

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO



AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA *COCAINE AND AMPHETAMINE*
***REGULATED TRASCRIPT* (CART) EM DÍADES DE PUÉRPERAS E RECÉM-**
NASCIDOS COM HISTÓRIA DE EXPOSIÇÃO AO *CRACK* INTRAUTERINO
EM COMPARAÇÃO A DÍADES SEM EXPOSIÇÃO

Rodrigo Ritter Parcianello

Orientadora: Dra. Claudia Maciel Szobot

Coorientadora: Dra. Keila Maria Mendes Ceresér

Porto Alegre, fevereiro de 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSIQUIATRIA E CIÊNCIAS DO
COMPORTAMENTO
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO



AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA *COCAINE AND AMPHETAMINE*
***REGULATED TRASCRIPT (CART)* EM DÍADES DE PUÉRPERAS E RECÉM-**
NASCIDOS COM HISTÓRIA DE EXPOSIÇÃO AO *CRACK* INTRAUTERINO
EM COMPARAÇÃO A DÍADES SEM EXPOSIÇÃO

Rodrigo Ritter Parcianello

Orientadora: Dra. Claudia Maciel Szobot

Coorientadora: Dra. Keila Maria Mendes Ceresér

Dissertação a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Psiquiatria e Ciências do Comportamento.

Porto Alegre, fevereiro de 2017

CIP - Catalogação na Publicação

Ritter Parcianello, Rodrigo

AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DA COCAINE AND AMPHETAMINE REGULATED TRASCRIPT (CART) EM DÍADES DE PUÉRPERAS E RECÉM-NASCIDOS COM HISTÓRIA DE EXPOSIÇÃO AO CRACK INTRAUTERINO EM COMPARAÇÃO A DÍADES SEM EXPOSIÇÃO / Rodrigo Ritter Parcianello. -- 2017. 107 f.

Orientadora: Claudia Maciel Szobot.

Coorientadora: Keila Maria Mendes Ceresér.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, BR-RS, 2017.

1. Psiquiatria. 2. Dependência Química. 3. Crack Cocaína. 4. Biomarcadores. 5. Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) . I. Maciel Szobot, Claudia, orient. II. Mendes Ceresér, Keila Maria, coorient.

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

DEDICATÓRIA

À minha mãe querida pela tolerância, carinho, compreensão, benevolência e sabedoria nos ensinamentos da vida.

Ao meu querido pai pelo exemplo de trabalho, persistência, valores éticos e morais e abdição em prol do meu crescimento.

À minha amada namorada Julia pela compreensão, carinho, amor e pela oportunidade de compartilhar momentos tão importantes da minha vida.

À minha irmã Carolina pelo exemplo de retidão e confiabilidade.

Ao meu irmão Gustavo por me ensinar valores autênticos.

Ao meu cunhado Rafael pela parceria de longa data.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aos professores do PPG da Psiquiatria e Ciências do Comportamento, pela excelência e qualidade de ensino.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro e à pesquisa.

A minha orientadora Claudia, por sua competência, disponibilidade, capacidade e tolerância já desde a graduação quando me oportunizou iniciar esta longa jornada de aprendizado, experiência e amadurecimento.

A minha co-orientadora, Keila, por sua generosidade, conhecimento e prontidão. Obrigado pelo carinho e dedicação.

Aos membros da banca pela presença e contribuição para que este trabalho fosse concluído.

Ao querido Victor Mardini, pela força, apoio, incentivo e exemplo de profissional e de ser humano, com quem aprendi como se pode fazer uma grande parceria.

À Maria Lucrecia Scherer Zavaschi pelo pioneirismo da questão de pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Psiquiatria Experimental, em especial, Gabriel Fries, Gabriela Colpo e Carolina Gubert e ao amigo Fernando Xavier.

À secretária do PPG Ciências Médicas: Psiquiatria, Claudia Grabinski, por sua disponibilidade e gentileza.

Às mulheres que, mesmo no momento do puerpério, gentilmente, cederam seu sangue e sangue do cordão umbilical de seus bebês sem requererem nada em troca.

*‘E aqueles que foram vistos dançando
foram julgados insanos por aqueles que
não podiam escutar a música’.*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

A presente dissertação abordou o nível sérico da *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript* (CART) em uma população altamente vulnerável – díades mães/bebês com história de exposição ao *crack* na gestação. A CART é um antioxidante endógeno presente desde o período embrionário e ativado por maiores níveis de dopamina. Foram avaliados 57 recém-nascidos expostos (RNE) e 99 não expostos (RNNE), e as suas mães. Utilizou-se uma amostragem consecutiva, em um delineamento transversal. Foram considerados potenciais confundidores: dados maternos, como psicopatologia, QI, intensidade do uso de outras substâncias além de *crack* nos últimos três meses, doenças infecto-contagiosas e outros. Também foram considerados dados dos recém-nascidos (RNs), como apgar, peso e gênero, entre outros. No primeiro artigo, foram comparados os níveis de CART entre RNs com exposição intrauterina (EIU) ao *crack* vs RNs controles. Além disso, comparamos os níveis séricos de CART entre as mães desses RNs, no período pós-parto imediato. A análise estatística foi através de General Linear Model. A média ajustada da CART foi significativamente maior em RN expostos em comparação aos não expostos (0,18, IC_{95%} 0,09 - 0,27 vs 0,05, IC_{95%} 0,02 - 0,07; $p = 0,002$, $d = 0,68$), mesmo considerando-se o efeito da intensidade do uso de álcool nos últimos três meses. Já nas mães, não houve diferença nos níveis da CART entre expostas (mediana = 0,024, amplitude interquartil 1,123, amplitude 0,006222 – 1,126010, $n = 44$) e não expostas (mediana = 0,031, amplitude interquartil 3,439, amplitude 0,003739 – 3,442805, $n = 90$, $p = 0,08$, Mann-Whitney U Test). No segundo artigo, foi analisada a correlação (Spearman correlation test) entre CART no SCU e no sangue periférico materno das usuárias de *crack* desta mesma amostra. Encontramos correlação direta e moderada ($r_s = 0,350$, $p = 0,043$). Através dos resultados do primeiro estudo, confirmamos alterações no sistema REDOX destas díades, sendo a CART mais mobilizada na dupla com exposição. A falta de diferença entre as puérperas sugere que a resposta antioxidante endógena possa variar de acordo com a etapa do ciclo vital e, talvez, a cronicidade do estressor – no caso, tempo de uso de *crack*. Através dos resultados do segundo artigo, concluímos que há um sistema antioxidante endógeno atuando desde cedo no feto em desenvolvimento. Em conjunto, trata-se de dados inovadores, com características de neuroproteção em RNs. Estes achados podem ajudar a elucidar os caminhos neurobiológicos responsáveis pelas alterações de neurodesenvolvimento, contribuindo para a ampliação das possibilidades de intervenções precoces.

ABSTRACT

The present master's dissertation addressed the serum level of Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) in a highly vulnerable population - mother/newborn dyads with a history of exposure to crack/cocaine during pregnancy. CART is an endogenous antioxidant present since the embryonic period and activated by higher levels of dopamine. We evaluated 57 exposed and 99 unexposed infants, and their mothers. A consecutive sampling was used in a cross-sectional design. Potential confounders were considered: maternal data, such as psychopathology, IQ, intensity of use of other substances besides crack/cocaine in the last three months, infectious diseases and others. Data on newborns, such as apgar, weight and gender, among others, were also considered. In the first article, we compared the levels of CART among newborns with intrauterine exposure to crack/cocaine vs newborns controls. In addition, we compared the serum levels of CART among the mothers of these newborns in the immediate postpartum period. The statistical analysis was through General Linear Model. The CART adjusted mean was significantly higher in exposed infants compared to non-exposed infants (0.18, 95% CI 0.09 - 0.27 vs 0.05, 95% CI 0.02-0.07, $p = 0.002$, $D = 0.68$), even considering the effect of the intensity of alcohol use in the last three months. In the mothers, there was no difference in the CART levels between exposed (median = 0.024, interquartile range 1,123, range 0.006222 - 1.126010, $n = 44$) and not exposed (median = 0.031, interquartile range 3,439, range 0.003739 - 3,442,805, $n = 90$, $p = 0.08$, Mann-Whitney U Test). In the second article, the correlation (Spearman correlation test) between CART in the umbilical cord blood (UCB) and the maternal peripheral blood of the crack/cocaine users of this same sample was analyzed. We found direct and moderate correlation ($r_s = 0.350$, $p = 0.043$). Through the results of the first study, we confirmed changes in the REDOX system of these dyads, with CART being more mobilized in the pair with exposure. The lack of difference between postpartum women suggests that the endogenous antioxidant response may vary according to the stage of the life cycle and perhaps the chronicity of the stressor - in this case, crack/cocaine use duration. Through the results of the second article, we conclude that there is an endogenous antioxidant system acting at an early stage in the developing fetus. Together, these are innovative data, with characteristics of neuroprotection in newborns. These findings may help elucidate the neurobiological pathways responsible for neurodevelopmental changes, contributing to the expansion of the possibilities of early intervention.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Consumo de cocaína, <i>crack</i> e oxi no Brasil entre adolescentes e adultos durante a vida e no último ano	16
Quadro 1 - Critérios da CID-10 para dependência de substâncias	18
Quadro 2 - Critérios do DSM-5 para transtorno por uso de estimulantes	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABR	<i>Auditory Brainstem Response</i>
ATP	Trifosfato de Adenosina
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CART	<i>Cocaine and Amphetamine Regulated Transcriptor</i> / Transcritor Regulador da Cocaína e da Anfetamina
DAT	Transportador de Dopamina
DQ	Dependência Química
DSM	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
EO	Estresse Oxidativo
EIU	Exposição Intrauterina
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FIPE	Fundo de Investimento à Pesquisa
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HNPC	<i>Human Neural Progenitor Cells</i>
IL-6	Interleucina 6
IL-10	Interleucina 10
LENAD	Levantamento Nacional de Álcool e Drogas
MDA	Malondialdeído
MIN	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
N	Número de Sujeitos / <i>Sample Size</i>
NA	<i>Nucleous Acumbens</i>
NSDUH	<i>National Survey on Drug Use and Health</i>
O ₂ ^{-*}	Superóxido
OMS	Organização Mundial da Saúde
PNPd	Programa Nacional de Pós-Doutorado
QI	Quociente de Inteligência
RNs	Recém-Nascidos
RNE	Recém-Nascidos Expostos
RNNE	Recém-Nascidos Não Expostos
SCU	Sangue do Cordão Umbilical
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido Desmutase
SPAs	Substâncias Psicoativas
SPECT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>
TBARS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i> / Substância Reativa ao Ácido Tiobarbitúrico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TRAP	Potencial Reativo Antioxidante Total
UCB	<i>Umbilical Cord Blood</i>
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
vs	Versus
VTA	Área Tegumentar Ventral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Considerações sobre o <i>crack</i>	14
2.2 Estresse oxidativo e cocaína	27
2.3 CART e cocaína	33
3 JUSTIFICATIVA	36
4 OBJETIVOS	37
4.1 Objetivo geral	37
4.2 Objetivos específicos	37
5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	38
6 RESULTADOS	39
6.1 Artigo 1	39
6.2 Artigo 2	63
7. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
ANEXOS	99
Anexo 1 Carta de aprovação do projeto	99
Anexo 2 Termo de consentimento livre e esclarecido – casos	101
Anexo 3 Termo de consentimento livre e esclarecido – controles	103
Anexo 4 Certificado prêmio de melhor trabalho psiquiatria clínica	106
Anexo 5 Certificado apresentação oral	106
Anexo 6 Carta de submissão do artigo 1	107
Anexo 7 Carta de aceite artigo 2	108

1 INTRODUÇÃO

Este trabalho faz parte de uma linha de pesquisa maior, financiada pelo Fundo de Investimento à Pesquisa (FIPE) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e o Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD) da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que visa a estudar o uso do *crack* nas diferentes etapas do ciclo vital.

A presente dissertação aborda o tema de gestantes usuárias de *crack* e seus bebês. O uso de *crack* por gestantes é um grave problema de saúde pública. Entre os usuários de *crack*, as gestantes são uma população que merece maior atenção. Em 2012 e 2013, nos Estados Unidos, 5,4% das gestantes entre 15-44 anos de idade eram usuárias de drogas ilícitas (NSDUH, 2014).

Devido ao seu baixo peso molecular, a cocaína e seus metabólitos rapidamente atravessam a placenta e atingem os tecidos fetais em altas concentrações (RIEZZO et al., 2012), com trágicos efeitos ao desenvolvimento infantil (CAMBELL, 2003). A cocaína é altamente tóxica, agindo de forma dinâmica e complexa. Interfere em diversos mecanismos intracelulares, entre eles a geração de radicais livres e a rota antioxidante. Acredita-se que a cocaína possa aumentar o estresse oxidativo (EO) pela contração dos vasos uterinos e placentários (DOLKART et al., 1990; WOODS 1992; PATEL et.al. 1999; LIPTON et al., 2002) com consequente hipóxia ao feto (HARGRAVE e CASTLE, 1995). Outra forma da cocaína levar à indução do EO é através da toxicidade de seus metabólitos, como a norcocaína, o nitróxido norcocaína, a N-hidroxinorcocaína e a norcocaína nitrosonium (KOVACIC e COOKSY, 2005).

Recentemente, o nosso grupo comparou EO, através dos níveis de *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) no sangue do cordão umbilical

(SCU) entre os recém-nascidos expostos ao *crack* intraútero e os recém-nascidos não expostos. Os níveis de TBARS no SCU foram significativamente menor no grupo de expostos em comparação aos não expostos. Ao analisarmos as suas mães, no puerpério imediato, não houve diferença significativa entre usuárias e não usuárias. Assim, as mudanças nos níveis de TBARS em bebês expostos sugerem que o feto, mediante exposição à cocaína, mobiliza rotas antioxidantes endógenas desde muito cedo no desenvolvimento. O mesmo não ocorreu em suas mães, por diversas possibilidades, como a cocaína ser um estressor crônica para as mesmas, ou diferenças de ativação cerebral de acordo com o momento do ciclo vital. Neste sentido, achamos que o feto conta com um sistema antioxidante endógeno, estimulado pela presença de cocaína, a *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART)* (MARDINI et al., 2017).

Todavia, existe na literatura uma carência de estudos em humanos, a despeito das inúmeras pesquisas em modelo animal, o que incentivou a presente dissertação, de comparar os níveis séricos de CART entre bebês expostos ao *crack* durante a gestação e bebês não expostos no SCU e as suas mães.

Inicialmente, faz-se uma breve revisão sobre o *crack*. Discorre-se depois a cerca de biomarcadores, apresentando-se uma revisão da literatura a respeito do EO, da CART e *crack* e/ou cocaína, com ênfase em bebês e gestantes.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Considerações sobre o *crack*

***Crack*, farmacocinética e farmacodinâmica**

Crack, também chamado de pedra ou rocha, é um termo inglês derivado do estalo que ocorre na queima da pedra. Esse composto é um dos vários derivados da cocaína. A cocaína é um dos preparados a partir da folha de coca, cuja árvore se chama “*Erythroxylon coca*”. As misturas utilizadas antes da queima são variadas, o que dificulta identificar exatamente a composição do *crack*. Os principais passos da produção do *crack* são os seguintes: “as folhas são maceradas em álcool, junto com querosene ou gasolina” (von DIEMEN 2013, p.20). A esse preparado, é adicionado ácido sulfúrico, cal e amoníaco. “Da filtração dessa solução é formada a pasta de cocaína” (von DIEMEN 2013, p.20). A pasta de cocaína tem uma concentração de cocaína que varia de 40% a 90% (INCIARDI, 1991). Esta pasta de cocaína, à qual podem ser adicionados novos ingredientes, passa por nova filtração, formando a pasta base. A partir da pasta base, podem derivar a merla e o cloridrato de cocaína. O cloridrato de cocaína dá origem à base livre e ao *crack*. O *crack* pode ser obtido através do aquecimento de cloridrato de cocaína com a adição de bicarbonato de sódio, amônia e água a 95°C, até o ponto de precipitação dos cristais. Os cristais de cocaína vão se solidificando, à medida que a água se evapora. O precipitado remanescente é resfriado, finalizando o processo de obtenção do *crack*.

A farmacocinética da cocaína depende da via pela qual é absorvida. O usuário de *crack* precisa fumar com muito maior frequência e com intervalos cada vez menores, gerando o comportamento de uso compulsivo (WEISS e IANNUCCI, 2009). O pico

plasmático é rápido, oscilando entre oito e dez segundos para o início de sua ação, e a duração de efeito é de cinco a dez minutos (ROMANO et al., 2002).

A cocaína é metabolizada por duas vias principais. A maior transformação consiste na hidrólise em seus grupos ésteres, os quais aparentemente não têm importância nas suas manifestações tóxicas. A menor rota é a oxidativa, que tem atraído maior atenção devido a sua toxicidade. Essa rota gera os seguintes metabólitos considerados tóxicos: norcocaína, nitróxido norcocaína, N-hidroxinorcocaína e norcocaína nitrosonium (KOVACIC, 2005). A vida média, em adultos, de tais metabólitos é de 50 a 90 minutos. No fígado, na presença do álcool, a cocaína é convertida em etilcocaína ou cocaetileno. O cocaetileno produz um efeito farmacológico “cocalike”, que tem uma vida média maior e pode ser mais tóxico do que a própria cocaína (WEISS e IANNUCCI, 2009, p.1322). Somente 1 a 5% da cocaína é excretada intacta, os demais 95% são excretados como metabólitos. O metabólito benzoylecgonina é detectado na urina, de dois a três dias depois do “binge”. Nos usuários pesados, esse metabólito pode ser detectável mesmo após 10 a 14 dias do uso (WEISS e IANNUCCI, 2009).

Em relação à farmacodinâmica, o principal mecanismo de ação da cocaína é o bloqueio reversível do transportador de dopamina (DAT), responsável pela recaptação da dopamina da fenda para o neurônio pré-sináptico, com resultante acúmulo de dopamina (HEAL et al., 2014). A cocaína atua principalmente em áreas com maior densidade de DAT, como o putamen, caudato e a área tegumentar ventral (VTA). (WEISS e IANNUCCI, 2009; DESAI, et al., 2014; DEHENES, et al., 2014). O mecanismo de ação da cocaína em nível intracelular é complexo e dependente de muitas variáveis, entre elas, a etapa do desenvolvimento no qual incide (KUROKAWA et al., 2014).

O acúmulo de dopamina promovido pela cocaína (BANNON et al., 2014) ativa a ação da CART, um peptídeo encontrado em regiões do cérebro mediadoras do sistema de recompensa das drogas. Acredita-se que a CART funcione como um neurotransmissor, embora receptores específicos para esse peptídeo sejam de difícil caracterização (UPADHYA et al., 2015). A CART está contida em neurônios do *Nucleous Acumbens* (NA) que se projetam para a VTA. A injeção de CART no NA diminui as respostas locomotoras nos ratos tratados com cocaína, demonstrando que possivelmente tenha um efeito neuroprotetor (JOB, 2016). Um estudo com dez humanos expostos à cocaína, e dez não expostos, encontrou um aumento na expressão do gene da CART nos usuários, mais especificamente no NA (ALBERTSON et al., 2004). Em suma, observa-se uma base teórica para mensuração da CART em usuários de cocaína, como será apresentada nesta dissertação (ALBERTSON, et al., 2004; ANDERSON e PIERCE, 2005; BANNON et al., 2005).

Uso de *crack* e outras substâncias psicoativas

O abuso de SPAs é um dos problemas mais importantes em saúde pública da atualidade. Dados referentes aos anos 2012 e 2013 apontam que 24,6 milhões de norte-americanos (9,4% da população) com idade acima de 12 anos eram usuários de drogas ilícitas no último mês (NSDUH, 2014). A idade média do primeiro consumo entre os iniciados em cocaína, na faixa etária entre 12 a 49, foi de 20,4 anos. (NSDUH, 2014).

Atualmente, o Brasil apresenta alta prevalência de usuários de SPAs ilícitas. Em publicação recente da Organização Mundial da Saúde (OMS), foi apontado como uma das nações emergentes onde o consumo de estimulantes como a cocaína – seja na forma intranasal (“pó”) ou fumada (*crack*, merla ou oxi) – está aumentando enquanto na maioria dos países o consumo está diminuindo. Conforme o II Levantamento Nacional

de Álcool e Drogas (LENAD) quase 6 milhões de brasileiros (4% da população adulta) já experimentaram alguma apresentação de cocaína na vida. Este índice foi de 3% entre adolescentes, representando 442 mil jovens. No último ano, a prevalência de uso dessa droga atingiu 2,6 milhões de adultos (2%) e 244 mil adolescentes (2%), conforme a Figura 1 (INPAD, 2015).

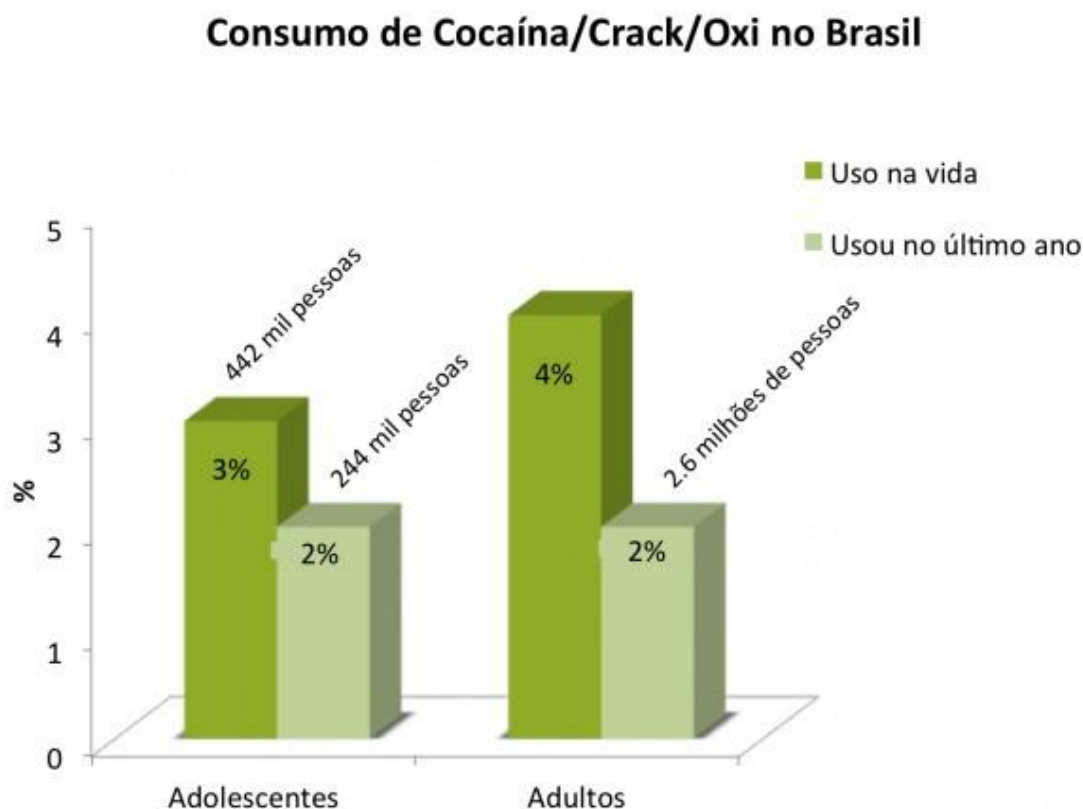


FIGURA 1 - Consumo de cocaína, crack e oxi no Brasil entre adolescentes e adultos durante a vida e no último ano

Fonte: INPAD (2015).

A cocaína utilizada sob a forma de *crack* é acessível a baixo custo e seu uso está associado a diversas situações de risco como infecções, má nutrição, distúrbios familiares e violência (PECHANSKY et al., 2004; GALDURÓZ et al., 2005; EIDEN et al., 2006; MITSUHIRO et al., 2006). Também está associado a mais comportamento sexual de risco (TURNER et al., 2016), problemas odontológicos como dentes cariados e perda de dentes (CURY et al., 2017). Também o uso de *crack* está

associado com maior risco de desenvolver transtornos psiquiátricos (esquizofrenia, Dependência Química (DQ), transtornos do humor, transtornos de personalidade, entre outros, conforme dados recentes de um estudo realizado na cidade de Recife (CASTRO et al., 2016).

O consumo de *crack* frequentemente implica padrões mais graves de dependência (HATSUKAM e FISCHMAN, 1996; GUINDALINI et al., 2006). Deste modo o diagnóstico clínico do consumo de *crack* pode e deve ser feito por todo e qualquer profissional capacitado e responsável pela detecção, pelo encaminhamento ou pelo tratamento dos problemas relacionados ao consumo de SPAs. Os critérios diagnósticos dessa síndrome serviram de base para a elaboração dos dois principais códigos psiquiátricos da atualidade: a Classificação Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde (CID-10) (OMS, 1993), e o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-5) (APA, 2014) (Quadros 1 e 2), apesar de nesta dissertação termos trabalhado com os critérios da DSM-IV, que ainda classificavam a DQ em abuso ou dependência. Esta transição de critérios diagnósticos, ocorrida durante a coleta de dados da dissertação, é abordada na literatura (HASIN et al., 2013).

Salienta-se que não há uma quantidade ou frequência de uso de Substâncias Psicoativas (SPAs), ilícitas ou não, consideradas seguras na gestação (NATIONAL HEALTH AND MEDICAL RESEARCH COUNCIL, 2009), em gestantes, não há quantidade de exposição a SPAs considerada aceitável.

QUADRO 1

CRITÉRIOS DA CID-10 PARA DEPENDÊNCIA DE SUBSTÂNCIAS

Um diagnóstico definitivo de dependência deve, normalmente, ser constatado somente se três ou mais dos seguintes requisitos tenham sido experimentados ou exibidos em algum momento do ano anterior:

- (a) Um forte desejo ou senso de compulsão para consumir a substância;
- (b) Dificuldade em controlar o comportamento de consumir a substância em termos de início, término e início de consumo;
- (c) Um estado de abstinência fisiológica quando o uso da substância cessou ou foi reduzido, como evidenciado por: síndrome de abstinência para a substância ou o uso da mesma substância (ou uma intimamente relacionada) com a intensão de aliviar ou evitar sintomas de abstinência;
- (d) Evidência de tolerância, de tal forma que doses crescentes da substância psicoativa são requeridas para alcançar efeitos originalmente produzidos por doses mais baixas;
- (e) Abandono progressivo de prazeres e interesses alternativos em favor ao uso da substância psicoativa, aumento da quantidade de tempo necessário para se recuperar de seus efeitos;
- (f) Persistência no uso da substância, a despeito de evidência clara de consequências manifestamente nocivas (deve-se fazer esforços claros para determinar se o usuário estava realmente consciente da natureza e extensão do dano).

Fonte: Organização Mundial da Saúde, 1993.

QUADRO 2

CRITÉRIOS DO DSM-5 PARA TRANSTORNO POR USO DE ESTIMULANTES

A. Um padrão de uso de substância tipo anfetamina, cocaína ou outro estimulante levando a comprometimento ou sofrimento clinicamente significativo, manifestado por pelo menos dois dos seguintes critérios, ocorrendo durante um período de 12 meses:

1. O estimulante é frequentemente consumido em maiores quantidades ou por um período mais longo do que o pretendido.
2. Existe um desejo persistente ou esforços malsucedidos no sentido de reduzir ou controlar o uso de estimulantes.
3. Muito tempo é gasto em atividades necessárias para a obtenção do estimulante, em utilização, ou na recuperação de seus efeitos.
4. Fissura ou um forte desejo ou necessidade de usar o estimulante.
5. Uso recorrente de estimulantes resultando em fracasso em cumprir obrigações importantes no trabalho, na escola ou em casa.
6. Uso continuado de estimulantes apesar de problemas sociais ou interpessoais persistentes ou recorrentes causados ou exacerbados pelos efeitos do estimulante.
7. Importantes atividades sociais, profissionais ou recreacionais são abandonadas ou reduzidas em virtude do uso de estimulantes.
8. Uso recorrente de estimulantes em situações nas quais isso representa perigo para a integridade física.

9. O uso de estimulantes é mantido apesar da consciência de ter um problema físico ou psicológico persistente ou recorrente que tende a ser causado ou exacerbado pelo estimulante.
10. Tolerância, definida por qualquer um dos seguintes aspectos: a. Necessidade de quantidades progressivamente maiores do estimulante para atingir a intoxicação ou o efeito desejado. b. Efeito acentuadamente menor com o uso continuado da mesma quantidade do estimulante.
Nota: Este critério não é considerado em indivíduos cujo uso de medicamentos estimulantes se dá unicamente sob supervisão médica adequada, como no caso de medicação para transtorno de déficit de atenção/hiperatividade ou narcolepsia.
11. Abstinência, manifestada por qualquer dos seguintes aspectos: a. Síndrome de abstinência característica para o estimulante (consultar os Critérios A e B do conjunto de critérios para abstinência de estimulantes, p. 569). b. O estimulante (ou uma substância estreitamente relacionada) é consumido para aliviar ou evitar os sintomas de abstinência.
Nota: Este critério é desconsiderado em indivíduos cujo uso de medicamentos estimulantes se dá unicamente sob supervisão médica adequada, como no caso de medicação para transtorno de déficit de atenção/hiperatividade ou narcolepsia.

Fonte: American Psychiatric Association, 2013.

Sabe-se que a DQ é um transtorno de natureza multifatorial que vai além dos fenômenos causados ou desencadeados pela droga, abrangendo, também, a suscetibilidade individual e o contexto social em que o indivíduo encontra a substância. Desse modo, cada indivíduo pode sentir os efeitos das substâncias de forma diferente, algo que já vem sendo demonstrado entre os adolescentes que experimentam os efeitos decorrentes do consumo de drogas de modo mais intenso do que os adultos (SILVA e MATOS, 2004).

Há diversos modelos neurobiológicos que fundamentam a existência de uma base orgânica para a DQ (WEST, 2006). Todas as SPAs que causam dependência atuam sobre o sistema mesolímbico-mesocortical, também denominado sistema de recompensa (CAMI e FARRÉ, 2003; ESCH e STEFANO, 2004; WHO, 2004; NIDA, 2011). Tal sistema abriu caminho para o entendimento das bases neurobiológicas e dos mecanismos do uso de SPAs (OLDS e MILNER, 1954). Mais tarde, outros estudos

mostraram atividade cerebral intensa nessa região na presença de alimentos ou parceiros sexuais. A função adaptadora desse sistema pode facilmente ser entendida como importante na preservação do indivíduo e da espécie (SULLIVAN e HAGEN, 2002; LENDE e SMITH, 2002). Deste modo o sistema de recompensa pode ser ativado tanto por reforços naturais quanto pelas SPAs, sendo as últimas capazes de perverter o sistema biológico adaptativo original, imitando estímulos naturais e vitais (BOENING, 2001; TOMASI et al., 2015).

Além disso, as técnicas de neuroimagem têm contribuído de forma importante para a compreensão das alterações neuroquímicas e funcionais nos cérebros de usuários de SPAs. E um estudo realizado por Volkow e colaboradores (VOLKOW et al., 2000), foi verificada a influência da via de administração da cocaína sobre seus efeitos reforçadores no Sistema Nervoso Central (SNC). Em um estudo de PET com o radiofármaco [¹¹C]-cocaína (radioligante para o DAT), 32 usuários de cocaína foram avaliados quanto à eficácia do bloqueio de Dopamina (DA) e ao efeito de diferentes doses da substância e nas diferentes vias de administração, além do auto-correlato de sentir o efeito intenso da droga (*high*). Os autores observaram que: 1) o bloqueio e a eficácia do bloqueio do DAT ocorrem em todas as vias de administração de igual forma e independe da dose; 2) os usuários de *crack* apresentam semelhante percepção do efeito intenso da droga, independentemente da dose utilizada; 3) os usuários de *crack* foram os primeiros a relatar o efeito intenso da droga para os mesmos níveis plasmáticos de cocaína e de bloqueio de DAT das outras vias de administração. Os autores concluíram que as diferenças nos efeitos reforçadores da cocaína estão relacionadas à via de administração e sua velocidade em chegar ao SNC, e não à eficácia da droga em bloquear o DAT (VOLKOW et al, 2000).

Há também um esforço da genética e da epigenética na busca de compreender a neurobiologia da adição a SPAs. Por exemplo, na transmissão das dependências químicas entre gerações existe um componente genético já descrito. (KENDLER et al., 2000). A herdabilidade da dependência de cocaína considerada alta, com estimativas de até 70%, maior que várias doenças comuns, como a hipertensão ou a asma (AGRAWAL e LYNSKEY, 2008). Um aspecto primordial na genética de doenças do comportamento é a concepção de que a vulnerabilidade para a DQ resultada da interação de múltiplos genes de pequeno efeito, e o fenótipo dependerá na interação entre vulnerabilidade biológica e ambiente (KOOB e LE MOAL, 2006). Um estudo com adultos usuários de *crack* no nosso meio demonstrou uma associação entre uso de *crack* e polimorfismo do gene DAT1 (STOLF et al., 2014).

Sabe-se que o risco para o primeiro episódio de consumo de cocaína ocorre em geral entre 18 e 22 anos. Entre os iniciantes, cerca de 5% desenvolvem dependência após um ano de uso, independente do gênero. O risco, então, desacelera a partir desse período, sendo maior entre as mulheres (WAGNER e ANTHONY, 2007). Normalmente o usuário de *crack* inicia o uso consumo de SPAs pelas drogas lícitas – como o tabaco e o álcool – sendo a maconha a droga mais comum da segunda fase da experimentação (VAN DER MEER SANCHEZ e NAPPO, 2007). Quando mais precoce e mais pesado o consumo de uma droga, maiores as chances de progressão (VAN DER MEER SANCHEZ e NAPPO, 2007) e alcance de padrões mais graves de dependência (HSER et al., 2008). Em geral, a primeira experiência com a cocaína acontece pela via intranasal, progredindo posteriormente para o *crack* (GUINDALINI et al., 2006). O usuário de *crack*, independentemente do ambiente estudado, comunidade, em tratamento, prisões -, consome mais cocaína e com maior regularidade do que o usuário de cocaína inalada (HATSUKAMI e FISCHMAN, 1996). A progressão da cocaína

inalada para o *crack* pode ser explicada pela disponibilidade, pela tolerância, pela procura do usuário por efeitos mais intensos e pelo custo (SHAW et al., 1999; DA CUNHA et al., 2015).

Atualmente várias abordagens de tratamento para dependência de cocaína e *crack* no Brasil vêm sendo discutidas, porém existem muitas controvérsias sobre qual abordagem demonstra maior efetividade na literatura científica. Há um consenso de que a dependência de *crack* exige um tratamento complexo, pois é uma doença crônica e grave que deverá ser acompanhada por longo tempo (FISCHER et al., 2015). Sabe-se que estes pacientes normalmente apresentam comorbidades psiquiátricas, havendo necessidade de uma equipe multidisciplinar (PIANCA et al., 2016). Mediante essa dificuldade, sabe-se que o tratamento da DQ pode modificar a estrutura cerebral e os efeitos da exposição às SPAs são amenizados se o uso é diminuído ou interrompido (DRAGANSKI et al., 2004). Da mesma forma, a abordagem e a intervenção nas doenças e fatores de risco associados ao abuso de substâncias são fundamentais para o tratamento.

Crack, mulheres, gestantes e seus bebês

Segundo dados da *National Survey on Drug Use and Health* (NSDUH), as mulheres representam aproximadamente 30% da população de usuários de cocaína (NSDUH, 2014). Em 2012 e 2013, nos Estados Unidos, 5,4% das gestantes entre 15-44 anos de idade eram usuárias de drogas ilícitas (NSDUH, 2014). Dados do *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), avaliando a presença de síndrome de abstinência neonatal em três hospitais da Florida entre 2010 e 2011 evidenciaram que, dos recém-nascidos com a síndrome confirmada, 14,1% foram expostos à cocaína

durante a gestação (LIND et al., 2015). No Brasil, um estudo de prevalência na cidade de São Paulo mostrou que o número de mulheres hospitalizadas por uso de álcool e *crack* vem aumentando (MOREIRA et al., 2014).

Uma forma de avaliar o uso é aferir a prevalência da exposição intrauterina a partir de análises por ocasião do parto ou ao longo da gestação, seja na mãe (cabelo, urina e relato maternos; mecônio, urina e cabelo de RNs). De Moraes Barros, et al. (2006), analisaram amostras de cabelo materno e de mecônio, encontrando, respectivamente, 4,6% e 1,8% de uso de maconha e de cocaína, durante a gestação em adolescentes. Já em um estudo transversal com 1.000 adolescentes grávidas em um centro obstétrico da cidade de São Paulo, com idade média de 16,9 anos, $\pm 1,51$, o uso de substâncias de abuso foi avaliado a partir da urina e do cabelo no terceiro trimestre gestacional. Foi uma amostragem de conveniência, com as pacientes já internadas. Os autores encontraram a prevalência de 6% de uso de drogas, sendo 4% maconha, 1,7% cocaína e 0,3% ambas as substâncias (MITSUHIRO, et al., 2006). Neste trabalho, o uso de drogas no primeiro e segundo trimestres não foi investigado, ou seja, a prevalência geral de exposição pré-natal a drogas pode estar subestimada. Wong (2000) registrou, em coletas realizadas em urina, no mecônio e no cabelo dos RNs, prevalência de 20,5% de Exposição Intrauterina (EIU) em uma amostra de 44 RNs de baixo peso ao nascer em São Paulo. No mesmo estado, Martins-Celini (2001) observou a prevalência do uso de cocaína na gestação da ordem de 6%, mediante entrevista materna e triagem toxicológica em 479 puérperas. Um estudo transversal, realizado no HCPA, demonstrou através de entrevistas e exame meconial, que 4,6% dos RNs daquele hospital foram expostos à cocaína (CUNHA, 2007). As consequências da exposição pré-natal a SPAs podem ser trágicas no desenvolvimento das crianças e esta problemática é descrita na maioria dos países. Na gestante, o uso de cocaína foi associado à desnutrição, hipertensão, doenças

sexualmente transmissíveis, distúrbios psiquiátricos, acidentes vasculares e infarto agudo do miocárdio (CAIN et al., 2013). Sabe-se que se trata de uma população mais vulnerável, com menor sistema de apoio que se reflete, por exemplo, em menos consultas de pré-natal e mais doenças sexualmente transmissíveis. (LESTER, et al., 1998; CUNHA, 2000; LESTER e TRONICK, 2004; EIDEN, et al., 2006; INCIARDI et al., 2006; EDWARDS et al, 2006; KESSLER et al., 2008; NAPPO et al., 2011).

A cocaína e alguns dos seus metabólitos são armazenados tanto no miométrio como na membrana placentária e são constantemente liberados no líquido amniótico, colocando o feto em uma exposição contínua à cocaína e seus metabólitos. (DE GIOVANN e MARCHETTI, 2012). Em relação ao feto e ao RN, é frequente o abortamento e morte fetal (LUTIGER, et al., 1991; PICHINI, et al., 2005); descolamento prematuro de placenta (SHIONO, et al., 1995; BAUER, et al., 2002); líquido amniótico meconial (CHASNOFF, et al., 1987; MASTROGIANNIS, et al., 1990); síndrome de aspiração de mecônio, contratilidade uterina anormal, ruptura uterina, prematuridade (CHASNOFF, et al., 1987; BADA, et al., 2002; BAUER, et al., 2005); placenta prévia, rompimento prematuro de membranas, crescimento intrauterino retardado, diminuição do peso, do comprimento e do perímetro cefálico médio dos RNs (COHEN, et al., 1991; LESTER, et al., 1991; SOTO e BAHADO-SINGH, 2013; JANISSE, et al., 2014), e asfixia perinatal (RYAN, et al., 1987).

Em relação ao bebê e seu desenvolvimento, existem vários estudos a respeito da exposição a drogas na gestação, com a ressalva de ser difícil isolar o que seria efeito da cocaína no neurodesenvolvimento ou efeito de outras adversidades que acompanham a mãe e o ambiente familiar com DQ (NAUD, et al., 1993; ZUCKERMAN, 1996; SISON, et al., 1997; LESTER, et al., 2002; MAYES, 2002; EIDEN, et al., 2006; LESTER, et al., 2009).

Várias revisões e meta-análises têm estudado a EIU através da infância precoce. Muitas vezes, o crescimento pré-natal é restrito no útero, levando ao encurtamento do tempo gestacional e de um peso de nascimento inferior. (GOUIN, 2011; NORDATROM-KLEE et al., 2002). Assim como malformações congênitas geniturinárias (LUTIGER, et al., 1991; SOTO e BAHADO-SINGH, 2013), visuais (TSAY, et al., 1996), auditivas (LESTER, et al., 2003), cardiovasculares (MEHTA, et al., 2001; 2002; REGALADO, et al., 2001), esqueléticas e gastrointestinais também foram associadas à EIU.

O retardo na transmissão neuronal, ocasionado por atrasos na mielinização, foi documentado por vários autores que avaliaram RNs expostos à cocaína através de *auditory brainstem response* (ABR). (SHIH et al., 1988; SALAMY, et al., 1990; POTTER, et al., 2000; LESTER, et al., 2003; TAN-LAXA, et al., 2004). O estudo do choro dos RNs expostos demonstrou dois padrões distintos: aumento da excitabilidade associado ao efeito direto da cocaína e padrão menos reativo, que decorre do efeito da cocaína sobre a nutrição fetal e que está associado à redução do peso dos RNs (LESTER, et al., 1991). Outros autores descreveram uma relação entre a quantidade de uso e os efeitos no choro do RNs (CORWIN, et al., 1992).

Há sugestões na literatura de que alguns efeitos da EIU continuariam ao longo da infância, quiçá da adolescência. Uma revisão com adolescentes de 13 anos de idade encontrou associações entre EIU e problemas de comportamento, atenção, linguagem, cognição. (LESTER et al., 2009). Nesse sentido, Singer, et al. (2015), a partir do estudo da coorte de Cleveland, com uma amostra de 218 RNs expostos à cocaína e a outras drogas e 197 não expostos acompanhados desde o nascimento até a adolescência, revelaram que a exposição pré-natal à cocaína se associou a efeitos significativos no crescimento fetal, na atenção, na linguagem, na organização perceptual visomotora,

função executiva, problemas comportamentais externalizantes e risco de abuso de substância. Outros estudos têm verificado uma associação entre EIU e desinibição comportamental (FISHER et al., 2011), uso de substâncias (LESTER et al., 2012) e maior comportamento sexual (DE GENNA et al., 2014; LAMBERT et al., 2013). Minnes, et al. (2014), avaliando 358 adolescentes (183 com EIU e 175 não expostos à cocaína no pré-natal), também verificaram que os adolescentes com EIU usavam duas vezes mais tabaco, 2,2 vezes mais álcool e 1,8 vezes mais maconha do que adolescentes não expostos à cocaína no pré-natal.

Em suma, observa-se que as crianças com EIU apresentam alterações desde o pós-parto imediato, que podem permanecer ao menos até a adolescência. Tais alterações incluem, por exemplo, a desregulação autonômica, dificuldades no aprendizado e linguagem, problemas externalizantes e alterações na morfologia e circuitos cerebrais. Desconhecem-se, todavia, possíveis mecanismos neurobiológicos subjacentes, o que seria de grande valia, tendo em vista a alta prevalência do problema.

2.2 Estresse oxidativo e cocaína

A produção de radicais livres é um processo natural da fisiologia celular (IKONOMIDOU e KAINDL, 2011). Os radicais livres existem em diversos órgãos do corpo, desempenhando funções no sistema imune, por exemplo, como importantes agentes antimicrobianos dentro das células fagocíticas (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 2007a). Desempenham, também, importante papel como sinalizadores intracelulares. Durante os processos metabólicos, esses radicais atuam como mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007a). Sua produção, em proporções adequadas, possibilita a geração de Trifosfato de Adenosina (ATP) (energia), por meio da cadeia transportadora de

elétrons. Porém, a produção excessiva pode conduzir a danos oxidativos. A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos culminou no desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante. Esses têm o objetivo de limitar os níveis intracelulares de tais espécies reativas e controlar a ocorrência de danos decorrentes (HALLIWELL e POUSEN, 2006). A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) pela mitocôndria é usualmente considerada a principal causa de EO (KRAUSE e AGING, 2007). A instalação do processo de EO decorre de um desequilíbrio entre a produção de compostos oxidantes (espécies reativas de oxigênio) e a capacidade do sistema antioxidante de neutralizá-los (SIES, 1997). Tal processo conduz à oxidação de biomoléculas com conseqüente perda de suas funções biológicas e/ou desequilíbrio homeostático cuja manifestação é o dano oxidativo potencial contra células e tecidos (HALLIWELL et al., 2007b).

Embora exista um considerável corpo de conhecimento a respeito da geração de radicais livres em conseqüência da exposição à cocaína, o possível papel dos radicais livres ainda está longe de ser elucidado (ÁLVARO-BARTOLOMÉ, et al., 2011; POMIERNY-CHAMIOLO, et al., 2013;).

Acredita-se que a cocaína possa aumentar o EO pela contração dos vasos uterinos e placentários (DOLKART et al., 1990; WOODS, 1992; PATEL, et al., 1999; LIPTON, et al., 2002) com conseqüente hipóxia ao feto (HARGRAVE e CASTLE, 1995). Outra forma de a cocaína levar à indução do EO é por meio da toxicidade de seus metabólitos, como a norcocaína, nitróxido norcocaína, N-hidroxinorcocaína e norcocaína nitrosonium, entre outros (KOVACIC e COOKSY, 2005). Tais metabólitos geram ERO como o superóxido, e uma das conseqüências pode ser a peroxidação lipídica, a qual pode ser mensurada laboratorialmente pelo TBARS. Dietrich et al. (2005), demonstraram que a administração de cocaína, aguda ou crônica, aumentou a

produção de hidroperóxido e peróxido lipídico no córtex frontal e estriado, duas estruturas cerebrais que contêm numerosos terminais nervosos dopaminérgicos. É sabido que a cascata respiratória mitocondrial produz ERO como um dos seus subprodutos, por meio da respiração normal (BOVERIS, et al., 1972). A formação do radical superóxido (O_2^-) ocorre da transferência de elétrons livres a locais específicos do oxigênio molecular na cascata de transporte dos elétrons, situada na membrana interna da mitocôndria.

Dados da literatura confirmam uma associação entre exposição à cocaína e alterações no sistema REDOX. Lipton, et al. (2003), demonstraram que, após uma injeção de cocaína em ratas grávidas, seus fetos apresentavam uma redução de 16,38% no nível de glutatona cerebral, significando maior recrutamento do sistema antioxidante. Nesse estudo, a hipótese para o achado foi de que a vasoconstrição causada pela cocaína resultou em hipóxia no feto, aumentando o EO, com consumo de antioxidantes como a glutatona. Em outro estudo em modelo animal, os autores injetaram cocaína em ratas grávidas, medindo o óxido nítrico e o TBARS pós-natal. Também testaram a capacidade de aprendizado dos filhotes expostos à cocaína. Inicialmente, viram que os filhotes nasceram com maiores níveis de TBARS e óxido nítrico em comparação aos controles, no hipocampo. Após 25 dias, foram realizados testes de comportamento em parte da amostra desses animais (aquela que não foi sacrificada para medidas de hipocampo *post mortem*), vendo-se que o grupo que recebeu cocaína intraútero teve menor desempenho (BASHKATOVA, et al., 2006).

Pomierny-Chamiolo, et al. (2013), estudaram o efeito da cocaína por meio da atividade da Superóxido Desmutase (SOD), a qual faz parte do sistema antioxidante enzimático, em ratos, demonstrando aumento dessa enzima no hipocampo (+ 18% ± 8), córtex frontal (+ 41% ± 14,5; $p < 0,05$) e estriato dorsal (+ 88% ± 9; $p < 0,001$), após a

autoadministração de cocaína em comparação à autoadministração de solução salina. Os mesmos autores avaliaram os níveis de malondialdeído (MDA), produto do EO, em ambos os grupos e encontraram uma diminuição do MDA no hipocampo (-12% dos controles) e no córtex frontal (-14% dos controles, $p < 0,05$) no grupo de autoadministração de cocaína. No estriato dorsal, ocorreram reduções de MDA em ambos, tanto na administração ativa ($-16\% \pm 7$; $p < 0,05$) quanto na administração passiva ($-11\% \pm 0,5$; $p < 0,01$). Os achados indicam que existe uma associação entre biomarcadores de EO nos processos motivacionais relacionados ao uso voluntário de cocaína em ratos. Indicam, ainda, que a cocaína autoadministrada leva a um dano oxidativo mais potente do que a administração passiva. O EO influencia a memória e o aprendizado. Danos nessas funções podem estar envolvidos em mecanismos de toxicidade e adição a drogas. Macêdo, et al. (2010), após administrarem doses elevadas de cocaína a ratos, observaram que aqueles pré-tratados com vitamina E (tocoferol) obtiveram menores índices de convulsão (60% x 100%) e maiores índices de sobrevivência (40% x 87,5%) do que os não tratados, indicando a possibilidade de efeito antioxidante da vitamina E.

Estudos em humanos sobre os níveis de TBARS periférico têm mostrado resultados conflitantes. O estudo de Narvaez, et al. (2013), não mostrou alterações entre pacientes dependentes de cocaína em tratamento ambulatorial e controles usuários de outras substâncias, enquanto outro estudo do mesmo grupo (SORDI, et al., 2014), apesar de não mostrar diferença entre pacientes e controles numa comparação direta, mostrou uma significativa elevação dos níveis de TBARS de pacientes mais gravemente dependentes após período de abstinência em internação, quando comparados àqueles com dependência menos grave.

Em estudo de cultura com células progenitoras neuronais humanas (*Human Neural Progenitor Cells* - HNPC) com cocaína, foram dosados diferentes marcadores de EO. Os autores encontraram um aumento do EO, medido pelo carbonil após 48h da exposição aguda à cocaína, que seguiu aumentando até 96h, em comparação às células que não receberam cocaína, nas quais não houve aumento de carbonil em momento algum. Um curso similar foi observado com a peroxidação lipídica e a glutaciona, que passou a diminuir após 48h. A morte celular, medida pelo citocromo C, ocorreu após 72-96h, não sendo observada no grupo de células controle (POON, et al., 2007). Álvaro-Bartolomé, et al. (2011), demonstraram, em necropsia de cérebros humanos de usuários de cocaína, uma degradação aumentada da PARP 1 (Poli[ADP-ribose] polimerase1), um marcador de apoptose, indicando a possibilidade de morte celular aberrante.

Observa-se que a maioria dos estudos advém de modelo animal. Há poucos estudos especificamente em humanos, havendo distintas formas na avaliação do EO. Zaparte, et al. (2015), pesquisaram os níveis séricos de proteína carbonil, conteúdo proteico de tióis, SOD, glutaciona peroxidase (GPx), glutaciona reduzida (GSH) e potencial reativo antioxidante total (TRAP) em 30 pacientes femininas internadas por dependência ao *crack* (não gestantes). Encontraram níveis elevados de proteína carbonil e conteúdo total de tióis nas pacientes após quatro dias de abstinência, e níveis significativamente mais baixos de SOD, GPx, GSH e TRAP, quando comparadas a controles. Após 18 dias de abstinência, elevaram-se os níveis de SOD, GPx, GSH e TRAP nas pacientes, enquanto os níveis de proteína carbonil e conteúdo proteico de tióis haviam diminuído. Em conjunto, esses dados sugerem que mulheres dependentes de *crack* apresentam, ao internar, aumento do EO e que o tratamento, incluindo a abstinência do *crack*, conseguiu reduzir o EO nas pacientes, diminuindo os níveis dos

marcadores associados com a oxidação e aumentando os níveis das enzimas antioxidativas.

Apesar do benefício de se poder isolar o que é especificamente efeito da cocaína em animais, há uma série de limitações nos modelos animais, como dose, via de administração, ausência de exposição a eventos ambientais adversos usualmente vistos em dependentes químicos. Ao buscar estudos sobre EO e cocaína em humanos, a literatura é bem mais incipiente. Em gestantes usuárias de *crack* ou cocaína e/ou bebês com exposição intraútero a estas substâncias, não foram encontrados estudos. Tal lacuna na literatura motivou a avaliação de CART como um possível biomarcador, que atue como neuroprotetor.

Recentemente, o nosso grupo comparou níveis de TBARS (um marcador de estresse oxidativo), entre outros biomarcadores, no sangue do cordão umbilical (SCU) entre os RNs com EIU ao *crack* (N = 57) e os RNs não expostos (N = 99), assim como no sangue periférico materno, no momento do parto. A média ajustada de TBARS no SCU foi significativamente menor no grupo de RN expostos (63,97, IC_{95%} 39,43-88,50) em comparação com RN não expostos (177,04, IC_{95%} 140,93-213,14, p <0,001; Cohen EF = 0,84, p <0,001), mesmo após ajuste adequado para os seguintes confundidores: psicopatologia materna, QI estimado, intensidade do uso de álcool, nicotina e maconha nos últimos 3 meses, doença infecto-contagiosa na mãe (sífilis, hepatite C ou HIV), acompanhamento pré-natal e presença de companheiro. Já a média ajustada de TBARS não diferiu no grupo das puérperas (p = 0,86). Assim, as mudanças nos níveis de TBARS em EN sugerem que o feto exposto à cocaína mobiliza rotas antioxidantes endógenas, desde muito cedo no desenvolvimento. Neste sentido, acredita-se que o feto conta com um sistema antioxidante endógeno, estimulado pela presença de cocaína, a

Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) (ROGGE et al., 2008; MAO et al., 2011).

2.3 CART e cocaína

Em 1981, um fragmento peptídico de função desconhecida foi isolado por Spiess et al. do hipotálamo de ovinos (SPIESS et al., 1981). Posteriormente, utilizando uma técnica de difusão diferencial de reação em cadeia da polimerase, Douglass et al (1995) descobriram que um RNAm específico do estriado de ratos era intensamente estimulado após a administração de cocaína e anfetamina (ROGGE et al., 2008). Interessantemente, o terminal C do peptídeo codificado por este RNAm continha a sequência identificada anteriormente por Spiess et al. (SPIESS et al., 1981). Desde então o RNAm foi nomeado *Cocaína and Amphetamine Regulated Transcript* ou também conhecido como CART e seus subprodutos denominados CART peptídeos. A partir deste momento, o RNAm CART foi identificado em muitas espécies de mamíferos, incluindo roedores, primatas, bovinos e suínos, bem como em alguns anfíbios e peixes. (ROGGE et al., 2008; STACHOVIACK et al., 2009).

Além disso, foi demonstrado que os peptídeos CART estão implicados em numerosos processos fisiológicos, tais como neuroproteção, compulsão alimentar, sistema de recompensa e reforço (ROGGE et al., 2008). Embora pouco se saiba sobre o processamento pós-translacional de precursores de CART, processar tanto a forma longa (102 aminoácidos) ou curta (89 aminoácidos) do pro-CART resulta em pelo menos dois peptídeos CART biologicamente ativos (STEIN et al., 2006). No entanto, apenas as formas mais curtas são expressas nos seres humanos (DOMINGUEZ, 2006). Ainda, o peptídeo CART pode proporcionar proteção, regulando o sistema imunitário

periférico (BIK et al., 2008; CHANG et al., 2011), facilitando a secreção de outros fatores neurotróficos e induzindo a diferenciação neural de células-tronco (LIU et al., 2011; ZHANG et al., 2012).

Em humanos, a CART é encontrada em muitas áreas, entre elas a VTA no cérebro, sendo secretada no hipotálamo, pituitária, glândulas supra-renais e pâncreas. A CART também pode ser encontrada no sistema circulatório (ROGGE et al., 2008). Estudos em ratos mostram que a CART atravessa rapidamente a barreira hematoencefálica (MAO, 2011) e provavelmente regula a atividade de neurônios nesta área (COUCEYRO et al., 2005).

Sabe-se que a CART desempenha um papel de regulação na homeostase em regiões cerebrais estimuladas por substâncias como a cocaína. A cocaína, entre outras ações, se liga ao DAT, bloqueando-o. Com isso, há um aumento súbito e significativo nos níveis de dopamina na fenda sináptica (HEAL et al, 2014). Em estudos com neuroimagem, usando a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (*Single Photon Emission Computed Tomography*, SPECT) com marcador ^{99m}Tc-TRODAT-1, também se vê menor ligação do TRODAT com o DAT no estriado de humanos usuários de cocaína, demonstrando a maior ocupação do DAT pela cocaína; com isto, fica menos receptor disponível para o TRODAT, pois compete com a cocSPECTaína (SILVA et al., 2014).

A hipótese de que a CART é um regulador homeostático vem sendo cada vez mais evidenciada. O potencial neuroprotetor da CART foi explorado em experimentos com cultura celular. Por exemplo, após injeção de CART, em células expostas à isquemia/reperfusão e também privadas de glicose (simulação de acidente vascular cerebral), a CART foi efetiva em reduzir a apoptose neuronal (QIU et al., 2013). Em outro estudo também com cultura celular, a CART mostrou ter um efeito protetor nas

células beta, contra a glucotoxicidade, promovendo proliferação celular (SATHANOORI et al., 2013)

Sabe-se que a CART produz uma regulação positiva pela proteína de ligação ao elemento de resposta de AMPc, mais conhecida como *cAMP response element-binding protein* (CREB) (ROGGE et al, 2009), uma proteína possivelmente ligada ao desenvolvimento de adição a drogas (FAGERGREN e HURD, 2007; VICENTIC e JONES, 2007; ROGGE et al., 2008). Desta forma, a CART pode ser um potencial alvo terapêutico na adição a SPAs. A CART exerce ação antioxidante, diminuindo os níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), devido às interações envolvendo a glutatona. Além disto, ela está envolvida no processamento de ERO em excesso (MAO, 2011), o que pode ter contribuído para menores níveis de TBARS no SCU dos bebês expostos ao *crack* em nosso estudo anterior. No entanto, não encontramos estudos descrevendo como a CART se distribui no sangue periférico de gestantes, ou se ela circula para o SCU, tampouco como se correlaciona nestes dois sistemas.

3. JUSTIFICATIVA

Estudar os mecanismos que alteram o estresse oxidativo nos RNs, através da utilização da CART, pode contribuir para a compreensão dos mecanismos neurobiológicos envolvidos nas alterações neurocomportamentais descritas nesta população. A análise dos níveis da CART pode confirmar ou não se este antioxidante endógeno vem sendo recrutado nos bebês avaliados nesta linha de pesquisa e se seria uma das justificativas para o menor estresse oxidativo encontrado em nosso estudo anterior. Não temos informações até o momento na literatura especializada a respeito do comportamento deste antioxidante endógeno em bebês expostos ao *crack* intraútero. Da mesma forma, é relevante saber se as puérperas contam com este sistema. Ainda, até o momento, há pouca descrição da correlação entre níveis de CART no SCU e no sangue periférico materno, e, dentro da escassez de dados, amostras compostas por usuárias de SPAs não estão contempladas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

O presente estudo tem como objetivo geral comparar os níveis da CART em díades de puérperas-RNs com e sem EIU ao *crack*, e, assim como comparar os níveis de CART nas respectivas mães, no puerpério imediato.

4.2 Objetivos específicos

- a) Comparar os níveis de CART entre RNs com e sem EIU ao *crack* no SCU.
- b) Avaliar se os níveis de CART no SCU associam-se a variáveis perinatais, além da exposição ao *crack*.
- c) Comparar os níveis de CART entre puérperas com e sem EIU ao *crack* no sangue periférico.
- d) Avaliar se o nível de CART no SCU e no sangue periférico das mães no puerpério imediato associam-se ao consumo de outras substâncias pela mãe durante a gestação, além do *crack*.
- e) Avaliar se o nível de CART no SCU e no sangue periférico das mães no puerpério imediato associam-se à psicopatologia materna, além da exposição ao *crack*.
- f) Avaliar se o nível de CART no SCU e no sangue periférico das mães no puerpério imediato associam-se à doenças infecto-contagiosas na mãe, além da exposição ao *crack*.
- g) Avaliar a correlação entre CART no SCU e CART no sangue periférico materno.

Por questões didáticas, os objetivos específicos a-d estão contemplados no Estudo 1. O objetivo específico “g” está contemplado no Estudo 2.

5. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Neste estudo, o processo de consentimento informado consistiu de um diálogo com as potenciais participantes sobre os objetivos, riscos e benefícios do estudo, além de explicação sobre a participação das mesmas no projeto. Foi fornecido um material impresso com os dados do estudo e foram solicitadas, após aceite para participação no estudo, a leitura e a assinatura do TCLE diferenciado para casos e controles, conforme anexos.

Este estudo está de acordo com a regulamentação 196/96, que regulamenta a pesquisa em seres humanos no Brasil. De acordo com as normas de pesquisa em saúde do Conselho Nacional de Saúde, o exame de fluidos corporais não é invasivo, a entrevista e o exame físico são considerados de risco mínimo para o paciente.

O nível de desconforto previsto para a intervenção é aceitável, e os benefícios potenciais sobretudo ajudam esse nível de desconforto. Este projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa do HCPA (projeto número 11-0095).

6. RESULTADOS

6.1 Artigo 1

Increased Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript cord blood levels in the newborns exposed to crack cocaine in utero

Status: submetido ao periódico *Translational Research* (CAPES A1, FI= 4,557) em 27 de janeiro de 2017.

Em ANEXO 6 o comprovante de submissão.

**Increased Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript cord blood levels in
the newborns exposed to crack cocaine in utero**

Rodrigo Ritter Parcianello¹, Victor Mardini², Keila Maria Mendes Ceresér^{1,3}, Daniel D. Langleben⁴, Fernando Xavier⁵, Maria Lucrecia Scherer Zavaschi², Luis Augusto Paim Rhode^{1,2,6,7}, Flávio Pechansky^{1,7,8}, Carolina Gubert^{3,9}, Claudia Maciel Szobot^{1,2,8}.

¹Graduate Program in Psychiatry and Behavioral Sciences, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, Zip Code 90035-003, Porto Alegre, RS, Brazil.

²Child and Adolescent Psychiatry Service (SPIA), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4º andar, sala 400N, Santa Cecília, Zip Code 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil.

³Laboratory of Molecular Psychiatry and Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia Translacional em Medicina (INCT-TM), HCPA, UFRGS, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Santa Cecília, Zip Code 90035-903, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁴Department of Psychiatry University of Pennsylvania Perelman School of Medicine Philadelphia PA 19104, USA

⁵Program in Biomedical Sciences, Centro Universitário Metodista–IPA, Rua Dona Leonor, 340, Rio Branco, Zip Code 90420-004, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁶ Vice-Coordinator, Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento (INPD), Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 785, 1º andar, sala 6, Ala Sul, Cerqueira Cesar, Zip Code 05403-010, São Paulo, SP, Brazil.

⁷Professor, Department of Psychiatry, UFRGS, Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, Zip Code 90035-003, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁸Center for Drug and Alcohol Research, HCPA, UFRGS, Rua Professor Álvaro Alvim, 400, Rio Branco, Zip Code 90420-020, Porto Alegre, RS, Brazil.

⁹Graduate Program in Biological Sciences, Biochemistry, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2600, Santa Cecília, Zip Code 90035-003, Porto Alegre, RS, Brazil.

E-mail addresses: rrparcianello@hotmail, vmardini@hcpa.edu.br,
keila.cereser@uol.com.br, langlebe@mail.med.upenn.edu,
fernando.coxavier@gmail.com, mzavaschi@gmail.com, lrohde@terra.com.br,
flaviopechansky@gmail.com, gubert.cm@gmail.com, cszobot@gmail.com

Corresponding author:

Rodrigo Ritter Parcianello. Rua Ramiro Barcelos, 2350, sala 400, Santa Cecília,
Zipcode: 90035-903 - Porto Alegre, RS, Brazil. E-mail: rrparcianello@hotmail;
telephone: +55-51-3359-8413; +55-51-3359-8294

Number of words: 3109

Number of Tables: 1

Number of Figures: 1

Last review: 01/23/2017

CART levels and intrauterine crack/cocaine exposure

Abbreviations: CART = Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript, IUE = Intrauterine Exposure, OS = Oxidative Stress, N = newborns, UCB = Umbilical Cord Blood, GLM = Generalized Linear Models, NSDUH = National Surveyor Drug Use and Health, SOD = Superoxide Dismutase, GPx =Glutathione Peroxidase, GSH = Reduced Glutathione, TRAP = Total Reactive Antioxidant Potential, *d* =Cohen Effect Size, EN = Exposed Newborns, NEN = Non-Exposed Newborns, VTA = Ventral Tegmental Area, CREB = cAMP Response Element-Binding Protein, H₂O₂ = Hydrogen Peroxide, ORS = Oxygen-Reactive Species, HCPA = Hospital de Clínicas de Porto Alegre, HMIPV = Hospital Materno Infantil Presidente Vargas, GA = Gestational Age, vs = Versus, BSCUP = Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário, FACT = Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy, IQ = Intelligence Quotient, WAIS = Wechsler Adult Intelligence Scale, MINI = Mini International Neuropsychiatric Interview, ASSIST = Alcohol, Smoking and Substances Involvement Screening Test, ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, DAT = Dopamine Transporter.

Abstract

Background: Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) is an endogenous antioxidant present since the embryonic period. CART is activated by high levels of dopamine and might be of interested in understanding the changes in the REDOX system associated with crack/cocaine intake. The goal of this study was to determine whether exposure to crack in utero is associated with increased CART levels.

Methods: In this cross-sectional study with consecutive sampling, we compared the umbilical cord blood (UCB) CART levels ($\mu\text{g/mL}$) of newborns exposed to crack/cocaine in utero (EN, $n=57$) to levels in non-exposed newborns (NEN, $n=99$). In addition, we compared serum CART levels between EN and NEN mothers, in the immediate postpartum period. Potential confounders, such as perinatal data (e.g. weight, Apgar, etc.), psychopathology (DSM-IV) and use of drugs other than crack (ASSIST) were assessed. **Results:** According to General Linear Model analysis, the adjusted mean CART was significantly higher in EN (0.180, 95%CI 0.088 – 0.272) than in NEN (0.048, 95%CI 0.020 -0.076; $p < 0.002$; $d= 0.68$). The difference in CART levels between EN and NEN mothers was not significant ($p \geq 0.05$). **Conclusion:** The increase in CART levels in EN UBC suggests a response to crack/cocaine induced oxidative stress during embryonic period, as a potential attempt of neuroprotection. In adult women in puerperium, however, this endogenous antioxidant recruitment does not seem to operate.

Keywords: CART, crack cocaine, pregnancy, umbilical cord blood, newborn, oxidative stress

1. Introduction

Maternal cocaine abuse is a global public health problem. Data from the US, Spain and Brazil suggest that a sizeable proportion of all women of childbearing age are abusing cocaine. For example, in the United States, 5.4% of women of childbearing age (15-44 years old) were drug users in 2012 and 2013.¹ In Spain, the prevalence of cocaine use in the last pregnancy trimester, based on hair analysis, was 6.4%² and in Brazil, the prevalence of cocaine use during pregnancy based on meconium analyses and self-report was 4.6%.³

In most studies, prenatal crack/cocaine exposure is associated with neurobehavioral deficits during childhood and adolescence.^{4,5} While majority of studies support this hypothesis, clinical research is inconclusive about the nature and severity of the deficits.⁶ Given the high prevalence of cocaine abuse among women of childbearing age in the US and other countries, it is critical to identify the mechanisms of cocaine effects on the newborn and identify early biomarkers of cocaine-related injury.

Cocaine affects the regulation of REDOX system.^{7,8} Studies in mice, for example, showed that daily administration of crack/cocaine reduces glutathione levels in hippocampus.⁹ Crack/cocaine also induces oxidative stress (OS) through its metabolites, such as norcocaine, nitroxide, N-hydroxy norcocaine and norcocaine nitrosonium.¹⁰ Zaparte et al. (2015)¹¹ investigated the serum levels of carbonyl protein, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), reduced glutathione (GSH), total reactive antioxidant potential (TRAP) in 30 non pregnant female patients hospitalized for crack/cocaine dependence. They found higher levels of protein carbonyl and total content of thiols in the patients after four days of abstinence and significantly lower levels of SOD, GPx, GSH and TRAP when compared to controls.

The OS has been studied in crack/cocaine exposure during pregnancy. Crack/cocaine causes vasoconstriction of the uterine and placental vessels,^{12,13,14,15} leading to hypoxia and increase in oxidative stress (OS) to the fetus.¹⁶ Lipton et al. (2003)¹⁷ demonstrated that, after cocaine injection in pregnant rats, their fetuses had a 16.38% reduction in brain glutathione levels, suggesting a greater recruitment of the antioxidant system. Data for pregnant women and their babies are scarce, despite the available studies on OS and crack/cocaine in humans.^{18,19}

Recently, we compared TBARS levels and other biomarkers in umbilical cord blood (UCB) between newborns exposed to intrauterine crack/cocaine (EN, N = 57) and non-exposed newborns (NEN, N = 99). In addition to this, we also compared the same variables in the newborn's mothers (peripheral blood, at immediate post-partum). Surprisingly, the adjusted mean TBARS in the UCB was significantly lower in EN group (63.97, 95% CI 39.43 - 88.50) compared to NEN (177.04, 95% CI 140.93 - 213.14, $p < 0.001$; $d = 0.84$, $p < 0.001$), even considering the following confounders: maternal psychopathology, estimated IQ, intensity of alcohol use, nicotine and marijuana use in the last three months, infectious disease in mother (syphilis, hepatitis C or HIV), prenatal care and marital status. There was no difference for TBARS between the mother's groups ($p = 0.86$). Thus, these changes in EN TBARS related to intrauterine crack/cocaine exposure suggest that endogenous antioxidants defenses might be put in action very early in the development. Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) could have a participation in this fetus response, since it is activate by high levels of dopamine, as promoted by cocaine intake.¹⁸

CART is found in many brain areas, including the ventral tegmental area (VTA). It is released by hypothalamus, pituitary, adrenal glands and pancreas. CART can also be found in the circulatory system. Studies in rats show that CART readily crosses the

blood-brain barrier¹⁹ and presumably regulates the activity of neurons in this area.²⁰ CART has an antioxidant action, decreasing the hydrogen peroxide levels (H₂O₂), and it also removes the reactive oxygen species (ROS) excess.²¹ Therefore, CART might have contributed to the lower TBARS levels in UCB of crack/cocaine exposed newborns in our previous study. The objective of this study is to deepen our previous TBARS findings, by comparing CART levels in the same sample (57 dyads of newborn/mother at immediate post-partum with crack/cocaine exposure and 99 control dyads). The hypothesis was that CART levels would be increased in newborns with history of intrauterine crack/cocaine exposure in comparison to non-exposed newborns.

2. Materials and methods

Data were collected at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) and Hospital Materno Infantil Presidente Vargas (HMIPV), in the city of Porto Alegre, Brazil, from January 2012 to September 2013. Both are university hospitals and reference institutions for high-risk pregnancy. All mothers provided written informed consent in postpartum period and the Ethics Committee in Research of the participating institutions approved the protocol.

2.1 Study design and sample

This was a cross-sectional study. History of crack/cocaine exposure was the independent variable and the outcome measure was serum levels of CART in UCB. As a secondary outcome, CART level was evaluated in the newborns' mothers' serum in the immediate postpartum period.

Mother/newborn dyads with a history of crack/cocaine exposure underwent consecutive sampling at the maternity hospital (HMIPV). During the study period, 2,228 births occurred in HMIPV. All admitted women were screened for substance abuse upon admission using self-report. By delivery time, we were able to recruit 62

participants –those who admitted crack use during prenatal care, or opened the information for the doctors at labor time. However, the total number of women with crack use during pregnancy was 105 (prevalence of 4.7%). We recruited just 62 (59%) mostly because many of them denied any gestational drug use at delivery time (maybe, fearing legal consequences, such as custody); also, in Brazil, drug use is not usually screened during pregnancy. After the labor, the information was revealed by family members, or even by the women, but than it was too late to include in our study. From these 62 mothers we were able to identify in time, 5 refused to participate. Thus our case sample was comprised by 57 newborns and their mothers. To determine the profile of the pregnant crack/cocaine users who were not identified in time (41%), we used medical records to compare maternal age, education level, ethnicity, marital status, prenatal care, the mode of delivery and the presence of infectious diseases (hepatitis C, syphilis and / or HIV) between participants and non-participants. We also compared Apgar scores at 1 and 5 minutes, newborn weight and gestational age (GA) in the neonatal examination. Newborn weight was significantly lower in mothers who did not participate in the study (2,653.46 g vs 2,878.09 g, $p = 0.02$), as was the GA (37.30 [SD 2:50] vs 38.64 [SD 2.4] weeks, $p = 0.02$) and absence of prenatal care ($p = 0.02$), with no other significant inter-group differences (data available upon request).

The control sample of newborns and mothers without a history of crack/cocaine exposure was obtained from a group of pregnant women in the HCPA umbilical cord and placental blood bank project (Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário, BSCUP). During the study period, 6,312 births occur at HCPA. Of this total, 1,050 pregnant women (16.6%) were selected for inclusion using a systematic approach. Out of the seven hundred and seventy, 770 (73.3%) were eligible to collect BSCUP data, according to the Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT) criteria.²²

Among the 770 eligible women, the umbilical cords of 112 (14.5%) were discarded by BSCUP due to low cellularity and/or low blood volume, and invited for the control group. Of these 112 potential participants, 99 (88.3%) entered in the study. Losses (11.7%) were due to refusal, or because the mother and the newborn had been discharged from the hospital before the research team could invite them to participate.

To check the representativeness of the mothers included in the control group, we randomly selected 68 (10.3%) pregnant women whose UCB were collected during the study period and kept in BSCUP and we reviewed their medical records. We compared the age, ethnicity, prenatal care and mode of delivery of these women with the mothers included in the control group. We also compared newborn gender, need for hospitalization, Apgar scores at 1 and 5 minutes, birth weight, GA in neonatal examination and classification of size for GA. There were significant differences in the newborn weight (3,144.79 [SD 438.39] g in controls study vs. 3,357.35 [SD 418.87] g other donors; $p = 0.002$) and GA in neonatal examination (38.86 [SD = 1.24] weeks of newborns study against 39.26 [SD = 1.15] weeks among newborns not included; $p = 0.04$). No other significant differences were found (data available upon request).

Inclusion criteria for the case group were history of maternal crack/cocaine use and age between 18-45 years. Exclusion criteria were inability to understand and complete the neuropsychiatric questionnaires in the immediate postpartum period. The inclusion and exclusion criteria for controls were based on the FACT criteria.²² All mothers included in the control group were confirmed as non-drug users by self-report and urinary tests (Bioeasy@cocaine test, Alegre™, Brazil).

2.2 Instruments and variables

The study factor was a history of crack/cocaine use during pregnancy and the outcome measure was serum CART levels (at UCB and mothers' peripheral blood;

serum for both of them). Potential confounders were: maternal intelligence quotient (IQ), maternal psychopathology, use of other psychoactive substances in the last 3 months and demographic and perinatal data. The maternal IQ was estimated using the subtests cube and vocabulary of the Wechsler Adult Intelligence Scale, 3rd edition (WAIS-III).^{23,24} Maternal psychopathology was assessed using the Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI), Brazilian version 5.0.0 / DSM-IV / Current.²⁵ History of psychoactive drug use in the last 3 months was based on Alcohol, Smoking and Substances Involvement Screening (ASSIST).²⁶ Socioeconomic status was based on the criteria set forth by Associação Brasileira de Anunciantes (ABA) and Associação Brasileira de Institutos de Pesquisa de Mercado (ABIPEME), which provides 5 levels, from A (highest) to E (lower). We further dichotomized the 5 levels into high socioeconomic status (classes A and B) or low socioeconomic status (C, D and E).²⁷ Age, self-reported ethnicity, marital status, and other socio-demographic variables were systematically collected through a standard form. Ethnicity was dichotomized as non-white or white. The following neonatal variables were obtained by review of medical records: weight, 1 and 5 minutes Apgar scores, GA at neonatal examination, sex, need for hospitalization and rating for GA. Data on mothers' clinical status (syphilis, HIV and/or hepatitis C), mode of delivery and prenatal care were also collected from medical records. The outcome measures -level of CART in UCB and maternal blood- were collected and assayed as described below.

2.3 Blood collection and processing

Total blood (10 mL) samples were collected by venipuncture into an anticoagulant-free vacuum tube. Immediately after collection, blood samples were centrifuged at 4000 rpm/min for 10 min and serum (from patients and controls) or

plasma (from newborns) was aliquoted, labeled, and stored at -80 °C until the time of testing.

2.4 CART measurement

The CART levels were measured by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). The ELISA assays were performed using commercial kits (Intra-Assay: CV <10%; Inter-Assay: CV <15%) developed by RayBiotech (USA) according to the protocol provided by the manufacturer. Due to the high CART concentration in the samples, they were all diluted 200 times because exceeded the detection limit of the spectrophotometer. The dilution factor was included in the analysis software. The results were expressed in µg/mL. This kit sensibility allows detection of CART levels from $13,5 \times 10^{-6}$ µg/mL.

2.5 Statistical analysis

Values were reported as mean and standard deviation (normal distribution) or median and interquartile range (asymmetric distribution). Categorical variables were described as absolute and relative frequency. Qualitative and quantitative variables were analyzed respectively by chi-square test or Fisher and Student t test for independent samples, when normal distribution; in case of asymmetrical distribution, the Mann-Whitney test was used. The main outcome measure was assessed using the generalized linear model (GLM) analysis (gamma distribution) and confounding factors were determined based on statistical criteria (association with either study factor and the outcome with a p significance level ≤ 0.2). The significance level was $p \leq 0.05$. The analysis of effect size (Cohen *d*) was used to evaluate the magnitude of the difference derived from GLM. The data were processed and analyzed in SPSS Statistics 18.0.

3. Results

The sample was comprised from 57 newborns exposed to crack/cocaine in utero and 99 non-exposed newborns. Selected characteristics of the newborns and their mothers are shown in Table 1. There was no report of use of intravenous drugs, club drugs, or hallucinogens. There was no difference between groups for gestational age ($p = 0.37$) and newborn gender ($p = 0.72$).

PLEASE INSERT TABLE 1 ABOUT HERE

Main outcome variable: CART level in UCB

In the univariate model, there was a significant difference between the levels of CART between cases (median 0.036, range 1.0967; 0.000268 - 1.097002; $n = 42$) and controls (median 0.01929, range 0.91; 0.005168 – 0.912520; $n = 26$; $p=0.008$, Mann-Whitney U Test). In the GLM analyses, results were adjusted for intensity of alcohol use in the last 3 months (no other variable reached statistic criteria for entering GLM). Adjusted mean CART was significantly higher in newborns exposed to crack/cocaine in utero (0.180, 95%CI 0.088 – 0.272) than in non-exposed newborns (0.048, 95%CI 0.020 -0.076; $p < 0.002$; Wald = 9.44; $d= 0.68$). Alcohol use in the last 3 months had no contribution to this model ($p = 0.589$).

PLEASE INSERT FIGURE 1 ABOUT HERE

Secondary outcome variable: CART level at mothers` peripheral blood in the immediate postpartum

There was no significant difference between crack/cocaine exposed (median = 0.024, range 1.123; 0.006222 – 1.126010; $n = 44$) and non-exposed mothers (0.031, range 3.439; 0.003739 – 3.442805; $n= 90$; $p = 0.08$, Mann-Whitney U Test). Since there was no statistical difference at univariate analysis between groups, we did not perform GLM for this part of the sample.

4. Discussion

This study analyzed CART levels in dyads of mother/newborn with a history of crack/cocaine exposure, compared to dyads unexposed to crack/cocaine. Adjusted mean CART was significantly higher in the exposed newborns. Measuring CART at birth allowed us to avoid the confounding effects of later environmental stress factors, which a common limitation in studies evaluating developmental effects of crack/cocaine effects in humans. Since there was no difference in the postpartum CART levels between the exposed and non-exposed mothers, our findings are consistent with our previous study, where the TBARS levels were decreased in the exposed newborn group, suggesting the involvement of the endogenous antioxidant system.

It is known that CART plays a regulatory role in homeostasis in the brain regions stimulated by substances such as cocaine. One of the key molecular actions of cocaine is binding and blocking the dopamine reuptake transporter (DAT) leading to an acute increase in the dopamine levels in the synaptic cleft.²⁸ Neuroimaging studies using single-photon emission computed tomography (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) with 99mTc-TRODAT-1 marker also show lower DAT binding in the striatum of human cocaine users, implicating in more dopamine in the synaptic cleft.²⁹ In our sample, the higher CART levels in the crack/cocaine exposed newborns may be due to a reaction to the dopamine increase provided by cocaine, which might activate the CART. Since the control group had no dopamine increase, there was no CART activation.

Evidence supporting CART as a homeostatic regulator has increased in the literature. Hubert et al.³⁰ suggested that CART can perform a homeostatic function in the *nucleus accumbens* as opposed to large increases in dopamine signaling due to psychostimulants substances, such as cocaine. In other words, with the increase of

dopamine in the *nucleus accumbens*, CART is released and tends to oppose the dopaminergic action.

It is difficult to compare our findings to similar studies, since they are scarce or nonexistent. CART levels were compared in mother-newborn dyads with and without gestational diabetes mellitus (GDM) (n = 10 per group). In this study, the authors did not find difference in CART neither in UCB levels, nor in pregnant women.³¹ This study is agreement with our finding of no difference in CART levels in the mothers, although our results are based in a bigger sample size. However, results in UCB were different from ours. This disagreement could be explained by several reasons, such sample size and, mostly, difference in the moment and type of fetus stress. In our study, fetuses were under cocaine exposure since early gestational stages, even conception, and GDM usually appears between 24 and 28 weeks of gestation. CART neuroprotective potential has been explored in experiments with cell culture. For instance, CART was injected in cells exposed to ischemia/reperfusion, and also with glucose deprivation and this peptide was effective in reducing neuronal apoptosis.³² There is also evidence that CART has a protective effect against glucotoxicity on beta cells, promoting cell proliferation.³³

The present results must be interpreted with limitations. The sample included polysubstance abusers. However, in order to try to reduce the influence of confounders, the data were adjusted for the use of substances other than cocaine through multivariate analyzes. There was a loss in the screening positive cases (identified as crack user too late to be included in the study). To identify potential sampling bias, we made a careful chart review to analyze the loss profile, concluding that, in case group, the losses probably included the most severe conditions, as described in Methods section. Thus, any assessment bias would be in the direction of underestimation of crack/cocaine

exposure effects. Since we found significant differences in CART levels at UCB, either this bias did not have any influence, or the difference could be even more robust if the lost cases were included. With regard to control mothers, the chart review did not reveal differences. Nevertheless, this study also presents some strengths. We analyzed a difficult to reach population, poorly represented in the literature despite its relevance in public health. The fact of including polydrug women enhances external validation of our data, since that's the reality of most crack/cocaine women.^{2,4} Although children with history of cocaine IU exposure might have developmental changes, and the influence of other environmental stressful events is usually mentioned as a confounder or moderator factor.^{4,5} In our study, CART was measured in UCB. Thus, we present a possible contribution for understanding how fetus brain react to crack/cocaine in the absence of other environmental situations that take place after delivery, such as parental skills.³⁴

Our study provides novel preliminary findings that extend prior research and suggest that CART has neuroprotective activity in the newborns with a history of in utero crack/cocaine exposure.^{32,33} These novel findings may help elucidate the neurobiological pathways responsible for neurodevelopmental changes, and contribute to improvement in the early interventions in mother-infant dyads affected by crack/cocaine.

5. References

1. Center for Behavioral Health Statistic and Quality. Behavioral health trends in the United States: results from the 2014 National Survey on Drug Use and Health. Rockville, Maryland, 2015. (HHS Publication No. SMA 15-4927, NSDUH Series H-50). Available from:
URL:<http://www.samhsa.gov/data/sites/default/files/NSDUH-FRR1-2014/NSDUH-FRR1-2014.pdf>
2. Friguls B, Joya X, Garcia-Serra J, et al. Assessment of exposure to drugs of abuse during pregnancy by hair analysis in a Mediterranean island. *Addiction* 2012;107(8):1471-9.
3. Cunha GB, Rotta NT, Silva AR, et al. Prevalence of prenatal exposure to cocaine in a sample of newborns from a university teaching hospital. *J Pediatr (Rio J)* 2001;77(5):369-73.
4. Lester BM, Tronick EZ, LaGasse L, et al. The maternal lifestyle study: effects of substance exposure during pregnancy on neurodevelopmental outcome in 1-month-old infants. *Pediatrics* 2002;110(6):1182-92.
5. Min MO, Minnes S, Lang A, et al. Externalizing behavior and substance use related problems at 15 years in prenatally cocaine exposed adolescents. *J Adolesc* 2014;37(3):269-79.
6. Betancourt LM, Yang W, Brodsky NL et al. Adolescents with and without gestational cocaine exposure: Longitudinal analysis of inhibitory control, memory and receptive language. *Neurotoxicol_Teratol*. 2011;33(1):36-46.

7. Uys JD, Knackstedt L, Hurt P et al. Cocaine induced adaptations in cellular redox balance contributes to enduring behavioral plasticity. *Neuropsychopharmacology* 2011;36:2551–60.
8. Uys JD, Mulholland PJ, Townsend DM. Glutathione and redox signaling in substance abuse. *Biomed Pharmacother* 2014;68(6):799-807.
9. Muriach M, López-Pedrajas R, Barcia JM, Sanchez-Villarejo MV, Almansa I, Romero FJ. Cocaine causes memory and learning impairments in rats: involvement of nuclear factor kappa B and oxidative stress, and prevention by topiramate. *J Neurochem* 2010;114(3):675-84.
10. 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.
11. Zaparte A, Viola TW, Grassi-Oliveira R et al. Early abstinence of crack-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology (Berl)* 2015;232(8):1405-13.
12. Dolkart LA, Plessinger MA, Woods JRJ. Effect of Alpha 1 receptor blockade upon maternal and fetal cardiovascular responses to cocaine. *Obstet Gynecol* 1990;75(5):745-51.
13. Lipton JW, Vu TQ, Ling Z, Gyawali S, Mayer JR, Carvey PM. Prenatal cocaine exposure induces an attenuation of uterine blood flow in the rat. *Neurotoxicol Teratol* 2002;24(2):143-8.
14. Patel TG, Laungani RG, Grose EA, Dow-Edwards DL. Cocaine decreases uteroplacental blood flow in the rat. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21(5):559-65.
15. Woods JR. Cardiovascular effects of cocaine in pregnancy and on the fetus. *NIDA Res Monogr* 1992;119:111-5.

16. Hargrave B, Castle MC. Intrauterine exposure to cocaine increased plasma ANP (Atrial Natriuretic Peptide) but did not alter hypoxanthine concentrations in the sheep fetus. *Life Sci* 1995;56(20):1689-97.
17. Lipton JW, Gyawali S, Borys ED, Koprach JB, Ptaszny M, McGuire SO. Prenatal cocaine administration increases glutathione and alpha-tocopherol oxidation in fetal rat brain. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;30:147(1-2):77-84.
18. Mardini V. Avaliação dos níveis séricos de IL-6, IL-10, BDNF e TBARS em gestantes usuárias de crack e no sangue do cordão umbilical dos seus filhos. Tese (doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas: Psiquiatria, Porto Alegre, Brasil, Rio Grande do Sul, 2016. 134 p.
19. Mao P. Potential antidepressant role of neurotransmitter CART: Implications for mental disorders. *Depress Res Treat* 2011: 762139.
20. Couceyro PR, Evans C, McKinzie A et al. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptides modulate the locomotor and motivational properties of psychostimulants. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;315(3):1091-100.
21. Mao P, Meshul CK, Thuillier P, Goldberg NR, Reddy PH. CART peptide is a potential endogenous antioxidant and preferentially localized in mitochondria. *PLoSOne* 2012;7(1):e29343.
22. Netcord & FACT. International Standards For Cord Blood Collection, Banking, And Release For Administration. (2012).
23. do Nascimento E, de Figueiredo VLM. WISC-III e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. *Psico. Reflexão e Crítica* 2002;15:603–612.
24. Wechsler D. WAIS-III: Escala de Inteligência Wechsler para Adultos. (Casa do

Psicologo, 2004).

25. Amorim P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevistabreve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev Bras Psiquiatr* 2000;22:106–115.

26. Henrique IFS., de Micheli D, de Lacerda RB, de Lacerda LA, Formigoni MLOS [Validation of the Brazilian version of Alcohol, Smoking and Substance InvolvementScreening Test (ASSIST)]. *Rev Asso Med Bras* 2004;50(2):199–6.

27. Mattar FN. Análise crítica dos estudos de estratificação sócio-econômica da ABAAbipeme. *Rev Adm* 1995;57–74.

28. Heal DJ, Gosden J, Smith SL. Dopamine reuptake transporter (DAT) "inverse agonism"-a novel hypothesis to explain the enigmatic pharmacology of cocaine. *Neuropharmacology* 2014; 87:19-40.

29. Silva N Jr, Szobot CM, Shih MC et al. Searching for a neurobiological basis for self-medication theory in ADHD comorbid with substance use disorders: an in vivo study of dopamine transporters using (99m)Tc-TRODAT-1 SPECT. *Clin Nucl Med* 2014;39(2):e129-34.

30. Hubert GW, Jones DC, Moffett MC, Rogge G, Kuhar MJ. CART peptides as modulators of dopamine and psychostimulants and interactions with the mesolimbic dopaminergic system. *Biochem Pharmacol* 2008;75(1):57-62.

31. Hehir MP, Laursen H, Higgins MF, Brennan DJ, O'Connor DP, McAuliffe FM. Maternal and fetal cocaine- and amphetamine-regulated transcript in diabetic and non-diabetic pregnancy. *Gynecol Endocrinol* 2012; 28(9):682-5.

32. Qiu B, Hu S, Liu L, Chen M, Wang L, Zeng X, Zhu S. CART attenuates endoplasmic reticulum stress response induced by cerebral ischemia and reperfusion

through upregulating BDNF synthesis and secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;436(4):655-9.

33. Sathanoori R, Olde B, Erlinge D, Göransson O, Wierup N. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) protects beta cells against glucotoxicity and increases cell proliferation. *J BiolChem* 2013; 288(5):3208-18.

34. Parolin M, Simonelli A, Mapelli D, Sacco M, Cristofalo P. Parental Substance Abuse As an Early Traumatic Event. Preliminary Findings on Neuropsychological and Personality Functioning in Young Drug Addicts Exposed to Drugs Early. *Front Psychol* 2016;7:887.

Table 1. Sociodemographic and clinical characteristic of pregnant crack/cocaine users and their newborns in comparison to a control group

Infant variables	EN (N=57) Mean (SD)	NEN (N=99) Mean (SD)	<i>p</i>
Weight, G	2,882.15 (473.32)	3,144.80 (439.39)	0.001
Apgar, 1-minute	7.8 (2.12)	8.41 (1.31)	0.032
Apgar, 5-minute	8.94 (1.24)	9.38 (0.74)	0.007
Maternal variables	Cases (N=57) Mean (SD)	Controls (N=99) Mean (SD)	<i>p</i>
Ethnicity, N (%)			
White	17 (32.1)	74 (76.3)	<0.001
Non-white	36 (67.9)	23 (23.7)	
IQ	77.39 (8.75)	84.17 (9.59)	<0.001
Educational attainment, n (%)			
Some primary, completed primary, or some secondary	39 (81.3)	51 (53.1)	
Completed secondary, some higher, or completed higher	9 (18.8)	45 (53.1)	0.002
Prenatal care, N (%)*	36 (73.5)	99 (100)	<0.001
Presence of infectious diseases, N (%)* (syphilis, HIV, and/or hepatitis C)	26 (46.4)	0	<0.001
Marital status (married/cohabiting), N (%)*	29 (50.9)	94 (94.9)	<0.001
Socioeconomic status N(%)			
High (class A or B)	6 (11.8)	18 (18.8)	0.019
Low (class C, D or E)	45 (88.2)	78 (81.3)	
Drug use by mothers during pregnancy - ASSIST total score**			
	Cases	Controls	
Total score for nicotine***	17.50 (0-31)	0.00 (0-39)	<0.001
Total score alcohol***	6.00 (0-33)	0.00 (0-11)	<0.001
Total score for cannabis***	0.00 (0-25)	-	-
Presence of current psychopathology in mothers			
	Cases	Cases	
MINI positive for any diagnosis, N (%)	25 (61.0)	32 (33.3)	0.005

*Fisher's exact test; **Based on ASSIST; ***Mann-Whitney *U* test; median and range; EN = newborns exposed to crack/cocaine in utero; NEN = non-exposed newborns; UBC = umbilical blood cord;

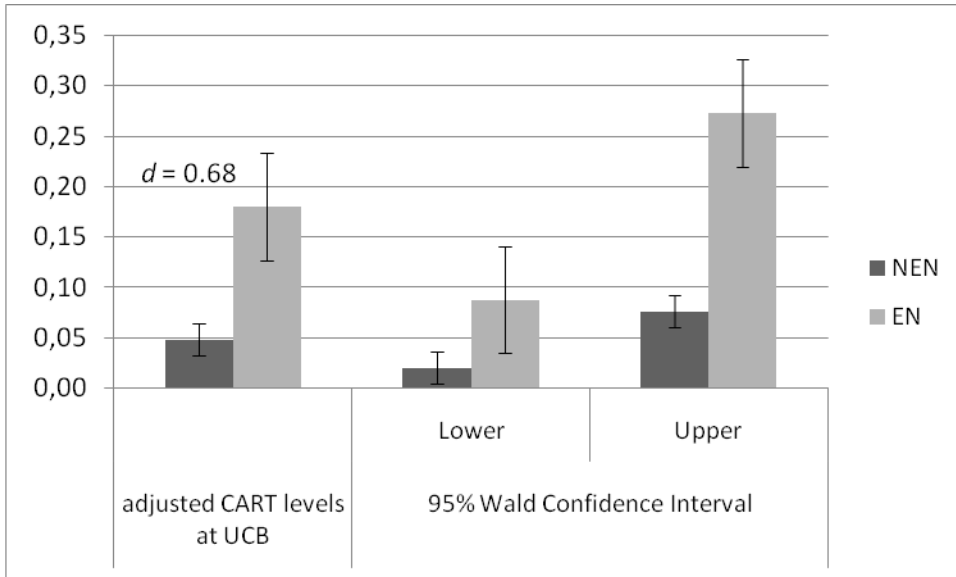


FIGURE 1: Mean CART levels (µg/mL) at UCB adjusted for intensity of alcohol in the last 3 months

d = Cohen effect size. EN= newborns with crack/cocaine intrauterine exposure; NEN= newborns with no crack/cocaine intrauterine exposure; UCB = umbilical cord blood; CART: Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript

Acknowledgments

We acknowledge all participants who took part in the present study and CAPES-PNPD (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Programa Nacional de Pós-Doutorado), edital 10/2009 and FIPE-HCPA (Fundo de Incentivo à Pesquisa-Hospital de Clínicas de Porto Alegre) for providing funding to this research.

Conflicts of interest: Luis Augusto Rohde has been on the speakers' bureau and/or acted as a consultant for Eli Lilly, Janssen-Cilag, Novartis, and Shire, and receives royalties from Oxford Press and Artmed. The ADHD and Juvenile Bipolar Disorder Outpatient Programs chaired by Luis Augusto Rohde has received unrestricted educational and research support from the following pharmaceutical companies: Eli Lilly, Janssen-Cilag, Novartis, and Shire. Claudia M. Szobot has been on the speakers' bureau of Novartis. Dr. Langleben served as a consultant for Alkermes Inc. No relevant conflicts to disclose. The other authors have no conflicts of interest to declare.

6.2 Artigo 2

Comparação dos níveis séricos da Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) entre sangue de cordão umbilical e sangue periférico em gestantes usuárias de crack

Comparison between serum levels of Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) from umbilical cord blood and peripheral blood of pregnant crack users

Status: aceito no periódico Revista Brasileira de Psicoterapia (RBP) em 31 de janeiro de 2017.

Em ANEXO 7 o comprovante de aceite.

Comparação dos níveis séricos da Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) entre sangue de cordão umbilical e sangue periférico em gestantes usuárias de crack

Comparison between serum levels of Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) from umbilical cord blood and peripheral blood of pregnant crack users

Rodrigo Ritter Parcianello¹, Victor Mardini^{1,2}, Keila Maria Mendes Ceresér^{1,3}, Fernando Xavier⁴, Maria Lucrécia Scherer Zavaschi^{1,2}, Luis Augusto Paim Rhode^{1,2,5,6}, Flávio Pechansky^{1,6,7}, Pâmela Ferrari³, Claudia Maciel Szobot^{1,2,7}.

¹Programa de Pós-Graduação em Psiquiatria e Ciências do Comportamento da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, CEP 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

²Serviço de Psiquiatria da Infantil e Adolescente (SPIA), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Rua Ramiro Barcelos, 2350, 4º andar, 400N sala, Santa Cecília, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

³Laboratório de Psiquiatria Molecular, HCPA, UFRGS, Rua Ramiro Barcelos, 2350, Santa Cecília, CEP 90035-903, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴Programa em Ciências Biomédicas, Centro Universitário Metodista-IPA, Rua Dona Leonor, 340, Rio Branco, CEP 90420-004, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁵Vice-Coordenador, Instituto Nacional de Psiquiatria do Desenvolvimento (INPD), Rua Dr. Ovídio Pires de Campos, 785, 1º andar, sala 6, Ala Sul, Cerqueira Cesar, CEP 05403-010, São Paulo, SP, Brasil.

⁶Professor, Departamento de Psiquiatria, UFRGS, Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, CEP 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁷Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas (CPAD), HCPA, UFRGS, Rua Professor Álvaro Alvim, 400, Rio Branco, CEP 90420-020, Porto Alegre, RS, Brasil.

⁸Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2600, Santa Cecília, CEP 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço de e-mail: rrpacionello@hotmail, vmardini@hcpa.edu.br, keila.cereser@uol.com.br, fernando.coxavier@gmail.com, mzavaschi@gmail.com, lrohde@terra.com.br, flaviopechansky@gmail.com, pa.ferraribm@gmail.com, cszobot@hcpa.edu.br

Autor correspondente:

Rodrigo Ritter Parcianello
Rua Ramiro Barcelos, 2350, sala 400, Santa Cecília, CEP 90035-903 - Porto Alegre, RS, Brasil

rrpacionello@hotmail
Telephone: +55-51-3359-8413; +55-51-3359-8294

RESUMO

Introdução: No Brasil, o uso de crack permanece um desafio à saúde pública devido à facilidade de aquisição da droga e sua elevada capacidade de induzir dependência. A exposição intrauterina (EIU) à cocaína está associada a alterações neurocomportamentais durante a infância e adolescência. Em estudo prévio do nosso grupo, achou-se menor nível de estresse oxidativo (EO) em recém-nascidos (RN) com EIU. Uma possível explicação pode ser a *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript* (CART), um antioxidante endógeno presente desde o período embrionário e ativado por maiores níveis de dopamina. **Objetivo:** Verificar a correlação entre os níveis de CART no sangue de cordão umbilical (SCU) e sangue periférico de 57 gestantes com exposição ao crack. **Métodos:** Trata-se de um estudo transversal, com amostragem consecutiva, em que o desfecho primário foi a correlação entre os níveis de

CART no SCU e sangue periférico materno no pós-parto imediato. Dados gestacionais e perinatais foram sistematicamente coletados. **Resultados:** Houve correlação significativa entre os níveis de CART no sangue de cordão umbilical e sangue periférico materno ($r_s = 0,350$ e $p < 0,05$). **Conclusões:** Estes achados demonstram que tanto os níveis de CART no sangue materno e no SCU se correlacionam. Todavia, não se pode afirmar de quem é a produção, ou se é produzida por ambos. O presente trabalho pode ajudar a elucidar os caminhos neurobiológicos responsáveis pelas alterações de neurodesenvolvimento, contribuindo para a ampliação das possibilidades de intervenções precoces.

Palavras-chave: CART, crack, gestação, sangue de cordão umbilical, bebê, estresse oxidativo.

SUMMARY

Introduction: In Brazil, the use of crack cocaine remains a public health challenge, due to easy drug acquisition and its high ability to induce dependence. Intrauterine exposure (IUE) to crack cocaine is associated with neurobehavioral changes during childhood and adolescence. In a previous study of our group, lower levels of oxidative stress (OS) were found in newborns with IUE. One possible explanation may be the Cocaine and Amphetamine Regulator Transcript (CART), an endogenous antioxidant present since the embryonic period activated by higher levels of dopamine. **Objective:** The aim of this study is to investigate the correlation of CART levels between umbilical cord blood (UCB) and peripheral blood samples of 57 pregnant women exposed to crack. **Methods:** This is a cross-sectional study with a consecutive sampling, in which the primary outcome was the correlation between CART levels at UCB and peripheral blood of their mothers in immediate postpartum. Gestational and perinatal data were

systematically collected. Spearman correlation test was performed after checking the pattern of distribution, being considered a 0.05 significance level. **Results:** There was a significant correlation between CART levels in umbilical cord blood and peripheral blood ($r_s = 0.350$ and $p < 0.05$). **Conclusions:** These findings suggest a correlation between CART levels at UCB and mother's blood. However, it remains unclear whether it is produced by the mother, the fetus, or both. This study may help to elucidate the neurobiological pathways responsible for neurodevelopmental changes, providing a rationale for early interventions.

Keywords: CART, crack cocaine, pregnancy, umbilical cord blood, newborn, oxidative stress

INTRODUÇÃO

O abuso de substâncias psicoativas (SPAs) é um dos problemas mais importantes em saúde pública da atualidade. As mulheres representam aproximadamente 30% da população de usuários de cocaína (*National Survey on Drug Use and Health* (NSDUH)). Em 2012 e 2013, nos Estados Unidos, 5,4% das gestantes entre 15-44 anos de idade eram usuárias de drogas. ¹

A exposição pré-natal à cocaína está associada a problemas neurocomportamentais durante a infância e adolescência. ^{2,3} Os efeitos prejudiciais da exposição intra-uterina à cocaína não se restringem às doenças mentais, com evidências de efeitos sistêmicos, ⁴ com mecanismos neurobiológicos ainda pouco elucidados. A cocaína pode desregular o sistema REDOX. ^{5,6} Estudos em roedores, por exemplo, mostraram que a administração diária de cocaína pode estar associada à diminuição dos níveis de glutathione no hipocampo. ⁷ A cocaína promove contração dos vasos uterinos e placentários, ^{8,9,10,11} podendo provocar hipóxia no feto, aumentando, assim, o estresse

oxidativo (EO).¹² Outra forma de a cocaína induzir o EO é através da toxicidade de seus metabólitos, como a norcocaína, o nitróxido, a N-hidroxicocaína, a norcocaína-nitrosônio, entre outros.¹³

O EO vem sendo estudado na situação de exposição à cocaína durante a gestação. Lipton et al. (2003),¹⁴ demonstraram que, após uma injeção de cocaína em ratas grávidas, seus fetos apresentaram uma redução de 16,38% no nível de glutatona cerebral, sugerindo maior recrutamento do sistema antioxidante. Zaparte, et al. (2015),¹⁵ pesquisaram os níveis séricos de proteína carbonil, conteúdo proteico de tióis, superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx), glutatona reduzida (GSH) e potencial reativo antioxidante total (TRAP) em 30 mulheres não-gestantes internadas por dependência ao uso de crack. Os autores encontraram níveis elevados de proteína carbonil e conteúdo total de tióis nas pacientes após quatro dias de abstinência, e níveis significativamente mais baixos de SOD, GPx, GSH e TRAP, quando comparados aos controles. Em conjunto, esses dados sugerem que mulheres dependentes de crack podem apresentar, ao internar, um aumento no EO. Apesar dos estudos disponíveis sobre EO e cocaína em humanos,^{16,17} dados referentes a gestantes e seus bebês ainda são escassos.

Recentemente, o nosso grupo comparou níveis de TBARS (um marcador de estresse oxidativo), entre outros biomarcadores, no sangue do cordão umbilical (SCU) entre os recém-nascidos expostos ao crack intraútero (RNE, N = 57) e os recém-nascidos não expostos (RNNE, N = 99), assim como no sangue periférico materno, no momento do parto. A média ajustada de TBARS no SCU foi significativamente menor no grupo de RNE (63,97, IC_{95%} 39,43-88,50) em comparação com RNNE (177,04, IC_{95%} 140,93-213,14, p <0,001; Cohen EF = 0,84, p <0,001), mesmo após ajuste adequado para os seguintes confundidores: psicopatologia materna, QI estimado,

intensidade do uso de álcool, nicotina e maconha nos últimos 3 meses, doença infecto-contagiosa na mãe (sífilis, hepatite C ou HIV), acompanhamento pré-natal e presença de companheiro. Já a média ajustada de TBARS não diferiu no grupo das puérperas ($p = 0,86$). Assim, as mudanças nos níveis de TBARS em EN sugerem que o feto exposto à cocaína mobiliza rotas antioxidantes endógenas, desde muito cedo no desenvolvimento. Neste sentido, acredita-se que o feto conta com um sistema antioxidante endógeno, estimulado pela presença de cocaína, a *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART)*.¹⁸

A CART é encontrada em muitas áreas, entre elas a área tegumentar ventral (ATV) no cérebro, sendo secretada no hipotálamo, pituitária, glândulas supra-renais e pâncreas. A CART também pode ser encontrada no sistema circulatório.¹⁹ Estudos em ratos mostram que a CART atravessa rapidamente a barreira hematoencefálica²⁰ e provavelmente regula a atividade de neurônios nesta área.²¹ Sabe-se que a CART produz uma regulação positiva pela proteína de ligação ao elemento de resposta de AMPc, mais conhecida como *cAMP response element-binding protein (CREB)*,²² uma proteína possivelmente ligada ao desenvolvimento de adição a drogas.^{19,23,24} Desta forma, a CART pode ser um potencial alvo terapêutico no abuso de SPAs. A CART exerce ação antioxidante, diminuindo os níveis de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), devido às interações envolvendo a glutathione. Além disto, ela está envolvida no processamento de espécies reativas de oxigênio (ERO) em excesso,²⁰ o que pode ter contribuído para menores níveis de TBARS no SCU dos bebês expostos ao crack em nosso estudo anterior. No entanto, não encontramos estudos descrevendo como a CART se distribui no sangue periférico de gestantes, ou se ela circula para o SCU, tampouco como se correlacionam nestes dois sistemas.

Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar a correlação entre os níveis séricos de CART no SCU de recém-nascidos com história de exposição intrauterina (EIU) ao crack e no sangue periférico das suas mães no puerpério imediato.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os dados foram coletados no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) e Hospital Materno Infantil Presidente Vargas (HMIPV), na cidade de Porto Alegre, Brasil, a partir de janeiro de 2012 a setembro de 2013. Ambos são hospitais universitários e de referência para gestação de alto risco. Todas as mães forneceram consentimento informado por escrito e o projeto foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa das instituições participantes.

Delineamento e amostra

Trata-se de um estudo transversal, cujo desfecho principal foi a correlação entre os níveis séricos de CART no SCU de recém-nascidos com história de EIU ao crack com os níveis de CART no sangue periférico das suas mães no puerpério imediato.

Os casos vieram do HMIPV, por uma amostragem consecutiva. As gestantes foram questionadas sobre o uso de substâncias de abuso no momento de admissão hospitalar. Durante o período do estudo, 2.228 nascimentos ocorreram no HMIPV e 105 mães (4,7%) foram identificadas como tendo história de uso de crack. Destas, 62 (59%) foram identificadas como usuárias de crack por ocasião do parto e então convidadas a participar no estudo, coletando-se o seu sangue periférico e o SCU do bebê. Perdas ocorreram devido a uma variedade de razões, incluindo a recusa, nenhum relato de uso de crack no momento do parto e ausência de condições técnicas para a coleta de SCU.

Para determinar o perfil das gestantes usuárias de crack que não foram incluídas na amostra (41%) (controle de qualidade das perdas), foram utilizados registros médicos para comparar a idade materna, nível de escolaridade, etnia, a presença de um parceiro,

o estado do acompanhamento pré-natal, o tipo de parto e a presença de doenças infecciosas (hepatite C, sífilis, e / ou HIV) entre participantes e não participantes. Também se compararam os escores de Apgar no 1º e 5º minutos, o peso do RN e a idade gestacional (IG) no exame neonatal. O peso dos recém-nascidos foi significativamente menor em mães que não participaram no estudo (2.653,46 vs. 2.878,09 g, $p = 0,02$), assim como foi a IG (37,30 [DP 2,50] vs. 38,64 [DP 2,4] semanas, $p = 0,02$) e a realização ou não de atendimento pré-natal ($p = 0,02$), sem outras diferenças significativas entre os grupos (dados disponíveis mediante solicitação).

Os critérios de inclusão maternos para os casos foram história de uso de crack e idade entre 18-45 anos. Os critérios de exclusão foram incapacidade de compreender e preencher os questionários neuropsiquiátricos no período pós-parto imediato.

Instrumentos e variáveis

O QI foi estimado usando os subtestes cubo e vocabulário do *Wechsler Adult Intelligence Scale, third edition* (Escala de Inteligência Wechsler para Adultos); WAIS-III. ^{25,26} Psicopatologia materna foi avaliada usando o *Mini International Neuropsychiatric Interview* (MINI), versão brasileira 5.0.0 / DSM-IV / Current. ²⁷ O MINI é uma entrevista diagnóstica padronizada, de aplicação rápida (em torno de 15 minutos), que explora os principais Transtornos Psiquiátricos do Eixo I com base nos critérios do DSM IV. Uso de substâncias psicoativas foi avaliado com através do Alcohol, Smoking and Substance Involvement Screening Test (ASSIST; Teste de Triage para Álcool, nicotina, maconha, cocaína e outras substâncias (ASSIST). ²⁸ Este instrumento mensura o nível de dependência e contém oito questões, sendo as sete primeiras referentes ao uso e aos problemas relacionados a tabaco, álcool, maconha, cocaína, estimulantes, inalantes, hipnóticos/sedativos, alucinógenos e opiáceos nos últimos três meses; a última questão relaciona-se às drogas injetáveis. O nível

socioeconômico foi baseado no critério ABA / ABIPEME e dicotomizados em alto nível socioeconômico (classes A e B) ou baixo nível socioeconômico (classes C, D e E), com base na escolaridade do chefe da família e quantidade de determinados bens de consumo.²⁹ Idade, etnia auto referida, estado civil, e outras variáveis sócio-demográficas foram sistematicamente coletados por meio de um formulário padrão. A etnia foi dicotomizada como não-branco ou branco. As seguintes variáveis neonatais foram obtidas por revisão de prontuários médicos: peso, índice de Apgar no 1º e 5º minutos, idade gestacional (IG) ao exame neonatal, sexo, necessidade de hospitalização. Os dados sobre a presença de doenças infecto-contagiosas da mãe (sífilis, HIV e / ou hepatite C), tipo de parto e assistência pré-natal, também foram coletados de registros médicos. O nível de medidas de resultados da CART no SCU e sangue materno foram coletados e processados como descrito a seguir.

Coleta e processamento de sangue

O sangue total (10 mL) foi coletado por punção venosa para dentro de um tubo de vácuo livre de anticoagulante. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a 200g/min durante 10 min e o soro foi dividido em alíquotas, etiquetado e armazenado a -80 ° C até ao momento do teste. O sangue da mãe foi coletado em até 24h após o parto. Já o SCU, no pós-parto imediato, como orienta o Protocolo do Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário do Instituto Nacional do Câncer.³⁰ As mensurações foram realizadas no soro.

Mensuração da CART

Os níveis de CART foram medidos pelo método de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Os ensaios de ELISA foram feitos através de kits comerciais (Intra-Assay: CV < 10%; Inter-Assay: CV < 15%) desenvolvidos por RayBiotech (USA), de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante. Devido à alta

concentração de CART nas amostras, todas elas foram diluídas 200 vezes, pois ultrapassavam o limite de detecção do espectrofotômetro. O fator de diluição foi incluído no software de análise. Os resultados foram expressos em µg/mL.

Análise Estatística

Os valores foram descritos como média e desvios-padrão (distribuição normal) ou mediana e intervalo interquartil (distribuição assimétrica). As variáveis categóricas foram descritas como frequência absoluta e relativa. Para verificar possíveis correlações, foi aplicada a correlação de Spearman, após verificação do padrão de distribuição pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. O nível de significância aceito foi de $p \leq 0,05$. Os dados foram processados e analisados em SPSS *Statistics* 18.0.

Resultados

As características da amostra estão descritas na Tabela 1. Aproximadamente 90% dos bebês foi adequada para IG, com peso médio de 2.882,15 (473,32). As mães eram, na maioria, de etnia não branca (67,9%) e 61% apresentavam algum outro diagnóstico psiquiátrico positivo no MINI que não dependência química.

INSERIR TABELA 1 AQUI

Em relação à medida principal de desfecho, correlação CART no sangue de cordão umbilical e periférico das mães usuárias de crack, houve correlação direta e moderada ($r_s = 0,350$; $p = 0,043$).

INSERIR FIGURA 1 AQUI

Discussão

No presente trabalho, encontramos uma correlação direta e significativa da CART no sangue de cordão umbilical e no sangue periférico das mães usuárias de crack. De certa forma, o resultado era esperado, pois tanto o SNC fetal e materno, bem como a placenta ³¹ podem sintetizar mais CART mediante demanda. Todavia, como é uma resposta ao estresse, e a parturiente e o bebê diferem bastante neste sentido

(exemplo: mãe com múltiplos estressores crônicos, com sistemas se resposta possivelmente sendo recrutados e modulados cronicamente), não seria surpreendente não encontrar correlação. Este é um assunto ainda pouco explorado, sobretudo em duplas mães-bebês.

Argüelles e colaboradores (2006) ³² avaliaram EO no sangue de mães e cordão umbilical de seus bebês e encontraram que altos níveis de marcadores de EO maternos correlacionam-se positivamente com os níveis nos seus bebês. No momento do parto, a criança sofre uma agressão em termos de demanda de oxigênio, pois passa de um ambiente de hipóxia (intrauterino) para um ambiente com cerca de quatro vezes mais oxigênio. ³³ Isso pode influenciar na formação de radicais livres durante o parto. O aumento do EO é um processo que envolve alterações fisiológicas, provavelmente resultantes da produção elevada de radicais livres pela placenta; durante a gestação, a placenta induz peroxidação lipídica, sendo os níveis destes peróxidos mais elevados do que os encontrados no sangue periférico materno. ³²

Sabe-se que a CART desempenha um papel de regulação na homeostase em regiões cerebrais estimuladas por substâncias como a cocaína. A cocaína, entre outras ações, se liga ao transportador de dopamina (DAT, dopamine reuptake transporter), bloqueando-o. Com isso, há um aumento súbito e significativo nos níveis de dopamina na fenda sináptica. ³⁴ A hipótese de que a CART é um regulador homeostático vem sendo cada vez mais evidenciada. O potencial neuroprotetor da CART foi explorado em experimentos com cultura celular. Por exemplo, após injeção de CART, em células expostas à isquemia/reperfusão e também privadas de glicose (simulação de acidente vascular cerebral), a CART foi efetiva em reduzir a apoptose neuronal. ³⁵ Em outro estudo também com cultura celular, a CART mostrou ter um efeito protetor nas células beta, contra a glucotoxicidade, promovendo proliferação celular. ³⁶

Desta forma, esse estudo pode contribuir para melhorar as possibilidades de intervenções precoces. Os resultados são consistentes com estudos que implicam o CART como potencial neuroprotetor.^{35,36} Considerando a intervenção precoce em patologias pré-natais, esta pode ser uma área de interesse promissora.

O presente estudo deve ser compreendido no contexto de algumas limitações. Nós não avaliamos o estado nutricional das pacientes, que poderia influenciar nos níveis de CART. Devido ao tamanho amostral, o estudo não tem poder suficiente para avaliar os fatores que podem interferir nas variações da CART; além disso, as informações a respeito do uso de drogas foram avaliadas retrospectivamente, sendo suscetível a viés de informação. Houve uma perda amostral para a seleção da amostra; contudo, tivemos o cuidado de levar em conta esta perda, que provavelmente inclui os casos mais graves. Há alguns *outliers*, conforme figura 1. Lembramos que utilizamos testes não paramétricos para as correlações justamente por este motivo. Porém, este trabalho também apresenta alguns pontos positivos. Apesar das perdas amostrais, houve uma cuidadosa análise do perfil das perdas. O fato de termos dosado a CART no SCU fornece uma medida mais proximal, enquanto o bebê ainda não foi afetado por fatores após o nascimento. Sabe-se que crianças criadas por dependentes químicos estão mais suscetíveis a uma série de estressores, incluindo negligência e trauma.³⁷ Avaliando-se estas crianças posteriormente, sempre é mencionada como uma limitação a dificuldade em diferenciar o que é uma “marca” neurobiológica pela EIU, e o que se deve a diversos estressores que a criança vivencia e que também trazem reflexos neurobiológicos.³⁸ Este trabalho demonstra apenas uma correlação entre os níveis séricos, não responde à pergunta de se a produção de CART do bebê é própria ou produzida pela mãe, por exemplo.

Conclusão

Existe uma correlação entre os níveis séricos de CART no sangue periférico materno e SCU em díades com EIU ao crack. Desta forma, há um sistema antioxidante endógeno atuando desde cedo no feto em desenvolvimento. Se a produção da CART encontrada no SCU é materna, ou oriunda de recursos fetais, segue a ser esclarecido. De qualquer forma, os autores entendem que este achado, agregado a outros estudos, pode contribuir com a reflexão de intervenções precoces para os bebês com EIU ao crack.

Referências

1. Center for Behavioral Health Statistic and Quality. Behavioral health trends in the United States: results from the 2014 National Survey on Drug Use and Health. Rockville, Maryland, 2015. (HHS Publication No. SMA 15-4927, NSDUH Series H-50). Available from: URL:<http://www.samhsa.gov/data/sites/default/files/NSDUH-FRR1-2014/NSDUH-FRR1-2014.pdf>
2. Lester BM, Tronick EZ, LaGasse L, Seifer R, Bauer CR, Shankaran Set al. The maternal lifestyle study: effects of substance exposure during pregnancy on neurodevelopmental outcome in 1-month-old infants. *Pediatrics* 2002;110(6): 1182-92.
3. Min MO, Minnes S, Lang A, Weishampel P, Short EJ, Yoon Set al. Externalizing behavior and substance use related problems at 15 years in prenatally cocaine exposed adolescents. *J Adolesc* 2014;37(3):269-79.
4. Meyer KD, Zhang L. Short- and long-term adverse effects of cocaine abuse during pregnancy on the heart development. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2009;3(1):7-16.
5. Uys JD, Knackstedt L, Hurt P, Tew KD, Manevich Y, Hutchens S, et al. Cocaine induced adaptations in cellular redox balance contributes to enduring behavioral plasticity. *Neuropsychopharmacology* 2011;36:2551-60.

6. Uys JD, Mulholland PJ, Townsend DM. Glutathione and redox signaling in substance abuse. *Biomed Pharmacother* 2014;68(6):799-807.
7. Muriach M, López-Pedrajas R, Barcia JM, Sanchez-Villarejo MV, Almansa I, Romero FJ. Cocaine causes memory and learning impairments in rats: involvement of nuclear factor kappa B and oxidative stress, and prevention by topiramate. *J Neurochem* 2010;114(3):675-84
8. Dolkart LA, Plessinger MA, Woods JRJ. Effect of Alpha 1 receptor blockade upon maternal and fetal cardiovascular responses to cocaine. *Obstet Gynecol* 1990;75(5):745-51.
9. Lipton JW, Vu TQ, Ling Z, Gyawali S, Mayer JR, Carvey PM. Prenatal cocaine exposure induces an attenuation of uterine blood flow in the rat. *Neurotoxicol Teratol* 2002;24(2):143-8.
10. Patel TG, Laungani RG, Grose EA, Dow-Edwards DL. Cocaine decreases uteroplacental blood flow in the rat. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21(5):559-65.
11. Woods JR Jr. Cardiovascular effects of cocaine in pregnancy and on the fetus. *NIDA Res Monogr* 1992;119:111-5.
12. Hargrave B, Castle MC. Intrauterine exposure to cocaine increased plasma ANP (Atrial Natriuretic Peptide) but did not alter hypoxanthine concentrations in the sheep fetus. *Life Sci* 1995;56(20):1689-97.
13. 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.
14. Lipton JW, Gyawali S, Borys ED, Koprach JB, Ptaszny M, McGuire SO. Prenatal cocaine administration increases glutathione and alpha-tocopherol oxidation in fetal rat brain. *Brain Res Dev Brain Res* 2003;30:147(1-2):77-84.

15. Zaparte A, Viola TW, Grassi-Oliveira R, da Silva Morrone M, Moreira JC et al. Early abstinence of crack-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology (Berl)* 2015;232(8):1405-13.
16. Narvaez JC, Magalhães PV, Fries GR, Colpo GD, Czepielewski LS, Vianna P et al. Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. *Neurosci Lett* 2013;7:544:80-4.
17. Sordi AO, Pechansky F, Kessler FH, Kapczinski F, Pfaffenseller B, Gubert C et al. Oxidative stress and BDNF as possible markers for the severity of crack cocaine use in early withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)* 2014;231(20):4031-9.
18. Mardini V, Rohde LA, Ceresér KMM, Gubert CM, da Silva EG, Xavier F, et al. TBARS and BDNF levels in newborns exposed to crack/cocaine during pregnancy: a comparative study. *Rev Bras Psiq* 2017; Brief Communication, <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2016-2035>
in press.
19. Rogge G, Jones D, Hubert GW, Lin Y, Kuhar MJ. CART peptides: regulators of body weight, reward and other functions, *Nature Reviews Neuroscience* 2008; 9(10): 747–758.
20. Mao P. Potential antidepressant role of neurotransmitter CART: Implications for mental disorders. *Depress Res Treat* 2011: 762139.
21. Couceyro PR, Evans C, McKinzie A, Mitchell D, Dube M, Hagshenas L et al. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptides modulate the locomotor and motivational properties of psychostimulants. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;315(3):1091-100.
22. Rogge GA, Jones DC, Green T, Nestler E, Kuhar MJ. Regulation of CART peptide expression by CREB in the rat nucleus accumbens in vivo. *Brain Res* 2009; 1251:42-52.
- 23 Fagergren P, Hurd Y. CART mRNA expression in rat monkey and human brain: relevance to cocaine abuse. *Physiol Behav* 2007; 92 (1–2): 218 225.

24. Vicentic A, Jones DC. The CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) system in appetite and drug addiction. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 320 (2): 499-506.
25. do Nascimento E, de Figueiredo VLM. WISC-III e WAIS-III: alterações nas versões originais americanas decorrentes das adaptações para uso no Brasil. *Psico. Reflexão e Crítica* 2002;15:603–612.
26. Wechsler D. WAIS-III: Escala de Inteligência Wechsler para Adultos. (Casa do Psicólogo,2004).
27. Amorim P. Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevistabreve para diagnóstico de transtornos mentais. *Rev Bras Psiquiatr* 2000;22:106–115.
28. Henrique IFS., de Micheli D, de Lacerda RB, de Lacerda LA, Formigoni M L O.S [Validation of the Brazilian version of Alcohol, Smoking and Substance InvolvementScreening Test (ASSIST)]. *Rev Asso Med Bras* 2004;50(2):199-6.29.
- Mattar FN. Análise crítica dos estudos de estratificação sócio-econômica ABAAbipeme. *Rev Adm* 1995;57–74.
30. BRASIL. Ministério da Saúde. Sangue de cordão umbilical. Disponível em http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/Folder_doacao_sangue_cordao_umbilical_web.pdf. Acessado em 05/01/2017.
- 31 Pazos P, Lima L, Diéguez C, García MC. Energy Balance Regulating Neuropeptides Are Expressed through Pregnancy and Regulated by Interleukin-6 Deficiency in Mouse Placenta. *Int J Endocrinol.* 2014;537603.
32. Argüelles S, Machado MJ, Ayala A, Machado A, Hervías B. Correlation between circulating biomarkers of oxidative stress of maternal and umbilical cord blood at birth. *FreeRadic Res* 2006;40(6):565-70.
33. Muller DPR. Free radical problems of the newborn. *Proc Nutr Soc* 1987;46:69–75.

34. Heal DJ, Gosden J, Smith SL. Dopamine reuptake transporter (DAT) "inverse agonism"-a novel hypothesis to explain the enigmatic pharmacology of cocaine. *Neuropharmacology* 2014;87:19-40.
35. Qiu B, Hu S, Liu L, Chen M, Wang L, Zeng X, Zhu S. CART attenuates endoplasmic reticulum stress response induced by cerebral ischemia and reperfusion through upregulating BDNF synthesis and secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;436(4):655-9.
36. Sathanoori R, Olde B, Erlinge D, Göransson O, Wierup N. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) protects beta cells against glucotoxicity and increases cell proliferation. *J Biol Chem* 2013;288(5):3208-18.
37. Jaudes PK, Ekwo E, Van Voorhis J. Association of drugs abuse and child abuse. *Child Abuse Negl* 1995;19(9):1065-75
38. do Prado CH, Grassi-Oliveira R, Wieck A, Zaparte A, Filho LD, da Silva Morrone M, Moreira JC, Bauer ME. The impact of childhood maltreatment on redox state: Relationship with oxidative damage and antioxidant defenses in adolescents with no psychiatric disorder. *Neurosci Lett* 2016; 23;617:173-177.

Tabela 1. Características clínicas e sociodemográficas das gestantes usuárias de crack e seus recém-nascidos

Variáveis dos recém-nascidos	(N = 57) Média (DP)
Peso, g	2.882,15 (473,32)
Apgar, 1-minuto	7,8 (2,12)
Apgar, 5-minuto	8,94 (1,24)
Idade gestacional, semanas (estimado em exame neonatal)	38,58 (2,06)
Sexo masculino, N (%)	28 (50,9)
Necessidade de internação, N (%)	36 (67,9)
Classificação em idade gestacional, N (%)	
Adequada	43 (87,8)
Pequena	4 (8,2)
Grande	2 (4,1)
Variáveis maternas	(N = 57) Média (DP)
Etnia, N (%)	
Branco	17 (32,1)
Não-branco	36 (67,9)
Idade, anos	27,00 (5,76)
QI	77,39 (8,75)
Status sociodemográfico, N (%)	
Alto (classe A ou B)	6 (11,8)
Baixo (classe C, D ou E)	45 (88,2)
Grau de escolaridade, n (%)	
Fundamental incompleto, fundamental completo, ou médio incompleto	39 (81,3)
Médio completo, terceiro grau incompleto, ou terceiro grau completo	9 (18,8)
Pré-natal, N (%)	36 (73,5)
Presença de doença infectocontagiosa, N (%)	
(sífilis, HIV, e/ou hepatite C)	26 (46,4)
Tipo de parto (Cesariana), N (%)	19 (35,2)
Estado marital (casado/união estável), N (%)	29 (50,9)
Uso de drogas da mãe durante a gravidez – ASSIST escore total*	(N = 57) Mediana (AI)
Escore total para nicotina	17,50 (0–31)
Escore total para álcool	6,00 (0–33)
Escore total para maconha	0,00 (0–25)
Uso das substâncias nos últimos 3 meses antes do parto	(N=32)
Nicotina, N (%)	
Diariamente/quase todos os dias	22 (68,75)
Semanalmente	1 (0,03)
Mensalmente	4 (0,13)
Uma ou duas vezes	2 (0,06)
Nunca	3 (0,09)
Álcool, N (%)	(N = 28)

Diariamente/quase todos os dias	2 (7,14)
Semanalmente	10 (35,70)
Mensalmente	3 (10,70)
Uma ou duas vezes	4 (14,30)
Nunca	9 (32,10)
Crack, N (%)	(N = 32)
Diariamente/quase todos os dias	9 (28,1)
Semanalmente	13 (40,6)
Mensalmente	3 (9,4)
Uma ou duas vezes	1 (3,1)
Nunca	6 (10,5)
Maconha, N (%)	(N = 26)
Diariamente/quase todos os dias	2 (7,7)
Semanalmente	5 (19,2)
Mensalmente	2 (7,7)
Uma ou duas vezes	1 (3,8)
Nunca	16 (61,5)
Presença atual de psicopatologia nas mães	
Risco de suicídio, N (%)	13 (31,70)
TEPT, N (%)**	4 (10,00)
Personalidade antissocial, N (%)	9 (21,43)
MINI positivo para outros diagnósticos, N (%)	25 (61,0)

DP = desvio padrão; AI = amplitude interquartílica; *Baseado no ASSIST;

**Transtorno de Estresse Pós-Traumático.

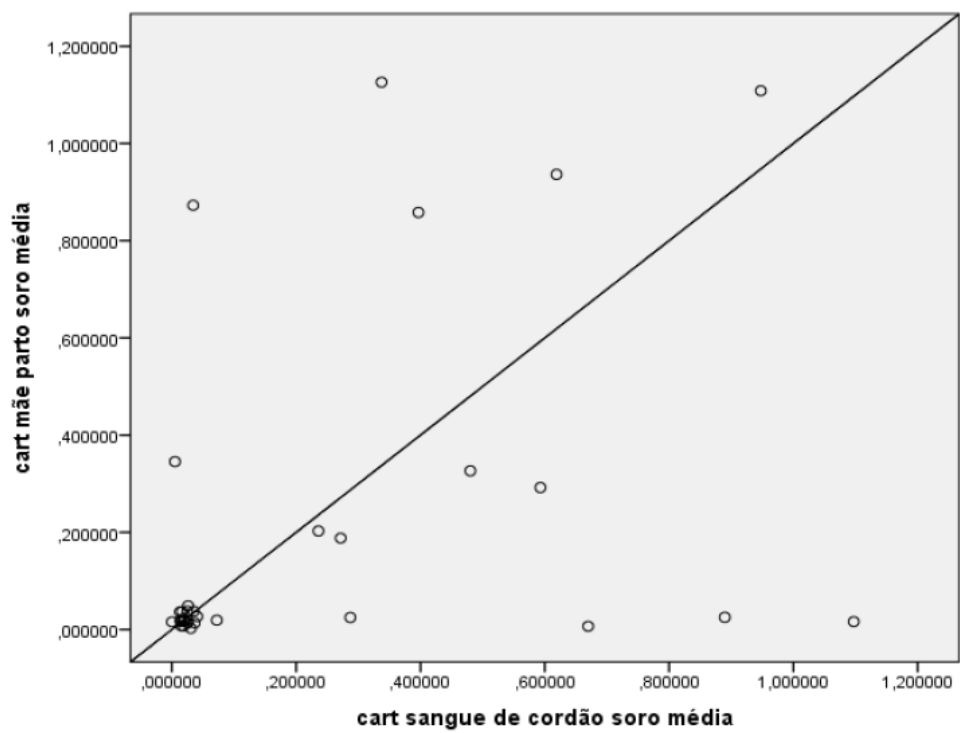


Figura 1. Correlação CART (em $\mu\text{g/mL}$) no sangue de cordão umbilical e periférico das mães usuárias de crack

7. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente dissertação traz achados importantes para a compreensão de fenômenos neurobiológicos, mas também um olhar para essa população extremamente carente. A gestação é um período de grandes transformações na vida de uma mulher, causando modificações significativas em seu organismo, seu psiquismo e seu papel sociofamiliar. Dessa forma trouxemos questões muito preocupantes em termos de saúde pública e de planejamento terapêutico, bem como em termos de prognóstico para o desenvolvimento pleno da dupla mãe-bebê.

A pobreza e a baixa escolaridade contribuem para a entrada no grupo de risco de DQ, negligência, abuso e maus tratos. Os lares dos quais provém as mulheres dependentes químicas apresentam infâncias permeadas de primitivos abandonos, abusos sexuais e violência. Lidar com todo esse contexto caótico, principalmente durante o contato direto com essas mulheres, seja na coleta de sangue ou durante a entrevista estruturada, é bastante difícil e ansiogênico, trazendo, diversas vezes, um sentimento de impotência sobre tudo isso.

Trata-se de um trabalho pioneiro e inovador em díades mães-bebês com história de exposição ao *crack*. Por esta razão foi necessário tratar com situações diversas em nosso meio, desde a padronização da técnica de mensuração da CART, até então nunca medida em nosso laboratório, assim como a realização de coletas de sangue, no horário do parto, a qualquer hora do dia. Um ponto a considerar é que esta questão de pesquisa agrega conhecimentos de diferentes áreas, como obstetrícia, pediatria, bioquímica, hematologia e enfermagem. Tal particularidade, ao mesmo tempo que enriquece o trabalho, traz à equipe envolvida uma série de desafios como se apropriar de novas rotinas.

Chegar a uma explicação para os nossos resultados é complexo e pode envolver uma variedade de mecanismos que interagem entre si. Pensamos que há um sistema antioxidante endógeno atuando desde cedo no feto em desenvolvimento. Por exemplo, se parte da produção da CART encontrada no SCU é materna, segue a ser esclarecido. Porém, como em dois trabalhos (este e de Mardini et al., *in press*) encontramos diferentes padrões para puérperas e RNs, podemos considerar fortemente a possibilidade de mecanismos, ao menos em grande parte, independentes. Também, a possibilidade de um sistema neuroprotetor precoce indiretamente é sustentável pelo fato de a EIU ao *crack*, ao menos até o momento, não trazer uma síndrome fetal bem definida, como acontece com a Síndrome Alcoólica Fetal. Este achado, agregado a outros estudos, pode contribuir com a reflexão de intervenções precoces principalmente para os bebês com exposição intrauterina ao *crack* os quais estão vulneráveis a esse ambiente. Esta afirmativa se baseia, por exemplo, nos estudos mencionados na Base teórica onde a CART é avaliada como intervenção terapêutica em patologias como AVC.

Em suma, apresentamos dados sobre um antioxidante endógeno em uma população de difícil acesso e de alta relevância em saúde pública. Os estudos têm mostrado interações complexas e recíprocas entre esse peptídeo, enzimas antioxidantes, neurotrofinas e estresse oxidativo. Percebe-se que pode haver diferentes respostas de acordo com a etapa do desenvolvimento e que gestantes podem ter um perfil de recrutamento da CART e, talvez, de outros biomarcadores, diferentes do que em não gestantes. Portanto, observa-se que as mudanças estruturais, fisiológicas e moleculares promovidas pela cocaína resultam do envolvimento de uma vasta rede de neurotransmissores, interligados e atuantes em diferentes áreas do cérebro e em diferentes momentos de maturação.

Esse trabalho, além dos conhecimentos acima referidos, é fruto de uma Tese de doutorado na Pós-Graduação em Psiquiatria, para o qual foi dosada nesta mesma amostra alguns biomarcadores como IL-6, IL-10, BDNF e TBARS, visando-se a melhor compreender o sistema de biomarcadores em bebês mediante exposição à cocaína. Da mesma forma, o material biológico aqui coletado está sendo investigado colaborativamente com o programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da PUCRS, contribuindo com um Doutorado, em que está sendo realizada uma análise epigenética nas amostras. Será avaliado o padrão de metilação de alguns genes-alvo a partir do sequenciamento por bissulfito, comparando esse padrão entre os casos e controles (tanto para as mães quanto para os bebês). Serão avaliados os genes envolvidos em EO, tais como genes relacionados ao BDNF, IL6, IL10 e CART, e comparar-se-ão (ou serão comparados) com as dosagens bioquímicas que foram obtidas no nosso estudo. Ainda será avaliado, em outro estudo deste programa de pós-graduação, contribuindo com um mestrado, o gene Protein kinase C epsilon (PRKCE) que parece sofrer alterações de metilação em modelos animais, frente à exposição embrionária a crack/cocaína. Por fim, pretende-se chamar as díades envolvidas neste projeto, para realização de nova coleta de dados. Em relação a possibilidade de diferente comportamento da CART de acordo com etapa do ciclo vital, a mesma será comparada em adolescentes com e sem uso de *crack*.

Ao longo da coleta de dados, gerou-se uma demanda clínica que não foi interrompida. A partir desses trabalhos, criou-se um grupo psicoterápico para pais/bebês com exposição a drogas. Da mesma forma, mais atenção vem sendo dada ao uso de drogas entre as gestantes e puérperas no HCPA, sendo uma contribuição direta da pesquisa para a clínica.

Foi possível apresentar os dados em eventos científicos nacionais, com boa aceitação (Anexos 4 e 5)

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrawal A, Lynskey MT. Are there genetic influences on addiction: evidence from family, adoption and twin studies. *Addiction*. 2008;103(7):1069-81.

Albertson DN, Pruetz B, Schmidt CJ, Kuh DM, Kapatos G, Bannon MJ. Gene expression profile of the nucleus accumbens of human cocaine abusers: evidence for dysregulation of myelin. *J Neurochem*. 2004;88(5):1211-9.

Álvaro-Bartolomé M, La Harpe R, Callado LF, Meana JJ, García-Sevilla JA. Molecular adaptations of apoptotic pathways and signaling partners in the cerebral cortex of human cocaine addicts and cocaine-treated rats. *Neuroscience*. 2011;196:1-15.

American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 5th Ed. Washington DC: Am Psychiatr Assoc; 2013.

Anderson SM, Pierce RC. Cocaine-induced alterations in dopamine receptor signaling: implications for reinforcement and reinstatement. *Pharmacol Ther*. 2005;106:389-403.

Bada HS, Das A, Bauer CR, Shankaran S, Lester BM, Wright LL, et al. Central and autonomic system signs with in utero drug exposure. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2002;87(2):F106-12.

Bannon MJ, Johnson MM, Michelhaugh SK, Hartley ZJ, Halter SD, David JA, et al. A molecular profile of cocaine abuse includes the differential expression of genes that regulate transcription, chromatin, and dopamine cell phenotype. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39(9):2191-9.

Bannon M, Kapatos G, Albertson D. Gene expression profiling in the brains of human cocaine abusers. *Addict Biol*. 2005;10(1):119-26.

Bashkatova V, Meunier J, Vanin A, Maurice T. Nitric oxide and oxidative stress in the brain of rats exposed in utero to cocaine. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1074:632-42.

Bauer CR, Langer JC, Shankaran S, Bada HS, Lester B, Wright LL, et al. Acute neonatal effects of cocaine exposure during pregnancy. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005;159(9):824-34.

Bauer CR, Shankaran S, Bada HS, Lester B, Wright LL, Krause-Steinrauf H, et al. The maternal lifestyle study: drug exposure during pregnancy and short-term maternal outcomes. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;186(3):487-95.

Bik W, Skwarlo-Sonta K, Szelagiewicz J, Wolinska-Witort E, Chlebowska M, Martynska L, et al. Involvement of the cocaine-amphetamine regulated transcript peptide (CART 55–102) in the modulation of rat immune cell activity. *Neuro. Endocrinol Lett*. 2008;29: 359–65.

Boening JA. Neurobiology of an addiction memory. *J Neural Transm (Vienna)*. 2001;108(6):755-65.

Boveris A, Oshino N, Chance B. The cellular production of hydrogen peroxide *Biochem J.* 1972;128(3):617-30.

Cain MA, Bornick P, Whiteman V. The maternal, fetal, and neonatal effects of cocaine exposure in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol.* 2013;56(1):124-32.

Cambell S. Prenatal cocaine exposure and neonatal/infant outcomes. *Neonatal Netw.* 2003;22(1):19-21.

Camí J, Farré M. Mechanisms of disease: drug addiction. *N Eng J Med.* 2003;349:975-86.

Castro AG Neto, Silva DC, Figueiroa MD⁴. Main mental disorders in crack-cocaine users treated at Psychosocial Care Centers for Alcohol and Drugs in the city of Recife, Brazil. *Trends Psychiatry Psychother.* 2016;38(4):227-233.

Center for Behavioral Health Statistic and Quality. Behavioral health trends in the United States: results from the 2014 National Survey on Drug Use and Health. Rockville, Maryland, 2015. (HHS Publication No. SMA 15-4927, NSDUH Series H-50). Disponível em: <http://www.samhsa.gov/data/sites/default/files/NSDUH-FRR1-2014/NSDUH-FRR1-2014.pdf>

Chang L, Chen Y, Li J, Liu Z, Wang Z, Chen J, et al. Cocaine and amphetamine-regulated transcript modulates peripheral immunity and protects against brain injury in experimental stroke. *Brain Behav. Immun.* 2011; 25(2):260-9.

Chasnoff IJ, Burns KA, Burns WJ. Cocaine use in pregnancy: perinatal morbidity and mortality. *Neurotoxicol Teratol.* 1987;9(4):291-3.

Cohen HR, Green JR, Crombleholme WR. Peripartum cocaine use: estimating risk of adverse pregnancy outcome. *Int J Gynecol Obstet.* 1991;35(1):51-4.

Corwin MJ, Lester BM, Sepkoski C, McLaughlin S, Kayne H, Golub HL. Effects of in utero cocaine exposure on newborn acoustical cry characteristics. *Pediatrics.* 1992;89(6 Pt 2):1199-203.

Couceyro PR, Evans C, McKinzie A, Mitchell D, Dube M, Hagshenas L et al. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) peptides modulate the locomotor and motivational properties of psychostimulants. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;315(3):1091-100.

Cury PR, Oliveira MG, de Andrade KM, de Freitas MD, Dos Santos JN. Dental health status in crack/cocaine-addicted men: a cross-sectional study. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017 Jan 24. doi: 10.1007/s11356-017-8404-z. [Epub ahead of print].

Cunha GB. Epidemiologia da exposição pré-natal à cocaína em uma amostra de recém-nascidos do HCPA [Dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2000.

Cunha GB. Exposição pré-natal à cocaína e efeitos neurocomportamentais no recém-nascido [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.

Da Cunha SM, Araujo RB, Bizarro L. Profile and pattern of crack consumption among inpatients in a Brazilian psychiatric hospital. *Trends Psychiatry Psychother.* 2015;37(3):126-32.

De Genna N, Goldschmidt L, Richardson GA. Prenatal cocaine exposure and age of sexual initiation: direct and indirect effects. *Drug Alcohol Depend.* 2014;145:194-200.

De Giovanni N, Marchetti D. Cocaine and its metabolites in the placenta: a systematic review of the literature. *Reprod. Toxicol.* 2012;33:1-14.

De Moraes Barros MC, Guinsburg R, de Araújo Peres C, Mitsuhiro S, Chalem E, Laranjeira RR. Exposure to marijuana during pregnancy alters neurobehavior in the early neonatal period. *J Pediatr.* 2006;149(6):781-7.

Desai RI, Grandy DK, Lupica CR, Katz JL. Pharmacological characterization of a dopamine transporter ligand that functions as a cocaine antagonist. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014;348(1):106-15.

Dehnes Y, Shan J, Beuming T, Shi L, Weinstein H, Javitch JA. Conformational changes in dopamine transporter intracellular regions upon cocaine binding and dopamine translocation. *Neurochem Int.* 2014;73:4-15.

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

Dolkart LA, Plessinger MA, Woods JRJ. Effect of Alpha 1 receptor blockade upon maternal and fetal cardiovascular responses to cocaine. *Obstet Gynecol.* 1990;75(5):745-51.

Dominguez G. The CART gene: Structure and regulation. *Peptides.* 2006;27: 1914-18.

Douglass J, McKinzie AA, Couceyro P. PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. *J Neurosci.* 1995;15: 2471-81.

Draganski B, Gaser C, Busch V, Schuierer G, Bogdahn U, May A. Neuroplasticity: changes in grey matter induced by training. *Nature.* 2004;427(6972):311-2.

Edwards JM, Halpern CT, Wechsberg WM. Correlates of exchanging sex for drugs or money among women who use crack cocaine. *AIDS Educ Prev.* 2006;18(5):420-9.

Eiden RD, Stevens A, Schuetze P, Dombkowski LE. Conceptual model for maternal behavior among polydrug cocaine-using mothers: the role of postnatal cocaine use and maternal depression. *Psychol Addict Behav.* 2006;20(1):1-10.

Esch T, Stefano GB, The neurobiology of pleasure, reward processes, addiction and their health implication. *Neuro Endocrinol Lett*, 2004;25(4):235-51.

Fagergren P, Hurd Y. CART mRNA expression in rat monkey and human brain: relevance to cocaine abuse. Physiol Behav 2007;92(1-2):218-225.

Fischer B, Blanken P, Da Silveira D, Gallassi A, Goldner EM, Rehm J, et al. Effectiveness of secondary prevention and treatment interventions for crack-cocaine abuse: a comprehensive narrative overview of English-language studies. *Int J Drug Policy*. 2015;26(4):352-63.

Fisher P, Lester B, DeGarmo D, LaGasse L, Lin H, Shankaran S, et al. The combined effects of prenatal drug exposure and early adversity on neurobehavioral disinhibition in childhood and adolescence. *Dev Psychopathol*. 2011;23:777-88.

Galduróz JC, Noto AR, Nappo SA, Carlini EA. Use of psychotropic drugs in Brazil: household survey in the 107 biggest Brazilian cities--2001. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2005 ;13 Spec No:888-95.

Gouin K, Murphy K, Shah PS. Knowledge synthesis group on determinants of low birth weight and preterm births. Effects of cocaine use during pregnancy on low birthweight and preterm birth: systematic review and metaanalyses. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;204:340.e1-340.12.

Guindalini C, Vallada H, Breen G, Laranjeira R. Concurrent crack and powder cocaine users from Sao Paulo: do they represent a different group? *BMC Public Health*. 2006;6:10.

Halliwell BB, Poulsen HE. Oxidative stress. In: _____. (Ed). *Cigarette smoke and oxidative stress*. New York: Springer; 2006. p.1-4.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen is a toxic gas - an introduction to oxygen toxicity and reactive species. In: _____. *Free radicals in biology and medicine*. New York: Oxford University Press; 2007a. p. 1-29.

Halliwell B, Gutteridge JMC. The chemistry of free radicals and related 'reactive species'. In: _____. *Free radicals in biology and medicine*. New York: Oxford University Press; 2007b. p.30-78.

Hargrave B, Castle MC. Intrauterine exposure to cocaine increased plasma ANP (Atrial Natriuretic Peptide) but did not alter hypoxanthine concentrations in the sheep fetus. *Life Sci*. 1995;56(20):1689-97.

Hasin DS, O'Brien CP, Auriacombe M, Borges G, Bucholz K, Budney A, et al. DSM-5 criteria for substance use disorders: recommendations and rationale. *Am J Psychiatry*. 2013;170(8):834-51.

Hatsukami DK, Fischman MW. Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *JAMA*. 1996;276(19):1580-8.

Heal DJ, Gosden J, Smith SL. Dopamine reuptake transporter (DAT) “inverse agonist” a novel hypothesis to explain the enigmatic pharmacology of cocaine. *Neuropharmacology*. 2014;87:19-40.

Hser YI, Huang D, Brecht ML, Li L, Evans E. Contrasting trajectories of heroin, cocaine, and methamphetamine use. *J Addict Dis*. 2008;27(3):13-21.

Ikonomidou C, Kaindl AM. Neuronal death and oxidative stress in the developing brain. *Antioxid Redox Signal*. 2011;14(8):1535-50.

Inciardi JA. Crack-cocaine in Miami. *NIDA Res Monogr*. 1991;110:263-74.

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

INPAD. Segundo Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (II LENAD). São Paulo, SP. Disponível em: <<http://inpad.org.br/lenad/cocaina-e-crack/resultados-preliminares/>>. Acesso em: 24/fev/2017.

Janisse JJ, Bailey BA, Ager J, Sokol RJ. Alcohol, tobacco, cocaine, and marijuana use: relative contributions to preterm delivery and fetal growth restriction. *Subst Abus*. 2014;35(1):60-7.

Job MO. Injection of Cocaine-Amphetamine Regulated Transcript (CART) peptide into the nucleus accumbens does not inhibit caffeine-induced locomotor activity: Implications for CART peptide mechanism. *Pharmacol Biochem Behav*. 2016;148:8-14.

Kendler KS, Karkowski LM, Neale MC, Prescott CA. Illicit psychoactive substance use, heavy use, abuse, and dependence in a US population-based sample of male twins. *Arch Gen Psychiatry*. 2000;57(3):261-9.

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

Koob GF, Le Moal M, *Neurobiology of addiction*. Amsterdam: Elsevier; 2006.

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.

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

Krause KH. Aging: a revisited theory based on free radicals generated by NOX family NADPH oxidases. *Exp Gerontol*. 2007;42(4):256-62.

Kurokawa K, Mizuno K, Ohkuma S Role of alteration in intracellular Ca²⁺ dynamics in the development of drug dependence. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai Zasshi*. 2014;49(3):169-76.

Lambert BL, Bann CM, Bauer CR, Shankaran S, Bada HS, Lester BM, et al. Risk-taking behavior among adolescents with prenatal drug exposure and extrauterine environmental adversity. *J Dev Behav Pediatr*. 2013;34(9):669-79.

Lende DH, Smith EO. Evolution meets biopsychosociality: an analysis of addictive behavior. *Addiction*. 2002;97(4):447-58.

Lester BM, Bagner DM, Liu J, LaGasse LL, Seifer R, Bauer CR, et al. Infant neurobehavioral dysregulation: behavior problems in children with prenatal substance exposure. *Pediatrics*. 2009;124(5):1355-62.

Lester BM, Corwin MJ, Sepkoski C, Seifer R, Peucker M, McLaughlin S, et al. Neurobehavioral syndromes in cocaine-exposed newborn infants. *Child Dev*. 1991;62(4):694-705.

Lester BM, Lagasse LL, Bigsby R. Prenatal cocaine exposure and child development: what do we know and what do we do? *Semin Speech Lang*. 1998;19(2):123-46.

Lester BM, Lagasse L, Seifer R, Tronick EZ, Bauer CR, Shankaran S, et al. The Maternal Lifestyle Study (MLS): effects of cocaine and/or opiate exposure on auditory brain response at one month. *J Pediatr*. 2003;142(3):279-85.

Lester BM, Lin H, Degarmo DS, Fisher PA, Lagasse LL, Levine TP, et al. Neurobehavioral disinhibition predicts initiation of substance use in children with prenatal cocaine exposure. *Drug Alcohol Depend*. 2012;126(1-2):80-6.

Lester BM, Tronick EZ, LaGasse L, Seifer R, Bauer CR, Shankaran S, et al. The maternal lifestyle study: effects of substance exposure during pregnancy on neurodevelopmental outcome in 1-month-old infants. *Pediatrics*. 2002;110(6):1182-92.

Lester BM, Tronick EZ. History and description of the Neonatal Intensive Care Unit Network Neurobehavioral Scale. *Pediatrics*. 2004;113(3 pt. 2):634-40.

Lind JN, Petersen EE, Lederer PA, Phillips-Bell GS, Perrine CG, Li R, et al. Infant and maternal characteristics in neonatal abstinence syndrome--selected hospitals in Florida, 2010-2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64(8):213-6.

Lipton JW, Vu TQ, Ling Z, Gyawali S, Mayer JR, Carvey PM. Prenatal cocaine exposure induces an attenuation of uterine blood flow in the rat. *Neurotoxicol Teratol*. 2002;24(2):143-8.

Lipton JW, Gyawali S, Borys ED, Koprach JB, Ptaszny M, McGuire SO. Prenatal cocaine administration increases glutathione and alpha-tocopherol oxidation in fetal rat brain. *Brain Res. Dev Brain Res*. 2003;147(1-2):77-84.

Liu Z, Huang D, Zhang M et al. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript promotes the differentiation of mouse bone marrow derived mesenchymal stem cells into neural cells. *BMC Neurosci*. 2011;12: 67.

Lutiger B, Graham K, Einarson TR, Koren G. Relationship between gestational cocaine use and pregnancy outcome: a meta-analysis. *Teratology*. 1991;44(4):405-14.

Mao P. Potential antidepressant role of neurotransmitter CART: Implications for mental disorders. *Depress Res Treat* 2011: 762139.

Mardini V, Rohde LA, Ceresér KMM, Gubert CM, da Silva EG, Xavier F, et al. TBARS and BDNF levels in newborns exposed to crack/cocaine during pregnancy: a comparative study. *Rev Bras Psiquiatr* 2017; Brief Communication, <http://dx.doi.org/10.1590/1516-4446-2016-2035>. *in press*.

Martins-Celini FP. Prevalência da exposição fetal à cocaína: métodos de detecção e características maternas [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 2001.

Mastrogiannis DS, Decavalas GO, Verma U, Tejani N. Perinatal outcome after recent cocaine usage. *Obstet Gynecol*. 1990;76(1):8-11.

Mayes LC. A behavioral teratogenic model of the impact of prenatal cocaine exposure on arousal regulatory systems. *Neurotoxicol Teratol*. 2002;24(3):385-95.

Mehta SK, Super DM, Connuck D, Kirchner HL, Salvator A, Singer L, et al. Autonomic alterations in cocaine-exposed infants. *Am Heart J*. 2002;144(6):1109-15.

Mehta SK, Super DM, Salvator A, Singer L, Connuck D, Fradley LG, et al. Heart rate variability in cocaine-exposed newborn infants. *Am Heart J*. 2001;142(5):828-32.

Minnes S, Singer L, Min MO, Wu M, Lang A, Yoon S. Effects of prenatal cocaine/polydrug exposure on substance use by age 15. *Drug Alcohol Depend*. 2014;134:201-10.

Mitsuhiro SS, Chalem E, Barros MM, Guinsburg R, Laranjeira R. Gravidez na adolescência: uso de drogas no terceiro trimestre e prevalência de transtornos psiquiátricos. *Rev Bras Psiquiatr*. 2006;28(2):122-5.

Moreira MM, Barbosa GL, Laranjeira R, Mitsuhiro SS. Alcohol and crack cocaine use in women: a 14-year cross-sectional study. *J Addict Dis*. 2014;33(1):9-14.

Nappo SA, Sanchez Z, Oliveira LG. Crack, AIDS, and women in São Paulo, Brazil. *Subst Use Misuse*. 2011;46(4):476-85.

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

National Health and Medical Research Council (2009) Australian Guidelines to Reduce Health Risks from Drinking Alcohol. *Commonwealth of Australia*, Canberra, ACT

National Institute on Drug Abuse [Internet]. Rockville: NIDA:2011 [capturado em 1 ago;2011]. Disponível em: <http://www.drugabuse.gov>.

Naud P, Sprinz B, Diehl CF, Chaves E, Bisotto M, Timm A et al. Perfil sexual das mulheres HIV positivas do Ambulatorio de Doencas Sexualmente Transmissiveis (DST) do Hospital de Clinicas de Porto Alegre / Sexual profile of HIV positive women assisted at the HCPA STD Clinic Rev. HCPA & Fac. Med. Univ. Fed. Rio Gd. do Sul. 1993;13(2):77-9.

Nordstrom-Klee B, Delaney-Black V, Covington C, Ager J, Sokol R. Growth from birth onwards of children prenatally exposed to drugs: a literature review. *Neurotoxicol Teratol.* 2002;24(4):481-8.

Olds J, Milner P. Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol.* 1954;47(6):419-27.

Patel TG, Laungani RG, Grose EA, Dow-Edwards DL. Cocaine decreases uteroplacental blood flow in the rat. *Neurotoxicol Teratol.* 1999;21(5):559-65.

Pechansky F, Szobot CM, Scivoletto S. Alcohol use among adolescents: concepts, epidemiological characteristics and etiopatogenic factors *Rev Bras Psiquiatr.* 2004;26 Suppl 1:S14-7.

Pianca TG, Rohde LA, Rosa RL, Begnis A, Ferronato PB, Jensen MC, Pechansky F, Ceresér KM, Fairchild VP, Szobot CM. Crack Cocaine Use in Adolescents: Clinical Characteristics and Predictors of Early Initiation. *J Clin Psychiatry.* 2016;77(10):e1205-e1210.

Pichini S, Puig C, Zuccaro P, Marchei E, Pellegrini M, Murillo J, et al. Assessment of exposure to opiates and cocaine during pregnancy in a Mediterranean city: preliminary results of the "Meconium Project". *Forensic Sci Intern.* 2005;153(1):59-65.

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.* 2013;23(1):92-102.

Poon HF, Abdullah L, Mullan MA, Mullan MJ, Crawford FC. Cocaine-induced oxidative stress precedes cell death in human neuronal progenitor cells. *Neurochem Int.* 2007;50(1):69-73.

Potter SM, Zelazo PR, Stack DM, Papageorgiou AN. Adverse effects of fetal cocaine exposure on neonatal auditory information processing. *Pediatrics.* 2000;105(3):E40.

Qiu B, Hu S, Liu L, Chen M, Wang L, Zeng X, Zhu S. CART attenuates endoplasmic reticulum stress response induced by cerebral ischemia and reperfusion through upregulating BDNF synthesis and secretion. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;436(4):655-9.

Regalado MG, Schechtman VL, Khoo MC, Bean XD. Spectral analysis of heart rate variability and respiration during sleep in cocaine-exposed neonates. *Clin Physiol.* 2001;21(4):428-36.

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;19(33):5624-46.

Rogge GA, Jones DC, Green T, Nestler E, Kuhar MJ. Regulation of CART peptide expression by CREB in the rat nucleus accumbens in vivo. *Brain Res*. 2009;1251:42-52.

Rogge G, Jones D, Hubert GW, Lin Y, Kuhar MJ. CART peptides: regulators of body weight, reward and other functions, *Nature Reviews Neuroscience* 2008;9(10):747-758.

Romano M, Ribeiro M, Marques ACPR. Abuso e dependência de cocaína, projetos diretrizes. Associação Brasileira e Conselho Federal de Medicina; 2002. Disponível em: <http://www.projetodiretrizes.org.br/projeto_diretrizes/005.pdf>. Acesso em: 11/mar/2013.

Ryan L, Ehrlich S, Finnegan L. Cocaine abuse in pregnancy: effects on the fetus and newborn. *Neurotoxicol Teratol*. 1987;9(4):295-9.

Salamy A, Eldredge L, Anderson J, Bull D. Brain-stem transmission time in infants exposed to cocaine in utero. *J Pediatr*. 1990;117(4):627-9.

Sathanoori R, Olde B, Erlinge D, Göransson O, Wierup N. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART) protects beta cells against glucotoxicity and increases cell proliferation. *J Biol Chem* 2013;288(5):3208-18.

Shaw VN, Hser YI, Anglin MD, Boyle K. Sequences of powder cocaine and crack use among arrestees in Los Angeles County. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 1999;25(1):47-66.

Shih L, Cone-Wesson B, Reddix B. Effects of maternal cocaine abuse on the neonatal auditory system. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1988;15(3):245-51.

Shiono PH, Klebanoff MA, Nugent RP, Cotch MF, Wilkins DG, Rollins DE, et al. The impact of cocaine and marijuana use on low birth weight and preterm birth: a multicenter study. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;172(1 Pt 1):19-27.

Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*. 1997;82(2):291.

Silva VA, Mattos HF. Os jovens são mais vulneráveis às drogas? In: Pinsky I, Bessa MA, organizadores. *Adolescência e drogas*. São Paulo: Contexto; 2004; p. 31-44.

Silva N Jr, Szobot CM, Shih MC, Hoexter MQ, Anselmi CE, Pechansky F, et al. Searching for a neurobiological basis for self-medication theory in ADHD comorbid with substance use disorders: an in vivo study of dopamine transporters using (99m)Tc-TRODAT-1 SPECT. *Clin Nucl Med*. 2014 ;39(2):e129-34.

Singer LT, Minnes S, Min MO, Lewis BA, Short EJ. Prenatal cocaine exposure and child outcomes: a conference report based on a prospective study from Cleveland. *Hum Psychopharmacol*. 2015;30(4):285-9.

- Sison CG, Ostrea EM Jr, Reyes MP, Salari V. The resurgence of congenital syphilis: a cocaine-related problem. *J Pediatr.* 1997;130(2):289-92.
- Sordi AO, Pechansky F, Kessler FH, Kapczinski F, Pfaffenseller B, Gubert C, et al. Oxidative stress and BDNF as possible markers for the severity of crack cocaine use in early withdrawal. *Psychopharmacology (Berl).* 2014 ;231(20):4031-9.
- Soto E, Bahado-Singh R. Fetal abnormal growth associated with substance abuse. *Clin Obstet Gynecol.* 2013;56(1):142-53.
- Spiess J, Villarreal J, Vale W. Isolation and sequence analysis of a somatostatin like polypeptide from ovine hypothalamus. *Biochem.* 1981; 20:1982-8.
- Stachowiak M, Cieslak J, Skorczyk A, Nowakowska J, Szczerbal I, Szydłowski M, et al. The pig CART (cocaine and amphetamine-regulated transcript) gene and association of its microsatellite polymorphism with production traits. *J. Anim. Breed. Genet.* 2009;126: 37-42.
- Stein J, Steiner DF, Dey A. Processing of cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) precursor proteins by prohormone convertases (PCs) and its implications. *Peptides* 2006;27:1919-25.
- Stolf AR, Szobot CM, Halpern R, Akutagava-Martins GC, Müller D, Guimarães LS, et al. Crack cocaine users show differences in genotype frequencies of the 3' UTR variable number of tandem repeats of the dopamine transporter gene (DAT1/SLC6A3). *Neuropsychobiology.* 2014;70(1):44-51.
- Sullivan RJ, Hagen EH. Psychotropic substance-seeking: evolutionary pathology or adaptation? *Addiction.* 2002;97(4):389-400.
- Tan-Laxa MA, Sison-Switalla C, Rintelman W, Ostrea EM Jr. Abnormal auditory brain stem response among infants with prenatal cocaine exposure. *Pediatrics.* 2004;113(2):357-60.
- Tomasi D, Wang GJ, Wang R, Caparelli EC, Logan J, Volkow ND. Overlapping patterns of brain activation to food and cocaine cues in cocaine abusers: association to striatal D2/D3 receptors *Hum Brain Mapp.* 2015;36(1): 120–136.
- Tsay CH, Partridge JC, Villarreal SF, Good WV, Ferriero DM. Neurologic and ophthalmologic findings in children exposed to cocaine in utero. *J Child Neurol.* 1996;11(1):25-30.
- Turner CM, Santos GM, Arayasirikul S, Wilson EC. Psychosocial predictors of engagement in sexual risk behavior among trans*female youth ages 16 - 24 years in San Francisco. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016 Nov 14. *In Press.*
- Upadhyaya MA, Shelkar GP, Subhedar NK, Kokare DM. CART modulates the effects of levodopa in rat model of Parkinson's disease. *Behav Brain Res.* 2016;301:262-72.

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 São Paulo. *Subst Use Misuse*. 2007;42(1):177-88.

Vicentic A, Jones DC. *The CART (cocaine and amphetamine-regulated transcript) system in appetite and drug addiction*. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;32(2):499-506.

Volkow ND, Wang GJ, Fischman MW, Foltin R, Fowler JS, Franceschi D, et al. Effects of route of administration on cocaine induced dopamine transporter blockade in the human brain. *Life Sci*. 2000;67(12):1507-15.

von Diemen L. Avaliação de soroprevalência HCV/HIV e marcadores bioquímicos de toxicidade sistêmica em usuários de crack [Tese]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

Wagner FA, Anthony JC. Male-female differences in the risk of progression from first use to dependence upon cannabis, cocaine, and alcohol. *Drug Alcohol Depend*. 2007;86(2-3):191-8.

Weiss RD, Iannucci RA. Cocaine-related disorders. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P. (Ed). *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. 9th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2009. p.1318-31.

West R, *Theory of addiction*. Oxford: Blackwell/Addiction: 2006.

Wong A. Cocaine/crack, canabinóides, anfetaminas e opiáceos no cabelo, urina e mecônio de recém-nascidos de baixo peso e a correção destes no cabelo e urina das mães [Tese]. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2000.

Woods JR . Cardiovascular effects of cocaine in pregnancy and on the fetus. *NIDA Res Monogr*. 1992;119:111-5.

World Health Organization. ICD-10 version 2016 [Internet] Geneva: World Health Organization; c2016.
Disponível em: <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/en>.

World Health Organization. *Neuroscience of psychoactive substance use and dependence*. Geneva: WHO, 2004.

Zaparte A, Viola TW, Grassi-Oliveira R, da Silva Morrone M, Moreira JC, Bauer ME. Early abstinence of crack-cocaine is effective to attenuate oxidative stress and to improve antioxidant defences. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232(8):1405-13.

Zhang M, Han L, Xu Y. Roles of cocaine- and amphetamine-regulated transcript in the central nervous system. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2012;39(6):586-92.

Zuckerman B. Drug effects: a search for outcomes. *NIDA Res Monogr*. 1996;164:277-87.

ANEXO 1

CARTA DE APROVAÇÃO DO PROJETO



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A Comissão Científica e o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 110095

Data da Versão do Projeto: 17/02/2011

Data da Versão do TCLE: 30/05/2011

Pesquisadores:

CLAUDIA MACIEL SZOBOT
FLAVIO KAPCZINSKI
FLAVIO PECHANISKY
VICTOR MARDINI
KEILA MARIA MENDES CERESER
GABRIELLE BOCCHESE DA CUNHA
MARIA ROSA KRAMER IORRA
DANIEL LUDWIG PAIM
LETÍCIA PAULINO PEREIRA
ROSANA FERNANDA HOCHMÜLLER FOGAÇA
FERNANDA SCHETTINI ROSA
RODRIGO RITTER PARCIANELLO
NATÁLIA GAMBONI RODRIGUES
FELIX HENRIQUE PAIM KESSLER
MARIA LUCRÉCIA SCHERER ZAVASCHI
LUIS AUGUSTO PAIM ROHDE

Título: AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS SÉRICOS DAS NEUROTROFINAS BDNF (FATOR NEUROTROFÓICO DERIVADO DO CÉREBRO) E NT-3 (NEUROTROFINA 3), DAS CITOCINAS IL-4 (INTERLEUCINA-4) E IL-6 (INTERLEUCINA-6), (TNF-ALFA) FATOR DE NECROSE TUMORAL , TRAP (POTENCIAL REATIVO ANTIOXIDANTE TOTAL), TBARS (SUBSTÂNCIAS REAGENTES AO ÁCIDO TIOBARBITÚRICO) E PCC (CONTEÚDO DE PROTEÍNA CARBONIL) EM GESTANTES USUÁRIAS DE CRACK E NO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL (SCU) DOS SEUS FILHOS.

HCPA
Prof. Nadine Ciavarella
Coordenadora do Grupo de
Pós-Graduação e Pesquisa



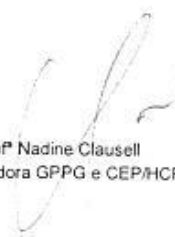
**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 01 de junho de 2011.


Profª Nadine Clausell
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CASOS

(Amostra Casos)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Número do caso no estudo: ____

Você está convidada a participar de uma pesquisa que está sendo realizada no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Trata-se de uma pesquisa envolvendo gestantes usuárias de crack e outras drogas. Estamos estudando o comportamento de determinadas substâncias presentes no sangue que se acredita tenham papel no desenvolvimento do cérebro dos bebês.

Você só participará deste estudo se desejar.

O que você vai ter que fazer?

- Você vai responder perguntas sobre seu estado emocional e dados pessoais.
 - Você necessitará coletar sangue (10 mililitros – um copinho medida pequeno) em duas ocasiões: uma vez durante a gravidez, quando entrar na pesquisa, e a outra vez quando nascer seu bebê. Talvez fique um pequeno hematoma (mancha roxa) no local da coleta que em poucos dias desaparecerá.
 - Após seu bebê nascer será coletado sangue da sua placenta. Normalmente a placenta e o cordão umbilical são jogados fora (no lixo hospitalar) depois do nascimento do seu filho.
 - No caso do seu bebê necessitar coletar sangue para exames por uma indicação médica e sobrar sangue utilizaremos este sangue para nossa pesquisa.
- O objetivo do nosso estudo é comparar a medida destas substâncias nos três momentos de coleta mencionados acima. (início do pré-natal, no parto e no sangue do cordão umbilical).

Para que estamos fazendo isso? Para conhecer melhor as condições de saúde das gestantes que usam *crack* e outras drogas e procuram o Hospital de Clínicas, e para pesquisar as alterações que estas substâncias podem apresentar durante a gestação. Este conhecimento poderá ser bastante útil para você, para seu bebê e para outras gestantes em situação semelhante no futuro.

O único risco a sua participação neste estudo é um possível desconforto ao responder as perguntas feitas pelo entrevistador.

Neste momento a senhora e seu bebê não terão benefícios diretos desta pesquisa, mas através de sua participação, futuras gestantes usuárias de crack e seus bebês poderão ser beneficiadas.

As suas informações pessoais serão sempre tratadas em sigilo. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revista científica ou submetidos a discussão com profissionais da saúde, sempre sem citar seu nome, do seu bebê, ou qualquer outra forma de identificação.

Se você decidir não participar mais em qualquer momento deste estudo, isto não prejudicará seu atendimento no HCPA.

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA.

Esta pesquisa não acarretará nenhum gasto financeiro para a Senhora.

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
01, 06, 2011
110095 TA/V

Eu, _____, declaro que fui informada dos objetivos e de como vou participar deste estudo de forma clara e detalhada. Todas minhas dúvidas foram respondidas e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Também fui informada que receberei uma via deste documento.

Porto Alegre, _____ de _____ 2011.

Para esclarecimento de dúvida contatar Comitê de Ética do HCPA
Telefone: 3359 8285

Pesquisador responsável pelo estudo:

Dr. Luis Augusto Paim Rohde Serviço de Psiquiatria da Infância e da
Adolescência do HCPA - Sala 400N - 4º andar Norte
Telefone: 3359 8294 / 3359 8413

Nome do participante: _____

Assinatura do participante: _____

Data: ____/____/____

Nome do Representante Legal: _____

Assinatura do Representante Legal: _____

Data: ____/____/____

Nome do pesquisador que aplicou este Termo de Consentimento:

Assinatura do pesquisador que aplicou o Termo de Consentimento:

Data: ____/____/____

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
01,06/2011
110095 TAV

ANEXO 3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLES

(Amostra Controles)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Número do caso no estudo: _____

Você está convidada a participar de uma pesquisa que está sendo realizada no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Trata-se de uma pesquisa envolvendo gestantes. Estamos estudando o comportamento de determinadas substâncias presentes no sangue que se acredita tenham papel no desenvolvimento do cérebro dos bebês.

Você só participará deste estudo se desejar.

O que você vai ter que fazer?

- Você vai responder perguntas sobre seu estado emocional e dados pessoais. Também solicitaremos uma amostra da sua urina para comprovar que você não usa drogas.

Em algumas situações o sangue do cordão umbilical do seu bebê que você doou ao Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário do HCPA não será aproveitado. Este sangue do cordão umbilical, juntamente com o que foi coletado de você para exames serão eliminados, jogados fora no lixo hospitalar. Utilizaremos este sangue para nossa pesquisa.

Este estudo não influenciará no aproveitamento do sangue que você doou para o Banco de Sangue do Cordão e Placentário.

Ou seja, você não sofrerá nenhuma coleta de sangue a mais que qualquer outra gestante que doe sangue do cordão umbilical necessitaria coletar.

- No caso do seu bebê necessitar coletar sangue para exames por uma indicação médica e sobrar sangue utilizaremos este sangue para nossa pesquisa.

O objetivo do nosso estudo é comparar a medida destas substâncias nos dois momentos de coleta mencionados acima, (durante o período próximo ao parto e no sangue do cordão umbilical).

O único risco a sua participação neste estudo é um possível desconforto ao responder as perguntas feitas pelo entrevistador.

Neste momento a senhora e seu bebê não terão benefícios diretos desta pesquisa, mas através de sua participação, futuras gestantes usuárias de crack e seus bebês poderão ser beneficiados.

De maneira indireta como benefício você receberá uma avaliação psiquiátrica e, se for detectada alguma condição que necessite tratamento, enviaremos nossos achados para a unidade básica de saúde que lhe atenderá.

Para que estamos fazendo isso? Para conhecer melhor as condições de saúde das gestantes que procuram o Hospital de Clínicas, e para pesquisar as alterações que estas substâncias podem apresentar durante a gestação. Este conhecimento poderá ser bastante útil para você, para seu bebê e para outras gestantes em situação semelhante no futuro.

A participação neste estudo não agrega riscos para você e seu bebê, e pode potencialmente trazer benefícios para sua saúde, sua qualidade de vida e para a saúde e o desenvolvimento do seu bebê.

As suas informações pessoais serão sempre tratadas em sigilo. Os resultados do estudo poderão ser publicados em revista científica ou submetidos a discussão com profissionais da saúde, sempre sem citar seu nome, do seu bebê, ou qualquer outra forma de identificação.

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

01, 06, 2011

110095 TA✓

Se você decidir não participar mais em qualquer momento deste estudo, isto não prejudicará seu atendimento no HCPA.

O projeto de pesquisa foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA.

Esta pesquisa não acarretará nenhum gasto financeiro para a Senhora.

Eu, _____, declaro que fui informada dos objetivos e de como vou participar deste estudo de forma clara e detalhada. Todas minhas dúvidas foram respondidas e sei que poderei solicitar novos esclarecimentos a qualquer momento. Também fui informada que receberei uma via deste documento.

Porto Alegre, _____ de _____ 2011.

Para esclarecimento de dúvida contactar Comitê de Ética do HCPA
Telefone: 3359 8285

Pesquisador responsável pelo estudo:

Dr. Luis Augusto Paim Rohde Serviço de Psiquiatria da Infância e da Adolescência do HCPA - Sala 400N - 4º andar Norte
Telefone: 3359 8294 / 3359 8413

Nome do participante: _____

Assinatura do participante: _____

Data: ____ / ____ / ____

Nome do Representante Legal: _____

Assinatura do Representante Legal: _____

Data: ____ / ____ / ____

Nome do pesquisador que aplicou este Termo de Consentimento:

Assinatura do pesquisador que aplicou o Termo de Consentimento:

Data: ____ / ____ / ____

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

01, 06, 2011

110095 TRV

ANEXO 4

CERTIFICADO PRÊMIO DE MELHOR TRABALHO PSIQUIATRIA CLÍNICA



XXVIII JORNADA
Sul-Rio-Grandense de Psiquiatria Dinâmica
**TRANSFORMAÇÕES DA
PSICOTERAPIA**
IV Encontro de Ciências e Inovação em Psiquiatria
I Encontro Estadual das Ligas Acadêmicas de Psiquiatria

25 a 27 de Agosto de 2016
Hotel Continental - Canela - RS

CERTIFICADO

Prêmio Melhor Trabalho Psiquiatria Clínica

Título: Níveis de Cocaine and Amphetamine Regulator Transcript (CART) em recém-nascidos expostos ao crack intra-útero: um estudo caso-controlle


Autores: Rodrigo Ritter Parcianello; Victor Mardini; Fernando Xavier; Keila Ceresér; Maria Lucrecia Scherer Zavaschi; Luis Augusto Paim Rhode; Flávio Kapczinski; Flávio Pechansky; Carolina de Moura Gubert; Claudia Maciel Szobot

**PRÊMIO
OCAD**

celg
CENTRO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM
PSIQUIATRIA

Departamento de Psiquiatria e
Medicina Legal FAMED / UFRGS
Serviço de Psiquiatria do HCPA
Serviço de Psiquiatria da Infância
e Adolescência do HCPA
Serviço de Psiquiatria do Hospital do HCPA

APPO
do
Associação de Psiquiatria do
Rio Grande do Sul - APROS
Sociedade Psiquiátrica de
Porto Alegre - SPTA


Dra. Ana Margaret Bassols
Presidente


Dr. Daniel Spritzer
Diretor Científico

Canela, 27 de agosto de 2016

CERTIFICADO APRESENTAÇÃO ORAL



XXVIII JORNADA
Sul-Rio-Grandense de Psiquiatria Dinâmica
TRANSFORMAÇÕES DA
PSICOTERAPIA
IV Encontro de Ciência e Inovação em Psiquiatria
I Encontro Estadual das Ligas Acadêmicas de Psiquiatria

25 a 27 de Agosto de 2016
Hotel Continental - Canela - RS

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho: Níveis da Cocaine and Amphetamine Regulator Transcript (CART) em recém-nascidos expostos ao crack intra-útero: um estudo caso-controle De autoria de: Rodrigo Ritter Parcianello; Victor Mardini; Fernando Xavier; Keila Cereser; Maria Lucrecia Scherer Zavaschi; Luis Augusto Paim Rhode; Flávio Kapczinski; Flávio Pechansky; Carolina de Moura Gubert; Claudia Maciel Szobot

Foi apresentado na XXVIII Jornada Sul-Rio-Grandense de Psiquiatria Dinâmica, realizada no período de 25 a 27 de agosto de 2016, no Hotel Continental em Canela, RS, na forma de APRESENTAÇÃO ORAL.

Canela, 27 de agosto de 2016

FORUM
OCIO

Centro de Estudos em Saúde
Departamento de Psiquiatria
Medicina Legal FAMED / CERFIS
Serviço de Psiquiatria da HCPA
Serviço de Psiquiatria de Infância
e Adolescência da HCPA
Serviço de Psiquiatria de Adulção da HCPA

APO
IO
Associação de Psiquiatras do
Rio Grande do Sul - APROS
Sociedade Psiquiátrica de
Porto Alegre - SPPA


Dra. Ana Margaret Bassols
Presidente


Dr. Daniel Spritzer
Diretor Científico

ANEXO 6

CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO 1

Your co-authored submission

Translational Research <EvisSupport@elsevier.com>

Dear Mr. Ritter Parcianello,

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Translational Research

Title: Increased Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript cord blood levels in the newborns exposed to crack cocaine in utero

Corresponding Author: Rodrigo Ritter Parcianello

Co-Authors: Keila Cereser, Victor Mardini, Daniel D. Langleben, Fernando Xavier, Maria Lucrecia Scherer Zavaschi, Luis Augusto Rohde, Flavio Pechansky, Carolina Gubert, Claudia Maciel Szobot

Rodrigo Ritter Parcianello submitted this manuscript via Elsevier's online submission system, EVISE®. If you are not already registered in EVISE®, please take a moment to set up an author account by navigating to http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jsp?JRNL_ACR=TRANSRES

If you already have an ORCID, we invite you to link it to this submission. If the submission is accepted, your ORCID will be transferred to ScienceDirect and CrossRef and published with the manuscript.

To link an existing ORCID to this submission, or sign up for an ORCID if you do not already have one, please click the following link: [Link ORCID](#)

What is ORCID?

ORCID is an open, non-profit, community-based effort to create and maintain a registry of unique researcher identifiers and a transparent method of linking research activities and outputs to these identifiers.

More information on ORCID can be found on the ORCID website, <http://www.ORCID.org>, or on our ORCID help page: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/2210/p/7923

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author directly at rparcianello@hotmail.com.

Thank you,
Translational Research

This message was sent automatically. Please do not reply

ANEXO 7

CARTA DE ACEITE ARTIGO 2



DECLARAÇÃO

Declaramos que o artigo intitulado "*Comparação dos níveis séricos da Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript (CART) entre sangue de cordão umbilical e sangue periférico em gestantes usuárias de crack*", de autoria de Rodrigo Ritter Parcianello, Victor Mardini, Kella Maria Mendes Ceresér, Fernando Xavier, Maria Lucrécia Scherer Zavaschi, Luis Augusto Palm Rhode, Flávio Pechansky, Pâmela Ferrari e Claudia Maciel Szobot, foi aceito para publicação on-line na REVISTA BRASILEIRA DE PSICOTERAPIA DO CENTRO DE ESTUDOS LUIS GUEDES.

Porto Alegre, 31 de janeiro de 2017.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Patrícia'.

Patrícia Lopes Azambuja
Coordenação Administrativa - CELG

