

Maria Cristina Valzachi Rocha Maluf

Efeitos do tratamento com cocaína sobre parâmetros comportamentais e na expressão de CREB/pCREB e BDNF em camundongos adolescentes e adultos

Dissertação apresentada ao Departamento de Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Camarini

Versão original

São Paulo
2011

RESUMO

Rocha MCV. Efeitos do tratamento com cocaína sobre parâmetros comportamentais e na expressão de CREB/pCREB e BDNF em camundongos adolescentes e adultos [dissertação (Mestrado em Farmacologia)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

A fase da adolescência difere da fase adulta em parâmetros comportamentais e neuroquímicos. Alterações do fator de transcrição CREB, da neurotrofina BDNF e seu receptor TrkB têm sido encontradas no circuito dopaminérgico-mesolímbico com o uso de cocaína. Este estudo avalia os efeitos da administração de cocaína em camundongos adolescentes e adultos na sensibilização psicomotora, no comportamento tipo ansiedade, nos níveis protéicos de CREB/pCREB, BDNF e TrkB e na expressão gênica de BDNF e TrkB no córtex pré-frontal (CPF) e hipocampo desses animais. Os adolescentes mostraram-se mais suscetíveis aos efeitos da droga, com maior ativação locomotora, maior efeito de condicionamento ao ambiente, maior nível de ansiedade induzido pela droga e alterações neuroquímicas distintas dos adultos (diminuição dos níveis de CREB com o tratamento repetido e aumento na abstinência em CPF e hipocampo; aumento de RNAm de BDNF após tratamento agudo, repetido e abstinência em CPF e diminuição no hipocampo), sugerindo maior vulnerabilidade desse grupo no desenvolvimento da dependência.

Palavras-chave: Adolescentes. Cocaína. Camundongos. Comportamento. Proteínas. Expressão gênica.

ABSTRACT

Rocha MCV. Effects of cocaine treatment in behavioral parameters and in the expression of CREB/pCREB and BDNF in adolescent and adult mice. [Masters thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

The adolescence differs from adulthood in behavioral and neurochemical aspects. Changes in the activity of the transcriptional factor CREB, neurotrophin BDNF and its receptor TrkB have been found in the mesolimbic-dopaminergic circuitry following the use of cocaine. This study evaluates the effects of cocaine administration in adolescent and adult mice in the locomotor sensitization and in the anxiety-like behavior. The study also accesses the protein levels of CREB/pCREB, BDNF and TrkB, and gene expression of BDNF and TrkB in the prefrontal cortex and hippocampus of these animals. In a general way, adolescents were more susceptible to drug effects, with increased levels of locomotor activity, environmental conditioning, anxiety-like behavior and greater neurochemical alterations, suggesting an increased risk in the development of drug dependence.

Keywords: Adolescents. Cocaine. Mice. Behavior. Proteins. Gene expression.

1 INTRODUÇÃO

A dependência a substâncias psicoativas como álcool, anfetamina e cocaína é caracterizada por um comportamento compulsivo de busca e uso da droga em detrimento das sérias consequências negativas e está entre um dos distúrbios psiquiátricos de maior prevalência, contribuindo significativamente para a mortalidade e a morbidade física e social. De acordo com o *II Levantamento Domiciliar sobre Uso de Drogas Psicotrópicas no Brasil, 2005*, realizado pelo Centro Brasileiro de Informação sobre Drogas (CEBRID), 2,9% dos 7.939 entrevistados já haviam feito uso de cocaína ao menos uma vez na vida. A situação encontrada foi pior no estudo realizado pelo CEBRID em 2003 com 2.807 crianças e adolescentes em situação de rua nas 27 capitais brasileiras. De acordo com o estudo, 24,5% dos entrevistados já haviam feito uso de cocaína ou seus derivados ao menos uma vez na vida e 12,6% relataram uso recente (no mês).

Em humanos, os distúrbios relacionados à dependência geralmente começam na adolescência ou início da fase adulta. Por exemplo, estudos epidemiológicos mostraram que a maioria dos fumantes nos Estados Unidos começou a fumar antes dos 18 anos (Giovino, 1999), e o início do uso diário de cigarro é incomum após os 25 anos (Breslau et al., 2001). Cerca de 40% dos adultos dependentes de álcool experimentam sintomas de alcoolismo entre 15 e 19 anos, e 80% dos casos de alcoolismo têm início antes dos 30 anos de idade (Helzer et al., 1991). A idade média de início do uso de drogas ilícitas relatada por adultos dependentes é de 16 anos, com 50% dos casos começando entre 15 e 18 anos e raramente após os 30 anos (Anthony et al., 1991).

A adolescência é um período do desenvolvimento humano caracterizado por aumento do comportamento de risco, procura por novidades e aumento do valor atribuído às interações sociais fora do ambiente familiar. Por esse motivo, não é surpreendente que diversas evidências clínicas apontem para esse período como uma fase de maior vulnerabilidade biológica à dependência e aumento tanto no uso de drogas lícitas como cigarro e álcool, quanto ilícitas como *marijuana* e cocaína (Spear, 2000). De fato, os adolescentes demonstram uma progressão mais precipitada no uso de drogas ilícitas como a cocaína do que os adultos (Warner et al., 1991; Estroff et al., 1989) e comparados a indivíduos que iniciam o uso de álcool e *cannabis* quando adultos, apresentam períodos mais curtos entre o primeiro uso e

a dependência (Clark et al., 1998). Outro estudo mostrou que apesar de fumarem menos cigarros que os adultos, os adolescentes mostram maiores taxas de dependência (Kandel et al., 2000) e embora as taxas de uso de bebidas alcoólicas sejam semelhantes entre adultos e adolescentes, as taxas de abuso e dependência variam inversamente com a idade (Grant, 1997).

Além das evidências clínicas e epidemiológicas, existem diferenças anatômicas e funcionais das estruturas cerebrais que ainda estão em desenvolvimento. De um modo geral, o desenvolvimento do encéfalo continua além da infância e da adolescência (Sowell, 2004). O encéfalo do adolescente é caracterizado por mudanças vigorosas no crescimento e conectividade. Por exemplo, entre aproximadamente seis e 12 anos, a proporção do ventrículo lateral em relação ao volume cerebral permanece constante e aumenta consistentemente dos 12 aos 18 (Giedd et al., 1996). Dos quatro aos 17 anos há um aumento progressivo na densidade da substância branca dessa estrutura, provavelmente devido ao aumento da mielinização neuronal e do calibre dos axônios, contribuindo para o aumento na eficiência da propagação do potencial de ação (Paus et al., 1999). Além de alterações marcantes na taxa metabólica cerebral, que refletem neuroplasticidade (Kety, 1956).

O córtex pré-frontal (CPF) é uma área importante para o julgamento, tomada de decisão, controle das respostas emocionais e está associado a funções executivas. Anormalidades nessa estrutura aumentam o risco do desenvolvimento de distúrbios relacionados a drogas de abuso, possivelmente por envolver alterações nas respostas motivacionais a essas substâncias (revisado em Chambers et al., 2003). O hipocampo é uma estrutura cerebral envolvida principalmente nos processos de aprendizado e memória, e também pode sofrer alterações decorrentes da ação de drogas de abuso (Nixon e Crews, 2002). O hipocampo e o córtex pré-frontal atingem a maturidade mais tardiamente do que as áreas cerebrais primárias sensório-motoras (Durston e Casey, 2006; White e Swartzwelder, 2004), e distúrbios no desenvolvimento cerebral induzidos por drogas podem levar a consequências adversas de longo prazo (Adriani e Laviola, 2004), uma vez que o início do uso de álcool e de outras drogas durante a adolescência está fortemente relacionado ao abuso e à dependência em fases posteriores da vida (Spear, 2000).

Diversos trabalhos apontam para o envolvimento de regiões subcorticais, estriatais e do córtex pré-frontal em processos emocionais e cognitivos de tomada

de decisão e como alvos da ação de drogas de abuso (Groenewegen et al., 1999; Woodward et al., 1999; Masterman e Cummings, 1997; Chang et al., 2000; Breiter et al., 2001), e a diferença de resposta às drogas nessas regiões, durante o desenvolvimento, parece estar envolvida com a maior predisposição dos adolescentes à ocorrência de um comportamento de alto risco e exploração, como discutido a seguir.

Estudos com ratos sugerem a existência de um circuito motivacional primário envolvendo o córtex pré-frontal e estriado ventral, que possui acesso direto às estruturas de saída motora (Kalivas et al., 1999). Esse sistema anterior é regulado por outro sistema secundário, posteriormente localizado e mais amplamente distribuído que fornece múltiplas modalidades de informação sensorial por meio de projeções axonais que convergem para o circuito primário (Pennartz et al., 1994; Jentsch et al., 2000), por exemplo, o hipocampo e a amígdala enviam informação de memória contextual e afetiva relevantes para o estímulo motivacional (Bechara, 2001; Pennartz et al., 1994; Panksepp, 1998). O circuito motivacional primário possui populações de neurônios capazes de gerar padrões de disparo que podem codificar múltiplos aspectos da resposta motivacional ou respostas motivacionais alternativas (Woodward et al., 1999). Essas representações ocorrem entre os neurônios interconectados por alças paralelas de projeções axonais do CPF para o estriado ventral (do núcleo *accumbens* ao globo pálido ventral), em seguida para o tálamo e novamente para o córtex (Masterman e Cummings, 1997). Assim, a informação motivacional é enviada por meio de projeções gabaérgicas do Núcleo *Accumbens* (NAc) ao globo pálido ventral e em seguida para o tálamo que, por sua vez, influencia os centros de saída motora corticais e subcorticais (revisado em Chambers et al., 2003) (Figura 1A).

Os substratos neurais promotores da motivação envolvem a liberação de dopamina no estriado, que é o principal efeito modulatório envolvido na transformação da motivação em ação, operando como um sinal geral “siga” (Panksepp, 1998). A descarga dopaminérgica no núcleo *accumbens* está associada ao estímulo motivacional, recompensa subjetiva, cognição pré-motora e aprendizado de um novo comportamento (Panksepp, 1998; Masterman e Cummings, 1997; Ito et al., 2002) e pode ser aumentada por diversos estímulos como drogas de abuso, recompensas naturais (por ex.: comida e sexo) e estímulos aversivos ou estressantes (Panksepp, 1998; Self e Nestler, 1998; Volkow e Fowler, 2000). Alguns

trabalhos mostram que a descarga dopaminérgica tem o efeito de alterar as respostas neuronais do NAc às aferências glutamatérgicas córtico-límbicas. Propõe-se que esses eventos levem a relativos extremos de padrões de disparo neuronal no NAc, aumentando a amplitude dos picos locais que codificam para a ativação de eventos comportamentais nos sistemas motores (O'Donnell et al., 1999; Kalivas, 1993b; Ito, 2002; Finch, 1996) (Figura 1B).

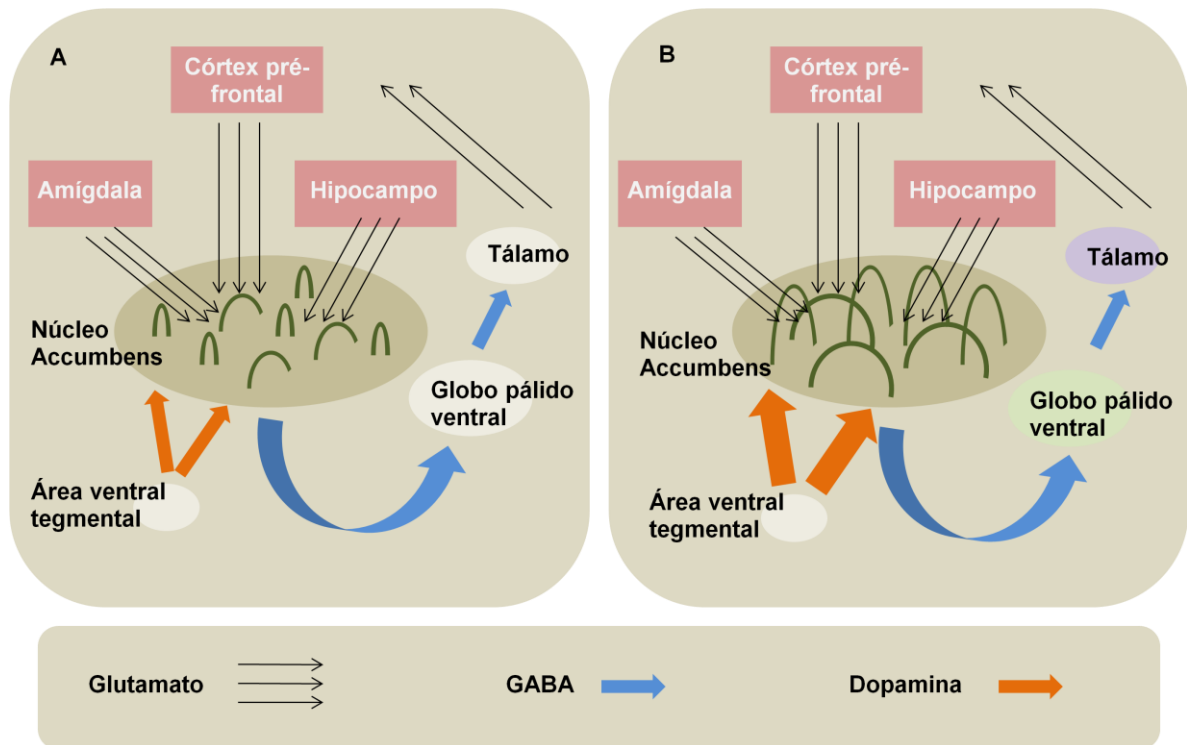


Figura 1 - **A)** Aferências glutamatérgicas do córtex pré-frontal, amígdala e hipocampo enviam informação executiva, afetiva e de memória contextual para o NAc, influenciando os padrões de disparo neuronal nessa estrutura. A informação motivacional é enviada ao globo pálido ventral por meio de projeções gabaérgicas e então para o tálamo, que por sua vez influencia os centros corticais e subcorticais de saída motora. **B)** Eventos como a identificação de uma novidade ambiental e a ação de drogas de abuso alteram a descarga dopaminérgica no NAc levando a relativos extremos no padrão de disparo neuronal (representado em verde escuro) e alterando a resposta neuronal dessa estrutura às aferências glutamatérgicas límbicas e corticais. Fonte: adaptado de Chambers et al., 2003.

Durante a adolescência, o córtex pré-frontal ainda está em desenvolvimento, limitando a capacidade de inibição motivacional, o que explica os comportamentos de risco e a impulsividade característicos dessa idade. Esse fato aliado a uma robusta atividade dopaminérgica disparada pela novidade, característica dos adolescentes, pode potencializar a capacidade das drogas de abuso de manter o circuito motivacional ativado, como representado na figura 1B, produzindo

consequências motivacionais de longo prazo mais profundas e predispondo os adolescentes a um aumento de ações impulsivas e comportamentos de risco, incluindo a experimentação e uso abusivo de drogas (Chambers et al., 2003).

Muitas pessoas passam por experiências com drogas de potencial abusivo, no entanto, mesmo para drogas de alto poder de dependência como a cocaína, somente 15 a 16% dos usuários se tornam dependentes dentro de dez anos do primeiro uso (Wagner e Anthony, 2002), ou seja, o uso da droga não leva inevitavelmente à dependência. Este distúrbio é mais do que o mero uso da substância, mas um padrão comportamental compulsivo de busca e uso da droga que toma uma parcela extremamente alta do tempo e pensamentos do indivíduo, sobrepondo-se a todas as outras atividades e persistindo apesar das consequências adversas (Hasin et al., 2006).

Diversos estudos sugerem que a transição para a dependência seja decorrente de um aprendizado aberrante, uma vez que as drogas subvertem os mecanismos neuronais envolvidos nas funções de aprendizado e memória normais (White, 1996; Berke e Hyman, 2000; Everitt et al., 2001; Hyman e Malenka, 2001). Embora essa teoria não seja capaz de explicar completamente a natureza compulsiva da adição (Robinson e Berridge, 2003), a memória e aprendizado têm importante atuação na dependência, por exemplo, as drogas podem distorcer o processo pelo qual o usuário conecta um sinal específico, como um lugar particular, com o estado induzido por ela (Robbins e Everitt, 1999). Além disso, as associações que ocorrem durante o uso repetido da droga também podem levar a manifestações posteriores que disparam os processos de recaída. Por exemplo, usuários de cocaína abstinentes reportaram intenso desejo subjetivo e excitação autonômica quando expostos a estímulos pareados à cocaína (Avants et al., 1995; Ehrman et al., 1992).

O circuito relacionado ao NAc (descrito anteriormente) é crítico para recompensas naturais adquirirem e exercerem controle motivacional sobre o comportamento (Kelley e Berridge, 2002). No entanto, drogas de abuso não apenas envolvem esses circuitos de recompensa frequentemente de forma mais potente que as recompensas naturais, como também os transformam. Neuroadaptações persistentes induzidas por drogas no circuito relacionado ao NAc têm sido encontradas nos níveis molecular, celular e de sistemas neurais (Nestler et al. 1993; Robinson e Berridge, 1993, 2000; Vanderschuren e Kalivas, 2000; Hyman e

Malenka, 2001). Essas neuroadaptações têm sido apontadas como críticas na transição do uso controlado de drogas de abuso para o descontrolado.

A teoria da sensibilização do incentivo, originalmente publicada em 1993 por Robinson e Berridge, sugere que as drogas alteram de forma duradoura os sistemas cerebrais relacionados ao NAc, que medeiam uma função básica de incentivo motivacional, a atribuição de saliência ao incentivo. Como consequência, esses circuitos podem tornar-se hipersensíveis (sensibilizados) aos efeitos de incentivo motivacional da droga e estímulos a ela associados, provocando um “querer” excessivo pela droga que é desvinculado da hedonia. Estudos com dependentes mostraram que doses de drogas muito baixas para produzir qualquer experiência consciente de prazer podem ativar um “querer” implícito que é visto pelo aumento no comportamento de busca pela droga (Lamb et al., 1991; Fischman e Foltin, 1992). Esse processo é de fundamental importância na compulsão e na recaída.

A ativação psicomotora desencadeada por diversas drogas de potencial abusivo é mediada por um sistema neural que se sobrepõe àqueles envolvidos na recompensa, refletindo o engajamento de sistemas de incentivo cerebrais, incluindo os sistemas dopaminérgicos mesotelencefálicos (Wise e Bozarth, 1987). Portanto, a sensibilização psicomotora fornece um meio de estudar a sensibilização do circuito motivacional. Mas é a sensibilização deste último circuito, e não a sensibilização psicomotora, que contribui para a dependência (Robinson e Berridge, 2008).

A sensibilização comportamental é considerada um modelo de neuroadaptação caracterizado por aumento progressivo dos efeitos estimulantes motores induzidos pela administração repetida de uma droga de abuso, tendo sido primeiramente descrita para drogas psicoestimulantes como anfetaminas (Segal e Mandell, 1974; Shuster et al., 1982) e cocaína (Shuster et al., 1977). As alterações biológicas da sensibilização se correlacionam com um estado motivacional descrito como “desejo”, “compulsão” ou “fissura”, que aumenta progressivamente com o uso contínuo da droga. Acredita-se que a sensibilização comportamental esteja relacionada principalmente a neuroadaptações caracterizadas pela sensibilização da via dopaminérgica mesolímbica (Wise e Bozarth, 1987), em que se observa o aumento na liberação de dopamina da Área Ventral Tegmental (AVT) no NAc (Robinson e Berridge, 2000). Além disso, receptores dopaminérgicos do tipo D₁ (RD₁) tornam-se hipersensíveis após a sensibilização, provavelmente potencializando o sinal dopaminérgico mesolímbico (White e Kalivas, 1998). As

neuroadaptações associadas à sensibilização comportamental à cocaína ocorrem em estruturas mesolímbicas, particularmente na AVT (McFarland e Kalivas, 2001; Vezina e Stewart, 1989), NAc (Nestler, 2001; Robinson e Kolb, 1999) e córtex pré-frontal medial (Sorg et al., 1997).

A ação primária da cocaína se dá por inibição do transportador de dopamina e consequente bloqueio de sua recaptação, resultando em aumento da concentração extracelular do neurotransmissor. A cocaína também pode aumentar a concentração extracelular de serotonina e noradrenalina pelo bloqueio dos transportadores dessas monoaminas. No entanto, a maioria dos efeitos de recompensa da droga vem da inibição dos transportadores dopaminérgicos, aumento da disponibilidade de dopamina e subsequente ativação de receptores acoplados à proteína G (GPCRs). O aumento de dopamina na fenda sináptica, por ação da cocaína, atua principalmente por ligação ao receptor dopaminérgico acoplado à proteína G estimulatória do tipo D1. Esta ligação ativa a enzima adenilil ciclase que catalisa a transformação de adenosina trifosfato (ATP) em adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc). O aumento deste mensageiro ativa a proteína quinase A dependente de AMPc (PKA), levando à dissociação de sua subunidade catalítica (C α) da regulatória (R). A C α pode migrar para o núcleo e fosforilar a proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB) (revisado em Ron e Jurd, 2005).

O CREB pertence à superfamília bZIP de fatores de transcrição caracterizada por um domínio básico c-terminal que medeia a ligação ao DNA e por um domínio *zipper* de leucina que facilita a dimerização. As principais isoformas de CREB contêm o domínio bZIP e dois domínios ricos em glutamina denominados Q1 e Q2/CAD que são separados pelo domínio indutível de quinase (KID). Enquanto o domínio bZIP medeia a ligação ao DNA e dimerização, os domínios restantes servem para facilitar a interação com co-ativadores e componentes da maquinaria transcricional que levam à síntese de RNA. Dentro do KID está o resíduo de serina 133 (ser133), que quando fosforilado de maneira estímulo-dependente promove a ligação do CREB às regiões promotoras de genes que possuem o sítio de ligação para o CREB (CRE) e torna o domínio alvo de ligação para a proteína de ligação ao CREB (CBP), envolvida na co-ativação transcricional de vários fatores de transcrição (Figura 2). A CBP acetila histonas e outras proteínas regulatórias e interage diretamente com a maquinaria de transcrição basal, facilitando o início da transcrição gênica (revisado em Bonnie et al., 2002).

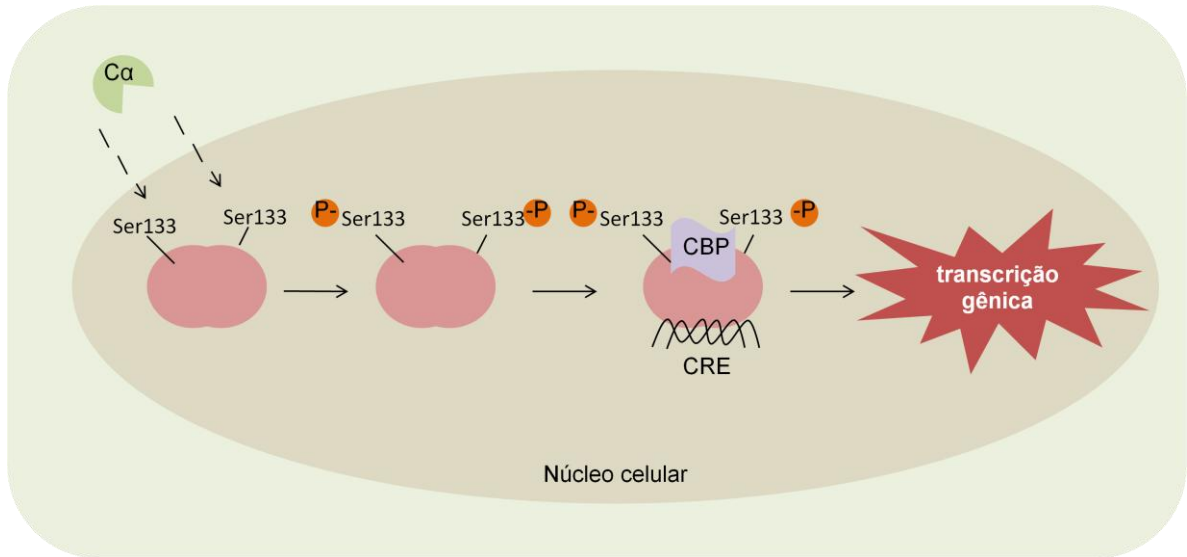


Figura 2 - A subunidade catalítica da PKA (Ca) desloca-se para o núcleo e fosforila os resíduos de ser133 do CREB (representado em rosa), levando à sua ativação. O CREB fosforilado é capaz de ligar-se ao sítio CRE, presente na região promotora de diversos genes, e recrutar a CBP, que atua na maquinaria de transcrição basal, levando à transcrição gênica.

Em 2003, uma análise genômica das sequências de ligação para CREB revelou 1.349 sítios no genoma de camundongo e 1.663 sítios no genoma humano (Conkright et al., 2003). Experimentos posteriores de imunoprecipitação de cromatina estimaram que o número total de sítios de ligação para CREB no genoma de mamíferos é de 4.000 a 30.000 (Impey et al., 2004; Zhang et al., 2005). A grande quantidade de genes supostamente regulados por CREB e a diversidade funcional de suas ações indicam o importante papel biológico desse fator de transcrição em diversos processos celulares. Outra forma de estudar o envolvimento de CREB na regulação de um gene-alvo específico é verificando se o estímulo conhecido por ativar a expressão desse gene induz fosforilação da ser133. Desta forma, encontraram-se muitos estímulos capazes de fosforilar CREB incluindo receptores dopaminérgicos, glutamatérgicos e gabaérgicos, cocaína, anfetamina, opióides, canabinóides, antidepressivos, entre outros (revisado em Johannessen et al., 2004). E a lista de genes-alvo do CREB inclui aqueles que controlam neurotransmissão, estrutura celular, transdução de sinal, transcrição e metabolismo, entre outros, e sua ativação modula o balanço intracelular entre fatores de sobrevivência e de morte celular a favor daqueles responsáveis pela sobrevivência. (revisado em Bonnie et al., 2002).

O envolvimento de CREB na formação e manutenção da memória tem sido extensivamente estudado. Na década de 90, estudos com *Drosophila* e *Aplysia* mostraram o envolvimento direto desse fator de transcrição na formação e plasticidade sináptica da memória (Yin et al., 1994; Bartsch et al., 1995), e esses estudos foram seguidos por diversos outros investigando sua ativação na memória, por exemplo, em roedores, o CREB está envolvido na memória de condicionamento do medo, no condicionamento ao sabor aversivo, na memória olfativa, na memória de reconhecimento e memória espacial (Benito e Barco, 2010).

Em regiões do sistema nervoso central envolvidas na dependência, a fosforilação de CREB e a expressão gênica mediada por CRE variam dramaticamente de forma dependente da exposição a drogas como opiáceos, cocaína, anfetamina, álcool e nicotina. A exposição repetida a psicoestimulantes altera a expressão de vários fatores de transcrição, o que parece ter uma relação causal com os efeitos subjetivos das drogas, sendo o CREB um dos principais fatores de transcrição envolvidos nos processos de dependência. A administração de drogas de abuso causa uma ativação do CREB, via fosforilação, em regiões do circuito motivacional (Yamamoto et al., 1988; Walters et al., 2003). Alterações na ativação da via do AMPc e CREB nessas regiões têm sido relatadas em resposta à administração de diversas drogas (Cole et al., 1995; Carlezon et al., 1998; Berke e Hyman, 2000; Nestler, 2001; Walters et al., 2003). Mais especificamente, a via do AMPc-PKA no NAc tem sido associada à dependência à cocaína porque seu efeito recompensador é mediado pelos receptores dopaminérgicos que modulam a formação do AMPc. De fato, a exposição repetida à cocaína induz uma ativação dessa via em neurônios do NAc (Self et al., 1998). Acredita-se que a ativação de CREB induzida por drogas nesses centros de motivação seja responsável por algumas características comuns encontradas na adição.

Diversos estímulos que produzem diferentes tipos de resposta funcionam por meio de um mesmo efetor. Isso só é possível devido à diversidade de vias que regulam a fosforilação de CREB. Como vimos, CREB pode ser fosforilado pela via da PKA por meio da ligação de moléculas sinalizadoras às GPCRs. No entanto, a habilidade de ativar CREB por essa via não está restrita à ativação de proteína G, já que alguns subtipos de adenilil ciclase são ativados por cálcio e, portanto, a ativação pode ocorrer em resposta a estímulos que aumentem o nível de cálcio intracelular (revisado em Poser e Storm, 2001). O influxo de cálcio neuronal pode ocorrer, por

exemplo, por meio de canais de cálcio dependentes de voltagem (VSCC) após despolarização ou pela ativação de receptores ionotrópicos, como o receptor glutamatérgico NMDA. O cálcio também pode ligar-se à proteína calmodulina, formando o complexo cálcio-calmodulina (Ca-Cam) que pode ativar algumas cálcio-calmodulinas quinases (Ca-CamK) capazes de fosforilar CREB, especialmente a Ca-CamKIV (Anderson e Means, 2002). Outra via capaz de fosforilar CREB é a via da Ras/proteína quinase regulada por sinal extracelular (Ras/ERK) caracterizada por uma cascata de quinases, dentre as quais estão membros da família RSK e MSK. As quinases MSK1, MSK2, RSK1, RSK2 e RSK3 são ativadas por proteínas quinase ativadas por mitógeno (MAPKs), como a ERK, e têm a capacidade de fosforilar CREB em resposta a fatores de crescimento (De Cesare et al., 1998; Arthur e Cohen, 2000). Muitos desses fatores de crescimento sinalizam via receptor tirosina quinase (TrK) e podem ativar outra via de sinalização, a via do fosfatidilinositol-3-quinase/Akt (PI3/Akt) (Cantley, 2002). A fosforilação de CREB também é induzida por estímulos estressores como hipóxia e radiação ultravioleta (UV), e o mecanismo parece envolver MAPKs (Deak et al., 1998). Por outro lado, mecanismos e vias como as fosfatases PP1 e PP2A podem levar à desfosforilação de CREB, controlando a cinética e duração de sua ativação (revisado em Bonnie et al., 2002).

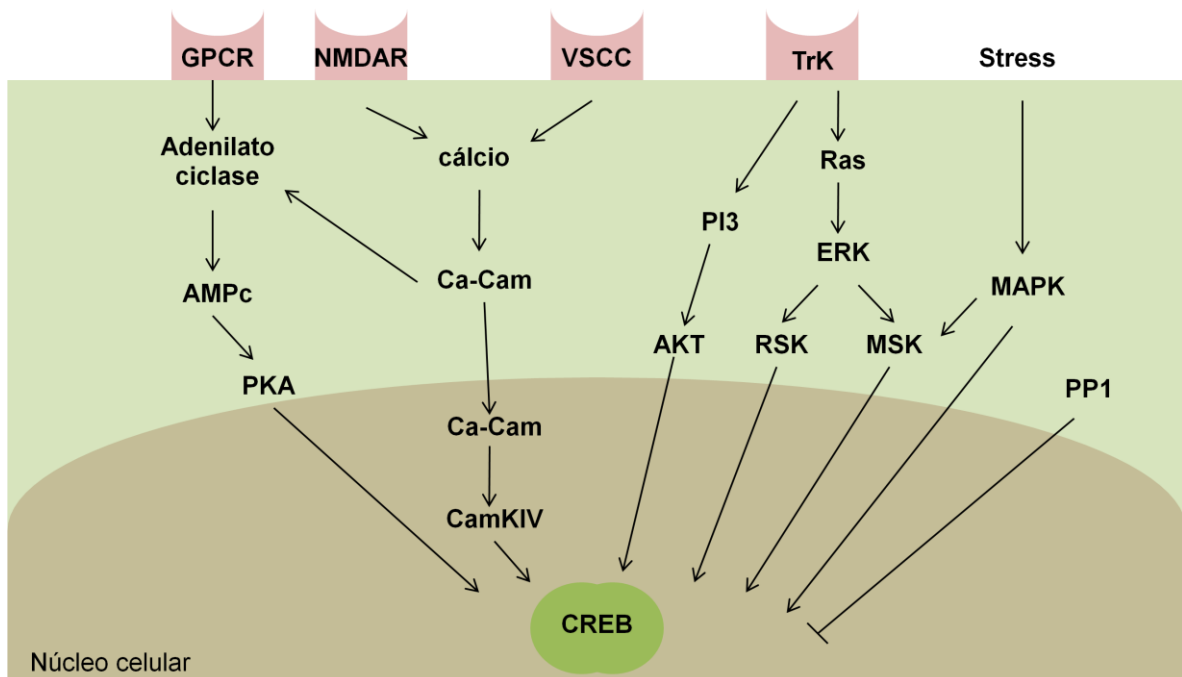


Figura 3 - Vias de regulação da ativação do CREB. Neurotransmissores excitatórios, ligantes de GPCRs, fatores de crescimento neuronais e *stress* estão entre os estímulos que ativam as vias de sinalização que levam à ativação de CREB.

Fonte: adaptada de Bonnie et al., 2002.

O fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) é um dos genes-alvo da ativação de CREB. O BDNF pertence à família de neurotrofinas polipeptídicas que inclui o fator de crescimento neural (NGF), a neurotrofina-3 (NT3) e a neurotrofina-4/5 (NT4/5). É inicialmente sintetizado na forma de um precursor com 32 KDa, o pró-BDNF, que é quebrado intracelularmente originando a proteína madura de 14 KDa, o BDNFm (Mowla et al., 2001), que pode formar dímeros não-covalentes estáveis (Chao, 2003).

Existem duas vias de secreção de BDNF nos neurônios, a via dependente de regulação e a constitutiva. Na via de secreção dependente de regulação, o BDNF é estocado em vesículas grandes que se fundem à membrana plasmática após um aumento de cálcio intracelular. Na via constitutiva, ele é armazenado em grânulos menores e continuamente liberado por um processo de fusão independente de cálcio, que ocorre na ausência de qualquer evento específico. A liberação da neurotrofina pela via dependente de regulação requer o aumento de cálcio intracelular. O aumento do cálcio intracelular pode resultar de um influxo por canais de cálcio dependentes de voltagem ou por receptores NMDA após despolarização da membrana ou pela ativação de estoques de cálcio intracelulares após ativação de receptores glutamatérgicos metabotrópicos. Além disso, a PKA pode regular a cinética de liberação vesicular do BDNF. Os estímulos capazes de levar à liberação de BDNF são diversos, incluindo glutamato, estimulação elétrica, cafeína, entre outros, e essa heterogeneidade nas fontes de cálcio e de estímulos sugere que diversas modalidades de secreção da neurotrofina podem co-existir (revisado em Kuczewski et al., 2009).

A transdução do sinal de BDNF é mediada pela ligação a dois receptores transmembrana diferentes: o receptor de alta afinidade tirosina quinase B (TrkB), que reconhece especificamente BDNF, e o receptor de neurotrofina de baixa afinidade p75, que reconhece outras neurotrofinas. A ligação de BDNF com TrkB induz a dimerização do receptor, autofosforilação de tirosinas intracelulares específicas e ativação de três cascatas de transdução de sinais diferentes, incluindo MAPK/ERK, PI3K e fosfolipase C (revisado em Corominas et al., 2007). As vias da MAPK, PI3K, Cálcio-Calmodulina e AMPc-PKA regulam CREB (Figura 3), e a ativação deste, por sua vez, leva à transcrição de BDNF (Tao et al., 1998).

As neurotrofinas são essenciais no desenvolvimento, funcionamento, sobrevivência e plasticidade dos neurônios (Lu et al., 2005; Huang e Reichardt,

2001). E diversos estudos mostram o envolvimento de BDNF na potenciação de longo prazo (LTP) tanto na fase inicial como na tardia, na modulação da transmissão sináptica, na síntese de proteínas dendríticas, na formação de espinhas dendríticas e em modelos animais de aprendizagem e memória (Bramham et al., 1996; Kang e Schuman, 1996; Messaoudi et al., 1998; Heldt et al., 2007; Soule et al., 2006). Essa neurotrofina e suas vias de sinalização intracelular também estão envolvidas nas mudanças neuroadaptativas dos sistemas dopaminérgico e glutamatérgico que são a base do abuso e dependência a psicoestimulantes (Filip et al., 2006; Horger et al., 1999; Lu et al., 2004; Grimm et al., 2003), por exemplo, a infusão de BDNF no NAc aumentou os efeitos locomotores da cocaína, além de aumentar a resposta induzida pela droga a um reforço condicionado a ela, e o aumento dos efeitos da cocaína persistiu por mais de um mês após o término da infusão, sugerindo que o BDNF promove alterações de longo prazo no sistema dopaminérgico-mesolímbico, ativando mecanismos de aprendizado associativo envolvidos na persistência do comportamento de adição (Horger et al., 1999).

Uma vasta literatura mostra que a exposição repetida de cocaína durante a vida adulta resulta em mudanças múltiplas nos mecanismos dopaminérgicos, incluindo aumento na liberação de dopamina (Camarini et al., 2008). Em relação ao efeito da cocaína sobre animais adolescentes, estes apresentam um pico extracelular de dopamina no NAc mais rápido do que os adultos. Aumentos precoces na sinalização dopaminérgica têm sido uma observação consistente em estudos sobre os efeitos reforçadores das drogas de abuso, por representar uma combinação do efeito da droga *per se* mais o influxo dopaminérgico induzido pela expectativa pela droga (Philpot e Kirstein, 1999). Esses dados mostram existir diferenças na resposta dopaminérgica à cocaína entre adolescentes e adultos.

Dessa forma, este trabalho propõe o estudo dos efeitos da cocaína sobre o CREB, o qual pode ser modulado pela via de sinalização ativada por receptores dopaminérgicos, e do produto de um de seus genes-alvo, o BDNF, em animais adolescentes e adultos.

6 CONCLUSÕES

Os resultados dos testes de atividade locomotora mostraram que embora os animais de ambas as idades tenham sensibilizado, os adolescentes apresentaram maior ativação locomotora em resposta à cocaína, além de maior efeito de habituação e de condicionamento ao ambiente de teste. Os testes de ansiedade, por sua vez, mostraram que os adolescentes partem de um nível de ansiedade basal mais baixo e são mais sensíveis aos efeitos ansiogênicos da droga.

A administração aguda de cocaína levou ao aumento dos níveis protéicos de CREB e pCREB no córtex pré-frontal dos animais, o que pode estar relacionado ao processo de aprendizagem da associação do contexto com os efeitos da droga. Já a administração prolongada da droga levou à diminuição dos níveis protéicos de CREB nessa mesma estrutura nos animais adolescentes, o que pode, em parte, estar relacionado ao aumento do comportamento ansioso.

Durante a abstinência, houve aumento dos níveis protéicos de CREB e/ou pCREB no córtex pré-frontal e hipocampo e da expressão gênica de BDNF e TrkB no córtex pré-frontal dos adolescentes, sugerindo uma facilitação neuroplástica que poderia estar envolvida em alterações neuronais de longo prazo, levando ao aumento do risco de recaída relatado por diversos autores nesse grupo de idade.

O aumento da expressão de BDNF e TrkB no córtex pré-frontal dos animais adolescentes em contraposição à diminuição da expressão nos adultos reforça nossa hipótese de que o sistema nervoso daquele grupo possa ser mais suscetível às alterações de longo prazo induzidas pela cocaína por estar sujeito a uma facilitação da plasticidade neuronal que poderia resultar em um aprendizado aberrante. Já a diminuição de RNAm de BDNF e TrkB no hipocampo desses animais parece indicar uma maior suscetibilidade à neurotoxicidade induzida pela cocaína.

Portanto, apesar dos animais de ambas as idades sofrerem os efeitos da droga, de maneira geral, os adolescentes parecem ter respondido de forma mais proeminente a vários efeitos, sugerindo que a ação das substâncias psicoativas em um sistema nervoso ainda em desenvolvimento possa provocar alterações mais intensas do que em um sistema nervoso já formado e levar ao aumento do comportamento de busca pela droga, recaída e consumo relatado por diversos autores nesse grupo de idade.

A regulação de BDNF mostrou-se independente da ação do CREB/pCREB após o tratamento com cocaína, o que sugere que essa neurotrofina esteja sendo regulada por outras vias (por ex., MAPK) ou que essa variação esteja sendo determinada pelo transporte anterógrado/retrógrado. O estudo também mostrou que a cocaína tem atuação diferente dependente da região cerebral, isto é, pode haver aumento de um fator no córtex pré-frontal ao mesmo tempo em que há diminuição desse mesmo fator no hipocampo.

Esses resultados mostram a complexidade do tratamento da dependência e a necessidade das abordagens terapêuticas considerarem as diferenças ontogênicas.

REFERÊNCIAS*

Abel T, Martin KC, Bartsch D, Kandel ER. Memory suppressor genes: inhibitory constraints on the storage of long-term memory. *Science*. 1998;279(5349):338-41.

Abel T, Nguyen PV, Barad M, Deuel TA, Kandel ER, Bourtchouladze R. Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell*. 1997;88(5):615-26.

Adriani W, Laviola G. A unique hormonal and behavioral hyporesponsivity to both forced novelty and d-amphetamine in periadolescent mice. *Neuropharmacology*. 2000;39:334-46.

Adriani W, Laviola G. Windows of vulnerability to psychopathology and therapeutic strategy in the adolescent rodent model. *Behav Pharmacol*. 2004;15(5-6):341-52.

Allan VK, Jensen CL, Murphy DL. Locomotory patterns, spatiotemporal organization of exploration and spatial memory in serotonin transporter knockout mice. *Brain Res*. 2007;169:87-97.

Alonso M, Vianna MR, Depino AM et al. BDNF-triggered events in the rat hippocampus are required for both short- and long-term memory formation. *Hippocampus*. 2002;12(4):551-60.

Altar CA, Cai N, Bliven T, Juhasz M, Conner JM, Acheson AL, Lindsay RM, Wiegand SJ. Anterograde transport of brain-derived neurotrophic factor and its role in the brain. *Nature*. 1997;389(6653):856-60.

Anderson KA, Means AR. Defective signaling in a subpopulation of CD4 T cells in the absence of Ca(2)/calmodulin-dependent protein kinase IV. *Mol Cell Biol*. 2002;22:23-9.

Ang E, Chen J, Zagouras P, Magna H, Holland J, Schaeffer E, Nestler EJ. Induction of nuclear factor-kB in nucleus accumbens by chronic cocaine administration. *Journal of Neurochemistry*. 2001;79:221-4.

Anthony J, Helzer J. Syndromes of drug abuse and dependence. In: Robins LN, Regier DA. *Psychiatric disorders in America: the epidemiologic catchment area study*. New York: Free Press;1991. p. 116-54.

Arthur JS, Cohen P. MSK1 is required for CREB phosphorylation in response to mitogens in mouse embryonic stem cells. *FEBS Lett*. 2000;482:44-8.

Avants SK, Margolin A, Kosten TR, Cooney NL. Differences between responders and nonresponders to cocaine cues in the laboratory. *Addict Behav*. 1995;20:215-24.

*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Badanich KA, Maldonado AM e Kirstein CL. Early adolescents show enhanced acute cocaine-induced locomotor activity in comparison to late adolescent and adult rats. *Dev Psychobiol.* 2008;50:127–33.

Barco A, Lopez de Armentia M, Alarcon JM. Synapse-specific stabilization of plasticity processes: The synaptic tagging and capture hypothesis revisited 10 years later. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(4):831–51.

Bartsch D, Ghirardi M, Skehel PA, Karl KA, Herder SP, Chen M, Bailey CH, Kandel ER. Aplysia CREB2 represses long-term facilitation: relief of repression converts transient facilitation into long-term functional and structural change. *Cell.* 1995;83(6):979-92.

Bechara A. Neurobiology of decision-making: risk and reward. *Semin Clin Neuropsychiatry.* 2001;6(3):205-16.

Beinfeld MC, Connolly KJ, Pierce RC. Cocaine treatment increases extracellular cholecystinin (CCK) in the nucleus accumbens shell of awake, freely moving rats, an effect that is enhanced in rats that are behaviorally sensitized to cocaine. *J Neurochem.* 2002;81:1021–7.

Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH. BDNF and memory formation and storage. *Neuroscientist.* 2008;14(2):147-56.

Bemelmans AP, Horellou P, Pradier L, Brunetl, Colin P, Mallet J. Brain-derived neurotrophic factor-mediated protection of striatal neurons in an excitotoxic rat model of Huntington's disease, as demonstrated by adeno viral gene transfer. *Hum Gene Ther.* 1999;10:2987–97

Beninger RJ, Miller R. Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning. *Neurosci Biobehav Rev.* 1998;22(2):335-45.

Benito E, Barco A. CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models. *Trends in Neurosciences.* 2010;33:230-40.

Bergami M, Berninger B, Canossa M. Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(40):15570-5.

Berglind WJ, See RE, Fuchs RA, Ghee SM, Whitfield Jr TW, Miller SW, McGinty JF. A BDNF infusion into the medial prefrontal cortex suppresses cocaine seeking in rats. *Eur J Neurosci.* 2007;26(3):757-66.

Berglind WJ, Whitfield Jr TW, LaLumiere RT, Kalivas PW, McGinty JF. A single intra-PFC infusion of BDNF prevents cocaine-induced alterations in extracellular glutamate within the nucleus accumbens. *J Neurosci.* 2009;29(12):3715-9.

Berke JD, Hyman SE. Addiction, dopamine and the molecular mechanisms of memory. *Neuron.* 2000;25:515–32.

Bolanos CA, Glatt SJ, Jackson D. Subsensitivity to dopaminergic drugs in periadolescent rats: a behavioral and neurochemical analysis. *Dev Brain Res.* 1998;111:25–33.

Bonnie E, Lonze, Ginty DD. Function and Regulation of CREB Family Transcription Factors in the Nervous System. *Neuron.* 2002;35:605–23.

Bourtchuladze R, Frenquelli B, Blendy J, Cioffi D, Schutz G, Silva AJ. Deficient long-term memory in mice with a targeted mutation of the cAMP-responsive element-binding protein. *Cell.* 1994;79(1):59-68.

Bouwknicht JA, Paylor R. Behavioral and physiological mouse assays for anxiety: a survey in nine mouse strains. *Behav Brain Res.* 2002;136:489–501.

Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248-54.

Bramham CR, Southard T, Sarvey JM, Herkenham M, Brady LS. Unilateral LTP triggers bilateral increases in hippocampal neurotrophin and trk receptor mRNA expression in behaving rats: evidence for interhemispheric communication. *J Comp Neurol.* 1996;368(3):371-82.

Brandon CL, Marinelli M, Baker LK, White FJ. Enhanced reactivity and vulnerability to cocaine following methylphenidate treatment in adolescent rats. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25(5):651-61.

Breiter HC, Aharon I, Kahneman D, Dale A, Shizgal P. Functional imaging of neuronal responses to expectancy and experiences of monetary gains and losses. *Neuron.* 2001;30:619–39.

Breslau N, Johnson EO, Hiripi E, Kessler R. Nicotine dependence in the United States: prevalence, trends, and smoking persistence. *Arch Gen Psychiatry.* 2001;58:810–6.

Bush DE, Vaccarino FJ. Individual differences in elevated plus-maze exploration predicted progressive-ratio cocaine self-administration break points in Wistar rats. *Psychopharmacology.* 2007;194:211–9.

Camarini R, Griffin WC, Yanke AB, dos Santos BR, Foster Olive M. Effects of adolescent exposure to cocaine on locomotor activity and extracellular dopamine and glutamate levels in nucleus accumbens of DBA/2J mice. *Brain Res.* 2008;1193:34-42.

Cantley LC. The phospho inositide3-kinase pathway. *Science.* 2002;296:1655–1657.

Carey RJ, Dai H, Gui J. Effects of dizocilpine (MK-801) on motor activity and memory. *Psychopharmacology.* 1998;137:241–6.

Carey RJ, DePalma G, Damianopoulos E. Acute and chronic cocaine behavioral effects in novel versus familiar environments: open-field familiarity differentiates cocaine locomotor stimulant effects from cocaine emotional behavioral effects. *Behav Brain Res.* 2005;158:321–30.

Carlezon Jr WA, Mendrek A, Wise RA. MK-801 disrupts the expression but not the development of bromocriptine sensitization: a state-dependency interpretation. *Synapse.* 1995;20:1–9.

Carlezon Jr WA, Thome J, Olson VG, Lane-Ladd SB, Brodtkin ES, Hiroi N, Duman RS, Neve RL, Nestler EJ. Regulation of cocaine reward by CREB. *Science.* 1998;282:2272–5.

Caster JM, Walker QD, Kuhn CM. A single high dose of cocaine induces differential sensitization to specific behaviors across adolescence. *Psychopharmacology (Berl).* 2007;193:247–60.

Catlow BJ, Kirstein CL. Heightened cocaine-induced locomotor activity in adolescent compared to adult female rats. *J Psychopharmacol.* 2005;19:443–7.

Chambers RA, Taylor JR, Potenza MN. Developmental Neurocircuitry of Motivation in Adolescence: A Critical Period of Addiction Vulnerability. *Am J Psychiatry.* 2003;160:1041–52.

Chang JY, Janak PH, Woodward DJ. Neuronal and behavioral correlations in the medial prefrontal cortex and nucleus accumbens during cocaine self-administration by rats. *Neuroscience.* 2000;99:433–43.

Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4(4):299-309.

Cirulli F, Berry A, Chiarotti F, Alleva E. Intra hippocampal administration of BDNF in adult rats affects short-term behavioral plasticity in the Morris water maze and performance in the elevated plus-maze. *Hippocampus.* 2004;14:802–7.

Clark DB, Kirisci L, Tarter RE. Adolescent versus adult onset and the development of substance use disorders in males. *Drug and Alcohol Depend.* 1998;49:115–21.

Cole BJ, Robbins TW. Effects of 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens septi on performance of a 5-choice serial reaction time task in rats: implications for theories of selective attention and arousal. *Behav Brain Res.* 1989;33(2):165-79.

Cole RL, Konradi C, Douglass J, Hyman SE. Neuronal adaptation to amphetamine and dopamine: molecular mechanisms of prodynorphin gene regulation in rat striatum. *Neuron.* 1995;14:813–23.

Collins SL, Izenwasser S. Cocaine differentially alters behavior and neurochemistry in periadolescent versus adult rats. *Brain Res Dev.* 2002;138:27–34.

Conkright MD, Guzmán E, Flechner L, Su AI, Hogenesch JB, Montminy M. Genome-wide analysis of CREB target genes reveals a core promoter requirement for cAMP responsiveness. *Molecular Cell*. 2003;11(5):1417.

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

Davidson ES, Finch JF, Schenk S. Variability in subjective responses to cocaine: initial experiences of college students. *Addictive Behaviors*. 1993;18:445–53.

Davis HP, Squire LR. Protein synthesis and memory: a review. *Psychol Bull*. 1984;96(3):518-59.

De Cesare D, Jacquot S, Hanauer A, Sassone-Corsi P. Rsk-2 activity is necessary for epidermal growth factor-induced phosphorylation of CREB protein and transcription of c-fos gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(21):12202-7.

Deak M, Clifton AD, Lucocq LM, Alessi, DR. Mitogen and stress-activated protein kinase-1 (MSK1) is directly activated by MAPK and SAPK2/p38, and may mediate activation of CREB. *EMB O J*. 1998;17:4426–41.

Deinhardt K, Salinas S, Verastegui C, Watson R, Worth D, Hanrahan S, Bucci C, Schiavo G. Rab5 and Rab7 control endocytic sorting along the axonal retrograde transport pathway. *Neuron*. 2006;52:293–305.

Di Chiara G. A motivational learning hypothesis of the role of mesolimbic dopamine in compulsive drug use. *J Psychopharmacol*. 1998;12(1):54-67.

Dunne F, O'Halloran A, Kelly JP. Development of a home cage locomotor tracking system capable of detecting the stimulant and sedative properties of drugs in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2007;31:1456–63.

Durstun S, Casey BJ. What have we learned about cognitive development from neuroimaging? *Neuropsychologia*. 2006;44(11):2149-57.

Edwards S, Graham DL, Bachtell RK, Self DW. Region-specific tolerance to cocaine-regulated cAMP-dependent protein phosphorylation following chronic self-administration. *European Journal of Neuroscience*. 2007;25:2201–13.

Ehrlich ME, Sommer J, Canas E, Unterwald EM. Periadolescent mice show enhanced ΔFosB up regulation in response to cocaine and amphetamine. *J Neurosci*. 2002;22:9155–9.

Eilam D. Open-field behavior with stands drastic changes in arena size. *Behav Brain Res*. 2003;142:53–62.

Ehrman RN, Robbins SJ, Childress AR, O'Brien CP. Conditioned responses to cocaine-related stimuli in cocaine abuse patients. *Psychopharmacology (Berl.)*. 1992;107:523–9.

Estroff TW, Schwartz RH, Hoffman NG. Adolescent cocaine abuse: addictive potential, behavioral and psychiatric effects. *Clin Pediatr*. 1989;28:550–5.

Ettenberg A, Geist TD. Qualitative and quantitative differences in the operant runway behavior of rats working for cocaine and heroin reinforcement. *Pharmacol Biochem Behav*. 1993;44:191–8.

Everitt BJ, Dickinson A, Robbins TW. The neuropsychological basis of addictive behaviour. *Brain Res Rev*. 2001;36:129–38.

Everitt BJ, Robbins TW. Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci*. 2005;8(11):1481–9.

Everitt BJ, Wolf ME. Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *J Neurosci*. 2002;22(9):3312–20.

Filip M, Faron-Gorecka A, Kusmider M, Golda A, Frankowska M, Dziedzicka-Wasylewska M. Alterations in BDNF and trkB mRNAs following acute or sensitizing cocaine treatments and withdrawal. *Brain Res*. 2006;1071: 218–25.

Finch DM. Neurophysiology of converging synaptic inputs from the rat prefrontal cortex, amygdala, midline thalamus, and hippocampal formation onto single neurons of the caudate/putamen and nucleus accumbens. *Hippocampus*. 1996;6:495–512.

Fischman MW, Foltin RW. Self-administration of cocaine by humans: a laboratory perspective. In: Bock GR, Whelan J. *Cocaine: Scientific and social dimensions*. CIBA Foundation Symposium 166;1992. p.165–80.

Flexner LB, Flexner JB, De La Haba G, Roberts RB. Loss of memory as related to inhibition of cerebral protein synthesis. *J Neurochem*. 1965;12(7):535–41.

Floresco SB, Phillips AG. Delay-dependent modulation of memory retrieval by infusion of a dopamine D1 agonist into the rat medial prefrontal cortex. *Behav Neurosci*. 2001;115(4):934–9.

Foltin RW, Fischman MW. Assessment of abuse liability of stimulant drugs in humans: a methodological survey. *Drug and Alcohol Dependence*. 1991;28:3–48.

Frankland PW, Bontempi B. The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005;6(2):119–30.

Frankland PW, Bontempi B. Fast track to the medial prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(3):509–10.

Frankland PW, Bontempi B, Talton LE, Kaczmarek L, Silva AJ. The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science*. 2004;304(5672):881–3.

Frantz KJ, O'Dell LE, Parsons LH. Behavioral and neurochemical responses to cocaine in periadolescent and adult rats. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32:625–37.

Fujioka T, Fujioka A, Duman RS. Activation of cAMP signaling facilitates the morphological maturation of newborn neurons in adult hippocampus. *J Neurosci*. 2004;24:319–38.

Fumagalli F, Di Pasquale L, Caffino L, Racagni G, Riva MA. Repeated exposure to cocaine differently modulates BDNF mRNA and protein levels in rat striatum and prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience*. 2007;26:2756–63.

Furini CR, Rossato JI, Bitencourt LL, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Beta-adrenergic receptors link NO/sGC/PKG signaling to BDNF expression during the consolidation of object recognition long-term memory. *Hippocampus*. 2010;20(5):672-83.

Gawin FH, Ellinwood Jr EH. Cocaine dependence. *Annu Rev Med*. 1989;40:149-61.

Geist TD, Ettenberg A. A simple method for studying intravenous drug reinforcement in a runaway. *Pharmacol Biochem Behav*. 1990;36:703–6.

Ghinelli E, Johansson JD, Rios J, Chen LL, Zoukhri D, Hodges RR, Dartt DA. Presence and localization of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:3352-7.

Giedd JN, Snell JW, Lange N, Rajapakse JC, Casey BJ, Kozuch PL, Vaituzis AC, Vauss YC, Hamburger SD, Kaysen D, Rapoport JL. Quantitative magnetic resonance imaging of human brain development: ages 4–18. *Cereb Cortex*. 1996;6:551–60.

Giovino GA. Epidemiology of tobacco use among US adolescents. *Nicotine Tob Res*. 1999;Suppl 1:31-40.

Goldstein RZ, Volkow ND. Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry*. 2002;159(10):1642-52.

Granon S, Passetti F, Thomas KL, Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW. Enhanced and impaired attentional performance after infusion of D1 dopaminergic receptor agents into rat prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2000;20(3):1208-15.

Grant BF. Prevalence and correlates of alcohol use and DSM-IV alcohol dependence in the United States: results of the National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey. *J Stud Alcohol*. 1997;58:464–73.

Grant S, London ED, Newlin DB, Villemagne VL, Liu X, Contoreggi C, Phillips RL, Kimes AS, Margolin A. Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93(21):12040-5.

Griebel G, Belzung C, Perrault G, Sanger DJ. Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. *Psychopharmacology (Berlin)*. 2000;148:164–170.

Grimm JW, Lu L, Hayashi T, Hope BT, Su TP, Shaham Y. Time-dependent increases in brain-derived neurotrophic factor protein levels within the mesolimbic dopamine system after withdrawal from cocaine: implications for incubation of cocaine craving. *J Neurosci*. 2003;23:742–7.

Groenewegen HJ, Wright CI, Beijer AV, Voorn P. Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. *Ann NY Acad Sci*. 1999;877:49–63.

Groenink L, Pattij T, DeJongh R, Vander Gugten J, Oosting RS, Dirks A. 5-HT_{1A} receptor knockout mice and mice overexpressing corticotropin-releasing hormone in models of anxiety. *Eur J Pharmacol*. 2003;463:185–97.

Guerriero R, Hayes M, Dhaliwal S, Ren J, Kosofsky B. Preadolescent methylphenidate versus cocaine treatment differ in the expression of cocaine-induced locomotor sensitization during adolescence and adulthood. *Biol Psychiatry*. 2006;60:1171–80.

Guillin O, Diaz J, Carroll P, Griffon N, Schwartz JC, Sokoloff P, 2001. BDNF controls dopamine D₃ receptor expression and triggers behavioural sensitization. *Nature*. 411:86–9.

Haghighparast A, Taslimi Z, Ramin M, Azizi P, Khodagholi F, Hassanpour-Ezatti M. Changes in phosphorylation of CREB, ERK, and c-fos induction in rat ventral tegmental area, hippocampus and prefrontal cortex after conditioned place preference induced by chemical stimulation of lateral hypothalamus. *Behav Brain Res*. 2011;220(1):112-8.

Hasin D, Hatzenbuehler ML, Keyes K, Ogburn E. Substance use disorders: diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4th ed. (DSM-IV) and International Classification of Diseases, 10th ed. (ICD-10). *Addiction*. 2006;101 (Suppl 1): 59–75.

Heldt SA, Stanek L, Chhatwal JP, Ressler KJ. Hippocampus-specific deletion of BDNF in adult mice impairs spatial memory and extinction of aversive memories. *Mol Psychiatry*. 2007;12(7):656-70.

Helzer JE, Burnam MA, McEvoy LT. Alcohol abuse and dependence. In: Robins LN, Regier DA. *Psychiatric disorders in America: the epidemiologic catchment area study*. New York: Free Press;1991. p. 81-115.

Hennigan A, Callaghan CK, Kealy J, Rouine J, Kelly AM. Deficits in LTP and recognition memory in the genetically hypertensive rat are associated with decreased expression of neurotrophic factors and their receptors in the dentate gyrus. *Behav Brain Res*. 2009;197(2):371-7.

Hong EJ, McCord AE, Greenberg ME. A biological function for the neuronal activity-dependent component of Bdnf transcription in the development of cortical inhibition. *Neuron*. 2008;60(4):610-24.

Horger BA, Iyasere CA, Berhow MT, Messer CJ, Nestler EJ, Taylor JR. Enhancement of locomotor activity and conditioned reward to cocaine by brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci*. 1999;19:4110–22.

Hotte M, Naudon L, Jay TM. Modulation of recognition and temporal order memory retrieval by dopamine D1 receptor in rats. *Neurobiol Learn Mem*. 2005;84(2):85-92.

Hotte M, Thuault S, Lachaise F, Dineley KT, Hemmings HC, Nairn AC, Jay TM. D1 receptor modulation of memory retrieval performance is associated with changes in pCREB and pDARPP-32 in rat prefrontal cortex. *Behav Brain Res*. 2006;171(1):127-33.

Huang EJ, Reichardt LF. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci*. 2001;24:677–736.

Hye-Jean P, Feng JC, Jae YH, Ung GK. Effects of clozapine on behavioral sensitization induced by cocaine. *Psychiatry Research*. 2010;175:165–70.

Hyman SE, Malenka RC. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2:695–703.

Imam SZ, Duhart HM, Skinner JT, Ali SF. Cocaine induces a differential dose-dependent alteration in the expression profile of immediate early genes, transcription factors and caspases in PC12 cells. A possible mechanism of neurotoxic damage in cocaine addiction. *Ann NY Acad Sci*. 2005;1053:482–90.

Impey S, McCorkle SR, Cha-Molstad H, Dwyer JM, Yochum GS, Boss JM, McWeeney S, Dunn JJ, Mandel G, Goodman RH. Defining the CREB regulon: a genome-wide analysis of transcription factor regulatory regions. *Cell*. 2004;119:1041-54.

Ito R, Dalley JW, Robbins TW, Everitt BJ. Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. *J Neurosci*. 2002;22:6247–53.

Jentsch JD, Roth RH, Taylor JR. Role for dopamine in the behavioral functions of the prefrontal corticostriatal system: implications for mental disorders and psychotropic drug action. *Prog Brain Res*. 2000;126:433–53.

Jentsch JD, Taylor JR. Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology (Berl)*. 1999;146(4):373-90.

Jeong GS, Lee DS, Kimc DC, Jahng Y, Son JK, Lee SH, Kim YC. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of mollugin via up-regulation of hemeoxygenase-1 in

mouse hippocampal and microglial cells. *European Journal of Pharmacology*. 2011;654:226–34.

Johannessen M, Delghandi MP, Moens U. What turns CREB on? *Cell Signal*. 2004;16(11):1211-27.

Kalivas PW, Alesdatter JE. Involvement of N-methyl-D-aspartate receptor stimulation in the ventral tegmental area and amygdala in behavioral sensitization to cocaine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1993a;267:486–95.

Kalivas PW, Churchill L, Romanides A. Involvement of the pallidal-thalamocortical circuit in adaptive behavior. *Ann NY Acad Sci*. 1999;877:64–70.

Kalivas PW, McFarland K. Brain circuitry and the reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003;168(1-2):44-56.

Kalivas PW. Neurotransmitter regulation of dopamine neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res Ver*. 1993b;18:75–113.

Kalsbeek AP, Voorn RM, Buijs RM, Uylings HBM. Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. *Journal of Comparative Neurology*. 1988;269:58-72.

Kameda SR, Fukushiro DF, Trombin TF, Procópio-Souza R, Patti CL, Hollais AW, Calzavara MB, Abílio VC, Ribeiro RA, Tufik S, D'Almeida V, Frussa-Filho R. Adolescent mice are more vulnerable than adults to single injection-induced behavioral sensitization to amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2011;98(2):320-24.

Kandel DB, Chen K. Extent of smoking and nicotine dependence in the United States: 1991–1993. *Nicotine Tob Res*. 2000;2:263–74.

Kandel ER. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 2001;294(5544):1030-8.

Kang H, Schuman EM. A requirement for local protein synthesis in neurotrophin-induced hippocampal synaptic plasticity. *Science*. 1996;273(5280):1402-6.

Kelley AE, Berridge KC. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci*. 2002;22:3306–11.

Kety SS. Human cerebral blood flow and oxygen consumption as related to aging. *Res Publ Assoc Res Nerv Ment Dis*. 1956;35:31–45.

Kida S, Josselyn SA, Peña de Ortiz S, Kogan JH, Chevere I, Masushige S, Silva AJ. CREB required for the stability of new and reactivated fear memories. *Nat Neurosci*. 2002;5(4):348-55.

Kiyatkin EA. State-dependent peculiarities of cocaine-induced behavioral sensitization and their possible reasons. *Int J Neurosci*. 1992;67:93–103.

Kopp C, Vogel E, Rettori MC, Delagrang P, Guardiola-Lemaitre B, Misslin R. Effects of melatonin on neophobic responses in different strains of mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999;63:521–6.

Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H, Bonhoeffer T. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:8856–60.

Krivanek JA, McGaugh JL. Facilitating effects of pre and posttrial amphetamine administration on discrimination learning in mice. *Agents Actions.* 1969;1(2):36-42.

Kuczewski N, Porcher C, Lessmann V, Medina I, Gaiarsa JL. Activity-dependent dendritic release of BDNF and biological consequences. *Mol Neurobiol.* 2009;39(1):37-49.

Lamb RJ, Preston KL, Schindler CW, Meisch RA, Davis F. The reinforcing and subjective effects of morphine in post addicts: a dose-response study. *J Pharmacol Exp Ther.* 1991;259:1165–73.

Lambert NM, McLeod M, Schenk S. Subjective responses to initial experience with cocaine: an exploration of the incentive-sensitization theory of drug abuse. *Addiction.* 2006;101(5):713-25.

Lambert W, Agarwal R, Howe W, Clark AF, Wordinger RJ. Neurotrophin and neurotrophin receptor expression by cells of the human lamina cribrosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42:2315–23.

Laviola G, Wood RD, Kuhn C, Francis R, Spear LP. Cocaine sensitization in periadolescent and adult rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;275:345–57.

Lee J, Duan W, Mattson MP. Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem.* 2002a;82:1367–75.

Lee J, Seroogy KB, Mattson MP. Dietary restriction enhances neurotrophin expression and neurogenesis in the hippocampus of adult mice, *J. Neurochem.* 2002b;80:539–47.

Levin ED, Rezvani AH, Montoya D, Rose JE, Swartzwelder HS. Adolescent-onset nicotine self-administration modeled in female rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2003;169(2):141-9.

Li YF, Huang Y, Amsdell SL, Xiao L, O'Donnell JM, Zhang HT. Antidepressant- and anxiolytic-like effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram on behavior depend on cyclic AMP response element binding protein-mediated neurogenesis in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology.* 2009;34(11):2404-19.

Liu Y, Shepherd EG, Nelin LD. MAPK phosphatases — regulating the immune response. *Nat Rev Immunol*. 2007;7:202–12.

Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method. *Methods*. 2001;25:402-8.

Lu B, Pang PT, Woo NH. The yin and yang of neurotrophin action. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6:603–14.

Lu H, Cheng PL, Lim BK, Khoshnevisrad N, Poo MM. Elevated BDNF after cocaine withdrawal facilitates LTP in medial prefrontal cortex by suppressing GABA inhibition. *Neuron*. 2010;67(5):821-33.

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

Maas LC, Lukas SE, Kaufman MJ, Weiss RD, Daniels SL, Rogers VW, Kukes TJ, Renshaw PF. Functional magnetic resonance imaging of human brain activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry*. 1998;155(1):124-6.

Maldonado AM, Kirstein CL. Cocaine-induced locomotor activity is increased by prior handling in adolescent but not adult female rats. *Physiol Behav*. 2005;86:568–72.

Markou A, Koob GF. Post cocaine anhedonia. An animal model of cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology*. 1991;4(1):17-26.

Markwiese BJ, Acheson SK, Levin ED et al. Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22:416–21.

Martinez-Serrano A, Bjorklund A. Protection of the neostriatum against excitotoxic damage by neurotrophin-producing, genetically modified neural stem cells. *J Neurosci*. 1996;16:4604–16.

Masterman DL, Cummings JL. Frontal-subcortical circuits: the anatomical basis of executive, social and motivational behaviors. *J Psychopharmacol*. 1997;11:107–14.

Mathews IZ, McCormick CM. Female and male rats in late adolescence differ from adults in amphetamine-induced locomotor activity, but not in conditioned place preference for amphetamine. *Behav Pharmacol* 2007;18:641–50.

Mathews IZ, Waters P, McCormick CM. Changes in hyporesponsiveness to acute amphetamine and age differences in tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the brain over adolescence in male and female rats. *Dev Psychobiol*. 2009;51:417–28.

Maviel T, Durkin TP, Menzaghi F, Bontempi B. Sites of neocortical reorganization critical for remote spatial memory. *Science*. 2004;305(5680):96–9.

McDaid J, Graham MP, Napier TC. Methamphetamine-Induced Sensitization Differentially Alters pCREB and deltaFosB throughout the Limbic Circuit of the Mammalian Brain. *Mol Pharmacol*. 2006;70:2064–74.

McFarland K, Kalivas PW. The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci*. 2001;21:8655–63.

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

McLaughlin J, See RE. Selective inactivation of the dorsomedial prefrontal cortex and the basolateral amygdala attenuates conditioned-cued reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003;168(1-2):57-65.

Medders KE, Kaul M. Mitogen-Activated protein kinase p38 in HIV infection and associated brain injury. *J Neuroimmune Pharmacol*. 2011;6:202–15.

Messaoudi E, Bårdsen K, Srebro B, Bramham CR. Acute intrahippocampal infusion of BDNF induces lasting potentiation of synaptic transmission in the rat dentate gyrus *J Neurophysiol*. 1998;79(1):496-9.

Minichiello L, Korte M, Wolfer D, Kühn R, Unsicker K, Cestari V, Rossi-Arnaud C, Lipp HP, Bonhoeffer T, Klein R. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron*. 1999;24:401–14.

Mogenson GJ. Limbic-motor integration. In: Epstein AN, editor. *Progress in psychobiology and physiological psychology*. London, UK: Academic Press; 1987. vol.12. p.117–70.

Moore EM, Linsenbardt DN, Melón LC, Boehm II SL. Ontogenetic differences in adolescent and adult C57BL/6J and DBA/2J mice: Anxiety-like, locomotor, and consummatory behaviors. *Developmental Psychobiology*. 2011;53(2):141-56.

Mowla SJ, Farhadi HF, Pareek S, Atwal JK, Morris SJ, Seidah NG, Murphy RA. Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to Brain derived Neurotrophic Factor. *J Biol Chem*. 2001;276:12660-6.

Murakami T, Furuse M. The impact of taurine and beta-alanine supplemented diets on behavioral and neurochemical parameters in mice: antidepressant versus anxiolytic-like effects. *Amino Acids*. 2010;39:427–34.

Nader K, LeDoux JE. Inhibition of the mesoamygdala dopaminergic pathway impairs the retrieval of conditioned fear associations. *Behav Neurosci*. 1999;113(5):891-901.

Nakagawa S, Kim JE, Lee R, Malberg JE, Chen J, Steffen C, Zhang YJ, Nestler EJ, Duman RS. Regulation of neurogenesis in adult mouse hippocampus by cAMP and the cAMP response element-binding protein. *J Neurosci*. 2002;22(9):3673-82.

Nakao N, Kokaia Z, Odin P, Lindvall O. Protective effects of BDNF and NT-3 but not PDGF against hypoglycemic injury to cultured striatal neurons. *Exp Neurol*. 1995;131:1–10.

Nestler EJ, Hope BT, Widnell KL. Drug addiction: a model for the molecular basis of neural plasticity. *Neuron*. 1993;11:995–1006.

Nestler EJ. Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2002;78:637–47.

Nestler EJ. Total recall—The memory of addiction. *Neurobiology Science*. 2001;292:2266–7.

Nguyen PV, Abel T, Kandel ER. Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science*. 1994;265(5175):1104-7.

Niculescu M, Ehrlich ME, Unterwald EM. Age-specific behavioral responses to psychostimulants in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005;82:280–8.

Nixon K, Crews FT. Binge ethanol exposure decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurochem*. 2002;83(5):1087-93.

O'Donnell P, Greene J, Pabello N, Lewis BL, Grace AA. Modulation of cell firing in the nucleus accumbens. *Ann NY Acad Sci*. 1999;877:157–75.

Pang PT, Lu B. Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF. *Ageing Res Rev*. 2004;3(4):407-30.

Panksepp J. Seeking systems and anticipatory states of the nervous system. In: Panksepp J. *Affective Neuroscience: The foundations of human and animal emotions*. New York: Oxford University Press;1998. p. 144–63.

Panlilio LV, Solinas M, Matthews SA, Goldberg SR. Previous exposure to THC alters the reinforcing efficacy and anxiety-related effects of cocaine in rats. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32:646–57.

Pascual M, Boix J, Felipo V, Guerri C. Repeated alcohol administration during adolescence causes changes in the mesolimbic dopaminergic and glutamatergic systems and promotes alcohol intake in the adult rat. *J Neurochem*. 2009;108(4):920-31.

Patterson SL, Abel T, Deuel TA, Martin KC, Rose JC, Kandel ER. Recombinant BDNF rescues deficits in basal synaptic transmission and hippocampal LTP in BDNF knockout mice. *Neuron*. 1996(6);16:1137–45.

Paulus MP, Dulawa SC, Ralph RJ, Mark AG. Behavioral organization is independent of locomotor activity in C57 mouse strains. *Brain Res*. 1999;835:27–36.

Paus T, Zijdenbos A, Worsley K, Collins DL, Blumenthal J, Giedd JN, Rapoport JL, Evans AC. Structural maturation of neural pathways in children and adolescents: in vivo study. *Science*. 1999;283:1908–11.

Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*. 1985;14:149-67.

Pellow S, File SE. Anxiolytic and Anxiogenic Drug Effects on Exploratory Activity in an Elevated Plus-Maze: a Novel Test of Anxiety in the Rat. *Pharmacology Biochem and Behavior*. 1986;24:525-9.

Pennartz CMA, Groenewegen HJ, Lopez da Silva FH. The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioral, electrophysiological and anatomical data. *Prog Neurobiol*. 1994;42:719–61.

Philpot RM, Kirstein CL. Repeated cocaine exposure: Effects on catecholamines in the nucleus accumbens septi of periadolescent animals. *Pharmacol Biochem Behav*. 1999;62(3): 465-72.

Pierce RC, Kumaresan V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neurosci Biobehav Rev*. 2006;30(2):215-38.

Pittenger C, Huang YY, Paletzki RF, Bourtchouladze R, Scanlin H, Vronskaya S, Kandel ER. Reversible inhibition of CREB/ATF transcription factors in region CA1 of the dorsal hippocampus disrupts hippocampus-dependent spatial memory. *Neuron*. 2002;34(3):447-62.

Platel A, Porsolt RD. Habituation of exploratory activity in mice: a screening test for memory enhancing drugs. *Psychopharmacology*. 1982;78:346-52.

Poser S, Storm DR. Role of Ca²⁺-stimulated adenylyl cyclases in LTP and memory formation. *Int J Dev Neurosci*. 2001;19:387–94.

Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*. 2003;463:3-33.

Rebec GV, Sun W. Neuronal substrates of relapse to cocaine-seeking behavior: role of prefrontal cortex. *J Exp Anal Behav*. 2005;84(3):653-66.

Reymann KG, Frey JU. The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology*. 2007;52:24–40.

Robbins TW, Everitt BJ. Drug addiction: Bad habits add up. *Nature*. 1999;398:567–70.

Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Rev*. 1993;18:247–91.

Robinson TE, Berridge KC. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction*. 2000;95(Suppl 2):91–117.

Robinson TE, Berridge KC. *Addiction*. *Annu Ver Psychol*. 2003;54:25-53.

Robinson TE, Berridge KC. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2008;363(1507):3137-46.

Robinson TE, Kolb B. Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur J Neurosci*. 1999;11:1598–604.

Rodgers RJ, Davies B, Shore R. Absence of anxiolytic response to chlordiazepoxide in two common background strains exposed to the elevated plus-maze: importance and implications of behavioural baseline. *Genes Brain Behav*. 2002;1(4):242-51.

Rogerio R, Takahashi RN. Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*. 1992;43:631-3.

Ron D, Jurd R. The “ups and downs” of signaling cascades in addiction. *Sci STKE*. 2005;309:re14.

Rong Y, Baudry M. Seizure activity results in a rapid induction of nuclear factor-kappa B in adult but not juvenile rat limbic structures. *J Neurochem*. 1996;67(2):662-8.

Rubino T, Guidali C, Vigano D, Realini N, Valenti M, Massi P, Parolaro D. CB1 receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behaviour. *Neuropharmacology*. 2008;54(1):151-60.

Runyan JD, Dash PK. Intra-medial prefrontal administration of SCH-23390 attenuates ERK phosphorylation and long-term memory for trace fear conditioning in rats. *Neurobiol Learn Mem*. 2004;82(2):65-70.

Sadri-Vakili G, Kumaresan V, Schmidt HD, Famous KR, Chawla P, Vassoler FM, Overland RP, Xia E, Bass CE, Terwilliger EF, Pierce RC, Cha JH. Cocaine-induced chromatin remodeling increases brain-derived neurotrophic factor transcription in the rat medial prefrontal cortex, which alters the reinforcing efficacy of cocaine. *J Neurosci*. 2010;30(35):11735-44.

Schilwein S, Huston JP, Schwarting RKW. Injections of tacrine and scopolamine into the nucleus accumbens: opposing effects of immediate versus delayed post-Trial treatment on memory of an open field. *Neurobiol Learn Mem*. 2000;73:21–30.

Schilwein S, Huston JP, Schwarting RKW. Open-field habituation learning is improved by nicotine and attenuated by mecamylamine administered post-Trial into the nucleus accumbens. *Neurobiol Learn Mem*. 2002;77:277–90.

Schramm-Sapyta NL, Cauley MC, Stangl DK, Glowacz S, Stepp KA, Levin ED, Kuhn CM. Role of individual and developmental differences in voluntary cocaine intake in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;215(3):493-504.

Segal D, Mandell A. Long-term administration of d-amphetamine: progressive augmentation of motor activity and stereotypy. *Pharmac Biochem and Behav*. 1974;249-55.

Segal RA. Selectivity in neurotrophin signaling: theme and variations. *Annu Rev Neurosci*. 2003;26:299-330.

Self DW, Genova LM, Hope BT, Barnhart WJ, Spencer JJ, Nestler EJ. Involvement of cAMP-dependent protein kinase in the nucleus accumbens in cocaine self-administration and relapse of cocaine-seeking behavior. *J Neurosci*. 1998;18(5):1848-59.

Self DW, Nestler EJ. Relapse to drug-seeking: neural and molecular mechanisms. *Drug Alcohol Depend*. 1998;51(1-2):49-60.

Shalaby IA, Dendel OS, Spear LP. Differential functional ontogeny of dopamine presynaptic receptor regulation. *Develop Brain Res*. 1981;1:4-34.

Shalev U, Grimm JW, Shaham Y. Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacol Rev*. 2002;54(1):1-42.

Shieh PB, Hu SC, Bobb K, Timmusk T, Ghosh A. Identification of a signaling pathway involved in calcium regulation of BDNF expression. *Neuron* 1998;20(4):727-40.

Shuster L, Hudson M, Anton M, Righi D. Sensitization of mice to methylphenidate. *Psychopharmacology*. 1982;77(1):31-6.

Shuster L, Yu G, Bates A. Sensitization to cocaine stimulation in mice. *Psychopharmacology*. 1977;52:185-90.

Sorg BA, Davidson DL, Kalivas PW, Prasad BM. Repeated daily cocaine alters subsequent cocaine-induced increase in extracellular dopamine in the medial prefrontal cortex. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997;281:54-61.

Soule J, Messaoudi E, Bramham CR. Brain-derived neurotrophic factor and control of synaptic consolidation in the adult brain. *Biochem Soc Trans*. 2006;34(4):600-604.

Sowell ER. Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children. *J Neurosci*. 2004;24: 8223-31.

Spear LP, Brake SC. Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats. *Dev Psychobiol*. 1983;16:83-109.

Spear LP. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Ver*. 2000;24:417-63.

Stansfield KH, Kirstein CL. Neurochemical effects of cocaine in adolescence compared to adulthood. *Dev Brain Res.* 2005;159:119–25.

Takehara K, Kawahara S, Kirino Y. Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory retention in trace eye blink conditioning. *Journal of Neuroscience.* 2003;23(30):9897–905.

Tang X, Orchard SM, Sanford LD. Home cage activity and behavioral performance in inbred and hybrid mice. *Behav Brain Res.* 2002;136:555–69.

Tao X, Finkbeiner S, Arnold DB, Shaywitz AJ, Greenberg ME. Ca²⁺ influx regulates BDNF transcription by a CREB family transcription factor-dependent mechanism. *Neuron* 1998;20(4):709-26.

Tomaz C, Aguiar MS, Nogueira PJ. Facilitation of memory by peripheral administration of substance P and naloxone using avoidance and habituation learning tasks. *Neurosci Biobehav Rev.* 1990;14:447–53.

Van Bogaert MJ, Groenink L, Oosting RS, Westphal KG, van der Gugten J, Olivier B. Mouse strain differences in autonomic responses to stress. *Genes Brain Behav.* 2006;5(2):139-49.

Vanderschuren LJ, Kalivas PW. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology.* 2000;151:99–120.

Veizina, Stewart J. The effect of dopamine receptor blockade on the development of sensitization to the locomotor activating effects of amphetamine and morphine. *Brain Res.* 1989;499(1):108-20.

Volkow ND, Fowler JS. Addiction, a disease of compulsion and drive: involvement of the orbitofrontal cortex. *Cereb Cortex.* 2000;10(3):318-25.

Wagner FA, Anthony JC. From first drug use to drug dependence: developmental periods of risk for dependence upon marijuana, cocaine, and alcohol. *Neuropsychopharmacology.* 2002;26:479–88.

Walters CL, Blendy JA. Different requirements for cAMP response element binding protein in positive and negative reinforcing properties of drugs of abuse. *J Neurosci.* 2001;21:9438–44.

Walters CL, Kuo YC, Blendy JA. Differential distribution of CREB in the mesolimbic dopamine reward pathway. *J Neurochem.* 2003;87:1237–44.

Wang YQ, Zhu CY, Wei EQ. A new model for evaluating locomotor activity and central depressive drugs in different strain mice. *Bull Sci Tach.* 2003;19:292–6.

Warner LA, Kessler RC, Hughes M, Anthony JC, Nelson CB. Prevalence and correlates of drug use and dependence in the United States: results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry*. 1991;52:219–29.

Weiss SRB, Post RM, Pert A, Woodward R, Murman D. Context-dependent cocaine sensitization: differential effect of haloperidol on development versus expression. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989;34:655–61.

White AM, Swartzwelder HS. Hippocampal function during adolescence: a unique target of ethanol effects. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1021:206–20.

White FJ, Kalivas PW. Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. *Drug Alcohol Depend*. 1998;51:141–53.

White NM. Addictive drugs as reinforcers: multiple partial actions on memory systems. *Addiction*. 1996;91(7):921-49.

Wilcock J, Broadhurst PL. Strain differences in emotionality: open-field and conditioned avoidance behavior in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. 1967;63(2):335-8.

Wise RA. Rewards wanted: Molecular mechanisms of motivation. *Discov Med*. 2004;4(22):180-6.

Wise RA, Bozarth MA. A Psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Review*. 1987;94:469-92.

Wolf ME, Sun X, Mangiavacchi S, Chao SZ. Psychomotor stimulants and neuronal plasticity. *Neuropharmacology*. 2004;47(1):61-79.

Woodward D, Chang J, Janak P, Azarov A, Anstrom K. Mesolimbic neuronal activity across behavioral states. *Ann NY Acad Sci*. 1999;877:91–112.

Wyvell CL, Berridge KC. Incentive sensitization by previous amphetamine exposure: increased cue-triggered “wanting” for sucrose reward. *J Neurosci*. 2001;21:7831–40.

Yamamoto KK, Gonzalez GA, Biggs III WH, Montminy MR. Phosphorylation-induced binding and transcriptional efficacy of nuclear factor CREB. *Nature*. 1988;334:494-8.

Yang M, Augustsson H, Markham CM, Hubbard DT, Webster D, Wall PM, Blanchard RJ, Blanchard DC. The rat exposure test: a model of mouse defensive behaviors. *Physiol Behav*. 2004;81(3):465-73.

Yilmazer-Hanke DM, Roskoden T, Zilles K, Schwegler H. Anxiety-related behavior and densities of glutamate, GABA A, acetylcholine and serotonin receptors in the amygdala of seven inbred mouse strains. *Behav Brain Res*. 2003;145:145–59.

Yin JC, Wallach JS, Del Vecchio M, Wilder EL, Zhou H, Quinn WG, Tully T. Induction of a dominant negative CREB transgene specifically blocks long-term memory in *Drosophila*. *Cell*. 1994;79(1):49-58.

Yu-Min K, Keng CL, Hsiang-Hua C, Chianfang GC, Hsueh-Te L, Yinchiu L, A-Min H, Ruey-Ming L, Lung Y. Cocaine-but not methamphetamine-associated memory requires de novo protein synthesis. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2007; 87:93–100.

Zelcer I, Cohen H, Richter-Levin G, Lebiosn T, Grossberger T, Barkai E. A cellular correlate of learning-induced metaplasticity in the hippocampus. *Cereb Cortex*. 2006;16:460–8.

Zhang X, Odom DT, Koo SH, Conkright MD, Canettieri G, Best J, Chen H, Jenner R, Herbolsheimer E, Jacobsen E, Kadam S, Ecker JR, Emerson B, Hogenesch JB, Unterman T, Young RA, Montminy M. Genome-wide analysis of cAMP-response element binding protein occupancy, phosphorylation, and target gene activation in human tissues. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102:4459-64.