

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



TESE DE DOUTORADO

**AVALIAÇÃO DE SOROPREVALÊNCIA HCV/HIV EM
MULHERES E DE MARCADORES BIOQUÍMICOS DE
TOXICIDADE SISTÊMICA EM HOMENS USUÁRIOS DE
CRACK**

LISIA VON DIEMEN

Orientador: Prof. Dr. Flavio Pechansky

Co-orientador: Prof. Dr. Flavio Kapczinski

Porto Alegre, janeiro de 2013

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



TESE DE DOUTORADO

AVALIAÇÃO DE SOROPREVALÊNCIA HCV/HIV EM
MULHERES E DE MARCADORES BIOQUÍMICOS DE
TOXICIDADE SISTÊMICA EM HOMENS 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

LISIA VON DIEMEN

Orientador: Prof.Dr. Flavio Pechansky

Porto Alegre, Brasil.
2013

von Diemen, Lisia

Avaliação de soroprevalência hcv/hiv em mulheres e de marcadores bioquímicos de toxicidade sistêmica em homens usuários de crack / Lisia von Diemen. -- 2013.

119 f.

Orientador: Flavio Pechansky.

Coorientador: Flavio Kapczinski.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2013.

1. crack. 2. BDNF. 3. HCV. 4. HIV. 5. estresse oxidativo. I. Pechansky, Flavio, orient. II. Kapczinski, Flavio, coorient. III. Título.

“Se fosse ensinar a uma criança a beleza da música
não começaria com partituras, notas e pautas.
Ouviríamos juntos as melodias mais gostosas e lhe contaria
sobre os instrumentos que fazem a música.
Aí, encantada com a beleza da música, ela mesma me pediria que lhe ensinasse o
mistério daquelas bolinhas pretas escritas sobre cinco linhas. Porque as bolinhas
pretas e as cinco linhas são apenas ferramentas para a produção da beleza musical. A
experiência da beleza tem que vir antes”

Rubem Alves

Ao Alexandre e o Tomaz, que
deram um novo sentido à minha
vida.

À minha avó Jurema, pelo exemplo
de vida

Ao meu orientador, Flavio Pechansky por ter apostado e acreditado em mim desde sempre. Pelo carinho, incentivo e apoio em todos os momentos. Por ter se tornado meu segundo pai.

Ao meu co-orientador, o Flavio Kapczinski pelo apoio e pelo entusiasmo contagiante com a ciência.

À banca, Dra Márcia Kauer Sant'Anna, Dra. Rosa Almeida e ao Dr. Felix Kessler

Ao Felix Kessler, por estar sempre ao meu lado e ser como um irmão mais velho

À Anne Sordi e Joana Narvaez pela ajuda, pelas trocas de idéias e pela alegria no desenvolvimento do doutorado

À Cleide Bittencourt e à Andréia Diel pela disponibilidade sempre em ajudar a fazer as coisas acontecerem

À Silvia Halpern, Veralice Gonçalves, Sílvia Schuch, Sinara Santos, pela ajuda e companheirismo no último ano do Doutorado

Ao Luciano Guimarães pelo auxílio nas análises dos dados

À toda equipe do CPAD que se dedicaram a organizar e coletar dados para esse projeto.

À equipe do Laboratório de Psiquiatria Molecular

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

À equipe da SENAD 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 me receberam com carinho e apoio

Aos colegas da UAA, pelo convívio harmonioso e troca de conhecimentos nesse último ano

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado

À toda minha família, que sempre acreditou em mim

Aos meus sogros Maria e Guilherme e minha cunhada Simone

Aos meus irmãos, Roque, Vinicius, Tatiana e Vagner por dividirem comigo os momentos mais lindos e os mais difíceis também

Aos meus pais Jayme e Ione, por sempre terem me apoiado nas minhas decisões, pelo afeto com que sempre me conduziram

Ao Alexandre, meu marido, irmão, amigo, companheiro de viagens, de estudos, companheiro de vida.

Ao Tomaz, que foi o mais belo presente que ganhei na vida.

Sumário

Índice de figuras e tabelas	7
Abreviaturas e siglas	8
Resumo.....	10
Abstract	12
Introdução	16
Histórico e Epidemiologia.....	16
Cocaína e crack	20
Complicações associadas ao uso de crack.....	22
Dependência de substâncias e Neurobiologia	28
Neurotrofinas	34
Fator neurotrófico derivado do cérebro – BDNF.....	35
BDNF e cocaína.....	35
Dos radicais livres ao estresse oxidativo	41
Radicais livres e espécies reativas	41
Antioxidantes	42
Estresse Oxidativo	43
Estresse oxidativo e substâncias psicoativas de abuso	44
Objetivos	47
Objetivo Geral.....	47
Objetivos Específicos	47
Artigos.....	48
Artigo 1.....	48
Artigo 2.....	69
Resultados Complementares	95
Conclusões e considerações finais	102
Referências Bibliográficas	106
Anexos	116
Anexo 1 – Artigos publicados durante o período do Doutorado.....	116
Anexo 2 – Instrumento - Perfil do consumo de crack.....	118

Índice de figuras e tabelas

Figura I - Etapas envolvidas na produção do crack	20
Tabela I – Vias de uso de cocaína e início, duração e pico plasmático atingido (Romano, 2002)	21
Figura II - Notificações de AIDS em mulheres (A), homens (B) e número de casos por ano (C)	25
Figura III - Taxa de notificação (por 100.000 habitantes) de HCV por ano por região (A) e por gênero (B).....	27
Figura IV - Relação entre genética e ambiente.	29
Figura V - Modelo de circuitos cerebrais na evolução para a dependência.....	32
Figura VI Neurotrofinas e suas ligações com receptores.....	34
Tabela II - Estudos que avaliaram a relação entre uso de álcool e outras drogas e bdnf em humanos	38
Tabela III- Correlação entre valores de BDNF, TBARS e PCC na internação, alta e porcentagem de alteração e gravidade de uso de crack.....	97
Figura VII - Valores de TBARS (A) e PCC (B) na internação, alta e no grupo controle.....	98
Figura VIII -Correlação entre gravidade do uso de crack e níveis de tbars na internação (a), alta (b) e porcentagem de alteração (c)	99
Figura IX -Correlação entre gravidade do uso de crack e níveis de PCC na internação (a), alta (b) e porcentagem de alteração (c).....	100
Figura X - Correlação entre gravidade do uso de crack e níveis de bdnf na internação (a), alta (b) e porcentagem de alteração (c).....	101

Abreviaturas e siglas

AIDS – síndrome da imunodeficiência humana

ATP – Adenosina trifosfato

ATV – área tegumentar ventral

BDNF – do inglês - brain-derived neurotrophic factor

CAT – catalase

COF – córtex órbito-frontal medial

Cont – indivíduo pertencente ao grupo controle

CPF - córtex pré-frontal

CPFdl – córtex pré-frontal dorsolateral

DA – Dopamina

Dalc – dependente de álcool

DC – dependente de cocaína

DH – Dependente de heroína

DNA – ácido desoxirribonucleico

DST – Doença sexualmente transmissível

DT – *delirium tremens*

EO - estresse oxidativo

ERO – espécies reativas do oxigênio

GABA – ácido gama-aminobutírico

GCA – girus cingulado anterior

GPx – glutathione peroxidase

GSH – glutathione

HCV – vírus da hepatite “C”, do inglês *Hepatitis C virus*

HF – história familiar

HIV – vírus da imunodeficiência humana, do inglês *Human immunodeficiency virus*

MDA – malondialdeído

MET – metanfetamina

NAc – Núcleo accumbens

NGF – do inglês - nerve growth factor

NIDA – do inglês - National institute of drug abuse

NT – neurotrofina

PCC – conteúdo de proteína carbonil, do inglês - protein carbonyl content

PUBMED – website from National Library of Medicine, EUA

RC – circuito de recompensa cerebral

RL – radical livre

RNA-m - ácido ribonucleico mensageiro

ROS – do inglês - reactive–oxigen species

SNC – sistema nervoso central

SOD – superóxido dismutase

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

TrK – tirosina–kinase

TUSP – transtorno por uso de substância psicoativa

UDI – usuário de droga injetável

UDNI – usuário de droga não injetável

Resumo

Introdução: O consumo de crack tem sido alvo de grande preocupação em vista de sua expressiva expansão e dos problemas sociais e de saúde decorrentes. A cocaína na forma de crack difere das outras vias de uso principalmente pelo seu rápido início de ação, pouco tempo de efeito e alta concentração plasmática, levando a um maior impacto orgânico e a um elevado potencial de dependência. A deterioração física e cognitiva são aspectos centrais na gravidade do uso dessa droga. As taxas de infecção pelo HIV e HCV são elevadas nessa população, mas os fatores de risco associados ainda não estão claros na literatura, em particular no Brasil. Há uma busca por marcadores biológicos que possam auxiliar a avaliar o impacto físico e cerebral ocasionados pelo uso do crack. Achados recentes sugerem que as neurotrofinas cerebrais e marcadores de estresse oxidativo possam ser úteis nesse sentido.

Objetivos: Avaliar a prevalência e fatores de risco associados à infecção por HIV e HCV em mulheres usuárias de crack e investigar se os níveis de BDNF, TBARS e PCC em usuários de crack, antes e após desintoxicação, diferem de controles e respectivos correlatos clínicos.

Método: O artigo 1 utiliza um desenho transversal com uma amostra de conveniência de 76 mulheres com uso recente de crack. Foram coletados sangue para os testes de HIV/HCV, dados demográficos e instrumentos que avaliaram conhecimento sobre AIDS, consumo de drogas e comportamentos de risco para AIDS. No artigo 2 uma coorte com 49 usuários de crack homens foram recrutados da internação do Hospital Psiquiátrico São Pedro em Porto Alegre e 97 controles comunitários foram obtidos de um bairro pobre da cidade de Canoas (região metropolitana de Porto Alegre). O sangue para análise de BDNF (artigo 2), TBARS e PCC (resultados complementares) foi coletado no primeiro dia de internação e no dia da alta nos usuários de crack e no dia da entrevista nos controles. Nas duas amostras e nos controles os participantes tinham mais de 18 anos e realizaram teste de urina para cocaína.

Resultados: No artigo 1, a prevalência de HIV entre as mulheres foi de 37,0% e de HCV de 27,7%, sendo 15,1% a prevalência de co-infecção. A análise ajustada

identificou 4 anos ou menos de escolaridade como maior chance de infecção por HIV – RC 4,72 (1,49-14,99) e por HCV RC - 4,51 (1,18-17,27) e ter realizado 3 ou mais testes para HIV na vida - RC 4,26 (1,29-14,04) associado com contaminação por HIV. No artigo 2, os níveis de BDNF entre homens usuários de crack foram significativamente menores na admissão ($28,6 \pm 11,0$) quando comparados com os controles ($39,5 \pm 10,6$) e com o valor na alta hospitalar ($35,6 \pm 12,3$), mesmo após ajuste para as variáveis confundidoras. O valor do BDNF na alta foi um pouco menor nos usuários de crack, mas sem diferença significativa em relação aos controles. O aumento do BDNF teve associação significativa com número de dias de internação e inversa com anos de uso de crack e número de pedras de crack utilizadas no último mês. Os resultados complementares mostram que os valores médios de TBARS e PCC são semelhantes na internação e alta em relação aos controles. Contudo, o valor do TBARS na alta e a alteração durante a internação foram diretamente correlacionados com a gravidade do consumo de crack.

Conclusões: Nós encontramos uma alta prevalência de contaminação por HIV e HCV entre mulheres usuárias de crack e o baixo nível educacional foi o fator de risco mais importante identificado. Em relação aos valores de BDNF em homens, foi possível identificar que este se encontra reduzido na vigência do uso de crack, com aumento na abstinência precoce, passando a ter níveis comparáveis aos controles. O aumento do BDNF e a diminuição do TBARS durante a abstinência precoce foram relacionados à menor gravidade de uso do crack. Esses achados sugerem que as variações de BDNF e TBARS após desintoxicação inicial possam ser marcadores da gravidade do uso de crack e de prognóstico, a serem investigados em futuros estudos.

Abstract

Background: Crack cocaine has been subject of great concern in view of its widespread use, as well as its increasing social and health problems. Crack cocaine differs from other administration routes primarily by its rapid onset of action, short effect and high plasma concentrations, leading to a higher organic impact and high potential for addiction. Physical and cognitive deterioration are key aspects of crack cocaine induced impairment. Rates of HIV and HCV are high in this population, but risk factors are still unclear in the literature, particularly in Brazil. There is search for biomarkers that may help identify the physical and brain injuries caused by its use. Recent findings suggest that brain neurotrophins and oxidative damage markers may be useful in this regard.

Objectives: To ascertain the HIV/HCV serostatus and associated risk behaviors for infection of female crack users. To evaluate BDNF, TBARS and carbonyl levels among crack cocaine users during inpatient treatment, before and after drug withdrawal, vs. healthy controls. Clinical correlates with changes in biomarkers levels were also assessed.

Method: Paper 1 is a cross-sectional study with a convenience sample of 76 female crack cocaine users. Subjects answered NIDA's Risk Behavior Assessment and the AIDS Information Questionnaire. In addition, blood was collected from subjects for HIV/HCV tests. Blood samples for serum BDNF (paper 2), TBARS and PCC (complementary results) evaluations were collected in a cohort of 49 male crack users on the first and last days of hospitalization and in 97 healthy controls. In both

samples and in the control group subjects were 18 years old or more and underwent urine tests for cocaine.

Results: In paper 1, the overall prevalence of HIV was 37.0%; HCV seroprevalence was 27.7%; 15.1% of the sample was co-infected with HIV and HCV. Four years of schooling or fewer (OR 4.72 - CI 95% ((1.49-14.99)) was associated with HIV and HCV infection (OR 4.51 - CI 95% (1.18-17.27)) after multivariate logistic regression. In paper 2 BDNF levels among male crack users were significantly lower upon admission (28.6 ± 11.0) when compared to controls (39.5 ± 10.6) and discharge (35.6 ± 12.3), even after adjustment for confounding variables. At discharge, BDNF levels between patients and controls were similar. Number of crack rocks used in the last 30 days and years of crack use were inversely correlated with the outcome. Complementary results show that levels of carbonyl and TBARS are similar at admission and discharge compared to controls. However, the TBARS levels at discharge and its variation rate during hospitalization were significantly correlated with the severity of crack cocaine use.

Conclusions: We found a very high prevalence of HIV and HCV infection among female crack users, and low education was the most important risk factor associated with both infections. With regard to BDNF levels among men, it was reduced while using crack cocaine increased in early withdrawal reaching levels similar to control group at discharge. Rates of BDNF increase and TBARS decrease were correlated with severity of crack use. These findings suggest that the variation of BDNF and TBARS during early withdrawal may be a marker of severity of crack use.

Prefácio

Este material compõe a tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria em Janeiro de 2013 como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Psiquiatria.

Esta tese se divide em diferentes seções: introdução, objetivos, 2 artigos, resultados complementares e conclusões e considerações finais.

A introdução inicia com a história e epidemiologia do uso de cocaína, desde o consumo de folhas de cocaína pelos povos andinos até a disseminação do consumo na forma de crack no Brasil. A seguir as características das diferentes vias de uso de cocaína e as peculiaridades do uso na forma de crack são apresentadas. As complicações relacionadas ao uso do crack são descritas, com ênfase no aumento do risco de infecção por HIV e HCV entre as mulheres. Saindo das complicações físicas, temos a transição para os efeitos cerebrais do consumo de cocaína/crack, que se inicia com uma breve revisão sobre o processo de dependência de drogas e os mecanismos cerebrais envolvidos. Esta seção continua com a descrição do papel das neurotrofinas cerebrais no desenvolvimento da dependência de drogas, em particular do BDNF. Há então uma revisão sobre os estudos em humanos avaliando a relação do BDNF com o uso, abuso ou dependência de substâncias psicoativas. Segue-se uma explicação sobre a formação de radicais livres, espécies reativas, antioxidantes e estresse oxidativo. Ao final da introdução, as relações entre a ocorrência de estresse oxidativo e o uso de drogas são discutidas, com enfoque no uso da cocaína.

Em sequência, são apresentados os objetivos da tese e os artigos produzidos. Os artigos são provenientes de dois projetos de pesquisa. O primeiro artigo foi escrito a partir dos resultados de um projeto de pesquisa realizado pelo Centro de Pesquisas em Álcool e Drogas HCPA/UFRGS (CPAD) em parceria com os pesquisadores norte-americanos James Inciardi e Hilary Surratt, da Universidade de Delaware. Este artigo avalia a prevalência de infecção pelos vírus HCV e HIV entre mulheres usuárias de crack. O projeto que originou o segundo artigo integra um grande projeto da Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (SENAD) do Ministério da Justiça, o Plano Integrado de Enfrentamento ao Crack. Uma parte executada pelo Hospital de Clínicas de Porto Alegre através da equipe do CPAD.

Uma série de estudos avaliando diferentes aspectos do uso de crack foi realizado, incluindo o que gerou o artigo 2, sobre marcadores biológicos de toxicidade sistêmica no uso de crack. Este artigo avalia os níveis de BDNF entre homens usuários de crack durante internação em unidade psiquiátrica, antes e após desintoxicação.

Em continuidade aos artigos, optou-se por inserir uma seção intitulada de resultados complementares. Nesta parte aparecem análises de dados do mesmo projeto do artigo 2 que estão sendo preparados para publicação, mas que ainda não estão no formato de um artigo. Os resultados se referem à relação da gravidade do uso de crack com o BDNF e marcadores de estresse oxidativo (TBARS e PCC).

Por fim, são apresentadas as conclusões e considerações finais. Neste momento, os resultados dos artigos e os complementares são discutidos em conjunto. Além disso, possíveis implicações clínicas são avaliadas, bem como perspectivas e pontos a serem estudados em pesquisas futuras.

Introdução

Histórico e Epidemiologia

O uso de cocaína nas suas mais diversas formas se tornou um problema em vários países do mundo na segunda metade do século passado, mas o uso pelo homem remonta milênios. Há vestígios de que os povos andinos mascavam folhas de cocaína há cerca de 3000 a.C., a qual foi identificada através da pesquisa da substância em múmias dessa região (Rivera, 2005). O uso pelos nativos da América Central se dava enquanto trabalhavam nas plantações, pois o efeito vasoconstrictor e broncodilatador ajudavam a suportar a hipóxia causada pela elevada altitude (Das, 1993). Nessa população, complicações mais graves associadas à cocaína eram raras, já que os níveis alcançados através da folha mascada não são muito altos. Eram necessárias muitas folhas e muito tempo mascando para que se atingissem níveis tóxicos. Isso permitiu que o seu uso não fosse visto como deletério por muitos séculos (Karch, 1999).

Os primeiros relatos europeus sobre a cocaína são de Américo Vespúcio (1499), publicados em 1507, no qual descreve os nativos mascando folhas de cocaína. Foi ele também quem levou as primeiras folhas de coca para a Europa (Ferreira and Martini, 2001). Os conquistadores espanhóis tentaram abolir o uso da planta entre os nativos, mas recuaram ao perceber que seu rendimento no trabalho era muito inferior sem o seu consumo (Grinspoon and Bakalar, 1981). Foram os espanhóis que levaram as folhas para a Europa no século XVI; todavia, como as viagens eram demasiadamente longas, as folhas perdiam o seu princípio ativo, o que fez com que se mantivessem praticamente esquecidas durante três séculos (Nicholi, 1984).

Até o final do século 19, poucos europeus sequer sabiam que a cocaína existia. No início do século XIX, viajantes estrangeiros voltaram a mencionar as propriedades terapêuticas da coca, porém sua popularidade na Europa surgiu somente a partir de 1860, depois que Albert Niemann isolou a cocaína a partir das folhas de coca (Das, 1993). Em 1863, o francês Angelo Mariani começou a comercializar um

vinho fortificado com um extrato de folhas de cocaína – “Vin Mariani”(Karch, 1989). Essa bebida era anunciada como “tônico estimulante para fadiga e mente e corpo sobrecarregados” e como tratamento específico para “malária, influenza e para todas doenças debilitantes”(Gootenberg, 2008). Em seguida nos Estados Unidos também começou a ser comercializada uma versão do “Vin Mariani” . Tais bebidas fizeram grande sucesso na época, mas continham uma quantidade relativamente pequena de cocaína, duas taças continham cerca de 50 mg de cocaína, equivalente a uma “linha” de cocaína aspirada. Da mesma forma que as folhas de cocaína, o vinho contendo cocaína não continha quantidade suficiente para produzir reações tóxicas (Karch, 1999).

Em 1886, no primeiro artigo do PUBMED a respeito da cocaína (Pilcher, 1886), é referido um artigo de 1868 que já falava das propriedades anestésicas da cocaína. O artigo de Freud “Uber coca” publicado em 1884 teve um grande impacto e colocava a cocaína como uma “droga milagrosa” e a indicava como “estimulante, afrodisíaco, anestésico local, assim como indicado no tratamento de asma, doenças consuptivas, desordens digestivas, exaustão nervosa, histeria, sífilis e mesmo o mal estar relacionado a altitudes”. No ano seguinte, seu colega Karl Koller (1884) publicou um trabalho no qual identificou o uso da cocaína como anestésico local passível de ser usado em cirurgias oftalmológicas (Koller, 1884). Desde então, o consumo de cocaína aumentou vertiginosamente. A fábrica Merck, principal produtora de cocaína na época, produziu 1,65 kg de cocaína em 1883, 1430 kg em 1884 e 71258 kg em 1885. A expansão do consumo também foi possível graças a possibilidade de produção de cocaína semi-refinada em 1885, o que permitia o transporte por longas distâncias sem a perda das propriedades da droga (Karch, 1989). Da mesma forma, doses muito maiores de cocaína começaram a ser utilizadas nessa época e em poucos anos os prejuízos provocados pela cocaína se sobressaíram. Em 1895, foi publicado o artigo “Is cocaine a slaving drug?”(Bosworth, 1895) já dando indícios de que a preocupação com a dependência de cocaína começava a aparecer. E desde então, inúmeros artigos sobre os prejuízos da cocaína foram publicados (Bose, 1913, Bose, 1902, Wishart, 1911) . No início da década de 20, os malefícios da cocaína já eram amplamente conhecidos, leis restritivas em relação à cocaína eram comuns, a cocaína se tornou menos disponível e surgiam as anfetaminas, tudo isso levando a uma queda no consumo (Ferreira and Martini,

2001). Dos anos 30 aos anos 60, há rara literatura científica sobre cocaína, tendo ressurgido no final da década de 60 (Bewley, 1965) e início da década de 70.(Karch, 1989) Em 1965 há uma descrição na Inglaterra sobre a mudança no perfil dos pacientes internados, tendo aumentado rapidamente o número de dependentes de heroína que também eram dependentes de cocaína (Bewley, 1965). Nos Estados Unidos da América (EUA) os primeiros relatos surgiram na década de 70 (Chambers, 1972, Schut, 1973), sendo o pico da epidemia na década de 80 (Adams and Durell, 1984). Nos EUA, o relato de uso na vida na população em geral era de 3,2% em 1972 e passou para 14,8% dez anos depois, estando incluído o uso inalado e uso injetável (Rouse, 1991).

A cocaína na forma fumada teve seu início na América do Sul no início da década de 70, através da pasta de cocaína, um produto intermediário entre a folha de cocaína e o hidrocloreto de cocaína (Inciardi, 1991). Nessa mesma época, surgiram os primeiros relatos de uso de crack, conhecido como “pedra”, mas seu uso era restrito. Em 1985 foi o primeiro relato da busca de atendimento por uso de crack (Inciardi, 1993) e no ano seguinte houve uma expansão do consumo nos EUA e os primeiros relatos na literatura científica se referindo ao termo “crack”(Minyard, 1986, Washton and Gold, 1986). O termo “crack” surgiu em função do “estalo” produzido pela queima da pedra. Houve uma expansão do consumo de crack na década de noventa nos EUA, para uma estabilização e início de redução na virada do século 20 (Cornish and O'Brien, 1996, Riehm, 2008) . Entretanto, ainda atualmente, crack continua sendo 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).

A história do crack no Brasil seguiu uma trajetória semelhante, porém com um atraso de aproximadamente 10 anos em relação ao hemisfério norte. O consumo de crack tem sido alvo de grande preocupação em vista de sua expressiva expansão em várias regiões e o aumento da prevalência do seu consumo vem sendo documentado nas últimas décadas. Os estudos epidemiológicos com a população geral identificam um aumento no consumo de crack, mas não expressam o tamanho do problema, possivelmente por parte desta população não ser atingida por estudos dessa natureza.

Os primeiros relatos sobre o consumo de crack no Brasil foram no Estado de São Paulo no início da década de 90, se alastrando para outras regiões no final da mesma década (Nappo, 1994). No I Levantamento Domiciliar sobre o uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil (2001) o uso na vida de cocaína foi de 2,3%, sendo mais prevalente nas regiões Sul (3,6%) e Sudeste (2,6%). A faixa etária de maior uso encontrava-se entre os 25 aos 34 anos (4,4%). O uso na vida de crack foi de 0,7% para o sexo masculino. A faixa etária de maior consumo de crack foi entre 25 a 34 anos, com índice de 1,2% para os homens (Carlini, 2002). No II Levantamento Domiciliar sobre o uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil (2005) a prevalência para o uso de cocaína alguma vez na vida foi de 2,9%, e a prevalência para o uso de crack foi de 1,5% em homens (Carlini, 2007). Da mesma forma, outro levantamento nacional mais recente, encontrou uso na vida de 1,4% de cocaína na forma fumada (Laranjeira, 2012). Entretanto, da mesma forma que nos EUA, em populações específicas, como usuários de drogas que buscam tratamento e indivíduos presos, o consumo de crack é um dos principais problemas (Carvalho and Seibel, 2009, Duailibi, 2008). Por exemplo, a proporção de usuários de crack entre os que buscavam tratamento ambulatorial em São Paulo era de 17% em 1990 e de 64% em 1994 (Dunn, 1996). Entre outras razões, os usuários eram atraídos por um custo menor da droga em relação à cocaína em pó e pelo aparente menor risco de contaminação por HIV em relação ao uso injetável (Dunn and Ferri, 1998). Além disso, há relatos de que, ao menos em Porto Alegre, a baixa qualidade da cocaína em pó também influenciou a transição das outras formas de uso de cocaína para o crack (Inciardi, 2006).

Em geral, o usuário de crack é usuário de outras substâncias, com início precoce de álcool, cigarro e inalantes e a maconha como a primeira droga ilícita. O uso de álcool, cigarro e maconha permanece muito prevalente após o início do consumo de crack (van der Meer Sanchez and Nappo, 2002). Por outro lado, há evidências de que entre os usuários mais jovens (menos de 30 anos), a progressão entre o consumo da primeira substância psicoativa e o uso de crack acontece mais rápida e com menos substâncias antes do crack (van der Meer Sanchez and Nappo, 2007).

Cocaína e crack

O primeiro ponto importante a discutir é o que é exatamente o crack, pois há confusão com outras formas de cocaína que podem ser fumadas, como a pasta base e a “pedra de base livre” ou “freebase cocaine”. De acordo com a figura 1, observa-se que entre a folha de cocaína e a pedra de crack há uma série de etapas no processamento da droga. Nas fases iniciais do processamento, as folhas de cocaína são maceradas em álcool junto com querosene ou gasolina e é adicionado ácido sulfúrico, formando a solução de cocaína. A partir da adição de cal e amoníaco e da filtração da solução de cocaína é formada a pasta de cocaína, a qual dará origem à pasta base de cocaína através de novos aditivos e filtração. Da pasta base pode ser formada a merla, o cloridrato de cocaína (em forma de pó – usado na forma inalada ou injetável) ou a pedra de crack. A base livre é geralmente produzida a partir do cloridrato de cocaína, tratada com uma base líquida para remover o ácido hidrocloreídrico e então dissolvida em um solvente (em geral éter) , gerando uma forma de cocaína cristalizada, após aquecimento elevado. Já o crack, pode ser produzido a partir do cloridrato de cocaína ou da pasta base ao adicionar bicarbonato de sódio, amônia, água e um aquecimento leve. Uma das principais diferenças entre a base livre e o crack é que a primeira é convertida à forma de base após a remoção dos adulterantes, o que não acontece com o crack (Inciardi, 1991).

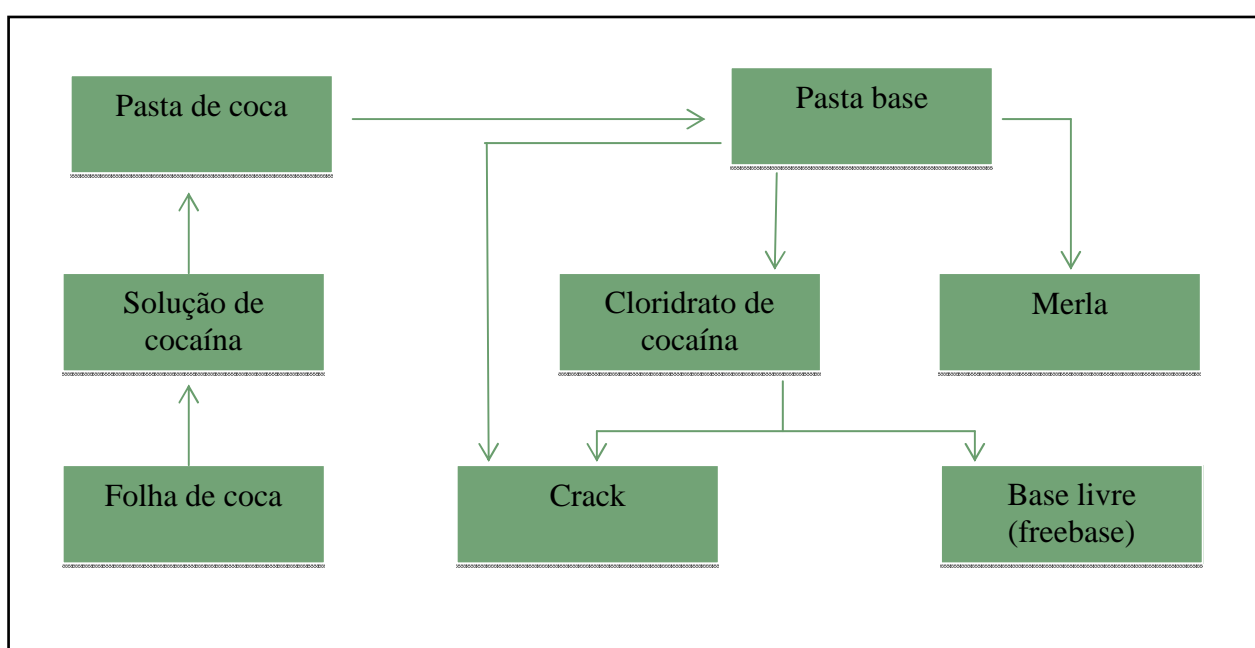


FIGURA I - ETAPAS ENVOLVIDAS NA PRODUÇÃO DO CRACK

O uso da cocaína na forma fumada difere das outras vias de uso principalmente pelo seu rápido início de ação (8 a 10 segundos), pouco tempo de efeito (5 a 10 minutos) e alta concentração plasmática (300 a 800 ng/mL). Como se observa na tabela 1, o início da ação do crack e a duração do efeito são menores do que na via injetável e o pico plasmático é comparável, podendo ser maior (Romano, 2002). Dessa forma, o uso de crack se caracteriza por um efeito intenso, de curta duração, seguido por intensa fissura e desejo por nova dose. Quanto mais rápido, intenso e efêmero o efeito de uma substância, maior a chance de a droga ser consumida de novo. Portanto, a cocaína quando fumada tem um potencial de abuso e dependência maior do que as outras vias de uso (Donato, 2010).

TABELA I – VIAS DE USO DE COCAÍNA E INÍCIO, DURAÇÃO E PICO PLASMÁTICO ATINGIDO (ROMANO, 2002)

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

O consumo de cocaína, principalmente quando injetada ou fumada, é caracterizada por consumo compulsivo e em grande quantidade em cada episódio de uso. Isso decorre, em parte, pelo fato de que os efeitos euforizantes acontecem apenas durante o aumento dos níveis da substância no sangue e pela rápida metabolização da cocaína, fazendo com que os níveis caiam rapidamente. Na ausência de um novo consumo, há um período denominado de "crash", durante o qual ocorre desânimo, aumento da necessidade de sono, lentificação, disforia e piora da atenção e concentração, melhorando após 3-4 dias. A fissura é proeminente nessa fase e nos usuários de crack é mais elevada, com sintomas do crash mais proeminentes e a busca da droga mais frequente (Donato, 2010).

O principal efeito da cocaína é o aumento da dopamina extracelular nas vias dopaminérgicas em várias do cérebro ligadas ao efeito reforçador da droga, bem como áreas associadas ao desenvolvimento da dependência. Esse aumento da dopamina se dá através da ligação com o transportador de dopamina, impedindo que

a dopamina seja recaptada da fenda sináptica para o interior da célula (Kalivas, 2007). O crack, por atingir níveis séricos mais elevados, acarreta uma maior liberação de dopamina e todos os processos cerebrais decorrentes do uso de cocaína são potencializados (Hatsukami and Fischman, 1996). Os mecanismos envolvidos na neuroadaptação induzidas pelas drogas de abuso serão mais detalhados na seção dependência de substâncias e neurobiologia.

Complicações associadas ao uso de crack

A expressão clínica da diferente farmacocinética e farmacodinâmica do crack em relação às outras formas de uso de cocaína se dá através de diferentes aspectos. Os sintomas de dependência e os problemas relacionados ao consumo da droga se desenvolvem mais frequentemente e mais rapidamente nos usuários de crack, a mortalidade é mais elevada por diferentes causas e a adesão e o prognóstico no tratamento é pior, em relação ao uso inalado (Dias, 2011, Falck, 2008, 2007, Ribeiro, 2007, Schifano and Corkery, 2008) Esses desfechos são acompanhados por outras consequências do uso de crack, como aumento da criminalidade, violência, doenças sexualmente transmissíveis (DST), infecções em geral, doenças físicas, impacto social, entre outros (Donato, 2010, Paim Kessler, 2012, Ross, 1999). Em particular, as taxas de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e pelo vírus da hepatite C (HCV) são maiores do que o esperado, sugerindo outras vias de contaminação que não a injetável (Scheinmann, 2007, Stern, 2008).

A associação entre UDI e contaminação por HIV e HCV é bem documentada na literatura, principalmente em relação ao uso de heroína e cocaína (Klevens, , Pechansky, 2006, Santibanez, 2006). Se por um lado os fatores de risco associados com esse aumento de risco entre UDIs é muito claro (Mahanta, 2009, Rondinelli, 2009) (compartilhamento de seringas, agulhas e outros equipamentos de injeção), os fatores de risco para infecção por HIV ou HCV entre usuários de crack ainda são parcialmente conhecidos (de Azevedo, 2007, Shannon, 2008) . De uma forma geral, os fatores etiológicos nessa área são divididos na busca de um efeito direto da droga no sistema imunológico ou no aumento da exposição a fatores de risco.

O uso de cocaína pode aumentar o risco de infecções por efeito direto através de alterações imunológicas. Há evidências de que o uso de cocaína é associado com alterações imunológicas nos linfócitos, incluindo as células *natural killer*, células T *helper* (CD4) e células T citotóxicas (CD8)(Baum, 2009). Os estudos indicam que a cocaína possa inibir as funções de neutrófilos e macrófagos, interferindo com a habilidade do organismo de se defender contra infecções, bem como suprime a produção de citocinas, diminuindo uma importante resposta imune(Baldwin, 1998, Irwin, 2007). Além disso, estudos in vitro sugerem que a cocaína aumente a replicação do vírus HIV (Peterson, 1991, Roth, 2002). Considerando que o uso de crack é a forma mais intensa de uso de cocaína, é possível que esses efeitos sejam maiores ainda nessa via de uso da cocaína. De fato, desde o início da epidemia de AIDS, o crack já era apontado como um fator de risco isolado para infecção por HIV(Edlin, 1994).

O aumento da exposição a riscos entre usuários de crack é bem documentado (Brewer, 2007, Carvalho and Seibel, 2009, de Azevedo, 2007). Entretanto, os mecanismos envolvidos são complexos e multifatoriais. No efeito agudo da droga, ocorre um prejuízo no processo de tomada de decisão e aumento de impulsividade, levando a avaliação inadequada dos riscos envolvidos em determinados comportamentos (Garavan, 2008, Hoffman, 2000). Os intensos sintomas de abstinência observados durante a dependência de crack podem levar ao envolvimento em determinados comportamentos para obtenção da droga, como trocas envolvendo sexo, drogas e dinheiro, principalmente em mulheres, e atividades criminosas, mais prevalentes entre homens (Carvalho and Seibel, 2009, Kelley, 2005, Nappo, 2010, Paim Kessler, 2012). O uso crônico está associado à diminuição do desempenho cognitivo e alterações em partes específicas do cérebro (descritas na seção de neurobiologia) que prejudicam ainda mais a capacidade de tomar decisões que avaliem adequadamente os riscos envolvidos em um comportamento (Bolla, 2003, Tucker, 2004). Além disso, transtornos de personalidade e comorbidades psiquiátricas são fatores contribuintes nesse processo (Kessler, 2008). Todos esses aspectos parecem ter peculiaridades entre os gêneros, mas tais diferenças ainda são pouco estudadas (Lejuez, 2007).

A associação entre HIV e uso de drogas foi focada no uso de droga injetável nos anos iniciais do advento da AIDS e a atenção para outras vias de contaminação e

para a contaminação entre usuários de drogas não injetáveis (UDNI) foram deixados em segundo plano até aumento do uso de crack nos anos 90 nos EUA (Celentano, 2008). A prevalência de contaminação por HIV entre as mulheres usuárias de crack trouxe à tona os comportamentos sexuais de risco a que os usuários de droga se expunham (Celentano, 2008). A via sexual se mostrou um importante fator de risco para contrair HIV mesmo entre UDIs, sendo o uso concomitante de crack um risco adicional (Kral, 2001, McCoy, 2004, Rondinelli, 2009). O incremento do consumo de crack nos EUA produziu mudanças na epidemiologia do HIV nesse país (Celentano and Sherman, 2009, Cornish and O'Brien, 1996). Uma das maiores diferenças entre o UDI e o consumo de crack nos EUA em relação ao HIV foi que as mulheres usuárias de crack tinham as maiores prevalências de contaminação e que algumas práticas sexuais eram mais características, como trocas envolvendo sexo, droga e dinheiro, menos uso de preservativos e maior chance de sexo anal entre homens (Edlin, 1992).

No Brasil, o crack se difundiu pelos diferentes estados ao longo das últimas duas décadas (Duailibi, 2008). Nesse mesmo período, houve uma mudança na epidemiologia dos casos de AIDS no Brasil, como mostra a figura 5 (Saúde, 2012). Em ambos os gêneros, houve uma redução importante da proporção de casos de AIDS por UDI e um paralelo aumento da contaminação por via sexual, em termos proporcionais. Entretanto, entre os homens a diminuição da contaminação por UDI foi acompanhada por uma redução nos números de casos novos de AIDS por ano, o que não aconteceu entre as mulheres. Nas mulheres, se observa uma estabilização de casos novos, apesar da diminuição de casos por UDI, bem como um aumento importante nos últimos anos nos casos onde a via de contaminação é ignorada. Ou seja, é possível que no Brasil as mulheres também estejam mais expostas ao HIV pelo uso de crack através de práticas sexuais de risco, principalmente por troca de sexo por droga ou dinheiro, enquanto que os homens se expõem mais a atividades como roubo, furto e tráfico para manter o consumo. Entretanto, o que se conhece sobre assunto ainda é incipiente, principalmente em relação a mulheres. Em um estudo que avaliou 304 (261 homens e 43 mulheres) usuários de substâncias de três instituições de tratamento de São Paulo, entre as mulheres, 90% eram usuárias de crack, 80% já tinha trocado sexo por droga e 23% informava ser profissional do sexo; as demais variáveis não foram estratificadas por gênero, mas a maioria era

homem e houve relato de envolvimento em violência e roubo ou assalto por grande parte da amostra, corroborando a hipótese de as mulheres usuárias de crack se envolverem mais em comportamentos sexuais de risco e os homens em comportamentos criminosos (Carvalho and Seibel, 2009). Entre 26 mulheres profissionais do sexo de Foz do Iguaçu, foi identificado um bom conhecimento sobre HIV, AIDS e outras DSTs, mas uma baixa percepção de risco, pouco uso de preservativo, múltiplos parceiros por dia e medo de violência e baixa confiança para negociar uso de preservativo (Malta, 2008). Em São Paulo, a prevalência de HIV entre usuários de crack (98% homens) foi de 11% (Azevedo, 2007). Foi encontrado um estudo que avaliou infecção por HIV entre mulheres usuárias de crack, em Salvador, com prevalência de 1,6%, 2,4% de HCV e 4,0% de sífilis; das 125 mulheres avaliadas, 58% relataram não terem usado preservativo nos últimos 30 dias, 67% teve a primeira relação sexual com 14 anos ou menos e 37% já havia realizado sexo em troca de droga ou dinheiro alguma vez na vida (Nunes, 2007).

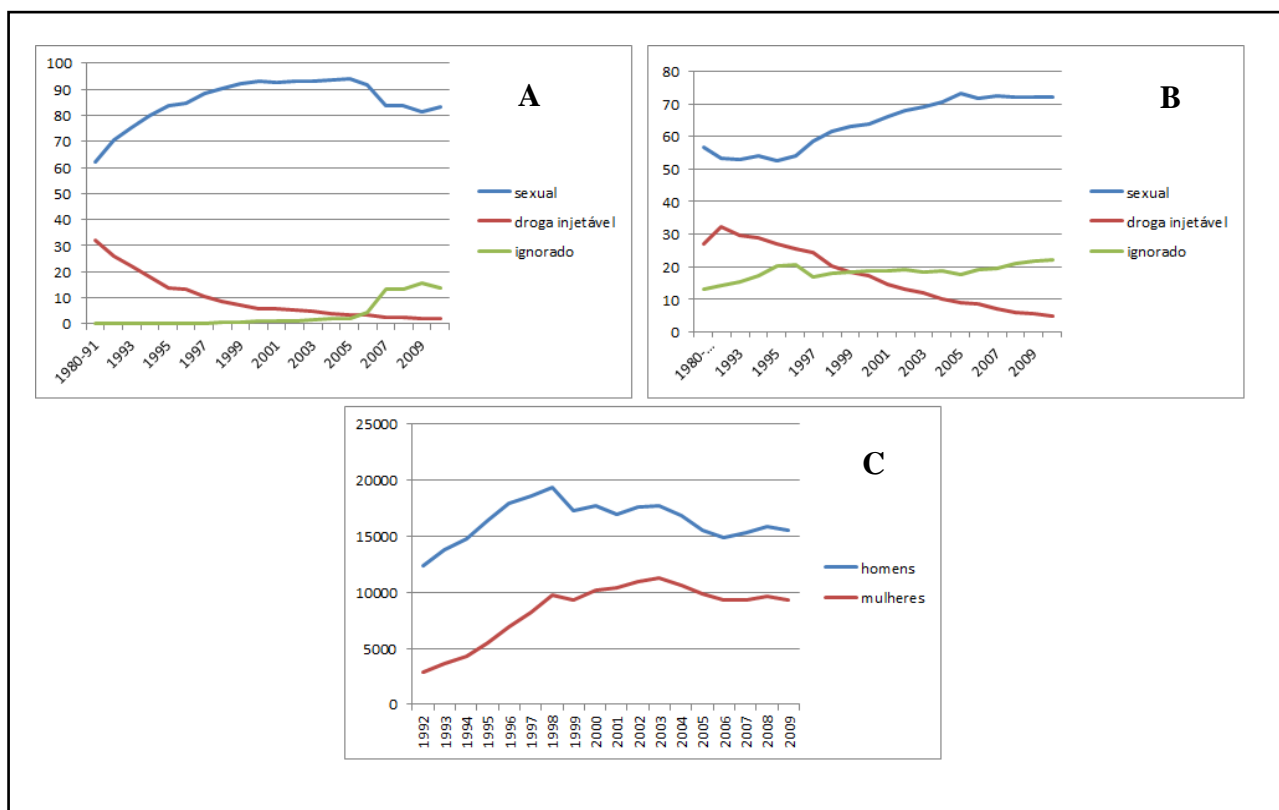


FIGURA II - NOTIFICAÇÕES DE AIDS EM MULHERES (A), HOMENS (B) E NÚMERO DE CASOS POR ANO (C)

Fonte: Ministério da Saúde, Boletim Epidemiológico DST/AIDS – 2011(Saúde, 2012)

No que compete ao HCV, levando em consideração de que a principal via de transmissão é parenteral, as taxas de infecção deveriam ser muito pequenas em usuários de drogas não injetáveis. Em uma revisão sistemática sobre HCV entre UDNI os autores encontraram uma prevalência de contaminação que variava de 2,3% a 35,3%. As hipóteses para explicar essas altas prevalências eram de que poderia haver UDI que não reportaram o uso por essa via ou que a transmissão do HCV estava associada com outros fatores, como tatuagem, comportamento sexual inseguro ou compartilhamento de equipamentos de uso de drogas, como cachimbos ou canudos (Scheinmann, 2007). Os autores salientam o fato de que a infecção por HCV é um problema importante entre os UDNI, mas que os mecanismos envolvidos na contaminação permanecem incertos (Scheinmann, 2007); o compartilhamento dos equipamentos para uso das drogas pode ser uma das vias de transmissão, já que foi possível detectar HCV na parafernália para uso de crack após 60 minutos do uso (Fischer, 2008). Já a transmissão sexual do HCV tem produzido evidências conflitantes, mas parece acontecer em UDNI quando outros fatores estão presentes (Ghosn, 2005). O HCV pode ser transmitido sexualmente, mas com risco menor que HIV ou hepatite B; o risco pode ser potencializado por concomitância de outras DSTs, lesões genitais erosivas ou dano na mucosa genital durante o ato sexual (Ghosn, 2005). Portanto, entre os UDNI os usuários de crack são um grupo particularmente de risco infectar-se por HIV. As mulheres parecem ser mais suscetíveis à contaminação sexual por HCV. Em um estudo com pacientes de clínicas de DST, mulheres com parceiros contaminados por HCV tinham mais chance de contrair a infecção do que os homens que tinham uma parceira com a doença (Thomas, 1995).

De forma similar ao HIV, as taxas de infecção por HCV no Brasil tiveram uma mudança epidemiológica nos últimos 20 anos, paralela ao aumento do consumo de crack (Saúde, 2010). Na figura 4A se observa um aumento de notificação de contaminação por HCV a partir de 2001 em todas as regiões, mas de forma mais expressiva nas regiões Sul e Sudeste, também as regiões primeiro atingidas pelo maior consumo de crack. Na figura 4B, a partir de 2002 há uma diminuição na razão homem : mulher na contaminação por HCV, sendo em 2009 de apenas 1,5. Não se pode concluir que o consumo de crack seja responsável por essas alterações nas notificações de contaminação por HCV no Brasil, mas é possível que seja um fator

contribuinte. Mesmo com a prevalência de uso de crack aumentando, bem como a taxa de detecção de HCV e indicativos que os usuários de crack, particularmente mulheres, possam ser um grupo de alto risco, há poucos estudos no Brasil que avaliaram essa associação e os fatores de risco associados. Entre mulheres, apenas o estudo já descrito em Salvador, com a prevalência de HCV 2,4%, 50% maior do que a de HIV(Nunes, 2007).

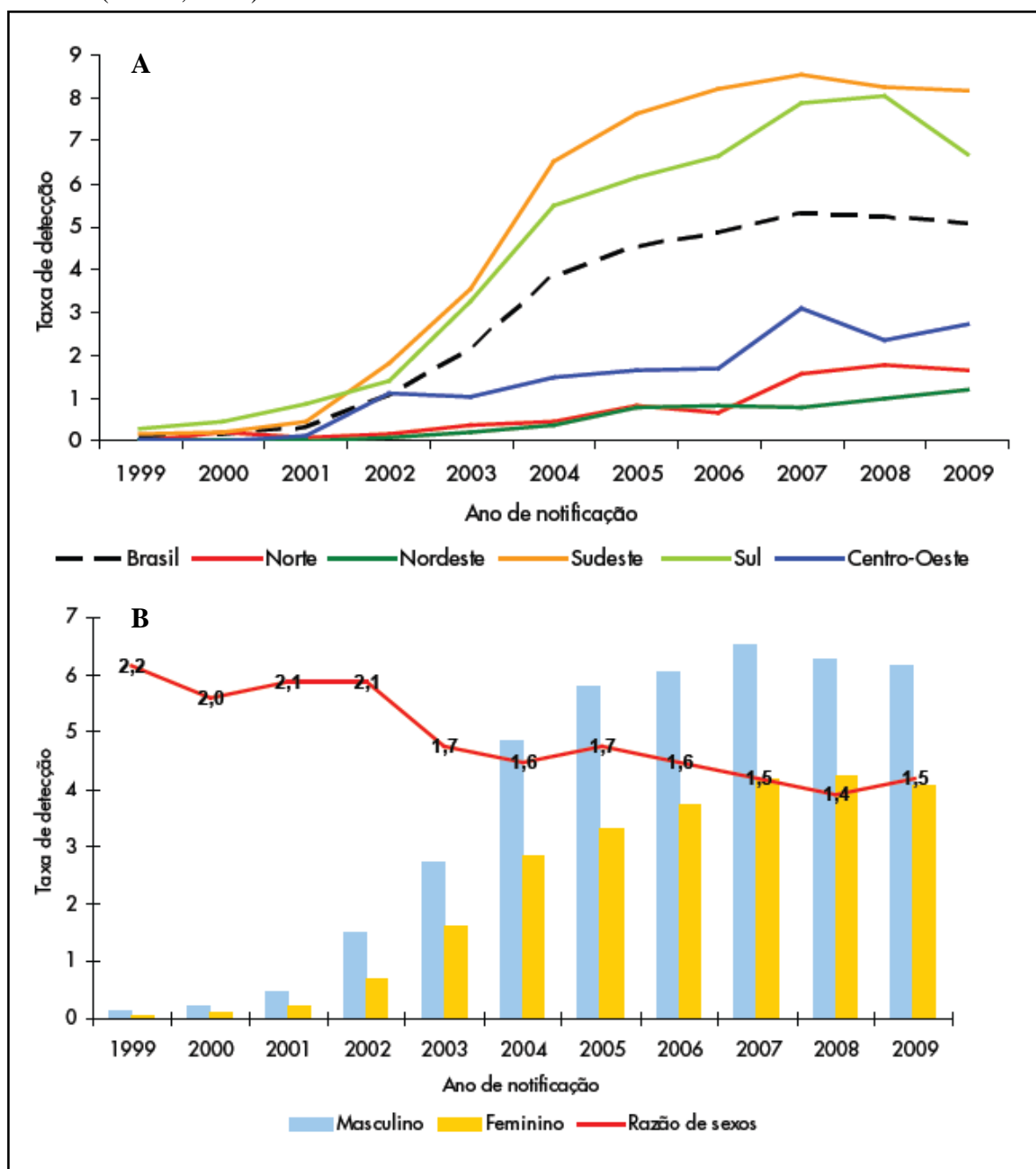


FIGURA III - TAXA DE NOTIFICAÇÃO (POR 100.000 HABITANTES) DE HCV POR ANO POR REGIÃO (A) E POR GÊNERO (B)

Fonte: Ministério da Saúde, Boletim Epidemiológico Hepatites Virais(Saúde, 2010)

Dependência de substâncias e Neurobiologia

Se por um lado nos deparamos com as graves consequências do uso, abuso e dependência de drogas, por outro se questiona como e por que esse problema começa e evolui. Há um grande número de indivíduos que experimentam drogas, uma parcela desses desenvolve um abuso da substância e outra menor irá se tornar dependente. O que diferencia esses indivíduos? Que fatores irão aumentar ou diminuir o risco do uso evoluir para dependência? Por que a resposta aos tratamentos é tão pequena e tão diferente de um indivíduo para outro? Quais os processos cerebrais envolvidos nessa transição? Estas e outras perguntas intrigam clínicos que trabalham com problemas com drogas e pesquisadores da área. Ainda são questionamentos com respostas parciais, mas as pesquisas nas últimas décadas abriram novos horizontes para a construção desse conhecimento.

De forma similar a outras doenças, a vulnerabilidade para desenvolver problemas com drogas é influenciada por uma combinação entre fatores genéticos e ambientais (Volkow, 2011). Esses fatores em conjunto com os efeitos diretos induzidos pelas drogas irão influenciar a progressão da experimentação para o uso regular, deste para o abuso e para dependência, bem como para risco de recaída após período de abstinência (Kreek, 2005). Há um forte componente genético no desenvolvimento de transtornos por uso de substâncias (TUSP), estimado em 50% da vulnerabilidade (Robison and Nestler, 2011). Na dependência de cocaína, as estimativas variam de 42 a 79% (Agrawal, 2012). Entretanto, em vez de uma relação direta entre gene-doença, *“o papel da genética reflete o impacto combinado de fatores que operam em muitos níveis fenomenológicos, e é mediado através da codificação de múltiplos processos fisiológicos, comportamentais e de desenvolvimento, bem como suas interações com igualmente poderosos fatores ambientais, incluindo exposição à droga”* (Volkow and Muenke, 2012). De acordo com o modelo proposto por Volkow e Muenke, desenvolvimento cerebral, personalidade, comorbidades, sensibilidade e resiliência ao estresse, limiar entre prazer e aversão, neuroplasticidade e farmacogenômica são os principais intermediários propostos entre o ambiente e a genética (Volkow and Muenke, 2012) (figura IV). Nesta mesma linha, o impacto de cada um desses fatores é diferente nos estágios que levam do uso à dependência. Por exemplo, o papel dos efeitos induzidos

pela droga seria mais importante na dependência, enquanto que a personalidade influencia mais o início do consumo e a transição para o uso regular (Kreek, 2005). Além disso, vulnerabilidades individuais podem determinar que as disfunções cerebrais predominantes sejam diferentes nos sujeitos expostos à droga. Por exemplo, em um indivíduo a saliência do incentivo para a droga pode ser o mais importante, enquanto para outro a hiper-reatividade do sistema de estresse pode ser o principal (George and Koob, 2010).

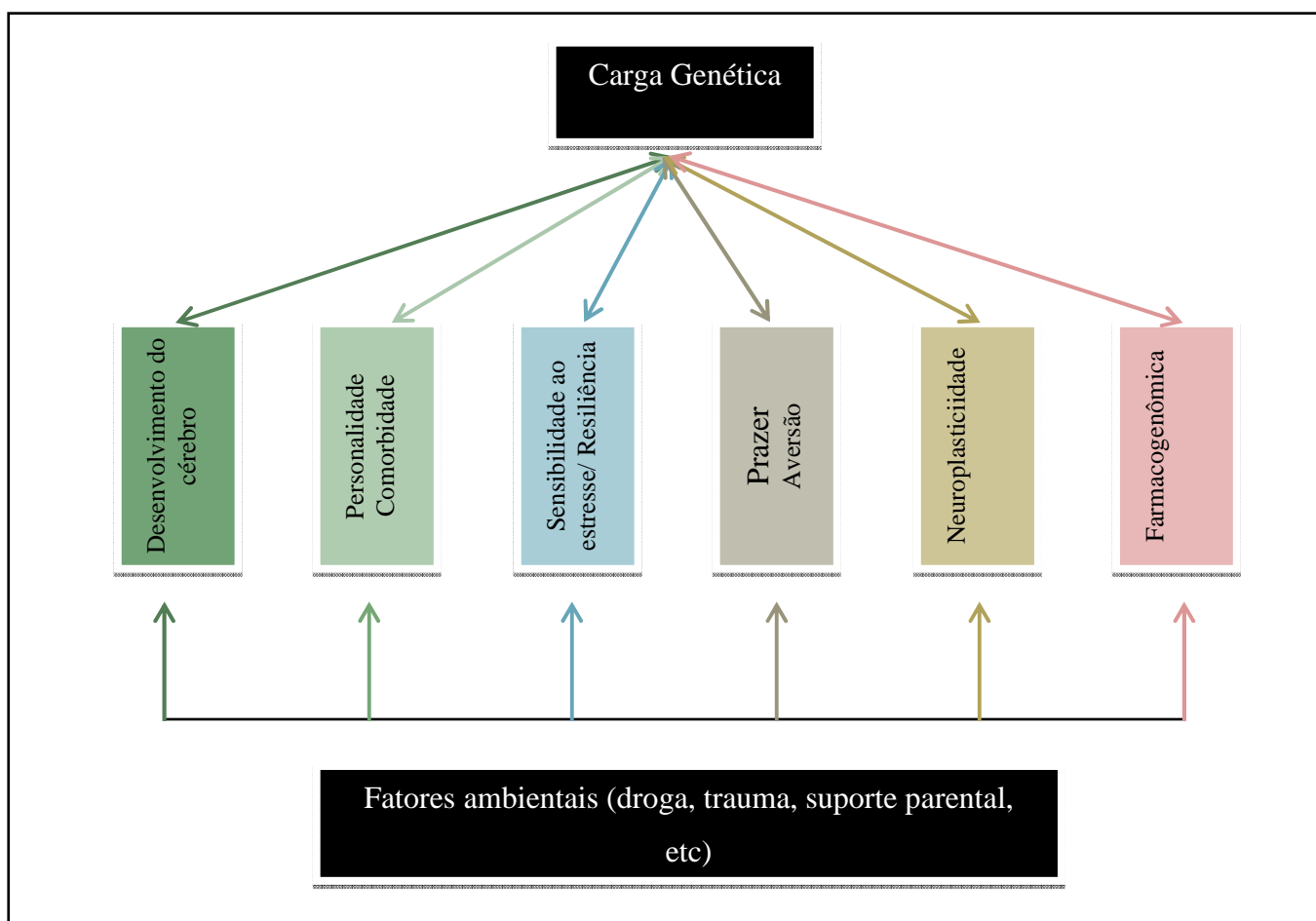


FIGURA IV - RELAÇÃO ENTRE GENÉTICA E AMBIENTE.

Adaptado (Volkow and Muenke, 2012)

Durante a transição do uso inicial para a dependência, há o desenvolvimento de tolerância e sensibilização a vários aspectos da ação da droga, disfunção no prazer com a substância, aumento progressivo da quantidade/frequência e no final uso compulsivo mesmo com graves consequências físicas e psicossociais (Dietz, 2009). No desenvolvimento do TUSP e na predisposição à recaída, a

sensibilidade/resiliência ao estresse, efeitos no sistema de recompensa cerebral (prazer/aversão) e a neuroplasticidade cerebral têm sido apontados como tendo um papel central nesse processo (Dietz, 2009, Koob and Volkow, 2009).

O circuito de recompensa cerebral (RC) é responsável pelo prazer obtido com o sexo, a comida e interações sociais, por exemplo. As drogas de abuso também se utilizam deste circuito cerebral, mas de uma forma muito mais intensa, alterando o funcionamento normal e o prazer envolvido com as outras atividades. De uma forma simplificada, o sistema de RC é formado pela área tegmentar ventral (ATV), núcleo accumbens (NAc) e córtex pré-frontal (CPF). As vias dopaminérgicas mesolímbicas e mesocorticais têm um papel importante nas propriedades hedonísticas e aditivas das drogas de abuso. A maioria dos neurônios dopaminérgicos se origina na ATV e a projeção dos axônios para o córtex, especialmente os lobos frontais, forma a via mesocortical, a qual está envolvida na experiência consciente do uso de droga, expectativa da droga e fissura. A projeção dos axônios da ATV para o NAc forma a via mesolímbica, envolvida na memória, motivação, efeitos reforçadores da droga e respostas condicionadas à fissura. Todas as drogas aumentam a dopamina (DA) no NAc, através da interação com diferentes receptores. A cocaína bloqueia o transportador de dopamina nos terminais dos neurônios dopaminérgicos que se projetam da ATV para o NAc, diminuindo a recaptação de DA e aumentando a quantidade de DA no NAc.

A dependência afeta não somente o sistema de RC dopaminérgico, mas também circuitos cerebrais envolvidos com condicionamento, motivação e função executiva (controle inibitório, atribuição de valores e tomada de decisão). Volkow et al (2011) propuseram um modelo de alteração do neurocircuito cerebral em um cérebro com dependência de substâncias em comparação com o funcionamento de um cérebro sem dependência (Volkow, 2011). De acordo com esse modelo, a dependência envolve a interação dos circuitos de recompensa (NAc, ATV), memória e condicionamento (amígdala, córtex orbito-frontal medial (COF), hipocampo e estriado dorsal), controle executivo (córtex pré-frontal dorsolateral (CPF DL), giro cingulado anterior (GCA), córtex frontal inferior e COF lateral) e motivação (COF medial para atribuição de saliência, GCA, ATV, estriado dorsal e córtex motor). Durante o processo de adição, quando a saliência da droga nos circuitos de recompensa, motivação e memória superam os circuitos de controle, ocorre uma

retroalimentação positiva iniciada pelo consumo da droga e perpetuada pelo aumento da ativação dos circuitos de motivação e memória. Vários neurotransmissores estão envolvidos nessas neuroadaptações, incluindo glutamato, GABA, norepinefrina, fator liberador de corticotrofina e receptores opióides (receptores Kappa), conforme figura V.

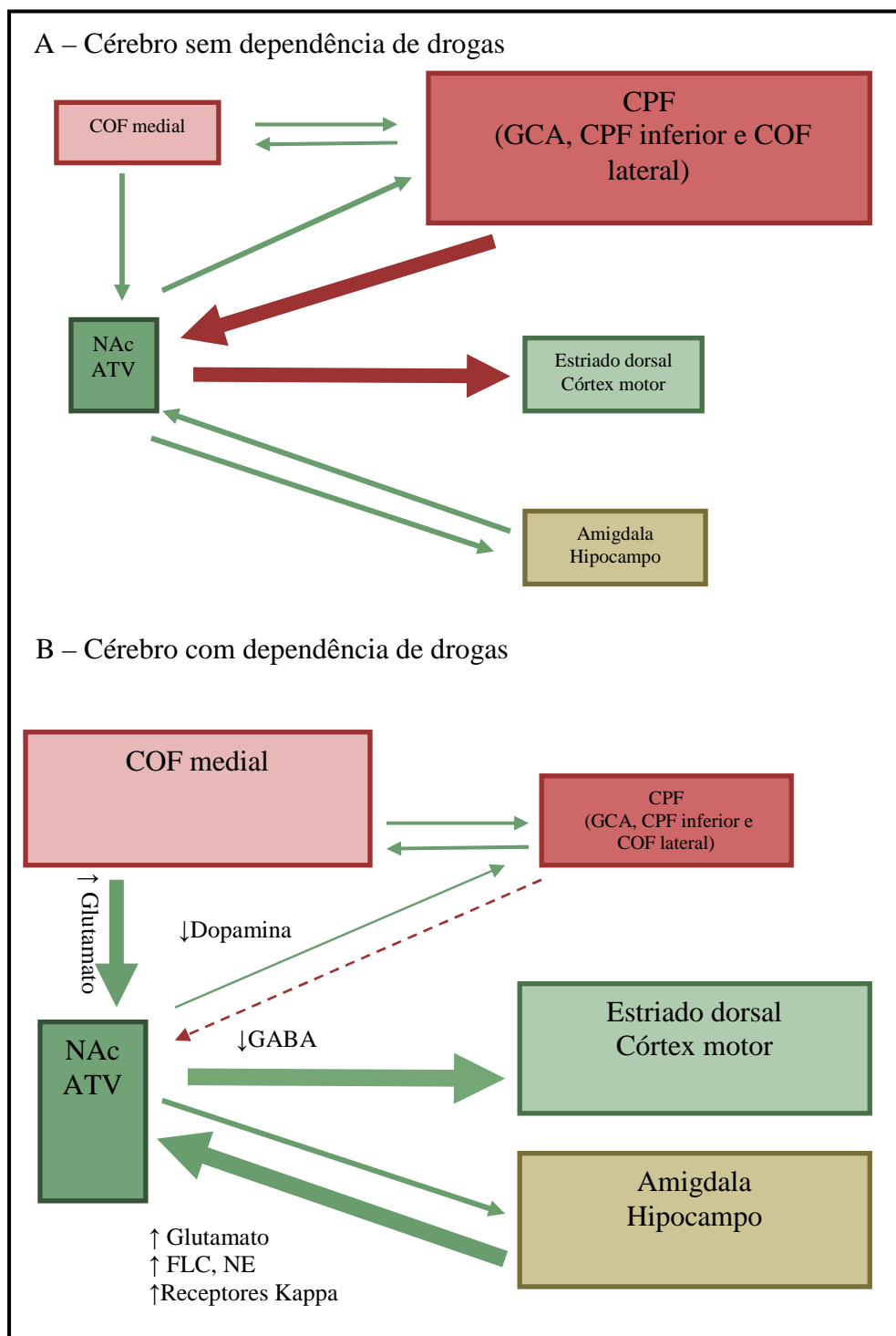


FIGURA V - MODELO DE CIRCUITOS CEREBRAIS NA EVOLUÇÃO PARA A DEPENDÊNCIA

Na figura 5A observa-se o forte controle inibitório da função executiva (CPF) sobre o circuito de recompensa (NAc e ATV) e desse sobre o circuito de motivação (estriado dorsal e córtex motor). Há também a fraca influência do sistema de memória e condicionamento (amígdala, COF, hipocampo e estriado dorsal) sobre o sistema de recompensa. Na figura 5B, há principalmente a perda do controle inibitório pelo CPF, o aumento da influência do COF medial (saliência da droga) sobre o sistema de recompensa, aumento da memória e condicionamento sobre o sistema de recompensa e deste sobre o circuito de motivação. CPF, córtex pré-frontal; COF, córtex orbito-frontal; GCA, giro cingulado anterior; NAc, núcleo acumbens; ATV, área tegmentar ventral; FLC, fator liberador de corticotrofina, NE, norepinefrina. Adaptado de (Volkow, 2011)

Uma das hipóteses atualmente mais aceitas para a dependência de cocaína é que a droga induza neuroadaptações nos processos de memória e aprendizado relacionados ao sistema de recompensa cerebral, especialmente no sistema dopaminérgico mesocórtico-límbico e no circuito glutamatérgico córtico-límbico (Thomas, 2008). Por exemplo, os psicoestimulantes aumentam a complexidade e a densidade das espinhas dendríticas nos neurônios do NAc, ATV e CPF (Dietz, 2009). De acordo com essa hipótese, essas adaptações causam uma hipersensibilidade aos estímulos associados com a cocaína, tornam o processo de tomada de decisão mais impulsivo e os comportamentos disfuncionais associados à cocaína se tornam insensíveis às consequências negativas (Koob, 2004, Kreek, 2005, Verdejo-Garcia and Bechara, 2009). Evidências apontam para um papel importante das neurotrofinas cerebrais nas neuroadaptações induzidas pela cocaína, podendo estar associadas ao desenvolvimento da dependência, fissura, dano cognitivo e predisposição para recaída (Russo, 2009, Thomas, 2008).

Neurotrofinas

A primeira neurotrofina (NT) a ser caracterizada foi o Fator de crescimento do Nervo (NGF – *Nerve Growth Factor*) em 1953, durante uma pesquisa sobre fatores de sobrevivência. Essa descoberta foi tão importante que rendeu o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina à Stanley Cohen e Rita Levi-Montalcini in 1986, poucos anos após a identificação de outra NT, o fator neurotrófico derivado do cérebro (brain-derived neurotrophic fator - BDNF), em 1982 (Barde, 1982). Há quatro neurotrofinas caracterizadas nos mamíferos, o NGF, o BDNF, a NT-3 e a NT-4/5 (Bartkowska, 2010). Outras neurotrofinas, a NT-6 e a NT-7 foram recentemente identificadas, mas não são encontradas em humanos (Gotz, 1994, Lai, 1998).

As NTs são responsáveis pelo controle de diversos processos importantes no desenvolvimento do sistema nervoso, como proliferação, migração, diferenciação, sobrevivência, apoptose e plasticidade sináptica (Bartkowska, 2010). As NTs são sintetizadas em suas formas precursoras, como pró-neurotrofinas e posteriormente clivadas na sua forma madura (neurotrofinas). A ação das NTs se dá através de sua interação com um ou mais receptores tirosina-kinases (Trk) e todas se ligam ao receptor de neurotrofina de baixa afinidade, o p75, como mostra a figura 2.

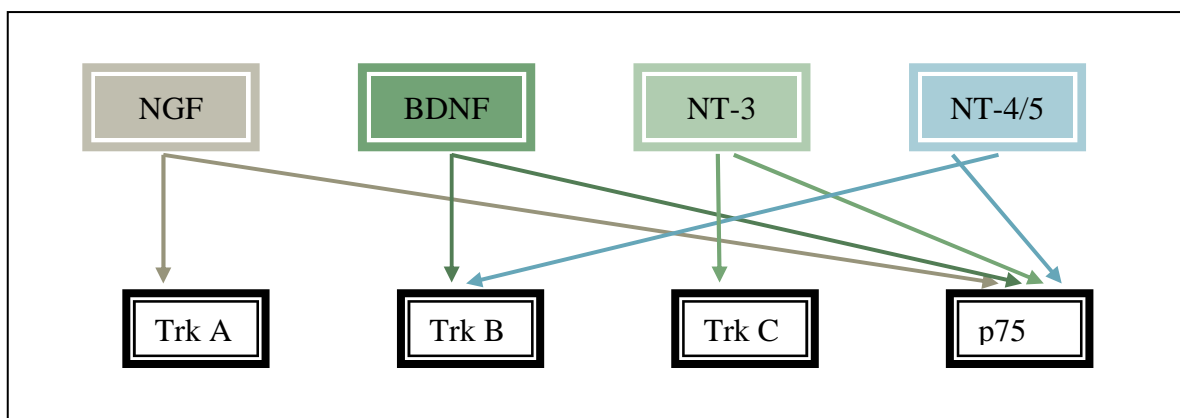


FIGURA VI NEUROTROFINAS E SUAS LIGAÇÕES COM RECEPTORES.

Entre as NTs, o BDNF é o que tem o papel na plasticidade sináptica mais estabelecido (Kuipers and Bramham, 2006). O BDNF parece mediar os principais

processos dependentes de estímulo externo, como aprendizado, experiências e memórias, incluindo efeito das substâncias de abuso (Janak, 2006).

Fator neurotrófico derivado do cérebro – BDNF

Durante o desenvolvimento do cérebro, o BDNF é necessário para o desenvolvimento adequado e sobrevivência dos neurônios dopaminérgicos, gabaérgicos, colinérgicos e serotoninérgicos. No cérebro maduro, essa proteína atua na plasticidade sináptica, é fundamental para o processo de memória e aprendizado e importante na cognição e humor (Autry and Monteggia, 2012). Além disso, o BDNF tem sido implicado na base fisiopatológica de diversas doenças neuro-psiquiátricas, bem como ao prognóstico e resposta ao tratamento dessas doenças, entre elas a dependência química (Castren, 2004, McGinty and Mendelson, 2011).

BDNF é sintetizado como uma proteína precursora, prepro-BDNF, que é clivada em pro-BDNF e depois na forma madura – BDNF (Autry and Monteggia, 2012). O pro-BDNF é um precursor ativo, com estudos sugerindo uma ação diversa do BDNF, que poderia estar envolvido na apoptose celular (Lessmann, 2003). É expresso em várias áreas do SNC, incluindo amígdala, estriato, córtex pré-frontal e o Trk B é expresso nos neurônios dopaminérgicos mesencefálicos (Corominas, 2007). Todas essas áreas estão relacionadas às respostas neuronais induzidas pelas substâncias de abuso.

BDNF e cocaína

O papel do BDNF na dependência de cocaína, desde o efeito agudo até a chance de recaída, foi bastante estudado em modelos animais e ainda pouco estudado em humanos. Estudos em animais sugerem que o BDNF possa ter um papel importante na neuroadaptação induzida pela cocaína, a qual está relacionada à transição do uso para a dependência, fissura, recaída e sensibilização à droga (Corominas, 2007, McGinty, 2010).

As neuroadaptações induzidas pela cocaína que se acredita estarem associadas com a reinstalação da busca pela droga são principalmente na via CPF-NAc, na qual o BDNF é expresso. Os neurônios piramidais corticais que saem do

CPF são a principal fonte de BDNF dentro do estriado, incluindo o NAc. A administração aguda de cocaína induz a expressão de RNAm de BDNF no CPF medial, córtex cingulado e estriado, que pode representar os estágios iniciais da plasticidade cortical induzidas pelo psicoestimulantes (Fumagalli, 2007, McGinty, 2010). Após a administração repetida de cocaína, o BDNF está aumentado nas estruturas prosencefálicas (Fumagalli, 2007). Na abstinência precoce (22h), há diminuição do BDNF no CPF dorsomedial, a qual não se verifica na abstinência tardia (21 dias) (McGinty, 2010). Além disso, após um período de auto-administração de cocaína, o BDNF está aumentado nas estruturas mesolímbicas, incluindo ATV, NAc e amígdala em períodos prolongados de abstinência (Grimm, 2003). Considerando que o BDNF é transportada nas projeções glutamatérgicas do CPF para o NAc e que esta via regula a recaída para a busca de drogas, a variação da expressão do BDNF nesta via pode constituir um componente crítico na neuroplasticidade induzida pela cocaína nos neurônios corticais e mesolímbicos (McGinty, 2010).

Infusão de BDNF em diferentes regiões cerebrais apresenta efeito direto na procura por cocaína, mas podem ter efeitos opostos dependendo da região cerebral. Infusão de BDNF na ATV no final da auto-administração de cocaína por 10 dias, aumentou a procura por cocaína mesmo após 30 dias de abstinência (Lu, 2004). Da mesma forma, a infusão repetida de BDNF no NAc aumentou a procura por cocaína e a recaída durante a abstinência (Graham, 2007). Outros estudos corroboraram esses achados (Bahi, 2008). Por outro lado, a administração de BDNF no córtex pré-frontal de ratos no último dia de auto-administração de cocaína por 10 dias diminuiu a procura por cocaína durante a abstinência, mesmo após o desafio com injeção da droga (Berglind, 2007).

A transposição dos achados em animais para humanos é complexa, já que as alterações no BDNF são diferentes nas diferentes regiões do cérebro. Além disso, há dúvidas sobre o quanto o valor do BDNF periférico é correlacionado com os valores no SNC. Alguns estudos avaliaram a associação entre níveis séricos e cerebrais de BDNF e encontraram uma forte correlação (Klein, 2010, Rasmussen, 2009, Sartorius, 2009), sugerindo que os níveis séricos representam os níveis cerebrais. Entretanto, diferente dos estudos em animais, não é possível dizer de qual ou de quais áreas cerebrais o BDNF é proveniente. Como visto nos estudos em animais,

dependendo da região do cérebro o aumento do BDNF pode ser benéfico ou prejudicial tanto para a instalação da dependência de cocaína quanto para o risco de recaída. A tabela 2 descreve os estudos que avaliaram o BDNF sérico em humanos com TUSP, na qual se observam resultados contraditórios, os quais se pode inferir que estejam relacionados ao não conhecimento da área de origem do BDNF circulante.

Ao avaliar os níveis de BDNF em dependentes de substâncias em uso ativo, a maioria dos estudos com dependentes de álcool encontrou níveis semelhantes aos controles (Costa, 2011, Heberlein, 2010, Huang, 2008), apesar de estar aumentado em um estudo (Shim, 2008) e diminuído em outro (Huang, 2010). Já nos dependentes de cocaína, apenas um estudo recente avaliou o BDNF pré-desintoxicação, tendo encontrado níveis diminuídos em relação aos controles (Corominas-Roso, 2012). Em relação às outras drogas, nos usuários de metanfetamina e de heroína, o nível de BDNF foi encontrado tanto aumentado (Heberlein, 2011, Kim, 2005) quanto diminuído (Angelucci, 2007, Chen, 2012) em relação a controles. Nos usuários crônicos de maconha, o BDNF não diferiu em relação aos controles (Angelucci, 2008) e nos usuários de ecstasy foi encontrado elevado (Angelucci, 2010). Analisados em conjunto estes estudos revelam que os níveis de BDNF em indivíduos dependentes de substâncias não abstinentes são muito variados, tanto entre drogas diferentes quanto entre usuários da mesma substância. Cabe salientar que a maioria dos estudos foi com tamanhos amostrais pequenos e não há uma boa descrição de como os controles foram selecionados, fatos que podem estar relacionados com esses achados divergentes.

Em dependentes de álcool e cocaína, o BDNF foi avaliado também na abstinência e como preditor de recaída. Durante a abstinência precoce de cocaína (14 dias), o BDNF aumentou durante a desintoxicação e o valor ao final das duas semanas foi correlacionado positivamente com sintomas de abstinência, de depressão e de ansiedade e com fissura, tendo esse estudo avaliado apenas 23 pacientes e 46 controles (Corominas-Roso, 2012). Esse achado sugere que os níveis maiores de BDNF na abstinência precoce seriam entre os indivíduos mais sintomáticos e mais graves. Nesse mesma linha, o valor do BDNF após 3 semanas de abstinência de cocaína foi maior no grupo que recaiu em relação ao grupo que se manteve abstinente após 90 dias da alta hospitalar (D'Sa, 2011). Em dependentes de

álcool, o BDNF avaliado 6 meses após um período de desintoxicação foi maior nos que estavam abstinentes em relação aos que recaíram, sendo a proporção do aumento também maior nos abstinentes, quando avaliados em relação ao valor do BDNF no primeiro dia da internação (Costa, 2011) . Da mesma forma, alcoolistas que desenvolveram *delirium tremens* durante a abstinência tinham níveis menores do BDNF em relação aos que não tiveram a complicação e aos controles (Huang, 2010). Entretanto, o BDNF basal no primeiro dia de internação de pacientes alcoolistas foi fortemente correlacionado com os sintomas de abstinência no primeiro dia (Huang, 2008). Os resultados dos estudos da alteração do BDNF durante a abstinência de álcool e cocaína, apontam na direção de um importante papel desta neurotrofina como indicador de gravidade e como marcador prognóstico, emergindo como um potencial biomarcador nessa área. Os resultados ainda são preliminares e com amostras pequenas e heterogêneas, com vários pontos a esclarecer. Um desses pontos é avaliar se o que se associa com variáveis clínicas e de valor prognóstico é o valor basal, o valor após desintoxicação precoce ou tardia ou a proporção da variação em relação ao valor basal.

TABELA II - ESTUDOS QUE AVALIARAM A RELAÇÃO ENTRE USO DE ÁLCOOL E OUTRAS DROGAS E BDNF EM HUMANOS

Estudo	População	BDNF
Dependentes de cocaína		
(Angelucci, 2007)	15 dependentes de cocaína (DC) – 10 homens (H) e 5 mulheres (M) 15 (9H/6M) dependentes de heroína (DH) 15 (8H/7M) controles (CONT)	Não há informação sobre o último consumo das drogas. Níveis de BDNF reduzidos nos DH em relação aos CONT e sem diferença significativa nos DC.
(D'Sa, 2011)	35 DC internados (17H/18M) 34 CONT (17H/17M)	BDNF foi coletado após 3 semanas de abstinência nos DC e seguidos por 14, 30 e 90 dias. BDNF nos DC ($36,0 \pm 9,2$ ng/mL) foi maior que nos CONT ($25,8 \pm 8,9$ ng/ml). Após 90 dias, 66% dos DC recaíram, o BDNF foi maior no grupo que recaiu ($38,1 \pm 8,2$ ng/mL) em relação ao que se manteve abstinente ($30,6 \pm 8,6$ ng/mL). Na análise de sobrevivência, os níveis maiores de BDNF foram associados com taxas maiores de recaída.
(Corominas-Roso, 2012)	23 DC e 46 CONT	BDNF foi avaliado no primeiro dia da internação e 14 dias após. O valor no primeiro dia foi diminuído ($51,68 \pm 17,51$) em relação aos CONT ($76,04 \pm 32,66$) e aumentou após a desintoxicação ($60,64 \pm$

		22,61). O valor basal do BDNF foi correlacionado com fissura por cocaína e o valor após desintoxicação foi correlacionado com fissura, sintomas de abstinência, de depressão e de ansiedade.
Dependentes de álcool		
(Costa, 2011)	101 (84H/17M) dependentes de álcool (DAIc) internados e 41 CONT (28H/11M)	BDNF foi coletado no 1º dia de internação e 6 meses após. Na internação o BDNF nos DAIC (23,0±8,0 pg/mL) não foi diferente dos CONT (24,2±5,1 pg/mL). Após 6 meses, 66% dos pacientes recaíram e o BDNF dos que recaíram (27,5±10,4 pg/mL) era menor do que os que estavam abstinentes (31,9±10,1 pg/mL). Os dois grupos aumentaram o BDNF após 6 meses, mas a proporção do aumento foi maior no grupo abstinente (46,2%) em relação aos que recaíram (26,1%), mas com grande variabilidade nos dois grupos. O BDNF na internação não foi diferente entre os que recaíram e os que não recaíram.
(Lee, 2009)	41 H com DAIC e 41 CONT	BDNF foi medido no primeiro dia de internação dos DAIC. BDNF foi maior nos DAIC (3502,2 ± 1726,9 pg/mL) em relação aos CONT (861,8 ± 478,9 pg/mL).
(Huang, 2008)	25 (21H/4M) com DAIC e 22 (19H/3M) CONT	BDNF foi medido no primeiro dia de internação e 7 dias após. O BDNF dos DAIC não diferiu dos controles em nenhuma das duas medidas. Nos DAIC, o BDNF aumentou após 7 dias de abstinência de (13,9 ± 3,8 ng/mL) para (15,4 ± 3,8 ng/mL). A primeira medida de BDNF foi fortemente correlacionada com a gravidade dos sintomas de abstinência no primeiro dia (r=0,45), quanto maior o BDNF basal, mais grave foi a abstinência.
(Huang, 2010)	65 DAIC com e sem Delirium tremens (DT) e 39 (36H/3M) CONT. Grupo DT (25H) sem DT (36H/4M)	BDNF foi coletado no primeiro e sétimo dia de internação. BDNF basal foi maior nos CONT (14,8 +/- 4,7 ng/ml) em relação aos DAIC nos dois grupos (sem DT 12,3 +/- 3,3 ng/ml e com DT 6,2 +/- 2,6 ng/ml). Após 7 dias, os dois grupos de DAIC aumentaram o BDNF, mas o grupo sem DT (13,4 ± 3,5 ng/mL) tinha níveis similares aos controles e os com DT (8,9 ±4,4 ng/mL) tinham níveis significativamente diminuídos.
(Joe, 2007)	64 (H) com DAIC e 75 (H) CONT	BDNF nos DAIC foi coletado após a período de abstinência durante internação. BDNF foi maior nos controles (822,5 ± 420,7 pg/mL) do que nos DAIC (389,5 ± 501,7 pg/mL). Dentre os DAIC, os com história familiar (HF) de alcoolismo (247,6 ± 289,2 pg/mL) tiveram BDNF menor do que os sem HF (583,9 ±652,8 pg/mL).

(D'Sa, 2012)	16 (7H/9M)DAIc e 16 (8H/8M) com consumo leve a moderado de álcool (25 ou menos doses de álcool por mês)	BDNF nos DAIc foi coletado com 4 semanas de abstinência. Não há relato se foi solicitado abstinência dos bebedores sociais. BDNF foi maior nos DAIc ($35,3 \pm 9,5$ ng/mL) do que nos bebedores sociais ($26,9 \pm 11,1$ ng/mL)
(Heberlein, 2010)	81 (H) DAIc e 41 (H) CONT	Nos DAIc BDNF foi medido nos dias 1, 7 e 14 de abstinência. BDNF não alterou significativamente durante abstinência e foi similar com os CONT. Níveis séricos de BDNF foram negativamente associados com a gravidade da abstinência no dia 1.
Outras drogas		
(Angelucci, 2008)	Abusadores crônicos de maconha e controles	BDNF não foi diferente entre controles e abusadores crônicos de maconha
(Kim, 2005)	50 usuários crônicos de metanfetamina (MET) e 50 CONT	BDNF aumentado nos usuários de MET ($2536,3$ pg/mL) em relação aos CONT ($1352,6$ pg/mL)
(Heberlein, 2011)	27 (H) dependentes de heroína (DH) e 21 (H) CONT	BDNF foi elevado nos DH em relação aos CONT (valores não descritos). Níveis de BDNF antes da abstinência foram positivamente correlacionados com escala de gravidade de abstinência de heroína ($r=0,42$).
(Chen, 2012)	59 abusadores de MET e 59 CONT	Níveis de BDNF foram significativamente menores nos abusadores de MET em relação aos CONT.
(Angelucci, 2010)		Níveis de BDNF foram aumentados nos usuários de ecstasy ($11,28 \pm 0,39$) em relação aos controles ($8,53 \pm 0,57$).

Dos radicais livres ao estresse oxidativo

Estresse oxidativo (EO) é definido como a condição que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de radicais livres (oxidantes) ou espécies reativas ao oxigênio, e a sua eliminação através mecanismos protetores, os antioxidantes, levando a um dano do organismo (Durackova, 2009).

Radicais livres e espécies reativas

Em um átomo, os elétrons ocupam regiões no espaço denominadas de orbitais. Os orbitais correspondem a regiões do átomo com maior probabilidade de se encontrar determinado elétron. Cada orbital acomoda no máximo dois elétrons e, quando os elétrons ocupam um mesmo orbital, são ditos emparelhados e devem possuir sentidos de rotação (spins) contrários. Radical livre pode ser definido como qualquer átomo ou molécula que contenha um ou mais elétrons não emparelhados (Halliwell, 1994). Os elétrons não emparelhados alteram a reatividade química de um átomo ou molécula, geralmente tornando-o mais reativo do que o correspondente não radical (Halliwell, 1994).

Os radicais podem reagir com outras moléculas de várias maneiras: 1) dois radicais podem combinar seus elétrons não pareados para formar uma ligação covalente; 2) um radical pode doar seus elétrons não pareados para outra molécula; 3) um radical pode receber um elétron de outra molécula (Halliwell, 1989). Nos dois últimos casos, se um radical doa ou recebe um elétron de um não radical, este irá se transformar em radical. Portanto, a característica das reações de radicais livres (RL) é que elas tendem a ocorrer como reações em cadeia (Halliwell, 1989). Os radicais livres podem ser de carbono, enxofre, nitrogênio e oxigênio. Os radicais derivados do oxigênio representam a classe mais importante de radicais produzidos pelos organismos vivos (Valko, 2007) e serão os abordados aqui. “Espécies reativas do oxigênio” (ERO ou ROS em inglês) é uma denominação mais ampla que inclui radicais livres de oxigênio e certos não-radicais que são agentes oxidantes e/ou são facilmente convertidos em radicais (Halliwell, 2006).

As fontes de ERO são tanto internas quanto externas. ERO são produzidas normalmente nas células durante a respiração mitocondrial e a geração de energia, durante processos inflamatórios, na metabolização de substâncias (através do citocromo P450). Algumas fontes externas como radiação ultra-violeta, raio-X, poluentes do ar e tabagismo, também são capazes de induzir a formação de RL e ERRO (Durackova, 2009). As espécies reativas do oxigênio possuem um papel duplo, tanto benéfico quanto deletério, dependendo da quantidade produzida e da capacidade do organismo de eliminá-las (Valko, 2007). Os efeitos benéficos ocorrem em baixa ou moderada concentração e estão envolvidas no papel fisiológico da resposta celular à diminuição de oxigênio, na defesa contra agentes infecciosos, sistema de sinalização celular e na indução de resposta mitogênica. Em grandes concentrações, podem danificar proteínas, DNA e lipídios celulares (Halliwell, 2006).

Antioxidantes

A ação das ERO são contrapostas *in vivo* por um sistema coordenado de defesa antioxidante (Halliwell, 2001). A proteção é organizada em três níveis (Durackova, 2009):

- 1) Sistemas que previnem a formação de RL e ERO, como inibição de enzimas que catalisam a formação de RL;
- 2) Transformação dos RL e ERO em não radicais e metabólitos não tóxicos. Estes compostos são chamados antioxidantes. Os antioxidantes enzimáticos são sintetizados pelo próprio organismo e incluem superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT). Alguns antioxidantes são obtidos da dieta, os não enzimáticos, como o ácido ascórbico (vitamina C), a-tocoferol (vitamina E), glutatona (GSH), carotenoides e flavonoides (Valko, 2007).
- 3) Se os níveis anteriores falharam e o dano ocorreu, o sistema de reparação reconhece as moléculas danificadas e as decompõe, como as proteinases, lipases e os sistemas de reparação do DNA.

Quando ocorre o excesso de produção de ERO em relação à capacidade de defesa do organismo, ocorre então o que é chamado de estresse oxidativo.

Estresse Oxidativo

As células submetidas ao estresse oxidativo podem se adaptar, aumentando suas defesas antioxidantes e/ou sua capacidade de reparação, tornando-se mais resistente aos danos subsequentes (Halliwell, 2001). Em outros casos, as células podem sobreviver, mas com sua função diminuída, ou ainda, ocorrer morte celular por necrose ou apoptose (Halliwell, 2001). Como já dito anteriormente, o excesso de RL e de ERO (estresse oxidativo) pode levar a lesões celulares através do dano a proteínas, lipídios e DNA. De fato, o estresse oxidativo está associado a uma série de processos patológicos, como lesão celular, câncer, envelhecimento, doenças degenerativas como Doença de Alzheimer e Doença de Parkinson (Halliwell, 2001).

O cérebro é particularmente suscetível ao estresse oxidativo por várias razões. Uma delas é o seu alto consumo de oxigênio, atingindo 20% do consumo basal do organismo no adulto (Halliwell, 2006). A transmissão neuronal necessita uma grande quantidade de ATP para a propagação do potencial de ação e para a neurotransmissão. A alteração da função mitocondrial nos neurônios por toxinas, diminuição de O₂ ou por diminuição de substratos para produção de energia, leva à dano neuronal rapidamente (Halliwell, 2006). Além disso, o cérebro possui poucas defesas anti-oxidantes, é constituído grande parte por lipídios (que são substrato importante para oxidação), grande presença de metais como ferro e cobre, que são catalizadores para oxidação (Ng, 2008). Há sempre um nível basal de dano oxidativo ao DNA, aos lipídios e proteínas e os sistemas que reparam e substituem as biomoléculas oxidadas são muito importantes para a integridade celular (Halliwell, 2006).

Em consonância com a vulnerabilidade cerebral, os mecanismos de estresse oxidativo têm sido implicados na fisiopatogenia de diversas doenças psiquiátricas, como esquizofrenia (Ben Othmen, 2008), transtorno bipolar (Andreazza, 2008), depressão maior (Sarandol, 2007), transtornos de ansiedade (Kuloglu, 2002), transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (Dvorakova, 2006), transtornos alimentares (Rodrigues Pereira, 2010), entre outros.

A avaliação do estresse oxidativo e doenças psiquiátricas tem sido feita através da avaliação de oxidantes (metabólitos de óxido nítrico) e antioxidantes (SOD, CAT, GPx, GSH), avaliação de produtos da oxidação (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – TBARS, malondialdeído – MDA), capacidade anti-oxidante de fármacos com eficácia comprovada, estudos de suscetibilidade genética e ensaios clínicos com terapias antioxidantes (vitaminas C e E, extrato de Ginkgo biloba, N-acetilcisteína) (Ng, 2008).

Estresse oxidativo e substâncias psicoativas de abuso

Os mecanismos de estresse oxidativo têm sido associados também ao abuso e dependência de substâncias psicoativas, principalmente em relação à toxicidade induzida por estas (Kovacic and Cooksy, 2005). A indução de estresse oxidativo foi encontrada com diferentes substâncias, como nicotina, álcool, maconha, cocaína, metanfetamina e opióides (Ng, 2008). No que se refere à cocaína, há consenso na literatura sobre a indução de estresse oxidativo e que esse possa ser um mecanismo dos diferentes danos produzidas por essa droga (Riezzo, 2012). Os transtornos cardiovasculares induzidos por cocaína são mediados, ao menos em parte, por estresse oxidativo (Kovacic, 2005). O uso agudo e crônico de cocaína comprometem a homeostase entre oxidantes e anti-oxidantes no coração, induzindo apoptose nas células cardíacas e outros danos celulares (Cerretani, 2012). Há indícios também de que os mecanismos de toxicidade hepática, renal, sistema imunológico e efeitos teratogênicos ocasionados pela cocaína são mediados por estresse oxidativo e diminuição das defesas anti-oxidantes (Kovacic, 2005).

Em relação ao sistema nervoso central, as relações entre EO e uso de cocaína são complexas. A cocaína altera a função da barreira hematoencefálica através da modificação da expressão de moléculas de adesão das células endoteliais (Dietrich, 2009). Os mecanismos de EO estão envolvidos nesse efeito, o que aumenta a chance de vírus, como o HIV, entrar no cérebro; as alterações cognitivas induzidas pela cocaína também podem ser precipitadas pelo efeito na integridade da barreira hematoencefálica (Dietrich, 2009). A cocaína se liga aos transportadores de dopamina, diminuindo sua receptação nos neurônios pré-sinápticos. O aumento de dopamina nas sinapses rapidamente aumenta os níveis de EROs, devido ao seu processo de metabolização. Corroborando essas informações, estudos em animais

mostram aumento de EROs e diminuição de anti-oxidantes em áreas cerebrais relacionadas ao processo aditivo (córtex pré-frontal, hipocampo) e a produção de EROs é muito maior nos animais que se auto-administravam cocaína do que naqueles que recebiam passivamente a droga (Nestler, 2004, Pomierny-Chamiolo, 2012). Outro ponto importante, é que a síndrome de abstinência também pode ser indutora de estresse oxidativo. Na abstinência de álcool, foi demonstrado aumento da peroxidação lipídica em estudos pré-clínicos e clínicos (Jung and Metzger, 2010). Na abstinência de cocaína, estudos em ratos também evidenciaram aumento de ERO, tanto na administração passiva e mais recentemente na auto-administração de cocaína (Dietrich, 2005, Pomierny-Chamiolo, 2012).

Há poucos estudos avaliando a relação entre marcadores de estresse oxidativo e substâncias psicoativas em humanas, sendo a grande maioria em pacientes alcoolistas, principalmente na abstinência precoce. TBARS foi avaliado na abstinência de álcool, antes e após 7 dias de desintoxicação e foi encontrado aumentado nos alcoolistas em relação aos controles, mesmo após os 7 dias, enquanto SOD e GPx estavam diminuídas e CAT sem diferença (Wozniak, 2008). Ainda na abstinência de álcool, os níveis de MDA foram correlacionados com os escores de gravidade dos sintomas de privação no primeiro dia de desintoxicação (Huang, 2009). Os níveis de MDA após 14 dias de abstinência de álcool foram significativamente correlacionados com anos de dependência de álcool (Peng, 2005). Outros estudos com dependentes de álcool corroboraram esses resultados, indicando níveis altos de MDA no consumo ativo de álcool (Bleich, 2000, Chen, 2010, Huang, 2009, Yuksel, 2005) e diminuição dos níveis de antioxidantes (Dey Sarkar, 2007, Huang, 2009). Entretanto, há divergência em relação ao que acontece com indicadores de estresse oxidativo durante a abstinência, com alguns mostrando redução e normalização em três dias e até duas semanas (Bleich, 2000, Chen, 2010, Huang, 2009), outros mostrando níveis aumentados em relação aos controles em até 40 dias de abstinência (Thome, 1997).

Com substâncias estimulantes, há raros relatos em humanos avaliando níveis séricos de EO ou antioxidantes. Entre 120 usuários de anfetamina, TBARS foi encontrado aumentado ($3,09 \pm 0,10$ nmol/mL) em relação a 120 controles ($2,56 \pm 0,16$ nmol/mL), enquanto que as defesas antioxidantes estavam reduzidas (GPx, SOD e

CAT) (Govitrapong, 2009). Não foram encontrados estudos em humanos avaliando marcadores de estresse oxidativo em dependentes de cocaína durante a abstinência.

Objetivos

Objetivo Geral

Avaliar contaminação por HIV e HCV, marcadores de plasticidade cerebral e estresse oxidativo em usuários de crack.

Objetivos Específicos

- Estimar prevalência de contaminação por HIV e HCV entre mulheres usuárias de crack
- Avaliar fatores de risco associados a maior chance de contaminação pelos vírus HIV e HCV em mulheres usuárias de crack
- Estimar a plasticidade cerebral através dos níveis de fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) na vigência do uso de crack e após desintoxicação inicial e comparar com controles
- Determinar níveis de dano oxidativo de lipídeos (através de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico - TBARS) e proteínas (conteúdo de proteína PCC) na vigência do uso de crack e após desintoxicação inicial e comparar com controles
- Avaliar características clínicas associadas com variações de BDNF, TBARS e PCC após a desintoxicação

Artigos

Artigo 1

COMPORTAMENTOS DE RISCO PARA PREVALÊNCIA DE HIV E HCV
ENTRE MULHERES USUÁRIAS DE CRACK DE PORTO ALEGRE, BRAZIL

RISK BEHAVIORS FOR HCV AND HIV SEROPREVALENCE AMONG
FEMALE CRACK USERS FROM PORTO ALEGRE, BRAZIL

Lisia von Diemen, Raquel De Boni, Félix Kessler, Daniela Benzano e Flavio
Pechansky

Publicado no Archives of Women's Mental Health (2010) 13:185-191

DOI 10.1007/S00737-009-0089-Y

**Risk behaviors for HCV and HIV seroprevalence among female crack users
from Porto Alegre, Brazil**

Lisia von Diemen¹, Raquel De Boni¹, Félix Kessler¹, Daniela Benzano¹ e Flavio Pechansky¹

Center for Drug and Alcohol Research, Hospital de Clinicas de Porto Alegre,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Ramiro Barcelos 2350, room 2201B,
Porto Alegre, 90035-903, Brazil. lisiavd@hotmail.com

Abstract

Several studies have shown a high prevalence of HIV-seropositive status among crack users, though most refer to North American populations. Few studies evaluate HCV prevalence among female crack users. In addition, there is a particular lack of data about risk behaviors and HIV/HCV prevalence in this population around the world. In order to ascertain the HIV/HCV serostatus and associated risk behaviors for infection of female crack users of Porto Alegre, Brazil a cross-sectional study of a convenience sample of 73 current female crack users. Subjects answered NIDA's Risk Behavior Assessment and an AIDS Information Questionnaire. In addition, blood was collected from subjects for HIV/HCV tests. The overall prevalence of HIV was 37.0%; HCV seroprevalence was 27.7%; 15.1% the sample was co-infected with HIV and HCV. Four years of schooling or fewer (OR 4.72 - CI 95% ((1.49-14.99)) and having three or more HIV tests in one's lifetime (OR 4.26 - CI 95% (1.29-14.04)) were associated with HIV infection (after multivariate logistic regression). The single greatest risk factor for HCV infection was having four years of schooling or fewer (OR 4.51 - CI 95% (1.18-17.27)). We found a very high prevalence of HIV and HCV infection among female crack users, and low education was the most important risk factor associated with both infections.

Key words: crack, women, HIV, AIDS, HCV, hepatitis

Introduction

There were more than 500,000 reported cases of AIDS in Brazil as of 2007 (Brazilian Ministry of Health 2007), and the Brazilian Ministry of Health reports that more than 600,000 Brazilians are currently infected with the HIV virus (Szwarcwald et. al 2000). Porto Alegre is located in South Brazil, a region that is responsible for 18% of the total AIDS cases in the country. Porto Alegre is also the third-highest ranking city for AIDS mortality in Brazil (male/female 2:1) (Brazilian Ministry of Health 2007). The AIDS epidemic is in the process of stabilization; the incidence rate per 100,000 habitants increased to 18.6% in 1998, stayed around 16% between 1999 and 2003, and has been decreasing since 2004, reaching 9.5% in 2007 (Brazilian Ministry of Health 2007). However, we can observe a change in the epidemiological profile of AIDS in Brazil. For example, the male/female ratio of AIDS for all ages has fallen from 15:1 in 1986, to 2:1 in 1997 and 1:5 in 2007 (Brazilian Ministry of Health 2007). Also, the means of HIV transmission has changed. In 1995, only 14% of AIDS cases were sexually transmitted; this increased to 30% in 1998 and to 45% in 2007. In contrast, the number of HIV positive cases that are drug injector users (DIU) was 28% in 1995; this has since fallen to 20% in 1998 and only 8% in 2007 (Brazilian Ministry of Health 2007). At the same time, there was a reduction in the prevalence of cocaine injectors seeking treatment (Dunn et. al 1996, Ferreira Filho et. al 2003), along with an escalation of crack cocaine users in clinics for treatment of drug users since the early 1990s (Guindalini et. al 2006, Kessler et. al 2008, Duailibi et. al 2008).

In a review about crack use in Brazil (Duailibi et. al 2008) , the authors describe that by the mid-1990s cocaine and crack users comprised 50-80% of the demand in outpatient services, compared with less than 50% in the previous years.

Additionally, a 2005 national household survey (Carlini et. al 2006) showed that 1.1% of lifetime crack use occurs in South Brazil, the highest prevalence in the country. Moreover, the first national survey about drug use in Brazil conducted in 2001(Carlini et. al 2002) did not differentiate cocaine from crack users, suggesting an increasing prevalence between the time of the two surveys. Literature has shown that crack cocaine use is associated with high rates of HIV infection among women; specifically, crack cocaine use results in increased numbers of risky sexual behaviors, such as a greater number of exchanges of sex for money/drugs, multiple sexual partners, and unprotected sex (Edlin et. al 1994, Inciardi et. al 1993, Eldridge et. al 1997, Stevens et. al 1998, Tortu et. al 1997, Hoffman et. al 2000). Little is known about HIV seroprevalence rates among crack users in Brazil (Malta et. al 2008, Azevedo et. al 2007)

Regarding HCV, the prevalence of HCV among non-injection drug users (NIDUs) who smoke, snort, or sniff heroin, cocaine, crack, or methamphetamine is higher than expected, suggesting an means of HCV transmission other than intravenous drug use in this group (Stern et. al 2008, Scheinmann et. al 2007). In a systematic review about HCV among NIDUs (Scheinmann et. al 2007), authors found a prevalence of HCV ranging from 2.3% to 35.3%; the hypothesized explanations were that NIDUs are often IDUs who have failed to report their route of administration accurately, or that HCV transmission in NIDUs is associated with tattooing, unsafe sexual behavior, or sharing of non-injection drug use equipment, such as straws or crack pipes. After all, authors (Scheinmann et. al 2007) have concluded that HCV among NIDUs is an important problem, but the causal pathway remains unclear. There is still controversy regarding whether drug-related risk behaviors are associated with HCV infection among NIDUs (Gyarmathy et. al 2002,

Howe et. al 2005), though it is possible to detect HCV on crack paraphernalia within 60 minutes of use (Fischer et. al 2008) . Furthermore, studies regarding HCV sexual transmission have been producing conflicting evidence (Clarke et. al 2006).In Brazil, there is a paucity of information about HIV and HCV among crack users, especially among females; we found only one study (Nunes et. al 2007) focused on this group in Northeast Brazil, and they reported HIV and HCV prevalences of 1.6% and 2.5%, respectively.

With the rise in prevalence of crack use in Brazil, as well as the progression of AIDS and HCV among crack users across the world, there is a great need to reverse the paucity of data about its transmission. The objective of this paper is to analyze risk behaviors for HIV/HCV infection among female crack users in Brazil.

Method

Sampling

We conducted a cross-sectional study using chain referral and snowball sampling (Biernacki et. al 1981, Watters et. al 1989). We aimed at obtaining a target sample of women over 18 years old who reported recent crack use and NIDU in the 30 days prior to interview. Data were collected continuously between August and December of 2004. Using four trained female outreach workers from a harm reduction program, we were able to recruit 76 female crack users during this period. Recruitment was supervised by the authors, and each outreach recruiter produced between 7 and 15 cases. The women participants were brought to a public health clinic for anonymous HIV and HCV testing, along with pre- and post-test counseling using Centers for Disease Control standards adapted for use with drug abusers in Brazil (Inciardi et. al 1999) . HIV results were not available for three women; HCV results

were unavailable for six women because their blood was stoked incorrectly (3 cases) or the amount of blood obtained was insufficient (3 cases). We excluded 3 subjects whose data were incomplete for both tests, yielding a final sample of 73 women. Each potential participant was screened for eligibility; after informed consent was obtained, blood was drawn, and information was obtained through a baseline questionnaire.¹

Measures

Demographics were collected using a standard form that is used regularly by our group and has been previously field-tested (Pechansky et. al 2007,).¹ We used the third Brazilian version of the Risk Assessment Battery (Pechansky et. al 2002) to assess risky behaviors, which covers the timeframe 30 days and six months before the data collection with regard to drug use, as well as risk situations and behaviors associated with HIV infection, including specific questions about lifetime number of sex partners, frequency of condom use, sex exchanges and behaviors, injection drug use, and subjects' concerns about being infected.

AIDS information was ascertained via the AIDS Information Questionnaire, which has 16 questions and is used to ascertain the respondent's level of knowledge about HIV/AIDS by simply adding the false/true answers to obtain a total score. This form has been previously used in studies in Delaware (Kelly et. al 1989) and has been adapted for Brazil (Pechansky et. al 2007).

HIV status was obtained after demographics and form questions were completed; volunteers provided blood for anti-HIV and HCV testing, using ELISA and immunofluorescence tests according to the standard procedure of the screening

¹ Available upon request to the main author

centers. A urine sample was also collected and tested for cocaine metabolites using Ontrak Teststik (Roche Diagnostics).

Statistics

Statistical analysis was performed using Chi-square, Fisher's exact test for categorical variables, and Student's T test for quantitative symmetrical variables. Logistic regression using the enter method was conducted to evaluate characteristics associated with HIV and HCV infection. Variables were included if they had p-values of less than 0.20. The level of significance was set at 5% ($p < 0.05$). Years of schooling, number of crack rocks used in the 30 days prior to the interview, monthly family income, and times tested for HIV were categorized using their median as cut-point.

Ethics

The study was approved by the Institutional Review Boards of the University of Delaware and Hospital de Clinicas of Porto Alegre, the main study site.

Results

The overall prevalence of HIV was 37.0% ($n=27$) and 27.7% ($n=18$) for HCV. Eleven participants, or 15.1% of the sample, were co-infected. Four women (5.5%) reported having injected in the six months prior to interview, one tested positive for HIV and one for HCV.

Table 1 shows the demographic characteristics, risk behaviors for HIV and HCV, and the bivariate analysis. Overall, this sample was young (mean age 28.1 \pm 7.6 years), non-white (68.5%), poor (49.3% having family income of less than

U\$130 per month), uneducated (50.7% reported four years of education or fewer), and unemployed (57.5%). Additionally, women crack users reported that they infrequently (49.3%) used condom, traded sex for drugs in the six months prior to interview (17.8%), and used large amounts of crack (50.7% reported more than 46 rocks/month). With respect to the co-infected women, mean age was 32.8 ± 6.9 years old, 9 (81.8%) had four years of schooling or fewer, and 8 (72.7%) reported using 46 or more rocks of crack in the last 30 days.

Characteristics associated with HIV infection are shown in Table 2. Logistic regression shows that subjects with four years of education or fewer and those who were tested for HIV more than two times had a higher chance of being infected with HIV. In addition, Table 3 shows that subjects with four years of education or fewer also had a greater chance of being infected with HCV.

Discussion

In this study, we evaluated a sample of 73 female crack users and found an extremely high seroprevalence of HIV and HCV. Also, years of schooling seems to be the most important characteristic associated with both infections, more than other traditional risk behaviors, such as inconsistent condom use and number of sexual partners.

HIV and HCV infection

The HIV seroprevalence (37%) we found is higher than those reported in studies of high-risk populations of female crack users in North America (McCoy et. al 2004, Ross et. al 1999). Ross and colleagues (Ross et. al 1999) reported an HIV infection rate of 12% in a crack house population. Even in Brazil, studies in other geographical regions have found rates of HIV infection much lower than the one reported, either among crack users of both genders recruited in treatment settings (7%) (Azevedo et. al 2007), or among 125 female crack cocaine users from impoverished communities (1.6%) (Nunes et. al 2007). It is well documented in the international literature that female crack users tend to have a great number of HIV risk behaviors (Booth et. al 2000, Shannon et. al 2008, Inciardi et. al 2006, Zule et. al 2002), such as exchanging sex for money or drugs, having a casual partner who injects, frequent alcohol use, inconsistent condom use, and many sexual partners. In the logistic regression model utilized in our analyses, only years of schooling and times tested for HIV were significantly associated with HIV infection. Although years of schooling and income are usually correlated, income seems to be a more important characteristic in North American crack users (Fischer et. al 2006, Logan et. al 1998), while education is more prominently related to HIV rates in Brazilian samples (Duailibi et. al 2008, Nunes et. al 2007). The effect of low education on

becoming infected with HIV in drug-using individuals has been studied in Brazil by Pechansky and colleagues in a series of studies (Pechansky 2001). These authors suggest a model in which this combination of factors is carried into the drug scenario of crack-using individuals; it consequently generates a cascade of one-direction events that may produce a sort of interaction. In particular, poor, young, uneducated individuals who come from a milieu of deprived education tend to receive and process less information regarding AIDS prevention. This, accompanied by their low access to the public health system – and therefore less exposure to prevention programs - yields a lower perception of risk. The characteristics of crack-cocaine (cheap, easy access, rapid effect, heavy withdrawal sensations) contribute to this cycle. The risk will tend to increase exponentially as long as these factors remain associated. The number of times an individual is tested for HIV is not a risk behavior *per se*, but probably represents an increase in some risky behaviors that contribute to an increased chance of HIV infection, thus leading to a greater number of testing situations.

The HCV infection rate of almost 28% is high, even though some former DIUs might have been included in this sample – a variable that we could not control for, since many current crack users in Southern Brazil have migrated from cocaine injecting into crack use, due to the decreasing quality of powder cocaine as well as the greater availability of crack (Inciardi et. al 2006). As we found for HIV, years of education were associated with HCV infection; amount of alcohol use had a marginal significance ($p=0.07$) in the logistic regression model. In a review of HCV infection among NIDU, authors (Scheinmann. et. al 2007) found that prevalence rates among women ranged from 5.2% to 19.5%, and from 2.3% to 35.3% in both genders. The same authors note that HCV has not received much attention among NIDU, and that

it remains unclear whether HCV in NIDU can be attributed to drug rather than sex-related or other risk behaviors (Scheinmann et. al 2007). Studies with NIDU have not reported a relationship between low education and HCV infection, and our findings could therefore be a particularity of Brazilian crack users (Nunes et. al 2007). The amount of alcohol use was not associated with HCV infection, probably due to our small sample, since the p-value obtained was marginal (0.07). Alcohol abuse is associated with crack use because individuals take advantage of its consumption to diminish the effects of cocaine. Miller (Miller 2003) suggests that the association of alcohol use and HIV transmission should be better understood in developing countries, as he mentions a South African study in which a high variation of sexual partners was found along with a decreased use of condoms in places where alcohol was consumed in large quantities. Nyamathi et al. studied cocaine users and found an association between alcohol consumption and HCV infection (Nyamathi et. al 2002).

The AIDS epidemic in Brazil has shifted from males who have sex with men and primary injection drug users, to other forms of transmission that include females in different aspects (sex workers, female partners of drug users, female drug users) (Brazilian Ministry of Health 2007). This trend is reflective of changes that are occurring in the world, as data from UNAIDS (Joint United Nations Programme on HIV/AIDS 2008) report that women account for half of all HIV infections at present. Our sample was a young and potentially productive group of women, similar to the samples examined by other Brazilian authors (Barcellos et. al 1996, Lima et. al 1994), who identified 25-40 year-old subjects to be the drug users at highest risk for HIV seropositivity (Weiss et. al 1997, Zilberman et. al 2003).

Women in our study had incomes below the minimum wage, which means monthly salaries under \$130. Previous studies from the authors using subjects

origination from the same demographic showed that most subjects were employed and received more than four times the minimum wage per month (Pechansky et. al 2007; Pechansky et al 2006). Crack use could explain this difference, since it has been associated with higher rates of unemployment, greater numbers of illegal behaviors, lower income, and the consequent marginalization of its users (Das 1993, Nappo et. al 1994).

This study has several limitations. First, the sample came from only one area of outpatient recruitment in Porto Alegre, which certainly does not represent the population of crack users of the city. However, we tried to minimize this bias by using the classical chain-referral techniques inside the snowballing methodology, thus allowing for a potential growth of the social networks that were reached by team interviewers. Second, our sample size is small, and it is likely that some associations in multivariate analysis were not found due to lack of power.

From the findings described above, the need for interventions that aim at preventing HIV and HCV and treat crack dependence is clear, especially because these users belong to a young population for whom the costs of chronic disease and care become even more significant to the health system and to society as a whole.

Acknowledgments:

The authors wish to thank Drs. James A. Inciardi, Hilary Surratt, and Steven Martin for the organization and supervision of data collection that produced the database used for this article, and undergraduate student Raquel Saldanha for the help with the literature review.

Table 1. Sample description and bivariate analysis

Variable	Total Sample n=73 n (%)	HIV n= 73			HCV n=65			
		HIV (-) n=46 n (%)	HIV (+) n=27 n (%)	p	HCV (-) n=47 n (%)	HCV (+) n=18 n (%)	p	
Demographic characteristics								
Age ^a	28.1 ± 7.6	28.1±8.6	28.1±6.7	0.99 ^b	26.5±7.0	32.2±8.6	<0.001 ^b	
Ethnicity ^c								
	White	23 (31.5)	13 (28.3)	10 (37.0)	0.44 ^d	15 (31.1)	6 (33.3)	0.91 ^d
	Not White	50 (68.5)	33 (71.7)	17 (63.0)		32 (68.1)	12 (66.7)	
Marital status								
	Without regular partner	17 (23.3)	9 (19.6)	8 (29.6)	0.33 ^d	12 (25.5)	5 (27.8)	1.00 ^c
	With regular partner	56 (76.7)	37 (80.4)	19 (70.4)		35 (75.5)	13 (72.2)	
Monthly income								
	≤ US\$ 130	36 (49.3)	22 (47.8)	14 (51.9)	0.74 ^d	25 (53.2)	8 (44.4)	0.53 ^d
	> US\$ 130	37(50.7)	24 (52.2)	13 (48.1)		22 (46.8)	10 (55.6)	
Years of schooling								
	4 or less	37 (50.7)	18 (39.1)	19 (40.4)	<0.01 ^d	19 (40.4)	13 (72.2)	<0.05 ^d
	5 or more	36 (49.3)	28 (59.6)	8 (29.6)		28 (59.6)	5 (27.8)	
Employment status								
	Yes	31 (42.5)	16 (34.8)	15 (55.6)	0.09 ^d	16 (34.0)	10 (55.6)	0.16 ^d
	No	42 (57.5)	30 (65.2)	12 (44.4)		34 (66.0)	8 (44.4)	
Risk behaviors								
Alcohol use – last 30 days								
	Never/almost never	28 (38.4)	17 (37.0)	11 (40.7)	0.75 ^d	23 (48.9)	5 (27.8)	0.12 ^d
	Frequently	45 (61.6)	29 (63.0)	16 (59.3)		24 (51.1)	13 (72.2)	
Crack use – last 30 days								
	≤ 45 rocks	36 (49.3)	24 (52.2)	12 (44.4)	0.52 ^d	26 (55.3)	6 (33.3)	0.11 ^d
	> 45 rocks	37 (50.7)	22 (47.8)	15 (55.6)		21 (49.7)	12 (66.7)	
Urine test for cocaine								
	Positive	29 (48.3)	17 (40.5)	14 (53.8)	0.28 ^d	18 (41.9)	11 (64.7)	0.11 ^d
	Negative	31 (51.7)	25 (59.5)	12 (46.2)		25 (58.1)	6 (35.3)	
AIDS information ^a	12.7±1.3	12.5±1.3	13.1±1.3	0.051 ^b	12. ±1.4	12.8±1.2	0.60 ^b	
Condom use – last 6 months								
	Never/almost never	36 (49.3)	21 (45.7)	15 (55.6)	0.41 ^d	25 (53.2)	8 (44.4)	0.53 ^d
	Frequently	37 (50.7)	25 (54.3)	12 (44.4)		22 (46.8)	10 (55.6)	
Number of sexual partners – 6 months								
	≤ 3	54 (74.0)	36 (78.3)	18 (66.7)	0.28 ^d	34 (72.3)	14 (77.8)	0.66 ^c
	> 3	10 (26.0)	10 (21.7)	9 (33.3)		13 (27.7)	4 (22.2)	
Traded sex for drugs – 6 months								
	Never	60 (82.2)	39 (84.8)	21 (77.8)	0.45 ^c	38 (80.9)	15 (83.3)	0.82 ^d
	At least once	13 (17.8)	7 (15.2)	6 (22.2)		9 (19.1)	3 (16.7)	
Times tested for HIV								
	≤ 2 times	37 (50.7)	28 (60.9)	9 (33.3)	<0.05 ^d	23 (48.9)	10 (55.6)	0.63 ^d
	> 2 times	36 (49.3)	16 (39.1)	18 (66.7)		24 (51.1)	8 (44.4)	

^a Mean±standard deviation ^b Student's t test for independent samples ^c Fischer's exact test ^d Chi-square test

Table 2. Logistic regression using HIV as outcome

Variable	Adjusted OR (CI-95%)	p
Aids information	1.46 (0.95-2.22)	0.08
Years of schooling		
4 or less	4.61 (1.51-14.1)	<0.01
5 or more	1	
Times tested for HIV		
≤ 2 times	1	<0.05
< 2 times	3.32 (1.1-10.0)	
Employment status		
Yes	-	
No		

OR – Odds Ratio; CI- Confidence interval

Table 3. Logistic regression using HCV as outcome

Variable	Adjusted OR (CI-95%)	p
Age	1.08 (0.996-1.17)	0.053
Years of schooling		
4 or less	4.51 (1.18-17.27)	<0.05
5 or more	1	
Alcohol - last 30 days		
Never/almost never	1	0.07
Frequently	3.61 (0.89-14.70)	
Crack – last 30 days		
≤ 45 rocks	1	0.16
> 45 rocks	2.84 (0.77-10.42)	
Urine test for cocaine		
Positive	-	-
Negative		
Employment status		
Yes	-	-
No		

OR – Odds Ratio; CI- Confidence interval

Reference List

- Azevedo RC, Botega NJ, Guimaraes LAM. (2007) Crack users, sexual behavior and risk of HIV infection. *Rev Bras Psiquiatr* ; 29 (1):26-30
- Barcellos C, Bastos FI. (1996) (Social networks and diffusion of AIDS in Brazil). *Bol.Oficina Sanit.Panam.* 121 (1):11-24
- Biernacki P, Aldortf D. (1981) Snowball sampling-problems and techniques of chain referral sampling. *Sociol Meth Res* ; 10:141-163
- Booth RE, Kwiatkowski CF, Chitwood DD. (2000) Sex related HIV risk behaviors: differential risks among injection drug users, crack smokers, and injection drug users who smoke crack. *Drug Alcohol Depend* ; 58 (3):219-226
- Brazilian Ministry of Health (2007) AIDS and TSD Epidemiological Report. Brasilia, Ministry of Health .
- Carlini EA, Galduróz JC, Noto AR, Nappo SA. I levantamento domiciliar sobre o uso de drogas psicotrópicas no Brasil - 2001., São Paulo: CEBRID - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas e UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo. 2002
- Carlini EA, Galduróz JC, Noto AR, Nappo SA. II Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil - 2005, São Paulo: CEBRID - Centro Brasileiro de Informações sobre Drogas Psicotrópicas e UNIFESP - Universidade Federal de São Paulo. 2006
- Clarke A, Kulasegaram R. (2006) Hepatitis C transmission -- where are we now? *Int.J.STD AIDS* ; 17 (2):74-80
- Das G. (1993) Cocaine abuse in North America: a milestone in history. *J Clin.Pharmacol.* 33 (4):296-310
- Duailibi LB, Ribeiro M, and Laranjeira R. (2008) Perfil dos usuários de cocaína e crack no Brasil. *Cad. saúde Pública*, 24, 545-557.
- Dunn J, Laranjeira RR, Da Silveira DX, Formigoni ML, Ferri CP. (1996) Crack cocaine: an increase in use among patients attending clinics in Sao Paulo: 1990-1993. *Subst.Use.Misuse.* 31 (4):519-527
- Edlin BR, Irwin KL, Faruque S, McCoy CB, Word C, Serrano Y, Inciardi JA, Bowser BP, Schilling RF, Holmberg SD. (1994) Intersecting epidemics--crack cocaine use and HIV infection among inner-city young adults. Multicenter Crack Cocaine and HIV Infection Study Team. *N.Engl.J Med.* 331 (21):1422-1427
- Eldridge G, St.Lawrence JS (1997) Evaluation of the HIV risk reduction intervention for women entering inpatient substance abuse treatment. *Aids Educ Prev* ; 9 (1):62-76

- Ferreira Filho OF, Turchi MD, Laranjeira R, Castelo A. (2003) (Epidemiological profile of cocaine users on treatment in psychiatric hospitals, Brazil). *Rev Saude Publica* ; 37 (6):751-759
- Ferreira Filho OF, Turchi MD, Laranjeira R, Castelo A. (2003) Epidemiological profile of cocaine users on treatment in psychiatric hospitals, Brazil. *Rev Saude Publica* ; 37 (6):751-759
- Fischer B, Powis J, Firestone CM, Rudzinski K, Rehm J. (2008) Hepatitis C virus transmission among oral crack users: viral detection on crack paraphernalia. *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* 20 (1):29-32
- Fischer B, Rehm J, Matra J, alousek K, aydon E, yndall M, l-Guebaly N. (2006) Crack across Canada: Comparing crack users and crack non-users in a Canadian multi-city cohort of illicit opioid users. *Addiction* ; 101 (12):1760-1770
- Guindalini C, Vallada H, Breen G, Laranjeira R. (2006) Concurrent crack and powder cocaine users from Sao Paulo: Do they represent a different group? *BMC Public Health* ; 6-10
- Gyarmathy VA, Neaigus A, Miller M, Friedman SR, Des J. (2002) Risk correlates of prevalent HIV, hepatitis B virus, and hepatitis C virus infections among noninjecting heroin users. *J Acquir Immune Defic Syndr* ; 30:448-456
- Hoffman JA, Klein H, Eber M, Crosby H (2000) Frequency and intensity of crack use as predictors of women's involvement in HIV-related sexual risk behaviors. *Drug Alcohol Depend* ; 58:227-36
- Howe CJ, Fuller CM, Ompad DC, Galea S, Kobling B, Thomas D, Vlahov D (2005) Association of sex, hygiene and drug equipment sharring with hepatitis C virus infection among non-injecting drug users in New York City. *Drug Alcohol Depend.* 79:389-95
- Inciardi J.A., Surratt H, Pechansky F. Risk reduction for HIV/AIDS among drug users: a guide for workers in public health., New York: University of Delaware Research Center. 1999
- Inciardi JA, Lockwood D, Pottieger AE. *Mulheres and crack-cocaine*, New York: 1993
- Inciardi JA, Surratt H, Pechansky F, Kessler F, Diemen L., Meyer Silva E., Martin SS. (2006) Changing patterns of cocaine use and HIV risks in the south of Brazil. *J Psychoactive Drugs* ; 38 (3):305-310
- Inciardi JA, Surratt HL, Kurtz SP. (2006) HIV, HBV, and HCV infections among drug-involved, inner-city, street sex workers in Miami, Florida. *AIDS Behav* ; 10 (2):139-147

- Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Reports on the global AIDS epidemic -2008, 2008
- Kelly JA, St Lawrence JS, Wood HV, Grasfield TL. (1989) An objective test of AIDS risk behavior knowledge: scale development, validation, and norms. *J Behav Ther Exp Psychiatry* ; 20 (3):227-234
- Kessler F, Pechansky F. (2008) A psychiatric view on the crack phenomenon nowadays. *Rev Psiquiatr RS* ; 30 (2):3
- Lima ES, Friedman SR, Bastos FI, Telles PR, Friedmann P, Ward TP, Des J. (1994) Risk factors for HIV-1 seroprevalence among drug injectors in the cocaine-using environment of Rio de Janeiro. *Addiction* ; 89 (6):689-698
- Logan TK, Leukefeld C, Farabee D. (1998) Sexual and drug use behaviors among women crack users: implications for prevention. *Aids Educ Prev* ; 10 (4):327-340
- Malta, M, Monteiro M, Lima RM, Zuim G, Bastos F, Strath SA (2008) Risco frente ao HIV/Aids entre mulheres trabalhadoras do sexo que usam crack no sul do Brasil. *Rev Saúde Pública* ; 42 (5):830-7
- McCoy CB, Lai S, Metsch LR, Messiah SE, Zhao W. (2004) Injection drug use and crack cocaine smoking: independent and dual risk behaviors for HIV infection. *Ann Epidemiol* ; 14 (8):535-542
- Miller M. (2003) The dynamics of substance use and sex networks in HIV transmission. *J.Urban.Health* ; 80 (4 Suppl 3):iii88-iii96
- Nappo AS, Galduróz JCF, Noto AR. (1994) Uso de crack em São Paulo: fenômeno emergente? *Rev ABP-APAL* ; 16:75-83
- Nunes CL, Andrade T, Galvão-Castro B, Bastos FI, Reingold A. (2007) Assessing risk behaviors and prevalence of sexually transmitted and blood-borne infections among female crack cocaine users in Salvador-Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis* ;11 (6):561-566
- Nyamathi AM, Dixon EL, Robbins W, Mith C, Iley D, Eake B, Ongshore D, Elberg L. (2002) Risk factors for hepatitis C virus infection among homeless adults. *J Gen Intern Med* ; 17 (2):134-143
- Pechansky F, Hirakata V, Metzger D. (2002) Adaptation and validation of a questionnaire about risk behaviors for AIDS among drug users. *Rev Bras Psiquiatr* ; 24 (3):137-140
- Pechansky F, Kessler FH, Diemen L, Bumaguin DB, Surratt HL, Inciardi JA. (2007) Brazilian female crack users show elevated serum aluminum levels. *Rev Bras Psiquiatr* ; 29 (1):39-42

- Pechansky F. (2001) Modelo Teórico de exposição a Risco para Transmissão do vírus HIV em Usuários de Drogas. *Rev Bras Psiquiatr* ; 23 (1):39-45
- Pechansky F., Bassani DG, Diemen L, Kessler F, Leukefeld CG, Surratt HL, Inciardi JA, Martin SS (2007) Using thought mapping and structured stories to decrease HIV risk behaviors among cocaine injectors and crack smokers in the South of Brazil. *Rev Bras Psiquiatr* ; 29 (3):233-40
- Ross MW, Hwang LY, Leonard L, Teng M, Duncan L. (1999) Sexual behaviour, STDs and drug use in a crack house population. *Int.J.STD AIDS* ; 10 (4):224-230
- Scheinmann R, Hagan H, Lelutiu-Weinberger C, Stern R, Des Jarlais DC, Flom PL, and Strauss S (2007) Non-injection drug use and Hepatitis C Virus: a systematic review. *Drug Alcohol Depend* 89(1), 1-12.
- Shannon K, Rusch M, Morgan R, Oleson M, Kerr T, Tyndall MW. (2008) HIV and HCV prevalence and gender-specific risk profiles of crack cocaine smokers and dual users of injection drugs. *Subst Use Misuse*. 43 (3):521-534
- Stern RK, Hagan H, Lelutiu-Weinberger C, Des JD, Scheinmann R, Strauss S, Pouget ER, Flom P. (2008) The HCV Synthesis Project: scope, methodology, and preliminary results. *BMC.Med.Res.Methodol*. 8:62
- Stevens SJ, Estrada AL, Estrada BD (1998) HIV sex and drug risk behavior and behavior change in a national sample of injection drug and crack cocaine-using women. *Women Health* ; 27:25-48
- Szwarcwald CL, Castilho EA (2000) Estimated number of HIV-infected individuals aged 15-49 years in Brazil, 1998. *Cad.Saude Publica* ; 16 (Suppl 1):135-141
- Tortu S, McCoy HV, Beardsley M, et al. (1997) Predictors of HIV infection among women drug users in New York and Mismi. *Women Health* ; 27 (1-2):191-204
- Watters JK, Biernacki P. (1989) Target Sampling: options for the study of hidden populations. *Social Problems* ; 36:416-430
- Weiss RD, Martinez-Raga J, Griffin ML, Greenfield SF, Hufford C. (1997) Gender differences in cocaine dependent patients: a 6 month follow-up study. *Drug Alcohol Depend*. 44 (1):35-40
- Zilberman ML, Hochgraf PB, Andrade AG. (2003) Gender differences in treatment-seeking Brazilian drug-dependent individuals. *Subst.Abus*. 24 (1):17-25
- Zule WA, Flannery BA, Wechsberg WM, Lam WK. (2002) Alcohol use among out-of-treatment crack using African-American women. *Am J Drug Alcohol Abuse* ; 28 (3):525-544

Artigo 2

AUMENTO NO FATOR NEUOTRÓFICO DERIVADO DO CÉREBRO NA
ABSTINÊNCIA INICIAL DE CRACK

INCREASE IN BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR EXPRESSION IN
EARLY CRACK COCAINE WITHDRAWAL

Lisia von Diemen, Flavio Kapczinski, Anne Orgle Sordi, Joana Correa de Magalhães
Narvaez, Luciano Santos Pinto Guimarães, Felix Henrique Paim Kessler, Bianca
Pfaffenseller, Bianca Wollenhaupt de Aguiar, Carolina de Moura Gubert, Flavio
Pechansky,

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.

Bipolar Disorder Program and Molecular Psychiatry Laboratory, HCPA, Porto
Alegre, RS, Brazil.

Submetido ao The international journal of Neuropsychopharmacology – FI 4,58

Increase in brain-derived neurotrophic factor expression in early crack cocaine withdrawal

Lisia von Diemen, MD, MSc,¹ Flavio Kapczinski, MD, PhD,² Anne Orgle Sordi, MD,¹ Joana Correa de Magalhães Narvaez, MSc,^{1,3} Luciano Santos Pinto Guimarães, MSc,¹ Felix Henrique Paim Kessler, MD, PhD,¹ Bianca Pfaffenseller, BSc, MSc,⁴ Bianca Wollenhaupt de Aguiar, BSc, MSc,⁴ Carolina de Moura Gubert, BSc,⁴ Flavio Pechansky, MD, PhD⁵

¹ 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.

² 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.

³ Bipolar Disorder Program and Molecular Psychiatry Laboratory, HCPA, Porto Alegre, RS, Brazil.

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

⁵ Director, Center for Drug and Alcohol Research, HCPA, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil. Department of Legal Medicine and Psychiatry, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Abstract

Background: Recent reports suggest that brain-derived neurotrophic factor (BDNF) could be a biomarker for relapse, drug craving, and withdrawal severity. In particular, elevated BDNF levels among former cocaine users have been associated with higher rates of relapse in 90 days. However, no data are available on BDNF levels at baseline and during crack cocaine withdrawal. This study evaluated BDNF among crack cocaine users during inpatient treatment, before and after withdrawal, vs. healthy controls. Clinical correlates with changes in BDNF levels were also assessed.

Methods: Serum BDNF was evaluated in 49 male crack users on the first and last days of hospitalization and in 97 healthy controls. Serum BDNF was assayed using a sandwich ELISA kit.

Results: BDNF levels were significantly lower upon admission when compared to controls, even after adjustment for age, length of inpatient treatment, number of crack rocks used in the last 30 days, years of crack use, and interaction between the latter two variables. At discharge, BDNF levels between patients and controls were similar. Number of crack rocks used in the last 30 days and years of crack use were inversely correlated with the outcome.

Conclusions: Our findings show that BDNF levels increase during early crack cocaine withdrawal, at an inverse correlation with number of crack rocks used in the last 30 days and years of crack use.

Keywords: Brain-derived neurotrophic factor, crack cocaine dependence, withdrawal, neurobiology, neurotrophin.

Introduction

Addiction is a chronic, relapsing disorder, characterized by repetitive and compulsive drug taking, drug-seeking behaviors, and loss of control in limiting drug intake, despite the negative consequences of such intake (1, 2). This process occurs in three stages, all part of a recurrent cycle: binge/intoxication, withdrawal/negative affect, and preoccupation/anticipation (craving) (3). Clinical and pre-clinical studies suggest that this cycle is characteristic of addiction, but not of occasional drug use, suggesting a potential relationship with long-term neuroadaptive changes in the brain (4-6).

The notion that addiction is a brain disease is not new, but only very recently have brain biomarkers been investigated regarding the possibility to predict disease severity and outcome and to help assess individual underlying vulnerabilities (7, 8). In this scenario, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has emerged as a potential biomarker in many psychiatric disorders, including drug addiction (7, 9-11). BDNF is the most abundant neurotrophin in the brain, involved in neurogenesis, neuroplasticity, and cognitive functioning (12, 13). Pre-clinical and clinical studies have suggested an important role of BDNF in drug addiction, particularly in users of alcohol and psychostimulants (14, 15). In animal models of cocaine addiction, BDNF infusion into the ventral tegmental area potentiated cocaine craving and increased drug-seeking behavior and self-administration, as well as sensitization to cocaine and cocaine-conditioned cues (16-18). Recent reports in humans are in line with animal studies, suggesting that BDNF could be a biomarker for relapse, drug craving, and withdrawal severity (19-22).

Among cocaine dependents, a recent study has reported that elevated BDNF levels after 3 weeks of cocaine withdrawal were associated with higher rates of cocaine relapse in 90 days (22). Cocaine users had significantly higher serum BDNF levels than controls, but the study had a small sample (35 patients, of which 23 relapsed) and provided no data on baseline BDNF or its pattern during withdrawal (23). Conversely, in another study with 23 cocaine dependents, BDNF was found to increase after a 2-week detoxification period, and baseline levels were reduced in relation to the control group (24). Similarly, among alcohol-dependent subjects, both BDNF levels and the extent of BDNF increase were higher in the abstinent when compared to the relapsed group (BDNF was measured upon hospital admission and 6 months later) (19). In methamphetamine abusers, serum BDNF levels were significantly and constantly lower during early withdrawal when compared with results obtained for healthy controls (25). These data support the notion that altered BDNF expression during drug withdrawal may be a critical and clinically relevant finding. Nevertheless, both BDNF expression patterns during early cocaine withdrawal and the clinical aspects associated with such patterns remain unknown.

The primary aims of this study were to evaluate BDNF levels in crack cocaine users during inpatient treatment, both before and after withdrawal, and to compare results with those of healthy controls. A second aim was to investigate possible associations between changes in BDNF levels during detoxification and patterns of drug use, psychiatric comorbidities, and use of medication.

Methods and Materials

Sample selection

Crack cocaine users were recruited at Hospital São Pedro, a public psychiatric hospital that has a specialized unit for the treatment of addiction, located in Porto Alegre, southern Brazil. Inclusion criteria were: being a male crack cocaine user with a positive urine test for cocaine upon admission (Bioeasy[®] cocaine test, Alere[™], Belo Horizonte, Brazil); being 18 years old or older; and agreeing to provide two blood samples during inpatient treatment. Subjects were excluded if they were considered unable to participate based on clinical evaluation. A total of 78 subjects met the inclusion criteria and agreed to participate; of these, 49 provided two blood samples (at hospital admission and discharge) and were therefore included in the sample. For the control group, 97 male non-crack/cocaine users were recruited from records of a primary care center according to the neighborhood or geographical area of residence of crack users. Controls were excluded if reported cocaine use in the last year or if they showed a positive urine screening test for cocaine.

Procedures

Crack cocaine users were interviewed by two previously trained undergraduate Psychology students. Patients were invited to enter the study as soon as they had the necessary clinical and mental conditions to understand the study objectives. One blood sample was collected during the first 24 hours of hospitalization, and the other during the 24 hours preceding hospital discharge. Whenever the subject was not able to sign the informed consent form upon the first blood collection, the sample was stored until the patient was considered to have

mental conditions to understand it. For patients who refused to participate, blood samples already collected were discarded. Interviews were conducted between the 5th and 7th day of detoxification to circumvent potential cognitive impairment on the first days of hospitalization.

In the control group, two other previously trained undergraduate Psychology students and one blood collector visited the house of each subject and invited them to participate. When a positive answer was obtained, a urine test for crack/cocaine was performed. All subjects who denied being a crack/cocaine user and who presented a negative urine test were interviewed and had a blood sample collected. Systematic supervision of the interviews and questionnaire review were made by senior investigators to assure and maintain the quality of data collection.

Ethics

The study was approved by the Institutional Review Boards and Ethics Committees of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and Hospital São Pedro. All subjects included in the analysis provided written informed consent.

Instruments

Drug use pattern was assessed using the Addiction Severity Index - 6th Version (ASI-6), validated for Brazilian Portuguese (26). Detailed information about crack use (crack user profile) was obtained using a questionnaire developed by our group, comprised of 27 questions about the intensity, impact, and course of crack use. Psychiatric conditions were assessed using the Mini-International Neuropsychiatric Interview (MINI), validated for Brazilian Portuguese (27). Intelligence quotient (IQ)

was estimated using the vocabulary and block design subscales of the Wechsler Adult Intelligence Scale[®] – 3rd edition. HIV and HCV infection status and medications used during hospitalization were recorded based on hospital records.

Blood collection and processing

Ten milliliters of blood were collected by venipuncture into an anticoagulant-free vacuum tube for each patient and control included in the study. Immediately after collection, blood samples were centrifuged at 4,000 rpm for 10 minutes and the serum was aliquoted, labeled and stored at -80 °C until assay testing.

BDNF measurement

Serum BDNF concentrations were measured using a sandwich ELISA kit 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 ug/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 pg/mL. Plates were washed and the anti-BDNF detection antibody (0.2 ug/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 min at room temperature. Finally, plates were washed again and incubated with a substrate solution for 20 min, followed by a stop solution (H₂SO₄ 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

Data were expressed as means and standard deviation or as medians and interquartile ranges (25th-75th percentiles), depending on data distribution. The normality of data distribution was assessed using the Shapiro-Wilk test. Variables with normal and asymmetrical distribution were compared using the Student *t* test and Mann-Whitney test, respectively. Categorical variables were expressed as number of subjects and percentages and compared using the chi-square test. For repeated measures (only BDNF levels), the *t* test for paired samples was used. Percentage alterations in BDNF levels were calculated using the formula $\{[(\text{BDNF at discharge} - \text{BDNF at admission}) / \text{BDNF at admission}] * 100\}$. Number of crack rocks used in the last 30 days was estimated using the formula $[(\text{rocks per week} / 7) * \text{number of days using crack in the previous 30 days}]$. Psychiatric disorders were grouped in broad categories (e.g., any anxiety disorder). Generalized estimating equations (GEE) were used to estimate BDNF levels in crack users and controls, adjusted for confounders. Variables showing $p < 0.20$ in the bivariate analysis were tested in this model. In all experiments, $p < 0.05$ was considered statistical

significance. Statistical analyses were performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS), version 18.0.

Results

Demographic characteristics and psychiatric diagnoses in crack users and controls

Crack users had fewer years of education and higher frequencies of alcohol use disorder, drug use disorder (other than crack cocaine), depression or dysthymia, attention deficit hyperactivity disorder (ADHD), and antisocial personality disorder (APD) when compared to controls. Prevalence of psychiatric disorders was higher among crack users, especially APD, depression/dysthymia, alcohol and drug use disorder (Table 1).

BDNF levels in crack users and controls

BDNF levels were significantly lower at admission (28.6 ± 11.0) when compared with discharge (35.5 ± 12.3) and to controls (39.5 ± 10.6). There were no significant differences between BDNF levels on the last day of treatment versus levels in controls, although a tendency toward lower levels was observed (Figure 1).

Alterations in BDNF levels varied greatly, ranging from -82.8 to 504.2% (median = 33.0%; interquartile range = -1.8 to 51.2%). Fourteen subjects (28.6%) showed reductions in their BDNF levels during inpatient treatment. Age, body mass index, number of days using marijuana, tobacco and alcohol use in the 30 days preceding inpatient treatment were not associated with modifications in BDNF levels during hospitalization. Psychiatric comorbidities and medications used during

hospitalization did not show significant associations with changes in BDNF levels either, except for suicide risk and treatment with valproate, respectively. Patients with a suicide risk upon admission and those who did not use valproate presented increase in BDNF levels during hospitalization, however at a lower rate when compared with patients with no suicide risk and who had used valproate (Table 2). Years of crack use was not associated with changes in BDNF levels, but number of crack rocks used in the last 30 days was negatively correlated with increased BDNF. Only one subject tested positive for both HIV and HCV among crack users; his BDNF upon admission was 17.74, compared with 34.77 at discharge.

Adjusted BDNF levels

Estimated IQ, suicide risk, use of valproate and use of topiramate reached $p < 0.20$ in the bivariate analyses, but lost significance after adjustment and were therefore excluded from the final model. Age was included in the final model because of its relevance for BDNF levels and for model adjustment. The final GEE model included hospitalization days, age, number of crack rocks used in the last 30 days, years of crack use, and interaction between the latter two variables. The control group was adjusted for age only. Following adjustment for these variables, the differences between groups remained the same as those observed in the unadjusted analysis (Figure 2).

Discussion

To the authors' knowledge, this is the first clinical study to show that alterations in BDNF levels during early crack cocaine withdrawal are associated with

number of crack rocks used in the last 30 days, years of crack use, and length of inpatient treatment. In our sample, BDNF levels increased in early crack cocaine withdrawal, i.e., were lower at the time of admission when compared to hospital discharge and to the control group, even after controlling for confounding variables.

Our findings showed that serum BDNF levels indeed increase during crack cocaine withdrawal, but the extent of such increase seems to vary greatly across subjects. Variation patterns seem to be associated with severity of drug dependence: number of crack rocks and years of use were inversely correlated with increased BDNF. These findings corroborate the increase in BDNF levels in early cocaine withdrawal reported by Corominas-Rosso et al. (24), but add to the currently available body of evidence by suggesting a key role of drug use pattern in this relationship. Also, our results are in line with studies involving alcohol-dependent subjects, which have reported increased BDNF levels after withdrawal as well as an association between the extent of increase and prognosis (28, 29). Greater risk of cocaine relapse in subjects with higher BDNF levels (22) is inconsistent with our results and with findings reported for cocaine dependents (24), alcohol dependents (19), and patients carrying other psychiatric disorders (30).

BDNF levels were found to be reduced in patients at the time of admission vs. at discharge and vs. controls. This finding is in disagreement with a report describing similar BDNF levels between injecting cocaine users and control subjects (31), but is similar to the results reported by Corominas-Rosso et al. (24). Among methamphetamine abusers abstinent for a minimum of 30 days, one report found increased BDNF levels (32), whereas another study found a reduction (25). Taken together, these findings suggest that extremely complex mechanisms regulate the impact of stimulants on BDNF levels.

Animal studies have shown that BDNF levels have an important role in cocaine addiction, craving, sensitization, and relapse (16, 18). In humans, BDNF levels may be increased or reduced in different brain areas, and it has been suggested that the frequency and amount of cocaine use could impact results (33, 34). Thus, the apparently inconsistent data found in the literature could be the result of BDNF levels expressed and measured in different areas, in addition to differences in the type, frequency, and amount of drug used and psychiatric comorbidities diagnosed. Also, some other studies have investigated the association between brain and peripheral BDNF levels, and have found a strong correlation between both measures (35-37).

In this scenario, the allostatic load theory emerges as a useful tool to help elucidate these divergent results, and should therefore be investigated in future studies. The theory was initially proposed by McEwen to explain adaptations that take place in the body and brain in response to stressors, working as a protection mechanism in the short term (allostasis), but causing changes that may lead to disease in the long run (allostatic load) (38). The fundamentals of the allostatic load theory have been translated into psychiatry and have helped achieve a better understanding of psychiatric diseases (39), including addiction (40). Cocaine produces a widespread but transient induction of BDNF protein expression in many brain areas related to addiction and reward (16, 33). This response could be deregulated as a result of chronic exposure to cocaine, aggravated by factors such as compulsive drug use, psychiatric comorbidities, abuse of other drugs, genetic vulnerability, and others. Our data support this theory, since we observed great variability in basal and delta BDNF levels and an inverse correlation between these

levels and number of crack rocks used in the last 30 days and years of crack use.

Further studies are warranted to further explore and confirm these findings.

One strength of our study is that we used a community control sample with demographic characteristics similar to those of the clinical sample. Controls lived in poor areas, marked by high violence rates and probably submitted to similar life stressors, except for crack use. Conversely, among the limitations of our study is the fact that we evaluated only male patients, preventing the extrapolation of our findings to females. Also, whereas all crack users used medications while hospitalized, no information on the use of medications was available in the control group.

There is a growing body of evidence suggesting that BDNF is strongly implicated in drug craving, severity of withdrawal and drug addiction, and prognosis. A caveat in drug addiction treatment, especially among crack cocaine users, is the lack of efficacy of the behavioral and pharmacological treatments currently available (41, 42). Biomarkers could help tailor individualized treatments and thus improve treatment outcomes, and BDNF seems to be a promising candidate in this regard (7). Further studies are warranted to explore in more detail the clinical correlates of BDNF levels and BDNF response to drug use and withdrawal.

Acknowledgments

This study was funded by Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas (National Secretariat for Alcohol and Drug Policies), of the Brazilian Ministry of Justice.

Financial Disclosure

All authors declare that they do not have any conflicts concerning the publication of this paper.

References

1. George O, Koob GF (2010): Individual differences in prefrontal cortex function and the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev* 35: 232-247.
2. O'Brien CP, McLellan AT (1996): Myths about the treatment of addiction. *Lancet* 347: 237-240.
3. Koob GF, Le Moal M (2008): Addiction and the brain antireward system. *Annu Rev Psychol* 59: 29-53.
4. Koob GF, Volkow ND (2009): Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35: 217-238.
5. Parvaz MA, Alia-Klein N, Woicik PA, Volkow ND, Goldstein RZ (2011): Neuroimaging for drug addiction and related behaviors. *Rev Neurosci* 22: 609-624.
6. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Tomasi D, Telang F (2011): Addiction: beyond dopamine reward circuitry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 15037-15042.
7. Mendelson J, Baggott MJ, Flower K, Galloway G (2011): Developing biomarkers for methamphetamine addiction. *Curr Neuropharmacol* 9: 100-103.
8. Sinha R (2011): New findings on biological factors predicting addiction relapse vulnerability. *Curr Psychiatry Rep* 13: 398-405.
9. Cunha AB, Frey BN, Andreazza AC, Goi JD, Rosa AR, Goncalves CA, *et al.* (2006): Serum brain-derived neurotrophic factor is decreased in bipolar disorder during depressive and manic episodes. *Neurosci Lett* 398: 215-219.

10. Pae CU, Chiesa A, Porcelli S, Han C, Patkar AA, Lee SJ, *et al.* (2012): Influence of BDNF variants on diagnosis and response to treatment in patients with major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Neuropsychobiology* 65: 1-11.
11. Shim SH, Hwangbo Y, Kwon YJ, Jeong HY, Lee BH, Lee HJ, *et al.* (2008): Increased levels of plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in children with attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD). *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32: 1824-1828.
12. Huang EJ, Reichardt LF (2001): Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci* 24: 677-736.
13. de Lima MN, Presti-Torres J, Vedana G, Alcalde LA, Stertz L, Fries GR, *et al.* Early life stress decreases hippocampal BDNF content and exacerbates recognition memory deficits induced by repeated D-amphetamine exposure. *Behav Brain Res* 224: 100-106.
14. Davis MI (2008): Ethanol-BDNF interactions: still more questions than answers. *Pharmacol Ther* 118: 36-57.
15. McGinty JF, Whitfield Jr TW, Berglind WJ (2010): Brain-derived neurotrophic factor and cocaine addiction. *Brain Res* 1314: 183-193.
16. Graham DL, Edwards S, Bachtell RK, DiLeone RJ, Rios M, Self DW (2007): Dynamic BDNF activity in nucleus accumbens with cocaine use increases self-administration and relapse. *Nat Neurosci* 10: 1029-1037.
17. 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: 1604-1611.
18. Bahi A, Boyer F, Chandrasekar V, Dreyer JL (2008): Role of accumbens BDNF and TrkB in cocaine-induced psychomotor sensitization, conditioned-place preference, and reinstatement in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 199: 169-182.
 19. 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: 1966-1973.
 20. Huang MC, Chen CH, Liu HC, Chen CC, Ho CC, Leu SJ (2010): Differential patterns of serum brain-derived neurotrophic factor levels in alcoholic patients with and without delirium tremens during acute withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 35: 126-131.
 21. Hilburn C, Nejtek VA, Underwood WA, Singh M, Patel G, Gangwani P, *et al.* (2011): Is serum brain-derived neurotrophic factor related to craving for or use of alcohol, cocaine, or methamphetamine? *Neuropsychiatr Dis Treat* 7: 357-364.
 22. 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: 706-711.
 23. McGinty JF, Mendelson JE (2011): Is brain-derived neurotrophic factor a selective biomarker that predicts cocaine relapse outcomes? *Biol Psychiatry* 70: 700-701.

24. Corominas-Roso M, Roncero C, Eiroa-Orosa FJ, Gonzalvo B, Grau-Lopez L, Ribases M, *et al.* (2012): Brain-derived neurotrophic factor serum levels in cocaine-dependent patients during early abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol* 2012 Sep 26. pii: S0924-977X(12)00249-0. doi: 10.1016/j.euroneuro.2012.08.016. [Epub ahead of print].
25. Chen PH, Huang MC, Lai YC, Chen PY, Liu HC (2012): Serum brain-derived neurotrophic factor levels were reduced during methamphetamine early withdrawal. *Addict Biol* 2012 Mar 28. doi: 10.1111/j.1369-1600.2012.00444.x. [Epub ahead of print].
26. Kessler F, Cacciola J, Alterman A, Faller S, Souza-Formigoni ML, Santos Cruz M, *et al.* (2012): Psychometric properties of the sixth version of the Addiction Severity Index (ASI-6) in Brazil. *Rev Bras Psiquiatr* 34: 24-33.
27. Amorim P, Lecrubier Y, Weiller E, Hergueta T, Sheehan D (1998): DSM-IV-R Psychotic Disorders: procedural validity of the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI). Concordance and causes for discordance with the CIDI. *Eur Psychiatry* 13: 26-34.
28. 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: 241-245.
29. 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: 265-269.
30. Autry AE, Monteggia LM (2012): Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev* 64: 238-258.

31. Angelucci F, Ricci V, Pomponi M, Conte G, Mathe 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: 820-825.
32. 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: 112-115.
33. 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.
34. Filip M, Faron-Gorecka A, Kusmider M, Golda A, Frankowska M, Dziejzicka-Wasylewska M (2006): Alterations in BDNF and trkB mRNAs following acute or sensitizing cocaine treatments and withdrawal. *Brain Res* 1071: 218-225.
35. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, *et al.* (2009): Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp Physiol* 94: 1062-1069.
36. Sartorius A, Hellweg R, Litzke J, Vogt M, Dormann C, Vollmayr B, *et al.* (2009): Correlations and discrepancies between serum and brain tissue levels of neurotrophins after electroconvulsive treatment in rats. *Pharmacopsychiatry* 42: 270-276.
37. Klein AB, Williamson R, Santini MA, Clemmensen C, Ettrup A, Rios M, *et al.* (2010): Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *Int J Neuropsychopharmacol* 14: 347-353.

38. McEwen BS (1998): Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 338: 171-179.
39. 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: 675-692.
40. George O, Le Moal M, Koob GF (2012): Allostasis and addiction: role of the dopamine and corticotropin-releasing factor systems. *Physiol Behav* 106: 58-64.
41. 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: 1464-1475.
42. 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: 271-280.

Table 1. Demographic characteristics and current psychiatric diagnoses in crack users and controls

	Crack users (n=49)	Controls (n=97)	p
	n (%)	n (%)	
Age*	27.9±7.38	30.0±8.37	0.139
Caucasian	35 (71.4)	58 (59.8)	0.231
≤8 years of education	32 (65.3)	37 (38.5)	<0.05
Years of crack use**	5 (3-7)	-	-
Intelligence quotient*	81.9±9.7	90.0±12.4	<0.001
Drug use disorder (other than crack cocaine)	22 (44.9)	3 (3.1)	<0.001
Depression or dysthymia	30 (61.2)	9 (10.1)	<0.001
Alcohol use disorder	17 (34.7)	4 (4.1)	<0.001
Any anxiety disorder	5 (10.2)	18 (18.6)	0.286
Attention deficit hyperactivity disorder	12 (24.5)	8(9.2)	<0.05
Antisocial personality disorder	19 (40.4)	3 (3.1)	<0.001
Mania or hypomania	1 (2.0)	0	0.336

* Mean ± standard deviation.

** Median (interquartile range).

Table 2. Association between selected variables and increased BDNF levels during inpatient treatment of crack users

	n (%)	% increase BDNF ^{§*}	p
Depression or dysthymia			
Yes	30 (61.2)	28.2 (-1.3 to 53.3)	
No	19 (38.8)	33.0 (-11.5 to 42.2)	0.710
Alcohol use disorder			
Yes	17 (34.7)	10.3 (-10.3 to 52.9)	
No	32 (65.3)	36.0 (3.6 to 52.1)	0.294
Any anxiety disorder			
Yes	5 (10.2)	41.3 (35.5 to 47.8)	
No	44 (10.2)	17.1 (-4.4 to 52.1)	0.278
Attention deficit hyperactivity disorder			
Yes	12 (24.5)	25.2 (7.4 to 39.8)	
No	37 (75.5)	35.9 (-3.8 to 59.9)	0.710
Suicide risk			
Yes	19 (40.4)	16.9 (-8.0 to 38.4)	
No	30 (59.6)	36.1 (-0.9 to 82.9)	0.08
Antisocial personality disorder			
Yes	27 (55.1)	35.6 (-9.7 to 42.2)	
No	19 (40.4)	34.2 (-2.2 to 54.0)	0.795
Carbamazepine			
Yes	27 (55.1)	13.9 (-9.0 to 49.4)	
No	14 (28.6)	40.2 (14.2 to 57.2)	0.545
Topiramate			
Yes	4 (8.2)	11.7 (-0.3 to 35.8)	
No	37 (75.5)	35.4 (-2.9 to 53.6)	0.131
Valproate			
Yes	7 (14.3)	46.6 (41.3 to 164.0)	
No	34 (69.4)	15.0 (-6.0 to 43.3)	0.008
Antidepressants			
Yes	7 (14.3)	16.7 (-9.0 to 54.3)	
No	34 (69.4)	34.2 (-1.3 to 50.3)	0.678
Diazepam			
Yes	27 (55.1)	16.7 (-2.6 to 46.6)	
No	14 (28.6)	35.7 (3.9 to 63.7)	0.912
Chlorpromazine			
Yes	37 (75.5)	33.0 (-1.8 to 51.2)	
No	4 (8.2)	29.0 (-14.2 to 62.6)	1.00
Lithium			
Yes	7 (14.3)	35.0 (-24.5 to 41.3)	
No	34 (69.4)	25.2 (-1.3 to 53.3)	0.782
		Correlation with increased BDNF[#]	
Age	27.9±7.4**	-0.235	0.108
Body mass index	22.4±3.8**	0.114	0.446
Intelligence quotient	81.4±9.7	-0.241	0.110
Inpatient days	18.3±4.1**	0.362	0.01
Crack rocks used- last 30 days	120.0 (28.6-285.7)	-0.303	0.048
Years of crack use	6.0 (4.0 to 8.0)	-0.240	0.122
Days of marijuana use (last 30 days)	2.5 (0 to 28.8)	-0.019	0.900
Days of alcohol use (last 30 days)	2.0 (0 to 15.0)	0.107	0.475
Days of tobacco use (last 30 days)	30.0 (16.5 to 30.0)	-0.061	0.680

BDNF = brain-derived neurotrophic factor.^{\$} % increase BDNF = [(BDNF at discharge – BDNF at admission) / BDNF at admission] * 100.

* Median (25th-75th percentiles).** Mean ± standard deviation. # Spearman correlation coefficient.

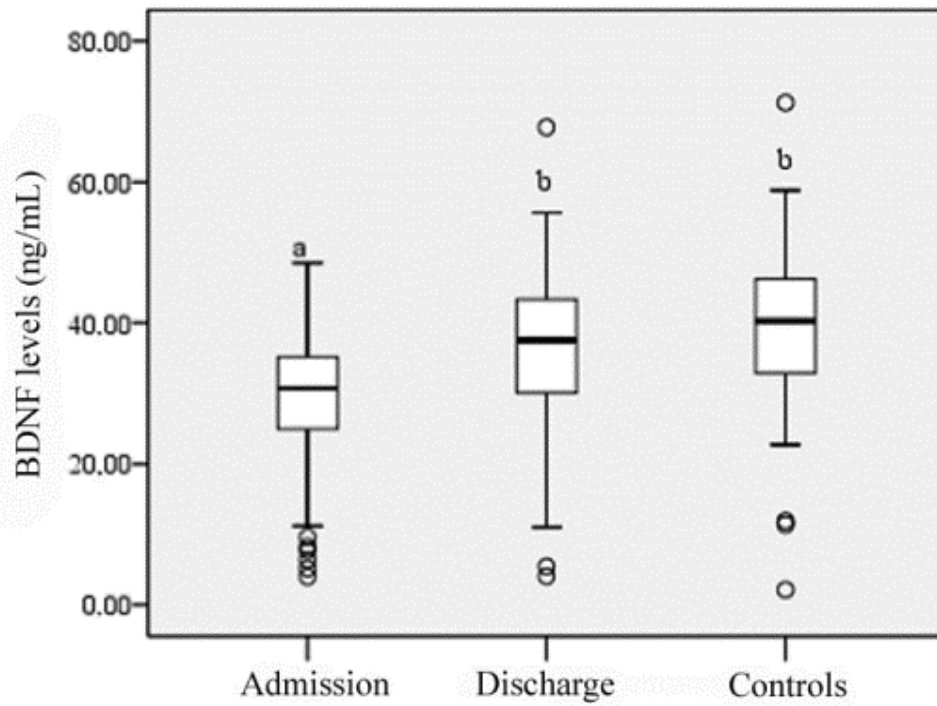


Figure 1. BDNF levels in crack users during inpatient treatment (at admission and discharge) and in controls. Different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.001$).

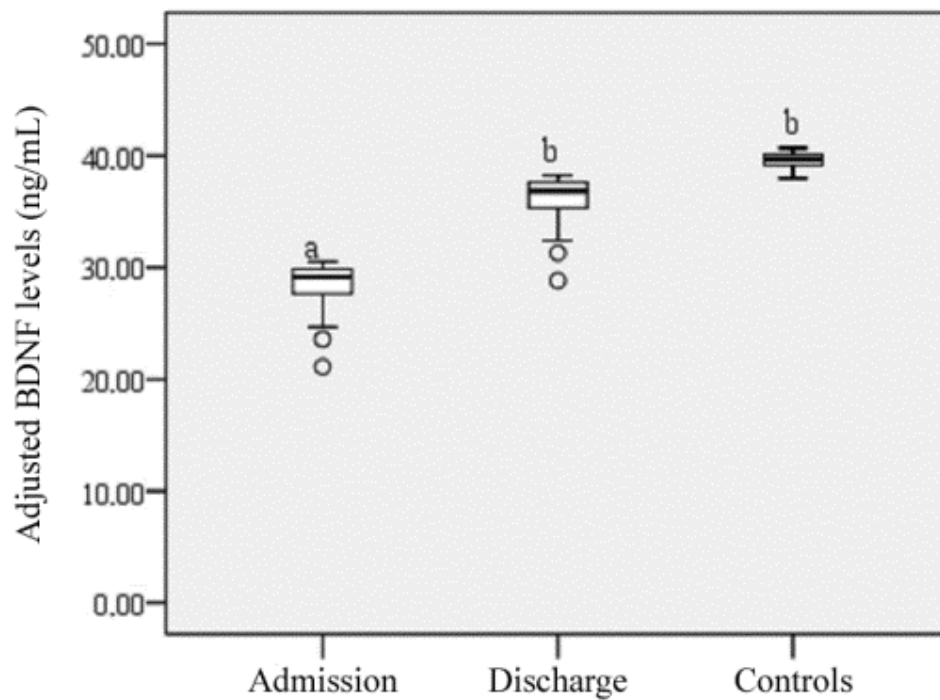


Figure 2. Adjusted BDNF levels in crack users during inpatient treatment (at admission and discharge) and in controls * $p < 0.001$ at admission vs. discharge ** $p < 0.001$ at admission vs. control and at discharge vs. control. Adjusted for length of inpatient treatment, age, number of crack rocks used in the last 30 days, and years of crack use. Control group adjusted for age.

Resultados Complementares²

Os resultados abaixo foram obtidos com a mesma amostra e com a mesma metodologia apresentadas no artigo 2. Segue uma breve descrição dos métodos utilizados

Análise das Substâncias Reativas ao Ácido Thiobarbiturico (TBARS)

Os níveis de peroxidação lipídica foram medidos pelo método de TBARS usando o kit de análise de TBARS (Cayman Chemical Company, Ann Arbor) de acordo com as instruções do fabricante. Neste método, a quantificação dos produtos de peroxidação lipídica é realizada pela formação sérica de substâncias reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), o qual é a análise dos produtos finais de peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeído e outros aldeídos de baixo peso molecular) que reagem com TBA para formar bases de Schiff. Estes complexos exibem uma coloração e sua concentração pode ser determinada por espectrometria em 535nm. Os resultados são expressos em μM de malondialdeído (MDA).

Método de Conteúdo de Proteína Carbonil (PCC)

O dano oxidativo a proteínas foi analisado pela determinação de conteúdo de grupos carbonil em proteínas, como previamente descrito por Levine e colegas (1990). Este método é baseado na reação de grupos carbonil de proteínas com reagente dinitrofenilhidrazina para formar bases de Schiff que absorvem em 380 nm de comprimento de onda. Análises foram realizadas em amostras de soro sanguíneo e os valores são expressos em nmol/mg de proteína.

² Este material complementar é formado pelas análises preliminares de um conjunto de dados a ser submetido sob forma de artigos após a defesa do doutorado

Análise estatística

Variáveis com distribuição normal ou assimétrica foram comparadas usando test t de Student and teste de Mann-Whitney, respectivamente. Correlações entre duas variáveis com distribuições normais ou assimétricas foram realizadas com os testes de correlação de Person ou Spearman, respectivamente. Medidas repetidas (TBARS e PCC) foram comparadas através do teste de Wilcoxon. O teste de Chi-quadrado foi utilizado para variáveis categóricas.

Para as análises a seguir foi elaborado um escore para gravidade do uso de crack com uma composição de três variáveis: ***idade do início do consumo de crack, anos de uso de crack e quantidade de pedras utilizadas nos 30 dias anteriores à internação***. Idade do início do consumo de crack com 11 anos (a menor idade na amostra) foi considerada como 10 pontos, com redução de um ponto por ano até os 20 anos (1 ponto) e zero pontos para 21 anos em diante. Anos de uso de crack foi considerado como um ponto para cada ano de uso e o número de pedras utilizadas nos 30 dias prévios foi pontuado de acordo com a distribuição na amostra, sendo dividido em 10 níveis. Até 5,99 =1, 6 a 21 =2, 22 a 40=3, 41 a 72=4, 73 a 103=5, 104 a 142=6, 142 a 200=7, 201 a 343 = 8, 344 a 515=9 e 516 ou mais = 10 pontos. A soma dos valores obtidos formou o escore de gravidade de uso de crack.

Resultados

TABELA III- CORRELAÇÃO ENTRE VALORES DE BDNF, TBARS E PCC NA INTERNAÇÃO, ALTA E PORCENTAGEM DE ALTERAÇÃO E GRAVIDADE DE USO DE CRACK

	Gravidade do uso de crack – Correlação de Pearson
BDNF internação	-0,008 (0,95)
BDNF alta	-0,306 (<0,05)
% alteração BDNF*	-0,200 (0,17) [#]
TBARS internação	-0,084 (0,57)
TBARS alta	0,329 (<0,05)
% alteração TBARS*	0,271 (0,06)[#]
PCC internação	-0,077 (0,60)
PCC alta	0,232 (0,109)
% alteração PCC*	0,147 (0,32) [#]

* %alteração = [(valor na alta – valor na internação)/valor na internação]*100

[#] Correlação de Spearman

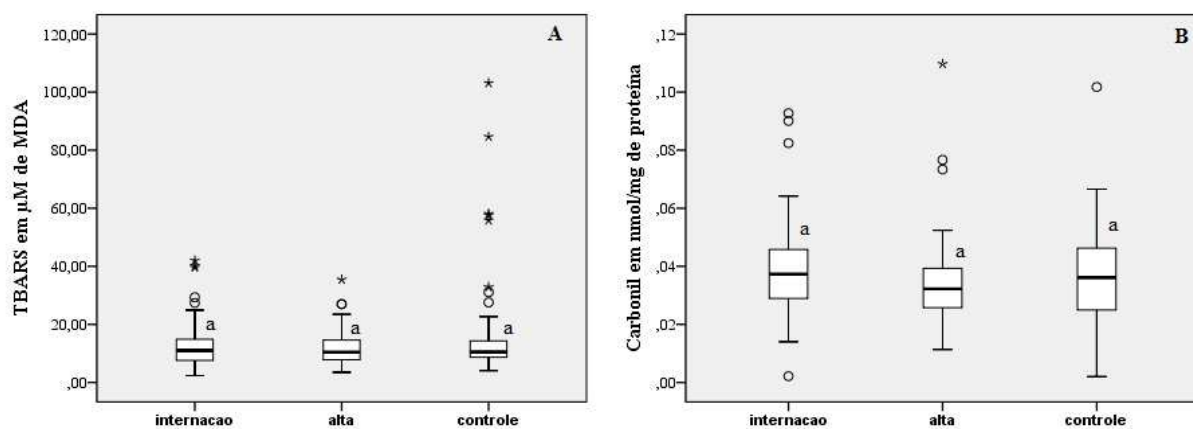


FIGURA VII - VALORES DE TBARS (A) E PCC (B) NA INTERNAÇÃO, ALTA E NO GRUPO CONTROLE

Letras iguais indicam diferenças não significativas entre os valores

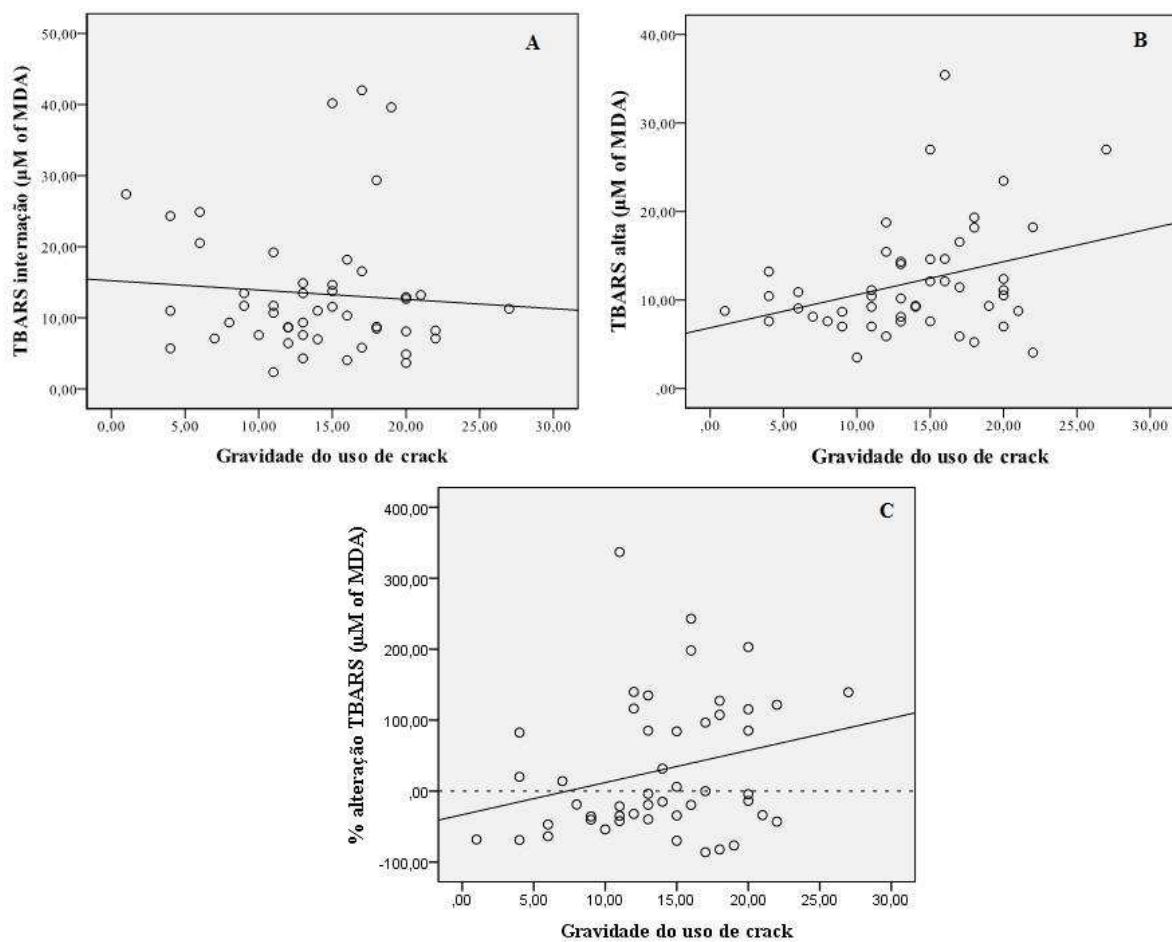


FIGURA VIII -CORRELAÇÃO ENTRE GRAVIDADE DO USO DE CRACK E NÍVEIS DE TBARS NA INTERNAÇÃO (A), ALTA (B) E PORCENTAGEM DE ALTERAÇÃO (C)

% alteração = [(valor na alta – valor na internação)/valor na internação]

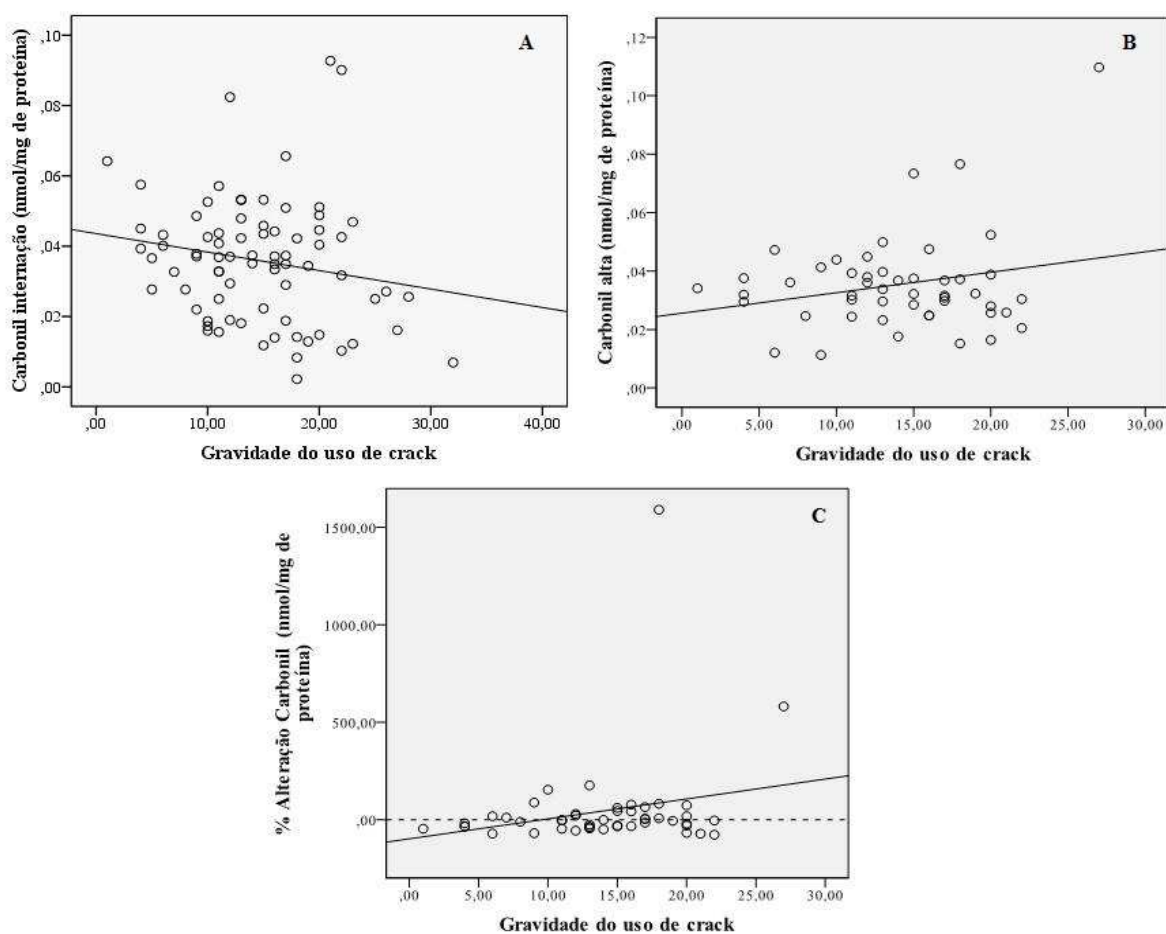


FIGURA IX -CORRELAÇÃO ENTRE GRAVIDADE DO USO DE CRACK E NÍVEIS DE PCC NA INTERNAÇÃO (A), ALTA (B) E PORCENTAGEM DE ALTERAÇÃO (C)

% alteração = [(valor na alta – valor na internação)/valor na internação]

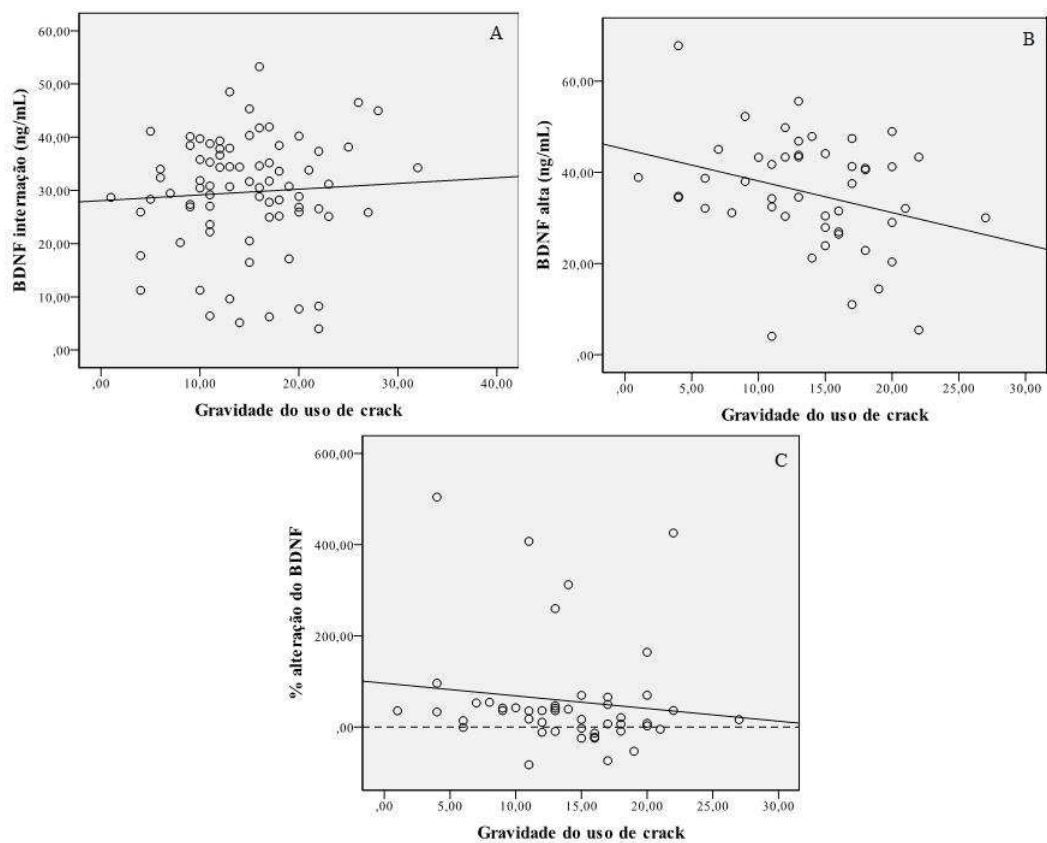


FIGURA X - CORRELAÇÃO ENTRE GRAVIDADE DO USO DE CRACK E NÍVEIS DE BDNF NA INTERNAÇÃO (A), ALTA (B) E PORCENTAGEM DE ALTERAÇÃO (C)

% alteração = [(valor na alta – valor na internação)/valor na internação]

Conclusões e considerações finais

Os dados dos dois artigos apresentados nessa tese refletem o alto custo individual e social do uso de crack. No primeiro estudo, salienta-se a altíssima prevalência de contaminação por HIV e HCV entre as mulheres usuárias de crack. Esses achados corroboram estudos prévios, nacionais e internacionais, no que tange à vulnerabilidade feminina nas questões envolvendo o uso de crack, incluindo o alto risco de DSTs. Enquanto nas primeiras décadas da epidemia do HIV os homens eram o alvo pelas relações sexuais com indivíduos do mesmo sexo ou pelo uso de drogas injetáveis, o crack parece trazer as mulheres para esse papel. Uma das principais razões é que para conseguir sustentar o uso de crack, os homens mais comumente recorrem a atividades ilícitas e violência, enquanto as mulheres frequentemente têm nas trocas envolvendo sexo, drogas e dinheiro o mecanismo de obter a droga. No artigo 2, apenas um homem estava infectado por HIV e HCV, refletindo essa importante diferença.

Os dados oficiais sobre AIDS, HIV e HCV mostram uma clara diminuição da contaminação pelo uso de droga injetável, aumento da transmissão pela via sexual, estabilização entre os homens e aumento de casos de AIDS e hepatite C entre as mulheres. O quanto dessa mudança é explicada pela substituição do uso da cocaína injetável seguida da expansão do consumo do crack? Essa resposta só será possível quando a notificação for acompanhada com perguntas sobre o uso de crack, reconhecendo que esse possa estar sendo um importante vetor de infecção na atualidade, especialmente entre as mulheres. Nos Estados Unidos, essa realidade foi muito bem descrita pelo grupo de James Inciardi (Inciardi, 1993). O autor descreve a íntima relação entre o uso de crack e a prática de relações sexuais em troca de droga ou dinheiro e as altas taxas de infecção por HIV, HCV e HBV detectadas (Inciardi, 2006). Nesse grupo, a congregação de uso de crack, sexo desprotegido com grande número de parceiros, baixa renda e escolaridade, precárias condições de higiene e imunidade diminuída as torna alvos fáceis para infecção por esses vírus (Inciardi,

1993) . No Canadá uma realidade semelhante foi observada e os autores salientam a mudança no “mercado” da prostituição nesses países com a chegada do crack, com redução importante dos valores cobrados e o aumento da violência envolvida (Erickson, 2000). Por outro lado, ao menos entre os norte-americanos, o uso de crack entre mulheres também contribuiu para a disseminação do HIV na população em geral, através das relações com homens não usuários de drogas (Inciardi, 2006).

O artigo 2 sugere um marcador biológico para o que clinicamente é visto entre os usuários de crack: grande impacto e dano no funcionamento cerebral . Os níveis de BDNF apareceram diminuídos na vigência do uso e aumentaram durante a internação, ficando semelhante aos controles. Entretanto, a variabilidade do que acontece com os níveis de BDNF durante a abstinência inicial é enorme entre os indivíduos. Alguns valores se elevam, outros ficam quase inalterados e outros ainda diminuem. Os dados sugerem que a capacidade de elevar os níveis de BDNF durante a desintoxicação inicial é maior quanto mais dias de abstinência, menos anos de uso e menor quantidade de uso, com interação entre as duas últimas. Ou seja, será que existe um “ponto de não retorno”, onde o cérebro perde sua capacidade plástica com muito tempo e muita quantidade de uso? Ou para alguns é necessário mais tempo de internação para que o BDNF aumente? Qual o impacto clínico dessas diferenças em relação à capacidade de recuperação? Essas são perguntas em aberto para serem respondidas em futuros estudos.

Os níveis de TBARS e PCC nos usuários de crack não foram diferentes na vigência do uso, após a desintoxicação inicial e em relação aos controles. Entretanto, quando os resultados são correlacionados com um escore de gravidade do uso de crack, aparecem informações relevantes. O nível de TBARS na alta e o tamanho da alteração (em relação ao valor inicial) foram correlacionados com a gravidade do uso de crack. Esses dados sugerem que o dano oxidativo lipídico após alguns dias de internação era proporcional à gravidade do uso. Os resultados com o conteúdo de PCC (dano oxidativo proteico) foram na mesma linha, mas os valores não foram significativos, possivelmente em função de poder da amostra. Ainda, os níveis de BDNF na alta hospitalar foram inversamente correlacionados com a gravidade do uso. Uma das perguntas em aberto é : “Como esses marcadores se comportariam entre as mulheres usuárias de crack?” Alterações nos níveis BDNF são relacionadas com trauma precoce (Kauer-Sant'Anna, 2007), muito prevalente entre usuárias de

crack e com piora do prognóstico (Tull, 2009) . Os valores de BDNF alterados também tem sido relacionados com alterações cognitivas, em especial da função executiva, que podem estar relacionados à maior exposição às situações de risco (Dias, 2009, Garavan, 2008). Por outro lado, o aumento do estresse oxidativo está associado com diminuição da imunidade (Kovacic and Somanathan, 2008) e pode estar contribuindo para aumentar a taxa de infecção por DSTs nas mulheres.

Analisando em conjunto, pode-se dizer que as neurotrofinas cerebrais e marcadores de dano oxidativo são biomarcadores que devem ser mais amplamente investigados, pois apresentam um potencial grande de utilidade clínica em usuários de crack. O uso de biomarcadores tem sido essencial na medicina, com o tratamento de algumas doenças como a AIDS sendo determinada quase que essencialmente pela contagem de células CD4. Na dependência química, a baixa eficácia dos tratamentos psicoterápicos e farmacológicos pode ser em parte pela falta de especificidade desses. A identificação de biomarcadores que denotem gravidade da doença tem o potencial de direcionar melhor o tratamento, aumentando sua efetividade.

Concluindo, os dados dessa tese demonstram a grande exposição e vulnerabilidade dos usuários de crack brasileiros, e trazem novas perspectivas que têm o potencial de aprimorar e direcionar o atendimento dessa população. Conforme demonstrado pelos achados, a problemática em torno do uso do crack difere muito entre homens e mulheres e estas singularidades devem ser consideradas no desenvolvimento de políticas de saúde pública e serviços de tratamento. As mulheres envolvidas com o crack, além de todos os danos diretos causados pela droga, estão infectadas por HIV e HCV, aumentando muito o alto risco para seus conceitos - o que já é tema de interesse de nosso centro em projetos específicos de seguimento destas crianças.

As usuárias de crack de hoje talvez sejam o equivalente dos usuários de droga injetável da geração passada no que compete à HIV, AIDS tuberculose, e outras doenças oportunistas relacionadas à baixa imunidade e ao estilo de vida de risco; porém, podem estar recebendo muito menos atenção do sistema de saúde e deixando uma geração de “filhos do crack” com um legado extremamente pesado. Por outro lado, o estudo dos marcadores biológicos disponibiliza possibilidades de tratamentos mais direcionados a características individuais – talvez até especificamente

desenhados para os tipos de paciente em questão. O que a realidade atual nos sugere é que o abuso e dependência de crack são o equivalente a uma nova doença: sabe-se qual o agente que a causa, mas não existem ainda tratamentos e abordagens específicos. Seguindo com a analogia, utilizamos então ferramentas históricas da Medicina: a observação clínica e o registro apropriado dos casos, além de terapêuticas amplas demais e que sistematicamente não funcionam. No caso do crack, há um discurso sistemático sobre a necessidade de aumentar a rede de atendimento, abertura de novos leitos, novos CAPS-AD, ambulatórios, internação compulsória, apesar de uma minoria dos casos efetivamente melhorar com as abordagens atuais. Porém - quais realmente funcionam para dependência de crack e para qual grupo? Futuros estudos poderão nos dizer se esses ou outros marcadores biológicos estudados irão auxiliar nessa resposta. A presente tese procura ter contribuído neste sentido.

Referências Bibliográficas

1. Adams EH, Durell J. Cocaine: a growing public health problem. *NIDA Res Monogr.* 1984;50:9-14.
2. Agrawal A, Verweij KJ, Gillespie NA, Heath AC, Lessov-Schlaggar CN, Martin NG, et al. The genetics of addiction-a translational perspective. *Transl Psychiatry.* 2012;2:e140.
3. Andreazza AC, Kauer-Sant'anna M, Frey BN, Bond DJ, Kapczinski F, Young LT, et al. Oxidative stress markers in bipolar disorder: a meta-analysis. *J Affect Disord.* 2008 Dec;111(2-3):135-44.
4. Angelucci F, Ricci V, Martinotti G, Palladino I, Spalletta G, Caltagirone C, et al. Ecstasy (MDMA)-addicted subjects show increased serum levels of brain-derived neurotrophic factor, independently from a rise of drug-induced psychotic symptoms. *Addict Biol.* 2010 Jul;15(3):365-7.
5. Angelucci F, Ricci V, Pomponi M, Conte G, Mathe AA, Attilio Tonali P, et al. Chronic heroin and cocaine abuse is associated with decreased serum concentrations of the nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor. *J Psychopharmacol.* 2007 Nov;21(8):820-5.
6. Angelucci F, Ricci V, Spalletta G, Pomponi M, Tonioni F, Caltagirone C, et al. Reduced serum concentrations of nerve growth factor, but not brain-derived neurotrophic factor, in chronic cannabis abusers. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008 Dec;18(12):882-7.
7. Autry AE, Monteggia LM. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev.* 2012 Apr;64(2):238-58.
8. Azevedo RC, Botega NJ, Guimaraes LAM. Crack users, sexual behavior and risk of HIV infection. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007;29(1):26-30.
9. Bahi A, Boyer F, Chandrasekar V, Dreyer JL. Role of accumbens BDNF and TrkB in cocaine-induced psychomotor sensitization, conditioned-place preference, and reinstatement in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2008 Aug;199(2):169-82.
10. Baldwin GC, Roth MD, Tashkin DP. Acute and chronic effects of cocaine on the immune system and the possible link to AIDS. *J Neuroimmunol.* 1998 Mar 15;83(1-2):133-8.
11. Barde YA, Edgar D, Thoenen H. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO J.* 1982;1(5):549-53.
12. 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.
13. Baum MK, Rafie C, Lai S, Sales S, Page B, Campa A. Crack-cocaine use accelerates HIV disease progression in a cohort of HIV-positive drug users. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009 Jan 1;50(1):93-9.
14. Ben Othmen L, Mechri A, Fendri C, Bost M, Chazot G, Gaha L, et al. Altered antioxidant defense system in clinically stable patients with schizophrenia and their unaffected siblings. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008 Jan 1;32(1):155-9.

15. Berglind WJ, See RE, Fuchs RA, Ghee SM, Whitfield TW, Jr., Miller SW, et al. A BDNF infusion into the medial prefrontal cortex suppresses cocaine seeking in rats. *Eur J Neurosci*. 2007 Aug;26(3):757-66.
16. Bewley T. Heroin and cocaine addiction. *The Lancet*. 1965;285(7389):808-10.
17. Bleich S, Spilker K, Kurth C, Degner D, Quintela-Schneider M, Javaheripour K, et al. Oxidative stress and an altered methionine metabolism in alcoholism. *Neurosci Lett*. 2000 Nov 3;293(3):171-4.
18. Bolla KI, Eldreth DA, London ED, Kiehl KA, Mouratidis M, Contoreggi C, et al. Orbitofrontal cortex dysfunction in abstinent cocaine abusers performing a decision-making task. *Neuroimage*. 2003 Jul;19(3):1085-94.
19. Bose C. Cocaine Poisoning. *Br Med J*. 1913 Jan 4;1(2714):16-7.
20. Bose KC. Cocaine Intoxication and Its Demoralizing Effects. *Br Med J*. 1902 Apr 26;1(2156):1020-2.
21. Bosworth FH. Is Cocaine an Enslaving Drug? *Trans Am Climatol Assoc*. 1895;11:136-40.
22. Brewer TH, Zhao W, Metsch LR, Coltes A, Zenilman J. High-risk behaviors in women who use crack: knowledge of HIV serostatus and risk behavior. *Ann Epidemiol*. 2007 Jul;17(7):533-9.
23. Carlini EA, Galduróz JC, Noto AR, Carlini CM, Oliveira LG, Nappo SA. II Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil: estudo envolvendo as 108 maiores cidades do país, 2005. São Paulo: CEBRID – Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas 2007.
24. Carlini EA, Galduróz JC, Noto AR, Nappo SA. I Levantamento Domiciliar sobre o Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil: Estudo Envolvendo as 107 Maiores Cidades do País – 2001 –. São Paulo: CEBRID – Centro Brasileiro de Informações Sobre Drogas Psicotrópicas 2002.
25. Carvalho HB, Seibel SD. Crack cocaine use and its relationship with violence and HIV. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64(9):857-66.
26. Castren E. Neurotrophins as mediators of drug effects on mood, addiction, and neuroprotection. *Mol Neurobiol*. 2004 Jun;29(3):289-302.
27. Celentano D, Sherman SG. The changing landscape of crack cocaine use and HIV infection. *CMAJ*. 2009 Oct 27;181(9):571-2.
28. Celentano DD, Latimore AD, Mehta SH. Variations in sexual risks in drug users: emerging themes in a behavioral context. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2008 Nov;5(4):212-8.
29. Cerretani D, Fineschi V, Bello S, Riezzo I, Turillazzi E, Neri M. Role of Oxidative Stress in Cocaine-induced Cardiotoxicity and Cocaine-related Death. *Curr Med Chem*. 2012 Aug 1.
30. Chambers CD, Taylor WJ, Moffett AD. The incidence of cocaine abuse among methadone maintenance patients. *Int J Addict*. 1972;7(3):427-41.
31. Chen CH, Pan CH, Chen CC, Huang MC. Increased oxidative DNA damage in patients with alcohol dependence and its correlation with alcohol withdrawal severity. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010 Feb;35(2):338-44.
32. Chen PH, Huang MC, Lai YC, Chen PY, Liu HC. Serum brain-derived neurotrophic factor levels were reduced during methamphetamine early withdrawal. *Addict Biol*. 2012 Mar 28.
33. Cornish JW, O'Brien CP. Crack cocaine abuse: an epidemic with many public health consequences. *Annu Rev Public Health*. 1996;17:259-73.

34. Corominas-Roso M, Roncero C, Jose Eiroa-Orosa F, Gonzalvo B, Grau-Lopez L, Ribases M, et al. Brain-derived neurotrophic factor serum levels in cocaine-dependent patients during early abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2012 Sep 25.
35. 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.
36. Costa MA, Girard M, Dalmay F, Malauzat D. Brain-derived neurotrophic factor serum levels in alcohol-dependent subjects 6 months after alcohol withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011 Nov;35(11):1966-73.
37. D'Sa C, Dileone RJ, Anderson GM, Sinha R. Serum and plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in abstinent alcoholics and social drinkers. *Alcohol.* 2012 May;46(3):253-9.
38. 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 Oct 15;70(8):706-11.
39. Das G. Cocaine abuse in North America: a milestone in history. *J ClinPharmacol.* 1993;33(4):296-310.
40. de Azevedo RC, Botega NJ, Guimaraes LA. Crack users, sexual behavior and risk of HIV infection. *Rev Bras Psiquiatr.* 2007 Mar;29(1):26-30.
41. Dey Sarkar P, Ramprasad N, Dey Sarkar I, Shivaprakash TM. Study of oxidative stress and trace element levels in patients with alcoholic and non-alcoholic coronary artery disease. *Indian J Physiol Pharmacol.* 2007 Apr-Jun;51(2):141-6.
42. Dias AC, Araujo 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 Oct;41(3):273-8.
43. Dias VV, Brissos S, Frey BN, Andrezza AC, Cardoso C, Kapczinski F. Cognitive function and serum levels of brain-derived neurotrophic factor in patients with bipolar disorder. *Bipolar Disord.* 2009 Sep;11(6):663-71.
44. Dietrich JB. Alteration of blood-brain barrier function by methamphetamine and cocaine. *Cell Tissue Res.* 2009 Jun;336(3):385-92.
45. 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 Jun;48(7):965-74.
46. Dietz DM, Dietz KC, Nestler EJ, Russo SJ. Molecular mechanisms of psychostimulant-induced structural plasticity. *Pharmacopsychiatry.* 2009 May;42 Suppl 1:S69-78.
47. Donato EM, Rezende EP, Ribeiro M, Silva CJ. Farmacologia e neurobiologia do consumo de crack. In: Ribeiro M, Laranjeira R, editors. *O tratamento do usuário de crack.* São Paulo: Casa Leitura Médica; 2010.
48. Duailibi LB, Ribeiro M, Laranjeira R. Profile of cocaine and crack users in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2008;24 Suppl 4:s545-57.
49. Dunn J, Ferri CP. The price of crack in Sao Paulo, Brazil. *Addiction.* 1998 Feb;93(2):287-8.
50. Dunn J, Laranjeira RR, Da Silveira DX, Formigoni ML, Ferri CP. Crack cocaine: an increase in use among patients attending clinics in Sao Paulo: 1990-1993. *SubstUseMisuse.* 1996;31(4):519-27.
51. Durackova Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res.* 2009;59(4):459-69.

52. Dvorakova M, Sivonova M, Trebaticka J, Skodacek I, Waczulikova I, Muchova J, et al. 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.* 2006;11(4):163-72.
53. Edlin BR, Irwin KL, Faruque S, McCoy CB, Word C, Serrano Y, et al. Intersecting epidemics--crack cocaine use and HIV infection among inner-city young adults. Multicenter Crack Cocaine and HIV Infection Study Team. *N Engl J Med.* 1994 Nov 24;331(21):1422-7.
54. Edlin BR, Irwin KL, Ludwig DD, McCoy HV, Serrano Y, Word C, et al. High-risk sex behavior among young street-recruited crack cocaine smokers in three American cities: an interim report. The Multicenter Crack Cocaine and HIV Infection Study Team. *J Psychoactive Drugs.* 1992 Oct-Dec;24(4):363-71.
55. Erickson PG, Butters J, McGillicuddy P, Hallgren A. Crack and prostitution: gender, myths, and experiences. *Journal of Drug Issues.* 2000;30(4):21.
56. Falck RS, Wang J, Carlson RG. Crack cocaine trajectories among users in a midwestern American city. *Addiction.* 2007 Sep;102(9):1421-31.
57. Falck RS, Wang J, Carlson RG. Among long-term crack smokers, who avoids and who succumbs to cocaine addiction? *Drug Alcohol Depend.* 2008 Nov;98(1-2):24-9.
58. Ferreira PEM, Martini RK. Cocaína: lendas, história e abuso. *Revista Brasileira de Psiquiatria.* 2001;23:96-9.
59. Fischer B, Powis J, Firestone Cruz M, Rudzinski K, Rehm J. Hepatitis C virus transmission among oral crack users: viral detection on crack paraphernalia. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Jan;20(1):29-32.
60. 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 Nov;26(10):2756-63.
61. Garavan H, Kaufman JN, Hester R. Acute effects of cocaine on the neurobiology of cognitive control. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008 Oct 12;363(1507):3267-76.
62. George O, Koob GF. Individual differences in prefrontal cortex function and the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010 Nov;35(2):232-47.
63. Ghosn J, Leruez-Ville M, Chaix ML. Sexual transmission of hepatitis C virus. *Presse Med.* 2005 Aug 27;34(14):1034-8.
64. Gootenberg P. Andean cocaine. The making of a global drug. United States of America: The University of North Carolina Press; 2008.
65. Gotz R, Koster R, Winkler C, Raulf F, Lottspeich F, Scharl M, et al. Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature.* 1994 Nov 17;372(6503):266-9.
66. Govitrapong P, Boontem P, Kooncumchoo P, Pinweha S, Namyen J, Sanvarinda Y, et al. Increased blood oxidative stress in amphetamine users. *Addict Biol.* 2009 Jan;15(1):100-2.
67. 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 Aug;10(8):1029-37.
68. Grimm JW, Lu L, Hayashi T, Hope BT, Su TP, Shaham Y. 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.* 2003 Feb 1;23(3):742-7.

69. Grinspoon L, Bakalar JB. Coca and cocaine as medicines: an historical review. *J Ethnopharmacol*. 1981 Mar-May;3(2-3):149-59.
70. Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol*. 1989 Dec;70(6):737-57.
71. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994 Sep 10;344(8924):721-4.
72. Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging*. 2001;18(9):685-716.
73. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *J Neurochem*. 2006 Jun;97(6):1634-58.
74. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*. 2006 Jun;141(2):312-22.
75. Hatsukami DK, Fischman MW. Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *JAMA*. 1996 Nov 20;276(19):1580-8.
76. Heberlein A, Dursteler-MacFarland KM, Lenz B, Frieling H, Grosch M, Bonsch D, et al. Serum levels of BDNF are associated with craving in opiate-dependent patients. *J Psychopharmacol*. 2011 Nov;25(11):1480-4.
77. Heberlein A, Muschler M, Wilhelm J, Frieling H, Lenz B, Groschl M, et al. BDNF and GDNF serum levels in alcohol-dependent patients during withdrawal. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010 Aug 16;34(6):1060-4.
78. Hoffman JA, Klein H, Eber M, Crosby H. Frequency and intensity of crack use as predictors of women's involvement in HIV-related sexual risk behaviors. *Drug Alcohol Depend*; 2000. p. 227-36.
79. Huang MC, Chen CC, Peng FC, Tang SH, Chen CH. The correlation between early alcohol withdrawal severity and oxidative stress in patients with alcohol dependence. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009 Feb 1;33(1):66-9.
80. Huang MC, Chen CH, Liu HC, Chen CC, Ho CC, Leu SJ. Differential patterns of serum brain-derived neurotrophic factor levels in alcoholic patients with and without delirium tremens during acute withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010 Jan;35(1):126-31.
81. Huang MC, Chen CH, Liu SC, Ho CJ, Shen WW, Leu SJ. Alterations of serum brain-derived neurotrophic factor levels in early alcohol withdrawal. *Alcohol Alcohol*. 2008 May-Jun;43(3):241-5.
82. 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 Jul;108(7):560-9.
83. Inciardi JA. Crack-cocaine in Miami. *NIDA Res Monogr*. 1991;110:263-74.
84. Inciardi JA, Lockwood D, Pottieger AE, McMillan P. Women and crack-cocaine. New York; 1993.
85. Inciardi JA, Surratt HL, Kurtz SP. HIV, HBV, and HCV infections among drug-involved, inner-city, street sex workers in Miami, Florida. *AIDS Behav*. 2006 Mar;10(2):139-47.
86. 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 Sep;38(3):305-10.
87. Irwin MR, Olmos L, Wang M, Valladares EM, Motivala SJ, Fong T, et al. Cocaine dependence and acute cocaine induce decreases of monocyte

- proinflammatory cytokine expression across the diurnal period: autonomic mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007 Feb;320(2):507-15.
88. 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 Feb;30(2):214-21.
89. Joe KH, Kim YK, Kim TS, Roh SW, Choi SW, Kim YB, et al. Decreased plasma brain-derived neurotrophic factor levels in patients with alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*. 2007 Nov;31(11):1833-8.
90. Jung ME, Metzger DB. Alcohol withdrawal and brain injuries: beyond classical mechanisms. *Molecules*. 2010 Jul;15(7):4984-5011.
91. Kalivas PW. Cocaine and amphetamine-like psychostimulants: neurocircuitry and glutamate neuroplasticity. *Dialogues Clin Neurosci*. 2007;9(4):389-97.
92. Karch SB. The history of cocaine toxicity. *Hum Pathol*. 1989 Nov;20(11):1037-9.
93. Karch SB. Cocaine: history, use, abuse. *J R Soc Med*. 1999 Aug;92(8):393-7.
94. 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 Jun;9 Suppl 1:128-35.
95. Kelley BJ, Yeager KR, Pepper TH, Beversdorf DQ. Cognitive impairment in acute cocaine withdrawal. *Cogn Behav Neurol*. 2005 Jun;18(2):108-12.
96. 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 Dec;122(12):1349-55.
97. Kim DJ, Roh S, Kim Y, Yoon SJ, Lee HK, Han CS, et al. High concentrations of plasma brain-derived neurotrophic factor in methamphetamine users. *Neurosci Lett*. 2005 Nov 11;388(2):112-5.
98. Klein AB, Williamson R, Santini MA, Clemmensen C, Ettrup A, Rios M, et al. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2010 Apr;14(3):347-53.
99. Klevens RM, Hu DJ, Jiles R, Holmberg SD. Evolving epidemiology of hepatitis C virus in the United States. *Clin Infect Dis*. Jul;55 Suppl 1:S3-9.
100. Koller C. On the use of cocaine for producing anesthesia on the eye. *The Lancet*. 1884;124(3197):990-2.
101. Koob GF, Ahmed SH, Boutrel B, Chen SA, Kenny PJ, Markou A, et al. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. *Neurosci Biobehav Rev*. 2004 Jan;27(8):739-49.
102. Koob GF, Volkow ND. Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*. 2009 Jan;35(1):217-38.
103. Kovacic P. Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses*. 2005;64(2):350-6.
104. Kovacic P, Cooksy AL. Unifying mechanism for toxicity and addiction by abused drugs: electron transfer and reactive oxygen species. *Med Hypotheses*. 2005;64(2):357-66.
105. Kovacic P, Somanathan R. Integrated approach to immunotoxicity: electron transfer, reactive oxygen species, antioxidants, cell signaling, and receptors. *J Recept Signal Transduct Res*. 2008;28(4):323-46.
106. Kral AH, Bluthenthal RN, Lorvick J, Gee L, Bacchetti P, Edlin BR. Sexual transmission of HIV-1 among injection drug users in San Francisco, USA: risk-factor analysis. *Lancet*. 2001 May 5;357(9266):1397-401.

107. Kreek MJ, Nielsen DA, Butelman ER, LaForge KS. Genetic influences on impulsivity, risk taking, stress responsivity and vulnerability to drug abuse and addiction. *Nat Neurosci*. 2005 Nov;8(11):1450-7.
108. Kuipers SD, Bramham CR. Brain-derived neurotrophic factor mechanisms and function in adult synaptic plasticity: new insights and implications for therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2006 Sep;9(5):580-6.
109. 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.
110. Lai KO, Fu WY, Ip FC, Ip NY. Cloning and expression of a novel neurotrophin, NT-7, from carp. *Mol Cell Neurosci*. 1998 May;11(1-2):64-76.
111. Laranjeira R. II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas. 2012 [updated 2012; cited 2013]; Available from: http://www.inpad.org.br/images/stories/LENAD/lenad_maconhacocaina.pdf.
112. Lee BC, Choi IG, Kim YK, Ham BJ, Yang BH, Roh S, et al. Relation between plasma brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in the male patients with alcohol dependence. *Alcohol*. 2009 Jun;43(4):265-9.
113. Lejuez CW, Bornovalova MA, Reynolds EK, Daughters SB, Curtin JJ. Risk factors in the relationship between gender and crack/cocaine. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2007 Apr;15(2):165-75.
114. Lessmann V, Gottmann K, Malcangio M. Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Prog Neurobiol*. 2003 Apr;69(5):341-74.
115. 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 Feb 18;24(7):1604-11.
116. Mahanta J, Borkakoty B, Das HK, Chelleng PK. The risk of HIV and HCV infections among injection drug users in northeast India. *AIDS Care*. 2009 Nov;21(11):1420-4.
117. Malta M, Monteiro S, Lima RM, Bauken S, Marco A, Zuim GC, et al. HIV/AIDS risk among female sex workers who use crack in Southern Brazil. *Rev Saude Publica*. 2008 Oct;42(5):830-7.
118. McCoy CB, Lai S, Metsch LR, Messiah SE, Zhao W. Injection drug use and crack cocaine smoking: independent and dual risk behaviors for HIV infection. *Ann Epidemiol*. 2004 Sep;14(8):535-42.
119. McGinty JF, Mendelson JE. Is brain-derived neurotrophic factor a selective biomarker that predicts cocaine relapse outcomes? *Biol Psychiatry*. 2011 Oct 15;70(8):700-1.
120. McGinty JF, Whitfield TW, Jr., Berglind WJ. Brain-derived neurotrophic factor and cocaine addiction. *Brain Res*. 2010 Feb 16;1314:183-93.
121. Minyard F. Crack: the new epidemic. *J La State Med Soc*. 1986 Dec;138(12):3-8.
122. Nappo AS, Galdurçz JCF, Noto AR. Uso de crack em São Paulo: fenômeno emergente? *Rev ABP-APAL*. 1994;16:75-83.
123. Nappo SA, Sanchez Z, De Oliveira LG. Crack, AIDS, and women in Sao Paulo, Brazil. *Subst Use Misuse*. 2010;46(4):476-85.
124. Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*. 2004;47 Suppl 1:24-32.

125. Ng F, Berk M, Dean O, Bush AI. Oxidative stress in psychiatric disorders: evidence base and therapeutic implications. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2008 Sep;11(6):851-76.
126. Nicholi AM, Jr. Historical perspective--the long and colorful history of *Erythoxylon coca*. *J Am Coll Health*. 1984 Jun;32(6):252-7.
127. NIDA. Treatment statistics. National Institute on Drug Abuse; 2011.
128. Nunes CL, Andrade T, Galvao-Castro B, Bastos FI, Reingold A. Assessing risk behaviors and prevalence of sexually transmitted and blood-borne infections among female crack cocaine users in Salvador--Bahia, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2007 Dec;11(6):561-6.
129. Paim Kessler FH, Barbosa Terra M, Faller S, Ravy Stolf A, Carolina Peuker A, Benzano D, et al. Crack users show high rates of antisocial personality disorder, engagement in illegal activities and other psychosocial problems. *Am J Addict*. 2012 Jul-Aug;21(4):370-80.
130. Pechansky F, Woody G, Inciardi J, Surratt H, Kessler F, Von Diemen L, et al. HIV seroprevalence among drug users: an analysis of selected variables based on 10 years of data collection in Porto Alegre, Brazil. *Drug Alcohol Depend*. 2006 Apr;82 Suppl 1:S109-13.
131. Peng FC, Tang SH, Huang MC, Chen CC, Kuo TL, Yin SJ. Oxidative status in patients with alcohol dependence: a clinical study in Taiwan. *J Toxicol Environ Health A*. 2005 Sep;68(17-18):1497-509.
132. Peterson PK, Gekker G, Chao CC, Schut R, Molitor TW, Balfour HH, Jr. Cocaine potentiates HIV-1 replication in human peripheral blood mononuclear cell cocultures. Involvement of transforming growth factor-beta. *J Immunol*. 1991 Jan 1;146(1):81-4.
133. Pilcher JE. II. Cocaine as an Anaesthetic; Its Status at the Close of the First Year of its Use. *Ann Surg*. 1886 Jan;3(1):51-66.
134. Pomierny-Chamiolo L, Moniczewski A, Wydra K, Suder A, Filip M. Oxidative Stress Biomarkers in Some Rat Brain Structures and Peripheral Organs Underwent Cocaine. *Neurotox Res*. 2012 Jul 12.
135. Rasmussen P, Brassard P, Adser H, Pedersen MV, Leick L, Hart E, et al. Evidence for a release of brain-derived neurotrophic factor from the brain during exercise. *Exp Physiol*. 2009 Oct;94(10):1062-9.
136. 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.
137. 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.
138. Riezzo I, Fiore C, De Carlo D, Pascale N, Neri M, Turillazzi E, et al. Side effects of cocaine abuse: multiorgan toxicity and pathological consequences. *Curr Med Chem*. 2012 Aug 17.
139. 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 Dec;37(4):455-8.
140. Robison AJ, Nestler EJ. Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2011 Nov;12(11):623-37.
141. Rodrigues Pereira N, Bandeira Moss M, Assumpcao CR, Cardoso CB, Mann GE, Brunini TM, et al. Oxidative stress, l-arginine-nitric oxide and arginase

- pathways in platelets from adolescents with anorexia nervosa. *Blood Cells Mol Dis*. 2010 Mar 15;44(3):164-8.
142. Romano M, Ribeiro M, Marques ACPR. Abuso e dependência de cocaína. *Projetos Diretrizes: Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina*; 2002.
143. Rondinelli AJ, Ouellet LJ, Strathdee SA, Latka MH, Hudson SM, Hagan H, et al. Young adult injection drug users in the United States continue to practice HIV risk behaviors. *Drug Alcohol Depend*. 2009 Sep 1;104(1-2):167-74.
144. Ross MW, Hwang LY, Leonard L, Teng M, Duncan L. Sexual behaviour, STDs and drug use in a crack house population. *IntJSTD AIDS*. 1999;10(4):224-30.
145. Roth MD, Tashkin DP, Choi R, Jamieson BD, Zack JA, Baldwin GC. Cocaine enhances human immunodeficiency virus replication in a model of severe combined immunodeficient mice implanted with human peripheral blood leukocytes. *J Infect Dis*. 2002 Mar 1;185(5):701-5.
146. Rouse BA. Trends in cocaine use in the general population. *NIDA Res Monogr*. 1991;110:5-18.
147. Russo SJ, Mazei-Robison MS, Ables JL, Nestler EJ. Neurotrophic factors and structural plasticity in addiction. *Neuropharmacology*. 2009;56 Suppl 1:73-82.
148. Santibanez SS, Garfein RS, Swartzendruber A, Purcell DW, Paxton LA, Greenberg AE. Update and overview of practical epidemiologic aspects of HIV/AIDS among injection drug users in the United States. *J Urban Health*. 2006 Jan;83(1):86-100.
149. Sarandol A, Sarandol E, Eker SS, Erdinc S, Vatansever E, Kirli S. Major depressive disorder is accompanied with oxidative stress: short-term antidepressant treatment does not alter oxidative-antioxidative systems. *Hum Psychopharmacol*. 2007 Mar;22(2):67-73.
150. Sartorius A, Hellweg R, Litzke J, Vogt M, Dormann C, Vollmayr B, et al. Correlations and discrepancies between serum and brain tissue levels of neurotrophins after electroconvulsive treatment in rats. *Pharmacopsychiatry*. 2009 Nov;42(6):270-6.
151. Saúde Md. *Boletim Epidemiológico - Hepatites Virais*. 2010.
152. Saúde Md. *Boletim Epidemiológico DST/AIDS*. 27^a a 52^a semanas epidemiológicas - julho a dezembro de 2010; 01^a a 26^a semanas epidemiológicas - janeiro a junho de 2011; 2012.
153. Scheinmann R, Hagan H, Lelutiu-Weinberger C, Stern R, Des Jarlais DC, Flom PL, et al. Non-injection drug use and Hepatitis C Virus: a systematic review. *Drug Alcohol Depend*. 2007 Jun;89(1):1-12.
154. Schifano F, Corkery J. Cocaine/crack cocaine consumption, treatment demand, seizures, related offences, prices, average purity levels and deaths in the UK (1990 - 2004). *J Psychopharmacol*. 2008 Jan;22(1):71-9.
155. Schut J, File K, Naglin B, Wohlmiuth T. Cocaine abuse during narcotic substitution therapy: three years later. *Proc Natl Conf Methadone Treat*. 1973;2:985-9.
156. Shannon K, Rusch M, Morgan R, Oleson M, Kerr T, Tyndall MW. HIV and HCV prevalence and gender-specific risk profiles of crack cocaine smokers and dual users of injection drugs. *Subst Use Misuse*. 2008;43(3-4):521-34.
157. Shim SH, Hwangbo Y, Kwon YJ, Jeong HY, Lee BH, Lee HJ, et al. Increased levels of plasma brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in children with attention deficit-hyperactivity disorder (ADHD). *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008 Dec 12;32(8):1824-8.

158. Stern RK, Hagan H, Lelutiu-Weinberger C, Des Jarlais D, Scheinmann R, Strauss S, et al. The HCV Synthesis Project: scope, methodology, and preliminary results. *BMC Med Res Methodol.* 2008;8:62.
159. Thomas DL, Zenilman JM, Alter HJ, Shih JW, Galai N, Carella AV, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus among patients attending sexually transmitted diseases clinics in Baltimore--an analysis of 309 sex partnerships. *J Infect Dis.* 1995 Apr;171(4):768-75.
160. Thomas MJ, Kalivas PW, Shaham Y. Neuroplasticity in the mesolimbic dopamine system and cocaine addiction. *Br J Pharmacol.* 2008 May;154(2):327-42.
161. Thome J, Nara K, Foley P, Gsell W, Wiesbeck GA, Boning J, et al. Time course of manganese superoxide dismutase concentrations in serum of alcohol-dependent patients during abstinence. *Drug Alcohol Depend.* 1997 Mar 14;44(2-3):151-5.
162. Tucker KA, Potenza MN, Beauvais JE, Browndyke JN, Gottschalk PC, Kosten TR. Perfusion abnormalities and decision making in cocaine dependence. *Biol Psychiatry.* 2004 Oct 1;56(7):527-30.
163. Tull MT, Trotman A, Duplinsky MS, Reynolds EK, Daughters SB, Potenza MN, et al. The effect of posttraumatic stress disorder on risk-taking propensity among crack/cocaine users in residential substance abuse treatment. *Depress Anxiety.* 2009;26(12):1158-64.
164. 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.
165. van der Meer Sanchez Z, Nappo SA. Progression on drug use and its intervening factors among crack users. *Rev Saude Publica.* 2002 Aug;36(4):420-30.
166. van der Meer Sanchez Z, Nappo SA. From the first drug to crack: the sequence of drugs taken in a group of users in the city of Sao Paulo. *Subst Use Misuse.* 2007;42(1):177-88.
167. Verdejo-Garcia A, Bechara A. A somatic marker theory of addiction. *Neuropharmacology.* 2009;56 Suppl 1:48-62.
168. Volkow ND, Muenke M. The genetics of addiction. *Hum Genet.* 2012 Jun;131(6):773-7.
169. Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Tomasi D, Telang F. Addiction: beyond dopamine reward circuitry. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011 Sep 13;108(37):15037-42.
170. Washton AM, Gold MS. Crack. *JAMA.* 1986 Aug 8;256(6):711.
171. Wishart DJ. Acute Toxaemia: Was Cocaine or Adrenalin the Cause? *Can Med Assoc J.* 1911 May;1(5):440-4.
172. Wozniak B, Musialkiewicz D, Wozniak A, Drewa G, Drewa T, Drewa S, et al. Lack of changes in the concentration of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) and in the activities of erythrocyte antioxidant enzymes in alcohol-dependent patients after detoxification. *Med Sci Monit.* 2008 Jan;14(1):CR32-6.
173. Yuksel N, Uzbay IT, Karakilic H, Aki OE, Etik C, Erbas D. Increased serum nitrite/nitrate (NOx) and malondialdehyde (MDA) levels during alcohol withdrawal in alcoholic patients. *Pharmacopsychiatry.* 2005 Mar;38(2):95-6.

Anexos

Anexo 1 – Artigos publicados durante o período do Doutorado

1. Narvaez JC, Magalhães PV, Trindade EK, Vieira DC, Kauer-Sant'anna M, Gama CS, von Diemen L, Kapczinski NS, Kapczinski F. Childhood trauma, impulsivity, and executive functioning in crack cocaine users. *Compr Psychiatry*. 2012 Apr;53(3):238-44.
2. De Boni, Raquel, Diemen, Lisia von, Duarte, Paulina do Carmo Arruda Vieira, Bumaguin, Daniela Benzano, Hilgert, Juliana Balbinot, Bozzetti, Mary Clarisse, Sordi, Anne, & Pechansky, Flavio. Regional differences associated with drinking and driving in Brazil. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 2012 34(3), 306-313.
3. Pechansky, Flavio, Duarte, Paulina do Carmo Arruda Vieira, De Boni, Raquel, Leukefeld, Carl G., von Diemen, Lisia, Bumaguin, Daniela Benzano, Kreische, Fernanda, Hilgert, Juliana Balbinot, Bozzetti, Mary Clarisse, & Fuchs, Daniel Fernando Paludo. (2012). Predictors of positive Blood Alcohol Concentration (BAC) in a sample of Brazilian drivers. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 34(3), 277-285.
4. Pechansky F, Remy L, Surratt HL, Kurtz SP, Rocha TB, Von Diemen L, Bumaguin DB, Inciardi J. Age of Sexual Initiation, Psychiatric Symptoms, and Sexual Risk Behavior among Ecstasy and LSD Users in Porto Alegre, Brazil: A Preliminary Analysis. *J Drug Issues*. 2011 Mar 1;41(2):217.

5. De Boni R, Bozzetti MC, Hilgert J, Sousa T, Von Diemen L, Benzano D, Menegon G, Holmer B, Duarte Pdo C, Pechansky F. Factors associated with alcohol and drug use among traffic crash victims in southern Brazil. *Accid Anal Prev.* 2011 Jul;43(4):1408-13.
6. Pechansky F, Von Diemen L, Soibelman M, Boni RD, Bumaguin DB, Fürst MC. Clinical signs of alcohol intoxication as markers of refusal to provide blood alcohol readings in emergency rooms: an exploratory study. *Clinics (Sao Paulo).* 2010;65(12):1391-2.
7. Pechansky F, De Boni R, Diemen LV, Bumaguin D, Pinsky I, Zaleski M, Caetano R, Laranjeira R. Highly reported prevalence of drinking and driving in Brazil: data from the first representative household study. *Rev Bras Psiquiatr.* 2009 Jun;31(2):125-30.
8. Kessler F, Woody G, De Boni R, Von Diemen L, Benzano D, Faller S, Pechansky F. Evaluation of psychiatric symptoms in cocaine users in the Brazilian public health system: need for data and structure. *Public Health.* 2008 Dec;122(12):1349-55.

Anexo 2 – Instrumento - Perfil do consumo de crack

1

Estudo: _____	Número Protocolo: _____
Examinador: _____	Data da Aplicação: ____/____/____

Perfil do consumo de crack

<p>1. Com que idade você consumiu <i>crack</i> pela primeira vez? _____anos</p> <p>2. O que motivou o consumo inicial de <i>crack</i>? (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)</p> <p><input type="checkbox"/> Curiosidade</p> <p><input type="checkbox"/> Influência de amigos</p> <p><input type="checkbox"/> Sensação imediata de prazer</p> <p><input type="checkbox"/> Facilidade de acesso</p> <p><input type="checkbox"/> Impressão de que as drogas podem resolver os problemas (“fuga dos problemas”)</p> <p><input type="checkbox"/> Desejo de estimulação (“ficar esperto”)</p> <p><input type="checkbox"/> Desejo de relaxar</p> <p><input type="checkbox"/> Aliviar sentimentos negativos (por exemplo, dores, ansiedade, depressão)</p> <p><input type="checkbox"/> Eu me injetava, fiquei com medo de pegar doenças (HIV, hepatite)</p> <p><input type="checkbox"/> Outro (as) Qual (is)? _____</p> <p>3. Há quanto tempo você fuma <i>crack</i>? _____anos</p> <p>4. A frequência (mais dias) do seu uso de <i>crack</i> aumentou desde a primeira vez que você fumou pela primeira vez?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p>5. A quantidade de <i>crack</i> (mais pedras) aumentou desde quando você fumou pela primeira vez?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não</p> <p>6. Quanto tempo levou, desde a primeira vez que você consumiu <i>crack</i>, para que seu consumo se tornasse frequente (mais dias)?</p> <p><input type="checkbox"/> Menos de um mês (30 dias)</p> <p><input type="checkbox"/> 2 – 3 meses</p> <p><input type="checkbox"/> 4 – 6 meses</p> <p><input type="checkbox"/> 7 – 12 meses</p> <p><input type="checkbox"/> Mais do que um ano</p> <p><input type="checkbox"/> Meu consumo não se tornou mais frequente</p> <p>7. Quanto tempo levou, desde a primeira vez que você consumiu <i>crack</i>, para que seu consumo se tornasse mais intenso (por mais dias e/ou mais pedras)?</p> <p><input type="checkbox"/> Menos de um mês (30 dias)</p> <p><input type="checkbox"/> 2 – 3 meses</p> <p><input type="checkbox"/> 4 – 6 meses</p> <p><input type="checkbox"/> 7 – 12 meses</p> <p><input type="checkbox"/> Mais do que um ano</p> <p><input type="checkbox"/> Meu consumo não se tornou mais intenso</p> <p>8. Em média, qual a quantidade de <i>crack</i> que você consome por semana?</p> <p>⇒ Indique o tamanho e/ou valor da pedra: _____ (gramas) _____ (reais)</p> <p><input type="checkbox"/> 10 - 30 pedras</p> <p><input type="checkbox"/> 31 – 40 pedras</p> <p><input type="checkbox"/> 41 – 50 pedras</p> <p><input type="checkbox"/> Mais do que 50 pedras</p> <p>Quantas pedras? _____</p>	<p>9. Com que frequência você consome <i>crack</i>?</p> <p><input type="checkbox"/> Mensalmente</p> <p><input type="checkbox"/> Quinzenalmente</p> <p><input type="checkbox"/> Quase todos os dias</p> <p><input type="checkbox"/> Todos os dias da semana</p> <p>10. Qual a média do seu gasto com <i>crack</i> em reais? Qual valor? R\$ _____</p> <p>⇒ Indique a frequência do gasto financeiro:</p> <p><input type="checkbox"/> Diário <input type="checkbox"/> Semanal <input type="checkbox"/> Mensal</p> <p>11. Têm ocasiões em que você fuma grande quantidade de <i>crack</i> em sessões de várias horas ou dias consecutivos seguindo-se por dias de abstinência?</p> <p><input type="checkbox"/> Sim</p> <p><input type="checkbox"/> Não (Vá para a questão 13)</p> <p>12. Nessas ocasiões, por quantas horas seguidas você chega a ficar usando <i>crack</i> ?</p> <p><input type="checkbox"/> 0-12h (até um turno)</p> <p><input type="checkbox"/> 12-24h (até um dia)</p> <p><input type="checkbox"/> 24- 48h (até dois dias)</p> <p><input type="checkbox"/> Mais do que 48h (>dois dias)</p> <p>13. Qual a quantidade máxima de <i>crack</i> que você chega a consumir em uma única ocasião?</p> <p>⇒ Indique o tamanho e/ou valor da pedra: _____ (gramas) _____ (reais)</p> <p><input type="checkbox"/> 1 – 5 pedras</p> <p><input type="checkbox"/> 5 -10 pedras</p> <p><input type="checkbox"/> Mais do que 10 pedras</p> <p>Quantas pedras? _____</p> <p>14. Em que situações seu consumo de <i>crack</i> costuma ocorrer? (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)</p> <p><input type="checkbox"/> Sozinho</p> <p><input type="checkbox"/> Em casa</p> <p><input type="checkbox"/> Com amigos/conhecidos (Roda)</p> <p><input type="checkbox"/> Em festas</p> <p><input type="checkbox"/> Com esposo(a) e/ou companheiro(a)</p> <p><input type="checkbox"/> No trabalho</p> <p><input type="checkbox"/> Com parceiro(a) sexual</p> <p><input type="checkbox"/> Local escuro</p> <p><input type="checkbox"/> Outra(s), qual(is)? _____</p> <p>15. Em que período do dia seu consumo de <i>crack</i> mais costuma ocorrer?</p> <p><input type="checkbox"/> Manhã</p> <p><input type="checkbox"/> Início da tarde</p> <p><input type="checkbox"/> Tarde</p> <p><input type="checkbox"/> Início da noite</p> <p><input type="checkbox"/> Fim de noite/madrugada</p>
---	---

16. Desde que você começou a consumir *crack* qual o maior tempo que você conseguiu ficar abstinente (sem usar *crack*)?
 ⇨ Indique o tempo:
 _____ (dias)
 _____ (meses)
 _____ (anos)

Nunca fiquei sem usar *crack*

17. Qual a forma que você utiliza *crack*?
 Lata
 Cachimbo alumínio
 Cachimbo PVC
 No cigarro comum ("pitico")
 No cigarro de maconha ("macaquinho")
 Outra(s), qual(is)? _____

18. Assinale abaixo as complicações físicas que você apresentou por causa do consumo de *crack*: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)
 Diminuição de energia
 Palpitações
 Tremores
 Perda de peso
 Tosse
 Náusea/vômito
 Problemas de sono/insônia
 Convulsões
 Queimaduras (lábios, dedos)
 Tuberculose
 Hepatite
 Pneumonia
 Outra(s), qual(is)? _____

19. Assinale abaixo os efeitos do seu consumo de *crack* sobre seu humor e funções mentais: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)
 Irritação
 Ataques de pânico (medo de morrer)
 Explosões de raiva
 Impulsos de violência
 Paranóia (excesso de desconfiança, ficar espiado)
 Depressão
 Ansiedade/nervosismo
 Falhas de memória (esquecimentos)
 Diminuição do interesse sexual
 Outra(s), qual(is)? _____

20. Assinale abaixo os efeitos do seu consumo de *crack* sobre seu relacionamento com as outras pessoas: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)
 Discussões com parceiro(a) e/ou e familiar(es)
 Parceiro(a) e/ou e familiar(es) ameaçou deixá-lo(a) ou lhe expulsar de casa
 Separação do parceiro(a)
 Isolou-se do convívio com outras pessoas
 Tornou-se mais desconfiado com as outras pessoas
 Tornou-se mais agressivo com as outras pessoas
 Perdeu o interesse pelas outras pessoas
 Outra(s), qual(is)? _____

21. Assinale abaixo os efeitos do seu consumo de *crack* sobre seu trabalho ou estudo: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)

Atrasos na escola/trabalho
 Faltas na escola/trabalho
 Redução no rendimento na escola
 Redução da produtividade no trabalho
 Recebeu advertência na escola/trabalho
 Foi expulso da escola/trabalho
 Brigas com colegas escola/trabalho
 Trocou de escola/emprego
 Outro(s), qual(is)? _____

22. Assinale abaixo os efeitos do seu consumo de *crack* sobre sua situação financeira/econômica: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)
 Gastou todo o dinheiro que tinha
 Passou a vender/trocar objetos pessoais
 Incapacidade de pagar suas despesas e contas
 Endividou-se
 Envolveu-se em atividades ilícitas para obter dinheiro para o consumo (roubo, tráfico, etc)
 Outro(s), qual(is)? _____

23. Assinale as consequências legais do seu consumo de *crack*: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)
 Prisão por porte/posse de drogas
 Prisão por tráfico
 Prisão por outras atividades ilícitas relacionadas ao consumo de *crack*
 Prisão por envolvimento em brigas
 Outra(s), qual(is)? _____

24. Assinale abaixo todas as consequências negativas que você experimentou por causa do seu consumo de *crack*: (Se for seu caso, marque mais de uma alternativa)
 Acidente de carro/moto
 Teve relações sexuais indesejadas, se prostituiu
 Isolou-se da família e amigos
 Envolveu-se com tráfico (mesmo pequeno tráfico)
 Faltou ao trabalho/escola
 Brigas (físicas com outras pessoas)
 Tentou se matar
 Outra(s), qual(is)? _____

25. Quando você usou *crack* pela última vez?
 Há mais de um mês
 Há 1 mês
 Há 1 semana
 Há 2 – 4 dias atrás
 Há 1 dia atrás

26. Qual a quantidade que você consumiu nesta última vez? ⇨ Indique o tamanho e/ou valor da pedra:
 _____ (gramas) _____ (reais)
 5 – 10 pedras
 11 - 15 pedras
 16 – 20 pedras
 Mais do que 20 pedras
 Quantas? _____

27. Você costuma usar *crack* junto com outras drogas?
 Não Sim
 ⇨ Se sim, indique abaixo a seqüência de drogas:
 1º) _____ 2º) _____
 3º) _____ 4º) _____