information on how BDNF plays a role in the development of addiction is very controversial. It is still unknown how BDNF protects or predisposes to the development of addiction, but evidence suggests it could be related to synaptic changes during symptoms of craving and drug sensitization (Corominas *et al.*, 2007; McGinty *et al.*, 2010). BDNF levels seem to increase during the process of crack cocaine withdrawal, and later returning to normal levels, which may be an indicative of brain recovery (Sordi *et al.*, 2014; von Diemen *et al.*, 2013). On the other hand, the increase of BDNF during early cocaine abstinence seems to be positively associated with the likelihood of early relapse (Corominas-Roso *et al.*, 2013). Brain plasticity and the behavior of BDNF could be modified by early life experiences, especially in limbic brain regions which play an important role on the development of cocaine addiction (Cirulli *et al.*, 2009). Early maternal separation leads to a persistent decrease of mature BDNF on hippocampus and striatum, which are important areas for the brain reward system. (Lippmann *et al.*, 2007). Bipolar patients with a history of childhood trauma present lower levels of BDNF and an increased vulnerability to anxiety disorder and substance abuse (Bortoluzzi *et al.*, 2014; Kauer Sant'Anna *et al.*, 2007). Therefore, early traumatic experiences probably modify brain plasticity, which could hamper recovery from drug toxicity, or interfere as well on the memory of feelings triggered by drug use and by withdrawal.

Other biological marker that has been recently implicated on the pathogenesis of addiction is the neuropeptide Y (NPY). There are very few studies concerning this peptide, and evidence demonstrates its role in appetite regulation, anxiety, fear and substance abuse (Eaton *et al.*, 2007; Menyhért *et al.*, 2007; Sajdyk *et al.*, 2008). NPY antagonizes leptine, therefore it is considered an orexigenic factor. It also modulates the effect of cortisol and decreases anxiety symptoms (Adam *et al.*, 2007; Zarjevski *et al.*, 1993). NPY signaling is abundant in the central nervous system (CNS), especially on limbic regions, hippocampus and striatum, contributing for emotion regulation (Eaton *et al.*, 2007). Animal studies show that rats who consume a high amount of alcohol present with lower levels of NPY and increase anxiety symptoms during withdrawal (Lindell *et al.*, 2010; ). Also, deficiency in NPY seems to



increase the effect of psychostimulants and therefore promote cocaine dependence (Sørensen *et al.*, 2004; Wetherill *et al.*, 2008). Lower levels of NPY could be related to epigenetic factors as well as being a consequence of traumatic events. Very few studies in humans show that victims of violence present with lower levels of NPY and therefore are vulnerable to the development of different psychopathologies as PTSD, depression and substance abuse (Yehuda *et al.*, 2006).

There is still a lack of evidence concerning the neurobiological impact of early life experiences on substance abuse. Therefore, the aim of this study is to evaluate changes in BDNF and TBARS serum levels during crack cocaine early withdrawal and its association with the intensity of childhood trauma, as well as the association between NPY serum levels and the presence of different types of childhood abuse and neglect.

## **2. Experimental procedures**

### *Sample Selection*

Thirty-three male crack cocaine users 18 years or older and with a positive urine cocaine test (Bioeasy<sup>®</sup> cocaine test, Alere<sup>™</sup>, Belo Horizonte, Brazil) were recruited at a public psychiatric hospital with a specialized addiction treatment unit in Porto Alegre, Brazil. Subjects were excluded if they were considered unable to participate because of severe psychosis symptoms or a measured intelligence quotient <70, or did not agree to sign a written informed consent.

### *Procedures*

Patients were invited to participate in the study on their first day of hospitalization. Interviews were conducted between the fifth and seventh day of detoxification to circumvent potential cognitive impairment on the first days of hospitalization. Interviewers were psychologist graduate students trained for the application of all instruments and weekly supervised by senior researchers. Information about drug use was assessed by the Addiction Severity Index- 6th Version (ASI-6), validated for Brazilian Portuguese (Kessler *et al.*, 2012). Intelligence quotient was estimated using vocabulary and block design tests from the Wechsler Adult Intelligence Scale<sup>®</sup> – third edition (WAIS III) (Nascimento, 2002).

Childhood trauma was assessed by the Childhood Trauma Questionnaire (CTQ). This is a Likert scale that has 5 sub-scales to evaluate: 1) Emotional Abuse; 2) Physical Abuse; 3) Sexual Abuse; 4) Emotional Neglect; 5) Physical Neglect. It is validated for the Brazilian population, although there is no cutoff point for the trauma scores (Grassi-Oliveira *et al.*, 2006). For the purpose of this study, CTQ scores were calculated based on a previous report suggesting a new second order structure (Grassi-Oliveira *et al.*, 2014). Factor scores for the 5 CTQ sub-scales and a higher order trauma factor were then saved for an analysis using mean- and variance- adjusted weighted least squares (WLSMV) estimator, that presented proper fit in the sample from which our subjects derive: 364 subjects (44.8% male crack-cocaine users; 64.8% caucasian): RMSEA (Root Mean Square Error Of Approximation)=0.049 (CI90% 0.042-0.055), CFI=0.960, TLI=0.956, WRMR=1.058). The fit indices and used rules of thumb were: the CFI, good fit if CFI  $\geq$  .95; the TLI, good fit if TLI  $\geq$  .90; and the RSMEA, good fit if RSMEA  $<$  .06 (Cook KF *et al.*, 2009; Hu L *et al.*, 1998). For the purpose of facilitating interpretation of results CTQ total scores were then split into a categorical variable based on the sample tertile distribution (low, medium and high).

#### *Blood collection and processing*

Ten milliliters of blood were collected by venipuncture into a free-anticoagulant vacuum tube on the first 24 hours of hospitalization and in the 24 hours previous to hospital discharge. Blood was centrifuged at 4,000 rpm for 10 minutes and serum was aliquoted immediately after being obtained, and then labeled and stored at -80°C until assayed. BDNF and TBARS serum levels were measured on blood samples at patient intake and discharge. NPY serum levels were measured only at patient discharge. All blood collection was performed after a 10 hour fasting period.

#### *Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) assay*

The levels of lipid peroxidation were measured by the method of TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) using the TBARS assay kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor), according to the manufacturer's instructions. In this method, the quantification of lipid peroxidation products is performed by serum formation of substances reacting to 2-thiobarbituric acid (TBA), which is the analysis of the final products of lipid peroxidation (lipid peroxides, malondialdehyde and other aldehydes of low molecular weight) that react with TBA

to form Schiff bases. These complexes exhibit color and its concentration can be determined spectrophotometrically at 535 nm. The results are expressed in  $\mu\text{M}$  of malondialdehyde (MDA).

#### *Brain-Derived Neurotrophic-Factor assay*

The levels of serum BDNF concentrations were measured using a sandwich ELISA method with monoclonal antibodies specific for BDNF from R&D Systems (Minneapolis, USA). Human BDNF MAb (Clone 37129) - a mouse IgG2a isotype, was used as the capture antibody, and human BDNF biotinylated MAb (Clone 37141), another mouse IgG2a isotype, was used as the detection antibody. Briefly, microtiter plates (96-well, flat-bottom) were coated overnight at 4 °C with the anti-BDNF capture antibody at 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  in phosphate buffered saline (PBS). Then, plates were washed with wash buffer (PBS, pH 7.4, with 0.05% Tween 20) and blocked for 1 hour at room temperature with PBS containing 5% nonfat milk powder. After washing, plates were coated overnight at 4 °C with the samples diluted 1:200 in PBS with 1% bovine serum albumin; the standard curve of BDNF ranged from 7.8 to 500  $\text{pg}/\text{mL}$ . Plates were washed and the anti-BDNF detection antibody (0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was added for another 2-hour incubation. After washing, incubation with streptavidin-peroxidase conjugate (diluted 1:200 in sample diluent) was performed for 20 minutes at room temperature. Finally, plates were washed again and incubated with a substrate solution for 20 minutes, followed by a stop solution ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1M). BDNF levels were determined by absorbance at 450 nm with correction at 540 nm. The standard curve demonstrated a direct relationship between optical density (OD) and BDNF concentration.

#### *Neuropeptide Y*

The serum levels of NPY were analyzed using Neuropeptide Y (Human, Mouse, Rat) ELISA (Competitive Enzyme Immunoassay) kits purchased from RayBiotech, Inc. (Pomona, CA, USA). The tests were performed following the recommendations of the manufacturer. Absorbance was measured at 450 nm in a microtiter plate reader (Behring EL 311- HOECHST, Akasaka, Japan). This RayBio® Enzyme ImmunoAssay (EIA) is an in vitro quantitative assay especially developed for detecting Adipokine peptide based on the principle of Competitive Enzyme Immunoassay.

#### *Statistical Analysis*

Differences in continuous BDNF and TBARS serum levels from admission to discharge (2 levels: time 1 and time 2) among trauma groups (3 trauma levels: low, medium and high) were tested using repeated measures analysis of variance (ANOVA). Significant results were then tested in a repeated measures analysis of covariance (ANCOVA) controlling for the effects of a continuous score of crack-cocaine severity and the continuous variable of days of hospitalization. Significant time by trauma interactions were analyzed using paired t-tests stratified by levels of trauma. Supplemental analysis investigated associations between NPY and CTQ scores and sub-scores for each type of trauma. Effect sizes were defined in terms of % of explained variance and 1, 9 and 25% were defined as small, medium, and large effects corresponding to 0.01, 0.06 and 0.14 partial eta square ( $\eta_p^2$ ) values (Cohen *J et al.*, 1988).

Severity of crack use was estimated using information from age of first crack use, years of crack use and crack rocks used in the previous 30 days, which is computed as following:

- First crack use at age 11 years old was considered as 10 points, with a reduction of one point per year until 20 years (1 point) and zero to 21 years old or above
- Years of crack use was valued as 1 point per year;
- Number of crack rocks in the last 30 days was valued as lowest thru 5.99=1, 6 thru 21=2, 22 thru 40=3, 41 thru 72=4, 73 thru 103=5, 104 thru 142=6, 142 thru 200=7, 201 thru 343=8, 344 thru 515=9 and 516 or more=10.

Numbers obtained in these three variables were added to generate a *severity score of crack use*.

### *Ethics*

The study was approved by the Institutional Review Board and Ethics Committee of the Hospital de Clinicas de Porto Alegre and of the Hospital São Pedro. All participants provided written informed consents.

### **3. Results**

All participants were male crack cocaine users. Mean age was 27.06 (SD 6.94), and they had a mean of 18.97 (SD 4.24) days of hospitalization. There was no significant difference between age, days of hospitalization, years of crack cocaine use or severity of crack cocaine

use among low, medium and high trauma groups. Also, emotional neglect scores were not significantly different among groups. (Table 1)

**(Please insert Table 1 about here)**

#### *BDNF and TBARS*

For BDNF levels we found significant time effects ( $F [1,30]=8.45$ ,  $p=0.007$ ,  $\eta_p^2=0.22$ ), but not trauma effects ( $F[2,30]=2.15$ ,  $p=0.134$ ,  $\eta_p^2=0.125$ ), nor time by trauma interactions ( $F[2,30]=0.954$ ,  $p=0.397$ ,  $\eta_p^2=0.06$ ) in repeated measures ANOVA. Controlling for the effects of potential confounders (severity of crack cocaine use and days of hospitalization), did not change our results: time ( $F[1,28]=0.273$ ,  $p\text{-value}=0.605$ ,  $\eta_p^2=0.01$ ), trauma ( $F[2,28]=2.0$ ,  $p\text{-value}=0.153$ ,  $\eta_p^2=0.125$ ) and time by trauma interactions ( $F[2,28]=2.25$ ,  $p\text{-value}=0.124$ ,  $\eta_p^2=0.138$ ). This analysis reveals a significant increase in BDNF levels from admission to discharge (time effects), which did not differ by the childhood trauma subgroups (Figure 1, Panel A)

For TBARS levels we did not found time effects ( $F (1,30)=0.307$ ,  $p\text{-value}=0.584$ ,  $\eta_p^2=0.01$ ), nor trauma effects ( $F(2,30)=1.901$ ,  $p\text{-value}=0.167$ ,  $\eta_p^2=0.112$ ), but we found significant time by trauma interaction ( $F(2,30)=6.95$ ,  $p\text{-value}=0.003$ ,  $\eta_p^2=0.317$ ). Controlling for the effects of potential confounders (severity of crack cocaine use and days of hospitalization), did not change our results: time ( $F[1,28]=0.006$ ,  $p\text{-value}=0.94$ ,  $\eta_p^2=$  ), trauma ( $F[2,28]=1.972$ ,  $p\text{-value}=0.158$ ,  $\eta_p^2=0.123$ ) and time by trauma interaction ( $F[2,28]=6.357$ ,  $p=0.005$ ,  $\eta_p^2=0.312$ ). This analysis reveals that the level of childhood trauma moderates changes of TBARS levels from admission to discharge. In order to understand time by trauma interactions for TBARS we performed a stratified analysis for changes in TBARS levels from admission to discharge among trauma level groups. We found that whether for the low trauma level group TBARS showed a trend-level decrease from admission to discharge (mean difference=10.4,  $SD=16.12$ ,  $CI95\%$  - 0.4 to 21.25,  $r=-0.230$ ,  $t=2.14$ ,  $df=10$ ,  $p=0.058$ ), it did not change for the medium trauma group (mean difference=-0.9,  $SD=5.96$ ,  $CI95\%$  -4.9-3.10,  $r=0.178$ ,  $t=-0.503$ ,  $df=10$ ,  $p\text{-value}=0.626$ ) and it significantly increased for the high trauma group (mean difference=-6.38,  $SD=7.25$ ,  $CI95\%$  - 11.3 to -1.51,  $r=0.405$ ,  $t=-2.919$ ,  $df=10$ ,  $p=0.015$ ). (Figure 1, Panel B)

**(Please insert Figure 1 about here)**

#### *Neuropeptide Y*

We found a significant negative correlation between NPY with the total trauma score ( $r = -0.430$ ;  $p = 0.020$ ,  $n = 29$ ). An examination of subtypes of trauma associated with NPY revealed that NPY was negatively correlated with all (physical neglect  $r = -0.396$ ,  $p = 0.034$ ; emotional neglect  $r = -0.391$ ,  $p = 0.036$ ; physical abuse  $r = -0.427$ ,  $p = 0.021$ ; emotional abuse  $r = -0.419$ ,  $p = 0.024$ ) but one type of trauma (sexual abuse  $r = -0.190$ ,  $p = 0.323$ ).

#### 4. Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study to investigate childhood trauma effects on BDNF, TBARS and NPY serum levels during early crack cocaine withdrawal. While crack cocaine users increased BDNF levels from intake to discharge, regardless of childhood trauma level, TBARS showed a very different pattern comparing patients with high scores of childhood trauma with those with low scores of childhood trauma. Moreover, NPY levels were negatively associated with all types of childhood abuse and neglect, except for sexual abuse.

Previous studies that evaluate how early life stress could affect neurotrophic factors during crack cocaine withdrawal are in accordance with our results. Viola *et al.* investigated a sample of crack cocaine females, and demonstrated that sexual abuse during childhood did not change BDNF serum levels during a 3 week period of crack cocaine withdrawal (Viola *et al.*, 2014). The implications of the increase observed in BDNF levels during withdrawal are still controversial in the literature. A consistent body of evidence, especially in animal model studies, has demonstrated that increasing BDNF levels could represent an enhancement of the mesolimbic dopaminergic neuronal function, which could increase craving symptoms (Viola *et al.*, 2014). Only one study in human demonstrated an association between higher levels of BDNF at discharge and a higher chance of early relapse, corroborating this hypothesis (Corominas-Roso *et al.*, 2013). Therefore, we could assume that BDNF could play an important role in the neuronal plasticity induced by crack cocaine and enhance drug-seeking behavior, perhaps modulating epigenetic factors (Andero *et al.*, 2014; Tuesta *et al.*, 2014). On the other hand, evidence suggests that alterations in BDNF during crack cocaine early withdrawal are positively associated with the severity of drug use: the higher the score, the less BDNF will increase during abstinence (Sordi *et al.* 2014, von Diemen *et al.*, 2013). Considering this confounder, we controlled for severity of crack cocaine use when we evaluated the impact of childhood trauma in alterations in BDNF during early crack cocaine withdrawal. Several studies have demonstrated that early life experiences could interfere in BDNF production and that

childhood abuse appears to decrease BDNF levels in chronic psychiatric disorders such as mood disorder and major depression (Calabrese *et al.*, 2014; Kauer-Sant'Anna *et al.*, 2007). Therefore, it is difficult to determine how much the effect of childhood trauma level and the effect of acute drug use on BDNF release in different brain regions could be overlapped.

When we investigated TBARS alterations during crack cocaine withdrawal among the three groups of trauma levels, we found a decrease in TBARS levels among patients with low childhood trauma levels, but we found a sustained increase in TBARS levels among those with high childhood trauma levels. The first finding is in accordance with the literature that shows that during abstinence there is a decrease in oxidative damage and increase in anti-oxidant defenses (Zaparte *et al.*, 2014). Pre-clinical studies have demonstrated that alcohol, nicotine, opioid, benzodiazepine and amphetamine abuse can increase oxidative stress, and abstinence tends to normalize it (Huang *et al.*, 2009; Kovacic *et al.*, 2005). Cocaine use rapidly increases the production and release of dopamine, and can also increase oxidative stress in brain areas related to the reward system such as the cerebral cortex and striatum because the reuptake of dopamine to the cell is due to self-oxidation (Dietrich *et al.*, 2005). Also, Walker *et al.* have demonstrated that cocaine users have less anti-oxidant defenses than individuals who do not use stimulants (Walker *et al.*, 2014). Different hypothesis could explain why we observed an increasing in TBARS levels among those who reported a higher level of childhood trauma. Previous animal model studies showed that early life stress could lead to a persistent increase in lipid peroxidation, and anti-oxidant defenses would become insufficient to overcome this fact. Therefore, when trauma becomes chronic, there is a persistent alteration of those mechanisms and the individual becomes more vulnerable to produce oxidative stress (Schivone *et al.*, 2013). Among individuals with a history of childhood trauma there is an allostatic overload of the hypothalamus-hypophysis adrenal axis (HPA axis) and it increases symptoms of anxiety and awareness leading to a higher production of cortisol and consequently increase oxidative damage (Badanes *et al.*, 2011). Also, literature shows that drug use could represent a way of adaptability among traumatic situations in order to promote immediate relief of negative feelings (Ramos *et al.*, 2004). Therefore abstinence may cause the emergence of traumatic memories and the exacerbation of stress symptoms, which could be represented by the increase in TBARS levels. Another hypothesis is to understand that the initial difference among the three groups could represent a higher capacity to generate oxidative stress by acute use of crack cocaine among individuals who did not report a history of childhood abuse because they would have more preserved neuroplasticity (Sordi *et*

*al.*,2014; Zaparte *et al.*, 2014). Since we were not able to measure the anti-oxidative response in our study, we could not assume - based on these results - that those with lower levels of trauma could represent a better anti-oxidant response and therefore decrease levels of TBARS during withdrawal as it was shown in previous studies with a crack cocaine female sample (Zaparte *et al.*, 2014).

NPY also showed to be an important biological marker related to childhood trauma in our study. Levandowski *et al.* have already demonstrated crack cocaine users increased leptin levels during early abstinence, although concentrations remained lower than controls. Leptin is a direct antagonist of NPY and they are both related to the energetic homeostasis that is associated with inflammatory mediators (Levandowsky *et al.*, 2013). Previous studies have shown that NPY is involved in the pathogenesis of various psychiatric disorders as major depression, anxiety, and substance abuse (Eaton *et al.*, 2007; Menyhárt *et al.*, 2007; Sajdyk *et al.*, 2008; Schiavone *et al.*, 2013; Yehuda *et al.*, 2006). Feeding mechanisms are regulated by a feedback circuit between glucocorticoid, leptin, insulin and NPY, which are also modulated by the HPA axis. In this circuit there is a balance between the release of corticotrophin and NPY, and this could explain why NPY also promotes an anxiolytic effect (Eaton *et al.*, 2007). Although higher levels of NPY are found in individuals who suffered acute stress, those who presented with post traumatic stress disorder decrease NPY levels when compared to healthy controls (Seedat *et al.*, 2003). Therefore, childhood abuse and neglect could decrease NPY levels, increasing anxiety symptoms and therefore decreasing resilience - which turns out to be a vulnerability factor for addiction. Animal model studies have demonstrated that NPY administration before traumatic experiences can prevent anxiety, fear conditioning and promote resilience; therefore, this is an important matter of study, particularly for the development of new drugs that could help overcome withdrawal symptoms among patients who suffered childhood maltreatment (Feder *et al.*, 2009).

The results of this study must be interpreted in light of some limitations. First, the history of childhood trauma was collected retrospectively, which is always subject to recall bias. Nevertheless, the CTQ is considered a reliable instrument that is validated to the Brazilian Portuguese language and is extensively used in different countries (Grassi-Oliveira *et al.*, 2006). Also we used a sophisticated model using latent variables that takes into account that different types of trauma contribute differently to the overall trauma severity (e.g., sexual abuse is typically more severe than emotional neglect) (Grassi-oliveira *et al.*, 2014). Second, our analysis was limited to 33 subjects. However, the small sample size did not prevented us to



find important associations between biomarkers and trauma levels, which indicates sufficient power to detect the most important associated under study. Third, this study only evaluated an inpatient sample; therefore, more studies are needed to evaluate how those biological markers are distributed and affected after a longer period of abstinence. On the other hand, the mean days of early withdrawal considered in our study are similar to previous studies with crack cocaine users (Lewandowsky *et al.* 2013; Zaparte *et al.*, 2014). Finally, we were not able to particularly evaluate events that could possibly have happened during hospitalization and that could represent stressful situations to the patient. Therefore, we could not measure how these events could influence alterations in the biological markers. Nevertheless, all patients went to the same treatment program, were under the same system of rules and had the same diet throughout the whole period. Another limitation of our study is that we are not able to identify what is the specific part of the brain that is correspondent to the increase in BDNF levels measured in blood samples, this could explain controversial results found in different studies that evaluate BDNF in cocaine users.

Crack cocaine dependence is a very complex disorder since it is involved with biological factors as well as environment factors, and causes a major impact on the life of the subject who uses this form of cocaine, as well as family and society (Kessler *et al.*, 2008). Therefore, many efforts are being made to better understand the neurobiological factors that enhance the development of crack cocaine addiction and vulnerability factors that could have an impact in prevention strategies. Previous studies have demonstrated that childhood abuse could have an important influence in the development of substance abuse related disorders (Narvaez *et al.*, 2012). It has been estimated that 30% of psychiatric disorders could be directly related to early life experiences of abuse (Banducci *et al.* 2014). Thence, our study suggests how childhood trauma could implicate in the patterns of specific biological markers that seem to be involved in the pathogenesis of crack cocaine dependence. The exact physiological mechanisms underlying this behavior are still unknown. Future studies may assess whether early experience may influence the expression of genes involved in neuronal plasticity modulating its interaction with drugs of abuse, and therefore increasing the vulnerability related to addition.

## **5. Author Disclosures**

Funding for this study was provided by Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD) and Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE).

Anne Orgler Sordi, Lisia von Diemen, Felix Henrique Paim Kessler and Flavio Pechansky designed the study and wrote the protocol. Anne Orgler Sordi, Lisia von Diemen, Felix Henrique Paim Kessler and Giovanni Abrahão Salum managed the literature searches and analyses. Carolina Gubert, Bianca Wollenhaupt de Aguiar and Renata Limberger performed laboratorial analysis. Anne Orgler Sordi, Lisia von Diemen, Felix Henrique Paim Kessler, Flavio Pechansky, Giovanni Abrahão Salum, Flavio Kapczinsky and Simone Hauck contribute to write the first draft manuscript. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

None of the above authors have any conflict of interest

## 6. References

- Andero R, Choi DC, Ressler KJ (2014) BDNF-TrkB receptor regulation of distributed adult neural plasticity, memory formation, and psychiatric disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci* 122:169-192.
- Adam TC, Epel ES (2007) Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav* 91:449-458.
- Badanes LS, Watamura SE, Hankin BL (2011) Hypocortisolism as a potential marker of allostatic load in children: associations with family risk and internalizing disorders.
- Banducci AN, Hoffman E, Lejuez CW, Koenen KC (2014) The relationship between child abuse and negative outcomes among substance users: psychopathology, health, and comorbidities. *Addict Behav* 39:1522-1527. *Dev Psychopathol* 23:881-896.
- Bartkowska K, Turlejski K, Djavadian RL (2010) Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 70:454-467.
- Bortoluzzi A, Salum GA, Blaya C, Silveira PP, Grassi-Oliveira R, da Rosa ED, de Aguiar BW, Stertz L, Bosa VL, Schuch I, Goldani M, Kapczinski F, Leistner-Segal S, Manfro GG (2014) Mineralocorticoid receptor genotype moderates the association between physical neglect and serum BDNF. *J Psychiatr Res* 59:8-13.
- Calabrese V, Scapagnini G, Giuffrida Stella AM, Bates TE, Clark JB (2001) Mitochondrial involvement in brain function and dysfunction: relevance to aging, neurodegenerative disorders and longevity. *Neurochem Res* 26:739-764.
- Calabrese F, Rossetti AC, Racagni G, Gass P, Riva MA, Molteni R (2014) Brain-derived neurotrophic factor: a bridge between inflammation and neuroplasticity. *Front Cell Neurosci* 8:430.
- Cirulli F, Francia N, Berry A, Aloe L, Alleva E, Suomi SJ (2009) Early life stress as a risk factor for mental health: role of neurotrophins from rodents to non-human primates. *Neurosci Biobehav Rev* 33:573-585.

- Cohen J (1988) Statistical power analysis for the behavioral sciences. In. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Cook KF, Kallen MA, Amtmann D (2009) Having a fit: impact of number of items and distribution of data on traditional criteria for assessing IRT's unidimensionality assumption. *Qual Life Res* 18:447-460.
- Copeland-Linder N, Lambert SF, Jalongo NS (2010) Community violence, protective factors, and adolescent mental health: a profile analysis. *J Clin Child Adolesc Psychol* 39:176-186.
- Corominas M, Roncero C, Ribases M, Castells X, Casas M (2007) Brain-derived neurotrophic factor and its intracellular signaling pathways in cocaine addiction. *Neuropsychobiology* 55:2-13.
- Corominas-Roso M, Roncero C, Eiroa-Orosa FJ, Gonzalvo B, Grau-Lopez L, Ribases M, Rodriguez-Cintas L, Sánchez-Mora C, Ramos-Quiroga JA, Casas M (2013) Brain-derived neurotrophic factor serum levels in cocaine-dependent patients during early abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol* 23:1078-1084.
- Dias AC, Araújo MR, Dunn J, Sesso RC, de Castro V, Laranjeira R (2011) Mortality rate among crack/cocaine-dependent patients: a 12-year prospective cohort study conducted in Brazil. *J Subst Abuse Treat* 41:273-278.
- Dietrich JB, Mangeol A, Revel MO, Burgun C, Aunis D, Zwiller J (2005) Acute or repeated cocaine administration generates reactive oxygen species and induces antioxidant enzyme activity in dopaminergic rat brain structures. *Neuropharmacology* 48:965-974.
- Eaton K, Sallee FR, Sah R (2007) Relevance of neuropeptide Y (NPY) in psychiatry. *Curr Top Med Chem* 7:1645-1659.
- Feder A, Nestler EJ, Charney DS (2009) Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nat Rev Neurosci* 10:446-457.
- Fukunaga K, Yoshida M, Nakazono N (1998) A simple, rapid, highly sensitive and reproducible quantification method for plasma malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr* 12:300-303.
- Fumagalli F, Di Pasquale L, Caffino L, Racagni G, Riva MA (2007) Repeated exposure to cocaine differently modulates BDNF mRNA and protein levels in rat striatum and prefrontal cortex. *Eur J Neurosci* 26:2756-2763.
- Grassi-Oliveira R, Stein LM, Pezzi JC (2006) [Translation and content validation of the Childhood Trauma Questionnaire into Portuguese language]. *Rev Saude Publica* 40:249-255.
- Grassi-Oliveira R, Cogo-Moreira H, Salum GA, Brietzke E, Viola TW, Manfro GG, Kristensen CH, Arteche AX (2014) Childhood Trauma Questionnaire (CTQ) in Brazilian samples of different age groups: findings from confirmatory factor analysis. *PLoS One* 9:e87118.

- Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem* 97:1634-1658.
- Huang MC, Chen CH, Peng FC, Tang SH, Chen CC (2009) Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdrawal in alcoholic patients. *J Formos Med Assoc* 108:560-569.
- Kauer-Sant'Anna M, Tramontina J, Andreazza AC, Cereser K, da Costa S, Santin A, Yatham LN, Kapczinski F (2007) Traumatic life events in bipolar disorder: impact on BDNF levels and psychopathology. *Bipolar Disord* 9 Suppl 1:128-135.
- Kessler F (2008) Uma visão psiquiátrica sobre o fenômeno do *crack* na atualidade. In: (Pechansky F, ed), pp 96-98. Porto Alegre: Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul.
- Kessler F, Cacciola J, Alterman A, Faller S, Souza-Formigoni ML, Cruz MS, Brasiliano S, Pechansky F (2012) Psychometric properties of the sixth version of the Addiction Severity Index (ASI-6) in Brazil. *Rev Bras Psiquiatr* 34:24-33.
- Kovacic P (2005) Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses* 64:350-356.
- Levandowski ML, Viola TW, Tractenberg SG, Teixeira AL, Brietzke E, Bauer ME, Grassi-Oliveira R (2013) Adipokines during early abstinence of crack cocaine in dependent women reporting childhood maltreatment. *Psychiatry Res* 210:536-540.
- Lindell SG, Schwandt ML, Sun H, Sparenborg JD, Björk K, Kasckow JW, Sommer WH, Goldman D, Higley JD, Suomi SJ, Heilig M, Barr CS (2010) Functional NPY variation as a factor in stress resilience and alcohol consumption in rhesus macaques. *Arch Gen Psychiatry* 67:423-431.
- Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB, Plotsky PM, Monteggia LM (2007) Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *Eur J Neurosci* 25:3091-3098.
- McGinty JF, Whitfield TW, Berglind WJ (2010) Brain-derived neurotrophic factor and cocaine addiction. *Brain Res* 1314:183-193.
- Menyhért J, Wittmann G, Lechan RM, Keller E, Liposits Z, Fekete C (2007) Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) is colocalized with the orexigenic neuropeptide Y and agouti-related protein and absent from the anorexigenic alpha-melanocyte-stimulating hormone neurons in the infundibular nucleus of the human hypothalamus. *Endocrinology* 148:4276-4281.
- Nappo SA (2014) Is there a crack epidemic among students in Brazil? comments on media and public health issues. In: (Zila M Sanchez LAR, ed), pp 1643-1649. Brazil: Cadernos de Saúde Pública.
- Narvaez JC, Magalhães PV, Trindade EK, Vieira DC, Kauer-Sant'anna M, Gama CS, von Diemen L, Kapczinski NS, Kapczinski F (2012) Childhood trauma, impulsivity, and executive functioning in crack cocaine users. *Compr Psychiatry* 53:238-244.

- Nascimento Ed (2002) WISC-III e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. In: (Figueiredo VLMD, ed). Porto Alegre, Brazil.: Psicol. Reflex. Crit.
- Ouimette P, Coolhart D, Funderburk JS, Wade M, Brown PJ (2007) Precipitants of first substance use in recently abstinent substance use disorder patients with PTSD. *Addict Behav* 32:1719-1727.
- Pomierny-ChamióŁo L, Moniczewski A, Wydra K, Suder A, Filip M (2013) Oxidative stress biomarkers in some rat brain structures and peripheral organs underwent cocaine. *Neurotox Res* 23:92-102.
- Ramos SeP (2004) What can we learn from psychoanalysis and prospective studies about chemically dependent patients? *Int J Psychoanal* 85:467-487.
- Sajdyk TJ, Shekhar A, Gehlert DR (2004) Interactions between NPY and CRF in the amygdala to regulate emotionality. *Neuropeptides* 38:225-234.
- Schiavone S, Jaquet V, Trabace L, Krause KH (2013) Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. *Antioxid Redox Signal* 18:1475-1490.
- Sordi AO, Pechansky F, Kessler FH, Kapczinski F, Pfaffenseller B, Gubert C, de Aguiar BW, de Magalhães Narvaez JC, Ornell F, von Diemen L (2014) Oxidative stress and BDNF as possible markers for the severity of crack cocaine use in early withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)* 231:4031-4039.
- Sørensen G, Lindberg C, Wörtwein G, Bolwig TG, Woldbye DP (2004) Differential roles for neuropeptide Y Y1 and Y5 receptors in anxiety and sedation. *J Neurosci Res* 77:723-729.
- von Diemen L, Kapczinski F, Sordi AO, de Magalhães Narvaez JC, Guimarães LS, Kessler FH, Pfaffenseller B, de Aguiar BW, de Moura Gubert C, Pechansky F (2013) Increase in brain-derived neurotrophic factor expression in early crack cocaine withdrawal. *Int J Neuropsychopharmacol*:1-8.
- Walker J, Winhusen T, Storkson JM, Lewis D, Pariza MW, Somoza E, Somoza V (2014) Total antioxidant capacity is significantly lower in cocaine-dependent and methamphetamine-dependent patients relative to normal controls: results from a preliminary study. *Hum Psychopharmacol*.
- Wetherill L, Schuckit MA, Hesselbrock V, Xuei X, Liang T, Dick DM, Kramer J, Nurnberger JI, Tischfield JA, Porjesz B, Edenberg HJ, Foroud T (2008) Neuropeptide Y receptor genes are associated with alcohol dependence, alcohol withdrawal phenotypes, and cocaine dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 32:2031-2040.
- Yehuda R, Brand S, Yang RK (2006) Plasma neuropeptide Y concentrations in combat exposed veterans: relationship to trauma exposure, recovery from PTSD, and coping. *Biol Psychiatry* 59:660-663.

Zaparte A, Viola TW, Grassi-Oliveira R, da Silva Morrone M, Moreira JC, Bauer ME (2014) Early abstinence of crack-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology (Berl)*.

Zarjevski N, Cusin I, Vettor R, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B (1993) Chronic intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity. *Endocrinology* 133:1753-1758.

Tuesta LM, Zhang Y (2014) Mechanisms of epigenetic memory and addiction. *EMBO J* 33:1091-1103.

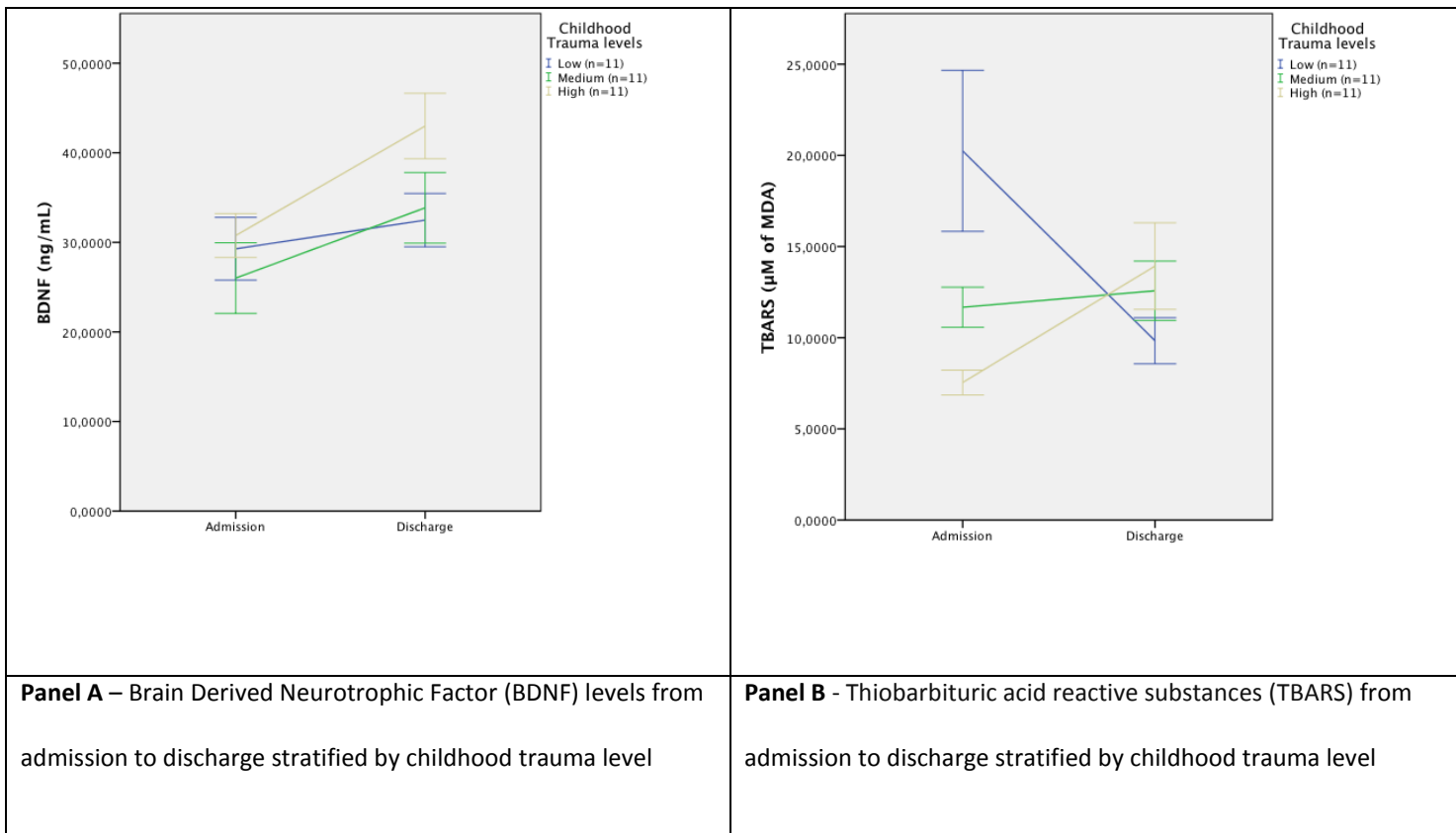
Table 1. Sample description stratified by trauma groups

	Low (n=11)		Medium (n=11)		High (n=11)		Total	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Age (years)	29.64 <sup>a</sup>	8.3	26.09 <sup>a</sup>	5.68	25.45 <sup>a</sup>	6.47	27.06	6.94
Days of hospitalization	19.82 <sup>a</sup>	4.33	19.18 <sup>a</sup>	4.17	17.91 <sup>a</sup>	4.39	18.97	4.24
Crack-cocaine use (years)	7.00 <sup>a</sup>	3.5	6.91 <sup>a</sup>	3.51	5.82 <sup>a</sup>	2.64	6.56	3.17
Severity score	14.27 <sup>a</sup>	3.93	15.09 <sup>a</sup>	4.66	15.18 <sup>a</sup>	4.77	14.85	4.35
<b>Standardized trauma levels</b>								
Physical Neglect	-.033 <sup>a</sup>	.189	.273 <sup>b</sup>	.127	.383 <sup>b</sup>	.179	.208	.241
Emotional Neglect	-.025 <sup>a</sup>	.307	-.367 <sup>a</sup>	.518	-.294 <sup>a</sup>	.179	-.229	.382
Sexual Abuse	-.005 <sup>a</sup>	.452	.523 <sup>ab</sup>	.590	.760 <sup>b</sup>	.549	.426	.610
Physical Abuse	-.354 <sup>a</sup>	.275	.395 <sup>b</sup>	.299	.835 <sup>c</sup>	.409	.292	.594
Emotional Abuse	-.177 <sup>a</sup>	.264	.386 <sup>b</sup>	.101	.710 <sup>c</sup>	.228	.306	.424
Total trauma scores	-.074 <sup>a</sup>	.106	.166 <sup>b</sup>	.045	.297 <sup>c</sup>	.096	.130	.177
<b>Biomarkers</b>								
BDNF (admission)	29.28 <sup>a</sup>	11.62	26.01 <sup>a</sup>	13.08	30.77 <sup>a</sup>	8.13	28.69	10.97
BDNF (discharge)	32.48 <sup>a</sup>	9.88	33.86 <sup>a</sup>	13.09	42.99 <sup>a</sup>	12.13	36.44	12.35
TBARS (admission)	20.24 <sup>a</sup>	14.65	11.67 <sup>ab</sup>	3.64	7.54 <sup>b</sup>	2.27	13.15	10.08
TBARS (discharge)	9.83 <sup>a</sup>	4.18	12.57 <sup>a</sup>	5.41	13.93 <sup>a</sup>	7.87	12.11	6.08
	N	%	N	%	N	%	n	%
Ethnicity (Caucasian)	10 <sup>a</sup>	90.90	6 <sup>a</sup>	54.50	9 <sup>a</sup>	81.80	25	75.80
Marital status (married)	1 <sup>a</sup>	9.10	5 <sup>a</sup>	45.50	2 <sup>a</sup>	18.20	8	24.20

Note: BDNF, brain derived neurotrophic factor; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances.

Between group differences were tested using t-tests and z-tests. Between groups significant differences are marked with different letters.

Figure 1. BDNF and TBARS serum levels among trauma groups during withdrawal





## CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados nesse trabalho através destes três artigos demonstram a complexidade dos estudos que procuram entender as manifestações biológicas e psicossociais da dependência de crack. Apesar de o crack ser derivado da cocaína, percebe-se que seus usuários possuem particularidades diferentes dos usuários de cocaína inalada ou outras drogas, e isto justifica a importância de estudar um transtorno que provoca consequências tão danosas para o indivíduo, suas famílias e para a sociedade.

Apesar de o crack ser uma droga amplamente difundida em diversos países, quando procuramos estudos com amostra de usuários de crack em bases de dados de artigos científicos percebemos que poucas pesquisas têm sido realizadas no que se refere a esta população, em parte devido às poucas evidências de fármacos que possam ter uma contribuição significativa no tratamento desta patologia, e em parte pela dificuldade de se coletar dados em uma amostra de usuários de substâncias que muitas vezes não aceitam completar o tratamento na internação e que frequentemente desaparecem na sociedade, ficando invisíveis inclusive para seus familiares (Fitzgerald *et al.*, 1997).

Cada vez mais, a busca por marcadores biológicos tem despertado interesse na psiquiatria como uma forma de se entender as manifestações bioquímicas que permeiam os transtornos mentais, além de uma maneira de futuramente poder-se utilizar estes marcadores para determinar o prognóstico destas doenças. Assim, tanto o artigo 1, quanto o artigo 3, procuram demonstrar a manifestação da neurotrofina BDNF e do marcador de estresse oxidativo TBARS na abstinência precoce de usuários de crack e as possíveis relações das alterações destes marcadores com a gravidade do uso e fatores prévios de vulnerabilidade, como por exemplo trauma na infância. Os achados sugerem que a gravidade do uso de crack parece diminuir os níveis séricos de BDNF, implicando em um prejuízo na plasticidade cerebral. Da mesma forma, aqueles que se apresentam com uma dependência mais grave, parecem apresentar níveis mais altos de estresse oxidativo, o que provavelmente resulta em um maior dano neuronal nestes pacientes. É interessante o achado de que situações prévias ao uso de drogas, como o trauma infantil, possam influenciar na resposta cerebral relacionada às alterações no dano celular durante o processo de abstinência, necessitando de ainda mais estudos para se entender os mecanismos neurobiológicos que contribuem para esse fenômeno.

A continuidade desses estudos com outros de seguimento poderá auxiliar a compreender se estes marcadores refletem apenas alterações agudas devido à intoxicação pelo uso de crack ou alterações cerebrais que acontecem durante o período de abstinência, ou se existe um ponto de não retorno das alterações na produção de BDNF e TBARS que possa prever prejuízos mais permanentes na neuroplasticidade destes pacientes. Além disso, o artigo 3 demonstra uma clara associação entre o NPY e a história de trauma na infância nesta amostra de pacientes, sugerindo uma outra via de sinalização relacionada principalmente aos sintomas de ansiedade que pode influenciar na vulnerabilidade ao uso de substâncias. Dessa forma, traz um elemento inovador aos estudos que tem sido realizados com usuários de drogas, visto que são muito escassos os projetos que procuram estudar o papel dos neuropeptídeos e adipocinas na dependência química.

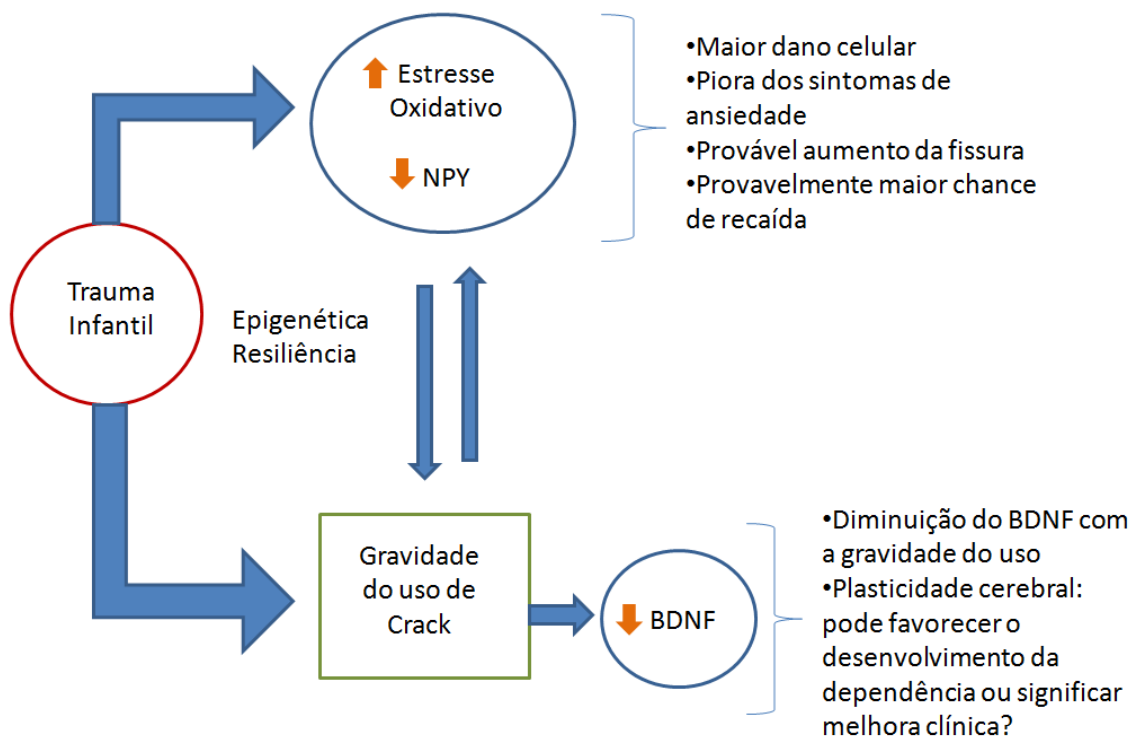
O segundo artigo apresentado, por outro lado, procura explorar a dependência de crack através de um olhar mais clínico e psicodinâmico, buscando entender a influência das experiências traumáticas infantis na predisposição ao uso de crack. Apesar de este não ser um tema novo em psiquiatria, ainda assim é um assunto que começou a ser estudado recentemente nos usuários de crack. O artigo demonstrou que a prevalência de trauma na infância é claramente maior em usuários de crack do que em indivíduos não usuários, sugerindo que este deve ser um assunto investigado no atendimento destes pacientes, além de ser viável como linha de pesquisa que relaciona mais de uma área na psiquiatria. As teorias psicodinâmicas que procuram entender o fenômeno das adições reforçam o papel da droga como um substituto de falhas no curso do desenvolvimento, ou como um anestésico para as emoções negativas. Além disso, o conceito de resiliência também foi abordado neste artigo, procurando apontar não apenas para os aspectos patológicos da dependência de crack, mas também entender o indivíduo a partir de suas potencialidades, visando quais os aspectos de resiliência que podem ser trabalhados nessa população. Dessa maneira, a construção de um plano terapêutico com os pacientes usuários de crack que busque integrar tanto os aspectos estruturais, dando um novo significado para as experiências traumáticas vivenciadas precocemente, quanto tratar sintomas clínicos de fissura e abstinência são fundamentais para integrar melhor as necessidades destes indivíduos e proporcionar maior eficácia terapêutica.

Olhando integralmente para os resultados apresentados nos 3 artigos, podemos pensar em um modelo mais amplo que some tanto os aspectos neurobiológicos quanto os aspectos clínicos na compreensão de fatores de vulnerabilidade que podem estar associados

ao uso de crack. Os achados demonstram que provavelmente as experiências traumáticas infantis modulam a plasticidade cerebral e o dano oxidativo, bem como alterações no HPA que estão diretamente relacionadas à intensidade de sintomas de ansiedade. Isso possibilita com que o indivíduo se torne mais vulnerável à experimentação de drogas e ao desenvolvimento da dependência; além disso, a gravidade da utilização da droga provavelmente contribui para alterar ainda mais esses mecanismos.

A figura a seguir, procura demonstrar este modelo de uma forma que integre os resultados apresentados nos 3 artigos. (Figura I)

**Figura I. Modelo Integrador entre a História de Trauma Infantil, Resiliência e alterações em marcadores biológicos na Dependência de Crack**



O passo futuro será aprofundar a investigação destas alterações bioquímicas, somadas a estudos de neuroimagem e epigenética, procurando entender se o trauma infantil pode modificar a expressão de genes relacionados à produção, liberação ou receptores

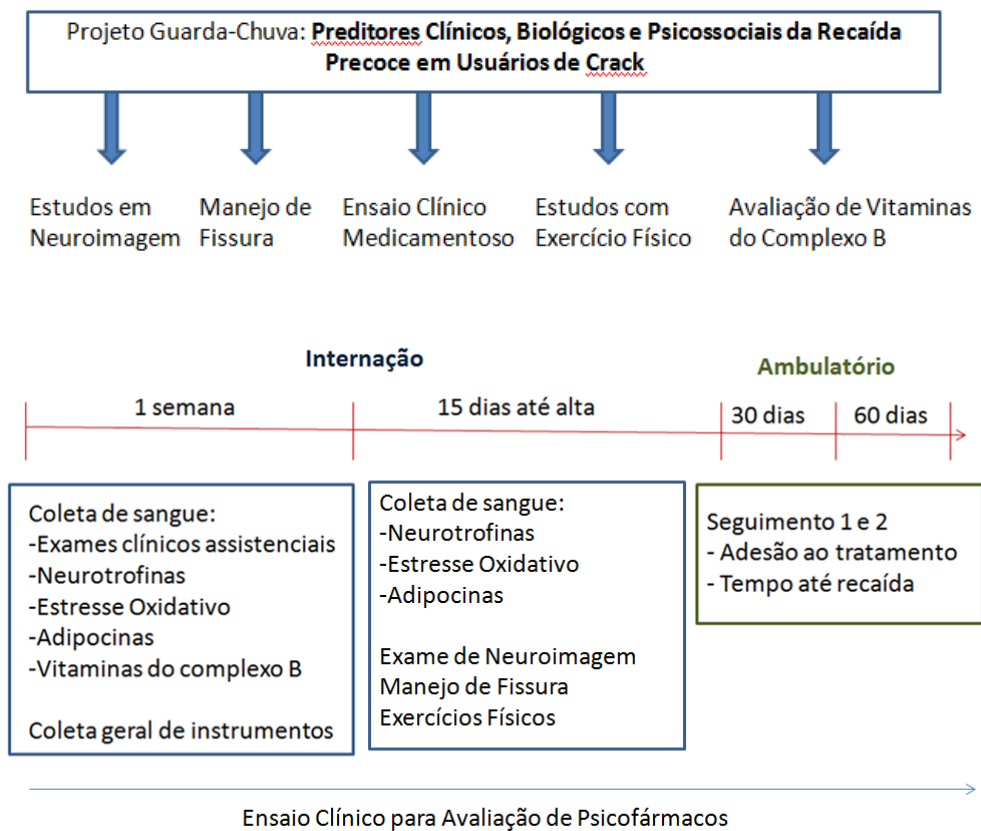
desses marcadores, no sentido de alterar o seu funcionamento e/ou interação com as drogas, trazendo maior vulnerabilidade à plasticidade cerebral futura e contribuindo para um futuro modelo de estadiamento do usuário de crack que leve em conta tanto fatores clínicos, psicossociais e biológicos que possam predizer prognóstico e orientar abordagens terapêuticas mais eficazes.

## PERSPECTIVAS FUTURAS E RESULTADOS COMPLEMENTARES

Após a coleta de dados realizada no Hospital São Pedro de Porto Alegre e que promoveu subsídio para os resultados apresentados nos três artigos anteriores, foi escrito por nosso grupo de pesquisas um novo projeto aprovado pelo Edital Universal do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPQ), para dar seguimento com a coleta de dados na Unidade Álvaro Alvim do HCPA (UAA). A UAA conta com programa de tratamento para dependentes de drogas estruturado desde 2011. Neste programa existe um ambiente de internação com 20 leitos masculinos, bem como com um ambulatório que atende tanto homens quanto mulheres, para tratamento da dependência de crack e/ou outras drogas.

Este estudo, do qual faço parte da coordenação, configura-se em um “projeto guarda-chuva” que conecta diversos outros projetos em andamento por nosso grupo de pesquisas, conforme mostra a figura abaixo (Figura II). Até o momento, temos cerca de 300 casos coletados e o banco de dados está sendo montado para posterior análise dos resultados.

Figura II. Estudos coordenados pelo Centro de Pesquisas em Álcool e Drogas do HCPA



### *Logística da coleta de dados*

Todos os pacientes que internam na UAA são convidados a participar do projeto no seu primeiro dia de internação. No dia seguinte a internação, em jejum, eles têm uma amostra de sangue coletada e enviada imediatamente ao Laboratório de Pesquisa Experimental do HCPA, onde ele é processado e armazenado em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  para posterior análise. A coleta de dados é realizada por uma equipe de assistentes de pesquisa treinados e ocorre dentro da primeira semana de internação. A testagem neurocognitiva e exames de neuroimagem são realizados a partir do 15º dia de internação. No dia da alta, o paciente tem uma nova amostra de sangue coletada. Para aqueles pacientes que irão seguir acompanhamento ambulatorial na UAA, uma coleta de dados de seguimento é realizada 30 e 60 dias após a alta. Para todos os pacientes é aplicada uma bateria de instrumentos que avaliam características sociodemográficas, características do uso de álcool e drogas, história familiar do uso de álcool e drogas, gravidade do uso de álcool e drogas em diferentes áreas da vida, comorbidades psiquiátricas, informações de prontuário referentes a medicações em uso e exames realizados na internação, sintomas psiquiátricos e testagem neurocognitiva.

### *Análise Estatística*

As variáveis com distribuição normal e assimétrica foram comparadas utilizando-se o Teste T de Student e o Teste de Mann-Whitney, respectivamente. As variáveis com distribuição normal são apresentadas pela média e desvio padrão. As variáveis com distribuição assimétrica são apresentadas pelo intervalo interquartil. Correlações entre variáveis com distribuição normal e assimétrica foram feitas através do Teste de Pearson e Spearman, respectivamente. O número de pedras de crack usadas nos últimos 30 dias foram avaliadas pela equação [média de pedras por dia X número de dias de uso nos últimos 30 dias]. Gravidade do uso de crack foi definida pela mesma equação apresentada nos artigos anteriores apresentados nesta tese. As análises e valores de BDNF foram controlados para idade, e diferença de dias de coleta através de uma regressão logística.

### *Resultados Preliminares (n=64)*

Os dados sociodemográficos e padrão de uso de crack da amostra estão descritos na tabela II. Para fim desta análise, os usuários de crack foram divididos em dois grupos (quem completou o tratamento, n=34; quem não completou o tratamento n=32), segundo o relato no prontuário. O tempo de dias de internação foi diferente nos dois grupos ( $p < 0.001$ ).

Os níveis séricos de BDNF na alta de pacientes que completaram o tratamento foram maiores do que aqueles que não completaram o tratamento ( $17.76 \pm 5,03$  X  $14.78 \pm 5.36$ ;  $p=0.025$ ). Os valores foram controlados por idade e tempo de internação. (Tabela III)

Tabela II. Características sociodemográficas e padrão do uso de crack

	<b>Usuários de crack (66)</b>
	<b>n (%)</b>
Idade <sup>a</sup>	33.89 (8.65)
Caucasianos	39 (59.1)
Casados	16 (24.2)
8 anos ou menos de escolaridade	43 (65.2)
Idade do primeiro uso de crack <sup>b</sup>	22 (18-30)
Anos de uso de crack <sup>a</sup>	9.33(5.14)
Número de pedras nos últimos 30 dias <sup>b</sup>	300 (160-600)
Gravidade do uso de crack <sup>b</sup>	15 (11-23)

<sup>a</sup>Média (desvio padrão); <sup>b</sup>Mediana (intervalo interquartil)

Tabela III. BDNF e TBARS em pacientes que completaram ou não o tratamento

	<b>Não completaram tratamento* (n=32)</b>	<b>Completaram o tratamento (n=34)</b>	<b>p</b>
	Media (DP)	Media (DP)	
Dias de internação	20.6 (9.75)	33.31 (7.31)	<0.001
BDNF na admissão	14.61 (4.76)	16.23 (3.33)	0.123
BDNF na alta	14.78 (5.36)	17.76 (5,03)	0.025
Varição do BDNF <sup>a</sup>	2.21 (-20.17 – 23.87)	2.13 (-5.77 – 37.95)	0.428
TBARS na admissão <sup>a</sup>	28.99 (17.81 – 53.58)	44.7 (28.1 – 58.0)	0.098
TBARS na alta <sup>a</sup>	27.45 (17.63 – 50.3)	31.26 (22.7 – 48.59)	0.462
Variation do TBARS <sup>a</sup>	5.50 (-40.57 – 40.26)	-15.15 (-45.69 – 50.63)	0.582

DP=desvio padrão; <sup>a</sup> Mediana (Intervalo interquartil);

\* A razão de não completar o tratamento foi unicamente por desistência do paciente

Estes resultados preliminares sugerem que o pior desfecho no tratamento de usuários de crack pode estar relacionado a um prejuízo na plasticidade cerebral, especialmente no que concerne o papel das neurotrofinas. A continuidade deste estudo possibilitará avaliar uma amostra maior de pacientes, contribuindo para o conhecimento sobre a implicação destas alterações biológicas em fatores neurocognitivos, clínicos e psicossociais de usuários de crack.



## REFERÊNCIAS

- Adam TC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav.* 2007;91(4):449-58.
- Adams EH, Durell J. Cocaine: a growing public health problem. *NIDA Res Monogr.* 1984;50:9-14.
- Akyol O, Herken H, Uz E, Fadillioğlu E, Unal S, Söğüt S, et al. The indices of endogenous oxidative and antioxidative processes in plasma from schizophrenic patients. The possible role of oxidant/antioxidant imbalance. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2002;26(5):995-1005.
- Anda RF, Croft JB, Felitti VJ, Nordenberg D, Giles WH, Williamson DF, et al. Adverse childhood experiences and smoking during adolescence and adulthood. *JAMA.* 1999;282(17):1652-8.
- Andreazza AC, Cassini C, Rosa AR, Leite MC, de Almeida LM, Nardin P, et al. Serum S100B and antioxidant enzymes in bipolar patients. *J Psychiatr Res.* 2007;41(6):523-9.
- Angelucci F, Ricci V, Gelfo F, Martinotti G, Brunetti M, Sepede G, et al. BDNF serum levels in subjects developing or not post-traumatic stress disorder after trauma exposure. *Brain Cogn.* 2014;84(1):118-22.
- Atkinson PA, Martin CR, Rankin J. Resilience revisited. *J Psychiatr Ment Health Nurs.* 2009;16(2):137-45.
- Autry AE, Monteggia LM. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev* 64. 2012;(2): 238-258.
- Baraban SC, Hollopeter G, Erickson JC, Schwartzkroin PA, Palmiter RD. Knock-out mice reveal a critical antiepileptic role for neuropeptide Y. *J Neurosci.* 1997;17(23):8927-36.
- Bartkowska K, Turlejski K, Djavadian RL. Neurotrophins and their receptors in early development of the mammalian nervous system. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2010;70(4):454-67.
- Bastos FI. Crack in Brazil: a public health emergency. *Cad Saude Publica.* 2012;28(6):1016-7.
- Becoña E. [Resilience and drug consumption: a review]. *Adicciones.* 2007;19(1):89-101.
- Berglind WJ, Whitfield TW, LaLumiere RT, Kalivas PW, McGinty JF. A single intra-PFC infusion of BDNF prevents cocaine-induced alterations in extracellular glutamate within the nucleus accumbens. *J Neurosci.* 2009;29(12):3715-9.
- Bose C. Cocaine Poisoning. *Br Med J.* 1913; 1(2714): 16-17.

Bose KC. Cocaine Intoxication and Its Demoralizing Effects. *Br Med J.* 1902 1(2156): 1020-1022.

Bowlby J. Grief and mourning in infancy and early childhood. *Psychoanalytic Study of the Child*; 1960. p. 9-52.

Bowlby J. Attachment (1969). Attachment and loss. 1. New York: Basic Books; 1984.

Bowlby J. Loss (1980). 3. New York: Basic Books; 1984.

Bremner JD, Southwick SM, Johnson DR, Yehuda R, Charney DS. Childhood physical abuse and combat-related posttraumatic stress disorder in Vietnam veterans. *Am J Psychiatry.* 1993; 150(2): 235-239.

Bremner JD, Vythilingam M, Vermetten E, Adil J, Khan S, Nazeer A, et al. Cortisol response to a cognitive stress challenge in posttraumatic stress disorder (PTSD) related to childhood abuse. *Psychoneuroendocrinology.* 2003;28(6):733-50.

Caldji C, Tannenbaum B, Sharma S, Francis D, Plotsky PM, Meaney MJ. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(9):5335-40.

Charney DS. Psychobiological mechanisms of resilience and vulnerability: implications for successful adaptation to extreme stress. *Am J Psychiatry.* 2004;161(2):195-216.

Ciccocioppo R, Gehlert DR, Ryabinin A, Kaur S, Cippitelli A, Thorsell A, et al. Stress-related neuropeptides and alcoholism: CRH, NPY, and beyond. *Alcohol.* 2009;43(7):491-8.

Cirulli F, Francia N, Berry A, Aloe L, Alleva E, Suomi SJ. Early life stress as a risk factor for mental health: role of neurotrophins from rodents to non-human primates. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009;33(4):573-85.

Cirulli F, Micera A, Alleva E, Aloe L. Early maternal separation increases NGF expression in the developing rat hippocampus. *Pharmacol Biochem Behav.* 1998;59(4):853-8.

Cohen H, Liu T, Kozlovsky N, Kaplan Z, Zohar J, Mathé AA. The neuropeptide Y (NPY)-ergic system is associated with behavioral resilience to stress exposure in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37(2):350-63.

Cornish JW, O'Brien CP. Crack cocaine abuse: an epidemic with many public health consequences. *Annu Rev Public Health.* 1996; 17: 259-273.

Corominas M, Roncero C, Ribases M, Castells X, Casas M. Brain-derived neurotrophic factor and its intracellular signaling pathways in cocaine addiction. *Neuropsychobiology.* 2007;55(1):2-13.

Corominas-Roso M, Roncero C, Eiroa-Orosa FJ, Gonzalvo B, Grau-Lopez L, Ribases M, et al. Brain-derived neurotrophic factor serum levels in cocaine-dependent patients during early

abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2013;23(9):1078-84.

Cruz M, Bertoni N, Bastos FI, Burnett C, Gooch J, Fischer B. Comparing key characteristics of young adult crack users in and out-of-treatment in Rio de Janeiro, Brazil. *Subst Abuse Treat Prev Policy.* 2014;9:2.

D'Sa C, Fox HC, Hong AK, Dileone RJ, Sinha R. Increased serum brain-derived neurotrophic factor is predictive of cocaine relapse outcomes: a prospective study. *Biol Psychiatry.* 2011;70(8):706-11.

Daniels WM, Pietersen CY, Carstens ME, Stein DJ. Maternal separation in rats leads to anxiety-like behavior and a blunted ACTH response and altered neurotransmitter levels in response to a subsequent stressor. *Metab Brain Dis.* 2004;19(1-2):3-14.

Daniulaityte R, Carlson RG, Siegal HA. "Heavy users," "controlled users," and "quitters": understanding patterns of crack use among women in a midwestern city. *Subst Use Misuse.* 2007;42(1):129-52.

Dias AC, Araújo MR, Dunn J, Sesso RC, de Castro V, Laranjeira R. Mortality rate among crack/cocaine-dependent patients: a 12-year prospective cohort study conducted in Brazil. *J Subst Abuse Treat.* 2011;41(3):273-8.

Dietrich JB, Mangeol A, Revel MO, Burgun C, Aunis D, Zwiller J. Acute or repeated cocaine administration generates reactive oxygen species and induces antioxidant enzyme activity in dopaminergic rat brain structures. *Neuropharmacology.* 2005;48(7):965-74.

Dietz DM, Dietz KC, Nestler EJ, Russo SJ. Molecular mechanisms of psychostimulant-induced structural plasticity. *Pharmacopsychiatry.* 2009;42 Suppl 1:S69-78.

Donato EM, Rezende EP, Ribeiro M, Silva CJ. Farmacologia e neurobiologia do consumo de crack. In: Ribeiro M, Laranjeira R (eds). *O tratamento do usuário de crack.* 2010; São Paulo: Casa Leitura Médica.

Dvořáková M, Paduchová Z, Muchová J, Duračková Z, Collins AR. How does pycnogenol® influence oxidative damage to DNA and its repair ability in elderly people? *Prague Med Rep.* 2010;111(4):263-71.

Eaton K, Sallee FR, Sah R. Relevance of neuropeptide Y (NPY) in psychiatry. *Curr Top Med Chem.* 2007;7(17):1645-59.

Eren I, Naziroğlu M, Demirdaş A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem Res.* 2007;32(7):1188-95.

Feder A, Nestler EJ, Charney DS. Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):446-57.

Fergusson D. Resilience to childhood adversity: Results of a 21 year study. In: Luthar SpswsgqgS, editor. Resilience and Vulnerability: Adaptation in the Context of Childhood Adversities. Cambridge University Press 2003.

Fitzgerald JL, Hamilton M. Confidentiality, disseminated regulation and ethico-legal liabilities in research with hidden populations of illicit drug users. *Addiction*. 1997;92(9):1099-107.

Francis DD, Champagne FA, Liu D, Meaney MJ. Maternal care, gene expression, and the development of individual differences in stress reactivity. *Ann N Y Acad Sci*. 1999;896:66-84.

Frodl T, Skokauskas N, Frey EM, Morris D, Gill M, Carballedo A. BDNF Val66Met genotype interacts with childhood adversity and influences the formation of hippocampal subfields. *Hum Brain Mapp*. 2014.

Fumagalli F, Di Pasquale L, Caffino L, Racagni G, Riva MA. Repeated exposure to cocaine differently modulates BDNF mRNA and protein levels in rat striatum and prefrontal cortex. *Eur J Neurosci*. 2007;26(10):2756-63.

Fürst Z, Riba P, Al-Khrasani M. New approach to the neurobiological mechanisms of addiction. *Neuropsychopharmacol Hung*. 2013;15(4):189-205.

Gamerzy N. Resiliency and vulnerability to adverse developmental outcomes associated with poverty. *American Behavioral Scientist*; 1991. p. 416-43.

Gilligan PJ, Robertson DW, Zaczek R. Corticotropin releasing factor (CRF) receptor modulators: progress and opportunities for new therapeutic agents. *J Med Chem*. 2000;43(9):1641-60.

Gilpin NW. Neuropeptide Y (NPY) in the extended amygdala is recruited during the transition to alcohol dependence. *Neuropeptides*. 2012;46(6):253-9.

Gilpin NW, Misra K, Herman MA, Cruz MT, Koob GF, Roberto M. Neuropeptide Y opposes alcohol effects on gamma-aminobutyric acid release in amygdala and blocks the transition to alcohol dependence. *Biol Psychiatry*. 2011;69(11):1091-9.

Gilpin NW, Stewart RB, Badia-Elder NE. Neuropeptide Y administration into the amygdala suppresses ethanol drinking in alcohol-preferring (P) rats following multiple deprivations. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008;90(3):470-4.

Graham DL, Edwards S, Bachtell RK, DiLeone RJ, Rios M, Self DW. Dynamic BDNF activity in nucleus accumbens with cocaine use increases self-administration and relapse. *Nat Neurosci*. 2007;10(8):1029-37.

Green KT, Calhoun PS, Dennis MF, Beckham JC, Mid-Atlantic Mental Illness Research

EuaCCW. Exploration of the resilience construct in posttraumatic stress disorder severity and functional correlates in military combat veterans who have served since September 11, 2001. *J Clin Psychiatry*. 2010;71(7):823-30.

Gutman AR, Yang Y, Ressler KJ, Davis M. The role of neuropeptide Y in the expression and extinction of fear-potentiated startle. *J Neurosci*. 2008;28(48):12682-90.

Gutteridge JM, Halliwell B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;393(4):561-4.

Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*. 1989;70(6):737-57.

Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994;344(8924):721-4.

Halliwell B. The antioxidant paradox. *Lancet*. 2000;355(9210):1179-80.

Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 2001; 18(9): 685-716.

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem*. 2006a; 97(6): 1634-1658.

Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*. 2006b; 141(2): 312-322.

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem*. 2006;97(6):1634-58.

Halliwell B. The wanderings of a free radical. *Free Radic Biol Med*. 2009;46(5):531-42.

Hamid A. Crack: new directions in drug research. Part 1. Differences between the marijuana economy and the cocaine/crack economy. *Int J Addict*. 1991;26(8):825-36.

Hamid A. The developmental cycle of a drug epidemic: the cocaine smoking epidemic of 1981-1991. *J Psychoactive Drugs*. 1992;24(4):337-48.

Hauck S, Kapczinski F, Roesler R, de Moura Silveira E, Magalhães PV, Krueh LR, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with trauma psychopathology. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010;34(3):459-62.

Heilig M. The NPY system in stress, anxiety and depression. *Neuropeptides*. 2004;38(4):213-24.

Heilig M, Murison R. Intracerebroventricular neuropeptide Y suppresses open field and home cage activity in the rat. *Regul Pept*. 1987;19(3-4):221-31.

Heilig M, Söderpalm B, Engel JA, Widerlöv E. Centrally administered neuropeptide Y (NPY) produces anxiolytic-like effects in animal anxiety models. *Psychopharmacology (Berl)*.

1989;98(4):524-9.

Huang MC, Chen CH, Peng FC, Tang SH, Chen CC. Alterations in oxidative stress status during early alcohol withdrawal in alcoholic patients. *J Formos Med Assoc.* 2009;108(7):560-9.

Inciardi JA. Crack-cocaine in Miami. *NIDA Res Monog.* 1991; 110: 263-274.

Inciardi JA, Surratt HL, Pechansky F, Kessler F, von Diemen L, da Silva EM, et al. Changing patterns of cocaine use and hiv risks in the south of Brazil. *J Psychoactive Drugs.* 2006;38(3):305-10.

Janak PH, Wolf FW, Heberlein U, Pandey SC, Logrip ML, Ron D. BIG news in alcohol addiction: new findings on growth factor pathways BDNF, insulin, and GDNF. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006;30(2):214-21.

Kapczinski F, Vieta E, Andreazza AC, Frey BN, Gomes FA, Tramontina J, et al. Allostatic load in bipolar disorder: implications for pathophysiology and treatment. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(4):675-92.

Karch SB. The history of cocaine toxicity. *Hum Pathol.* 1989; 20(11): 1037-1039.

Karch SB. Cocaine: history, use, abuse. *J R Soc Med.* 1999;92(8):393-7.

Kask A, Harro J, von Hörsten S, Redrobe JP, Dumont Y, Quirion R. The neurocircuitry and receptor subtypes mediating anxiolytic-like effects of neuropeptide Y. *Neurosci Biobehav Rev.* 2002;26(3):259-83.

Kauer-Sant'Anna M, Tramontina J, Andreazza AC, Cereser K, da Costa S, Santin A, et al. Traumatic life events in bipolar disorder: impact on BDNF levels and psychopathology. *Bipolar Disord.* 2007;9 Suppl 1:128-35.

Kessler F vDL, Pechansky F. Neurobiologia da dependência química. In: artmed, editor. *Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos. 2.* São Paulo, Brazil: Artmed; 2013.

Kessler F. Uma visão psiquiátrica sobre o fenômeno do *crack* na atualidade. In: Pechansky F, editor. *Porto Alegre: Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul;* 2008. p. 96-8.

Kessler F, Woody G, De Boni R, Von Diemen L, Benzano D, Faller S, et al. Evaluation of psychiatric symptoms in cocaine users in the Brazilian public health system: need for data and structure. *Public Health.* 2008;122(12):1349-55.

Kessler RC, Davis CG, Kendler KS. Childhood adversity and adult psychiatric disorder in the US National Comorbidity Survey. *Psychol Med.* 1997; 27(5): 1101-1119.

Kleber HD. Epidemic cocaine abuse: America's present, Britain's future? *Br J Addict.* 1988;83(12):1359-71.

Koller C. On the use of cocaine for producing anesthesia on the eye. . *The Lancet.* 1884;

**124**(3197): 990-992.

Koob GF, Roberts AJ, Schulteis G, Parsons LH, Heyser CJ, Hyytiä P, et al. Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. *Alcohol Clin Exp Res.* 1998;22(1):3-9.

Kovacic P. Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses.* 2005;64(2):350-6.

Kovacic P. Unifying mechanism for addiction and toxicity of abused drugs with application to dopamine and glutamate mediators: electron transfer and reactive oxygen species. *Med Hypotheses.* 2005;65(1):90-6.

Kovacic P, Sacman A, Wu-Weis M. Nephrotoxins: widespread role of oxidative stress and electron transfer. *Curr Med Chem.* 2002;9(8):823-47.

Kuloglu M, Atmaca M, Tezcan E, Gecici O, Tunckol H, Ustundag B. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels in patients with obsessive-compulsive disorder. *Neuropsychobiology.* 2002;46(1):27-32.

Larhammar D, Wraith A, Berglund MM, Holmberg SK, Lundell I. Origins of the many NPY-family receptors in mammals. *Peptides.* 2001;22(3):295-307.

Lesne A. Robustness: confronting lessons from physics and biology. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2008;83(4):509-32.

Lessmann V. Neurotrophin-dependent modulation of glutamatergic synaptic transmission in the mammalian CNS. *Gen Pharmacol.* 1998;31(5):667-74.

Li HC, Chen QZ, Ma Y, Zhou JF. Imbalanced free radicals and antioxidant defense systems in schizophrenia: a comparative study. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2006;7(12):981-6.

Lima LP FV, Ribeiro M. Neurobiologia da dependência do crack. In: Artmed, editor. *O tratamento do usuário de crack.* 2. São Paulo, Brazil.2012. p. 143-61.

Lindell SG, Schwandt ML, Sun H, Sparenborg JD, Björk K, Kasckow JW, et al. Functional NPY variation as a factor in stress resilience and alcohol consumption in rhesus macaques. *Arch Gen Psychiatry.* 2010;67(4):423-31.

Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB, Plotsky PM, Monteggia LM. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *Eur J Neurosci.* 2007;25(10):3091-8.

Lu L, Dempsey J, Liu SY, Bossert JM, Shaham Y. A single infusion of brain-derived neurotrophic factor into the ventral tegmental area induces long-lasting potentiation of cocaine seeking after withdrawal. *J Neurosci.* 2004;24(7):1604-11.

Machado-Vieira R, Andreazza AC, Viale CI, Zanatto V, Cereser V, da Silva Vargas R, et al. Oxidative stress parameters in unmedicated and treated bipolar subjects during initial

manic episode: a possible role for lithium antioxidant effects. *Neurosci Lett*. 2007;421(1):33-6.

Maddox SA, Schafe GE, Ressler KJ. Exploring epigenetic regulation of fear memory and biomarkers associated with post-traumatic stress disorder. *Front Psychiatry*. 2013;4:62.

Malter Cohen M, Jing D, Yang RR, Tottenham N, Lee FS, Casey BJ. Early-life stress has persistent effects on amygdala function and development in mice and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(45):18274-8.

Mariani JJ, Khantzian EJ, Levin FR. The self-medication hypothesis and psychostimulant treatment of cocaine dependence: an update. *Am J Addict*. 2014;23(2):189-93.

McCarthy DM, Brown AN, Bhide PG. Regulation of BDNF expression by cocaine. *Yale J Biol Med*. 2012;85(4):437-46.

McGinty JF, Whitfield TW, Berglind WJ. Brain-derived neurotrophic factor and cocaine addiction. *Brain Res*. 2010;1314:183-93.

McIntosh LJ, Sapolsky RM. Glucocorticoids may enhance oxygen radical-mediated neurotoxicity. *Neurotoxicology*. 1996;17(3-4):873-82.

Meng D, Wu T, Rao U, North CS, Xiao H, Javors MA, et al. Serum NPY and BDNF response to a behavioral stressor in alcohol-dependent and healthy control participants. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;218(1):59-67.

Menyhárt J, Wittmann G, Lechan RM, Keller E, Liposits Z, Fekete C. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) is colocalized with the orexigenic neuropeptide Y and agouti-related protein and absent from the anorexigenic alpha-melanocyte-stimulating hormone neurons in the infundibular nucleus of the human hypothalamus. *Endocrinology*. 2007;148(9):4276-81.

Morgan CA, Rasmusson AM, Winters B, Hauger RL, Morgan J, Hazlett G, et al. Trauma exposure rather than posttraumatic stress disorder is associated with reduced baseline plasma neuropeptide-Y levels. *Biol Psychiatry*. 2003;54(10):1087-91.

Morgan CA, Wang S, Southwick SM, Rasmusson A, Hazlett G, Hauger RL, et al. Plasma neuropeptide-Y concentrations in humans exposed to military survival training. *Biol Psychiatry*. 2000;47(10):902-9.

Narvaez JC, Magalhães PV, Fries GR, Colpo GD, Czepielewski LS, Vianna P, et al. Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. *Neurosci Lett*. 2013;544:80-4.

Narvaez JC, Magalhães PV, Trindade EK, Vieira DC, Kauer-Sant'anna M, Gama CS, et al. Childhood trauma, impulsivity, and executive functioning in crack cocaine users. *Compr Psychiatry*. 2012;53(3):238-44.



Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:24-32.

Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008;11(6):851-76.

NIDA. <http://www.drugabuse.gov/national-survey-use-health> 2002.

Noto A. IV Levantamento domiciliar sobre o uso de drogas entre crianças e adolescentes em situação de rua de seis capitais brasileiras:1997. In: Nappo S, JCF G, R M, EA C, editors. São Paulo: CEBRID/UNIFESP; 1998.

Olds J. The central nervous system and the reinforcement of behavior. *Am Psychol*. 1969;24(2):114-32.

Ozcan ME, Gulec M, Ozerol E, Polat R, Akyol O. Antioxidant enzyme activities and oxidative stress in affective disorders. *Int Clin Psychopharmacol*. 2004;19(2):89-95.

Pal SN, Dandiya PC. Glutathione as a cerebral substrate in depressive behavior. *Pharmacol Biochem Behav*. 1994;48(4):845-51.

Perkins DF, Jones KR. Risk behaviors and resiliency within physically abused adolescents. *Child Abuse Negl*. 2004;28(5):547-63.

Perrenoud L, Ribeiro M. Histórico do consumo de crack no brasil e no mundo. In: Artmed, editor. O tratamento do usuário de crack. 2. São Paulo2012. p. 33-8.

Pettenon M, Kessler FH, Guimaraes LS, Pedroso RS, Hauck S, Pechansky F. Perceptions of parental bonding in freebase cocaine users versus non-illicit drug users. *Indian J Med Res*. 2014;139(6):835-40.

Pinheiro D. A resiliência em discussão. Maringá: *Psicologia em Estudo*; 2004. p. 67-75.

Primeaux SD, Wilson SP, Bray GA, York DA, Wilson MA. Overexpression of neuropeptide Y in the central nucleus of the amygdala decreases ethanol self-administration in "anxious" rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 2006;30(5):791-801.

Procópio A. O Brasil no mundo das drogas. Petrópolis: Editora Vozes; 1999.

Ranjekar PK, Hinge A, Hegde MV, Ghate M, Kale A, Sitasawad S, et al. Decreased antioxidant enzymes and membrane essential polyunsaturated fatty acids in schizophrenic and bipolar mood disorder patients. *Psychiatry Res*. 2003;121(2):109-22.

Rasmusson AM, Hauger RL, Morgan CA, Bremner JD, Charney DS, Southwick SM. Low baseline and yohimbine-stimulated plasma neuropeptide Y (NPY) levels in combat-related PTSD. *Biol Psychiatry*. 2000;47(6):526-39.

Ribeiro M, Dunn J, Sesso R, Lima MS, Laranjeira R. Crack cocaine: a five-year follow-up study of treated patients. *Eur Addict Res*. 2007;13(1):11-9.

Riehmman KS, Wechsberg WM, Zule W, Lam WK, Levine B. Gender differences in the impact of social support on crack use among African Americans. *Subst Use Misuse*. 2008; 43(1): 85-104.

Rivera MA, Aufderheide AC, Cartmell LW, Torres CM, Langsjoen O. Antiquity of coca-leaf chewing in the south central Andes: a 3,000 year archaeological record of coca-leaf chewing from northern Chile. *J Psychoactive Drugs*. 2005; 37(4): 455-458.

Roceri M, Cirulli F, Pessina C, Peretto P, Racagni G, Riva MA. Postnatal repeated maternal deprivation produces age-dependent changes of brain-derived neurotrophic factor expression in selected rat brain regions. *Biol Psychiatry*. 2004;55(7):708-14.

Roth TL, Lubin FD, Funk AJ, Sweatt JD. Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biol Psychiatry*. 2009;65(9):760-9.

Rutter M. Resilience, competence, and coping. *Child Abuse Negl*. 2007;31(3):205-9.

Sable P. Attachment, ethology and adult psychotherapy. *Attach Hum Dev*. 2004;6(1):3-19.

Sah R, Geraciotti TD. Neuropeptide Y and posttraumatic stress disorder. *Mol Psychiatry*. 2013;18(6):646-55.

Sajdyk TJ, Fitz SD, Shekhar A. The role of neuropeptide Y in the amygdala on corticotropin-releasing factor receptor-mediated behavioral stress responses in the rat. *Stress*. 2006;9(1):21-8.

Sajdyk TJ, Johnson PL, Leitermann RJ, Fitz SD, Dietrich A, Morin M, et al. Neuropeptide Y in the amygdala induces long-term resilience to stress-induced reductions in social responses but not hypothalamic-adrenal-pituitary axis activity or hyperthermia. *J Neurosci*. 2008;28(4):893-903.

Sajdyk TJ, Shekhar A, Gehlert DR. Interactions between NPY and CRF in the amygdala to regulate emotionality. *Neuropeptides*. 2004;38(4):225-34.

Schiavone S, Jaquet V, Trabace L, Krause KH. Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. *Antioxid Redox Signal*. 2013;18(12):1475-90.

Schmidt MV, Liebl C, Sterlemann V, Ganea K, Hartmann J, Harbich D, et al. Neuropeptide Y mediates the initial hypothalamic-pituitary-adrenal response to maternal separation in the neonatal mouse. *J Endocrinol*. 2008;197(2):421-7.

Seedat S, Stein MB, Kennedy CM, Hauger RL. Plasma cortisol and neuropeptide Y in female victims of intimate partner violence. *Psychoneuroendocrinology*. 2003;28(6):796-808.

SENAD. Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas. II Levantamento

Domiciliar sobre o uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 108 maiores cidades do país 2005 [cited 2014]. Available from: <http://http://cebrid.epm.br>.

Serra M, Pisu MG, Floris I, Biggio G. Social isolation-induced changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Stress*. 2005;8(4):259-64.

Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. *J Neurosci*. 2002;22(8):3251-61.

Sordi AO, Pechansky F, Kessler FH, Kapczinski F, Pfaffenseller B, Gubert C, et al. Oxidative stress and BDNF as possible markers for the severity of crack cocaine use in early withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014;231(20):4031-9.

Strang J, Edwards G. Cocaine and crack. *BMJ*. 1989;299(6695):337-8.

Sullivan R, Wilson DA, Feldon J, Yee BK, Meyer U, Richter-Levin G, et al. The International Society for Developmental Psychobiology annual meeting symposium: Impact of early life experiences on brain and behavioral development. *Dev Psychobiol*. 2006;48(7):583-602.

Sørensen G, Lindberg C, Wörtwein G, Bolwig TG, Woldbye DP. Differential roles for neuropeptide Y Y1 and Y5 receptors in anxiety and sedation. *J Neurosci Res*. 2004;77(5):723-9.

Tata DA, Yamamoto BK. Interactions between methamphetamine and environmental stress: role of oxidative stress, glutamate and mitochondrial dysfunction. *Addiction*. 2007;102 Suppl 1:49-60.

Teche SP, Nuernberg GL, Sordi AO, de Souza LH, Remy L, Ceresér KM, et al. Measurement Methods of BDNF Levels in Major Depression: A Qualitative Systematic Review of Clinical Trials. *Psychiatr Q*. 2013.

Treece C, Khantzian EJ. Psychodynamic factors in the development of drug dependence. *Psychiatr Clin North Am*. 1986;9(3):399-412.

Tsaluchidu S, Cocchi M, Tonello L, Puri BK. Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders. *BMC Psychiatry*. 2008;8 Suppl 1:S5.

Tschenett A, Singewald N, Carli M, Balducci C, Salchner P, Vezzani A, et al. Reduced anxiety and improved stress coping ability in mice lacking NPY-Y2 receptors. *Eur J Neurosci*. 2003;18(1):143-8.

Tyler WJ, Alonso M, Bramham CR, Pozzo-Miller LD. From acquisition to consolidation: on the role of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampal-dependent learning. *Learn Mem*. 2002;9(5):224-37.

Tyrka AR, Price LH, Kao HT, Porton B, Marsella SA, Carpenter LL. Childhood maltreatment

and telomere shortening: preliminary support for an effect of early stress on cellular aging. *Biol Psychiatry*. 2010;67(6):531-4.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84.

van den Pol AN. Neuropeptide transmission in brain circuits. *Neuron*. 2012;76(1):98-115.

Vargas-Perez H, Ting-A Kee R, Walton CH, Hansen DM, Razavi R, Clarke L, et al. Ventral tegmental area BDNF induces an opiate-dependent-like reward state in naive rats. *Science*. 2009;324(5935):1732-4.

Viola TW, Tractenberg SG, Levandowski ML, Pezzi JC, Bauer ME, Teixeira AL, et al. Neurotrophic factors in women with crack cocaine dependence during early abstinence: the role of early life stress. *J Psychiatry Neurosci*. 2014;39(3):206-14.

von Diemen L, Kapczinski F, Sordi AO, de Magalhães Narvaez JC, Guimarães LS, Kessler FH, et al. Increase in brain-derived neurotrophic factor expression in early crack cocaine withdrawal. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2013:1-8.

Walker J, Winhusen T, Storkson JM, Lewis D, Pariza MW, Somoza E, et al. Total antioxidant capacity is significantly lower in cocaine-dependent and methamphetamine-dependent patients relative to normal controls: results from a preliminary study. *Hum Psychopharmacol*. 2014.

Werner EE, Johnson JL. The role of caring adults in the lives of children of alcoholics. *Subst Use Misuse*. 2004;39(5):699-720.

Wetherill L, Schuckit MA, Hesselbrock V, Xuei X, Liang T, Dick DM, et al. Neuropeptide Y receptor genes are associated with alcohol dependence, alcohol withdrawal phenotypes, and cocaine dependence. *Alcohol Clin Exp Res*. 2008;32(12):2031-40.

Wishart DJ. Acute Toxaemia: Was Cocaine or Adrenalin the Cause? *Can Med Assoc J*. 1911; 1(5): 440-444.

Yehuda R, Brand S, Yang RK. Plasma neuropeptide Y concentrations in combat exposed veterans: relationship to trauma exposure, recovery from PTSD, and coping. *Biol Psychiatry*. 2006;59(7):660-3.

Zarjevski N, Cusin I, Vettor R, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Chronic intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity. *Endocrinology*. 1993;133(4):1753-8.

Zlotnick C, Mattia J, Zimmerman M. Clinical features of survivors of sexual abuse with major depression. *Child Abuse Negl*. 2001;25(3):357-67.



## ANEXOS

### Anexo 1 - Artigos publicados durante o período do Doutorado

1. von Diemen L, Kapczinski F, Sordi AO, Kessler FH, Narvaez J, Pechansky F. BDNF levels of crack users are associated with clinical outcome during inpatient treatment. *Drug and Alcohol Dependence* 01/2015; 146. (Trabalho apresentado no CPDD, 2014)
2. Faller S, Peuker AC, Sordi A, Stolf A, Souza-Formigoni M, Cruz MS, Brasiliano S, Pechansky F, Kessler F. Who seeks public treatment for substance abuse in Brazil? Results of a multicenter study involving four Brazilian state capitals. *Trends Psychiatry Psychother.*, Porto Alegre, v. 36, n. 4, Dec. 2014.
3. Remy L, Narvaez J, Sordi A, Guimarães LS, Von Diemen L, Surratt H, Kurtz S, Pechansky F. Correlates of unprotected sex in a sample of young club drug users. *Clinics* (Sao Paulo). 2013 Nov;68(11):1384-91. doi: 10.6061/clinics/2013(11)01.
4. von Diemen L, Kapczinski F, Sordi AO, de Magalhães Narvaez JC, Guimarães LS, Kessler FH, Pfaffenseller B, de Aguiar BW, de Moura Gubert C, Pechansky F. Increase in brain-derived neurotrophic factor expression in early crack cocaine withdrawal. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2014 Jan;17(1):33-40. doi: 10.1017/S146114571300103X.
5. Teche SP, Nuernberg GL, Sordi AO, de Souza LH, Remy L, Ceresér KM, Rocha NS. Measurement methods of BDNF levels in major depression: a qualitative systematic review of clinical trials. *Psychiatr Q.* 2013 Dec;84(4):485-97. doi: 10.1007/s11126-013-9261-7.
6. De Boni R, von Diemen L, Duarte Pdo C, Bumaguin DB, Hilgert JB, Bozzetti MC, Sordi A, Pechansky F. Regional differences associated with drinking and driving in Brazil. *Rev Bras Psiquiatr.* 2012 Oct;34(3):306-13.
7. Sordi AO, Manfro GG, Hauck S. O Conceito de Resiliência: Diferentes Olhares. *Rev. bras. psicoter.* 2011;13(2):115-132

## **Anexo 2 - Prêmios recebidos durante o período de doutorado**

2013: Premio Cyro Martins para o trabalho: Estresse oxidativo e BDNF como possíveis marcadores da gravidade do uso de crack durante a abstinência precoce, XI Jornada de Psiquiatria da APRS: Caminhos da Psicopatologia.

2012: Menção Honrosa para o trabalho: Percepção de vínculo parental e trauma na infância em uma amostra de usuários de crack que procuraram atendimento em Porto Alegre, Prêmio Ciência e Inovação em Psiquiatria na XXVI Jornada Sul-Rio-grandense de Psiquiatria Dinâmica.