

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

**INFLUÊNCIAS DO SISTEMA NORADRENÉRGICO MAS NÃO DO
SISTEMA DOPAMINÉRGICO SOBRE A CONSOLIDAÇÃO DA
MEMÓRIA DA TAREFA LABIRINTO RADIAL DE OITO
BRAÇOS.**

JENNIFER BRAATHEN SALGUEIRO

Orientador : Prof. Dr. Ivan Antonio Izquierdo

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas, com ênfase em Fisiologia.

PORTO ALEGRE

2001

“Eu lhes dou este novo mandamento: Amem uns aos outros, assim como eu os amei. Se tiverem amor uns pelos outros, todos saberão que vocês são meus seguidores.” (João 13.34-35)

À minha família

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Ivan Izquierdo, pela sua orientação e principalmente pela sua amizade, demonstrada durante este trabalho.

A Deus e a minha grande família.

Aos meus colegas de laboratório, especialmente a Márcia Souza, Daniela Barros, Patrícia Ardenghi, Patrícia Pereira, Fernanda de Paris, Luciana Izquierdo, Adriana Coitinho, Daniela Cardoso, Elsa Vinadé, João Quevedo, Mônica Vianna e Tadeu Souza, , por tudo que fizeram por mim e pela amizade e colaboração.

As amigas de outros laboratórios Nice Arteni, Ionara Siqueira, Giovana Gamarro e outras, por ajudas práticas e principalmente pelas conversas.

Aos bolsistas que colaboraram neste trabalho, Adriano Aguzzoli, Beatriz Moleta, Cleverson Rodrigues, Cristina Madche e ainda Humberto Choi, Isabel Rockenbach, Olavo Amaral e Tiago Silva.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia e ao Curso de Pós-graduação de Fisiologia, que tornaram possível a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Bioquímica, pela acolhida.

Ao Diorney, pelo auxílio e incentivo durante a realização deste trabalho.

Ao meu filho amado, pelas horas que deixei de estar com ele.

Aos meus amigos pelo apoio e amizade.

Ao Núcleo de Apoio Estatístico da UFRGS.

A CAPES, pela bolsa concedida.

Ao CNPq, FAPERGS e PROPESP, pelo auxílio financeiro à pesquisa.

Índice

Abreviaturas	vi
Lista de figuras	vii
RESUMO.....	8
SUMMARY.....	9
INTRODUÇÃO	10
OBJETIVOS	19
MATERIAL E MÉTODOS	20
RESULTADOS	27
DISCUSSÃO	40
CONCLUSÕES.....	44
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
TRABALHOS REALIZADOS DURANTE O DOUTORADO:.....	51

Abreviaturas

ACTH- hormônio adrenocorticotrófico

AMPc- 3`5`-adenosina-monofosfato cíclico

CREB- proteína ligante ao elemento responsivo ao AMPc

EPM- erro padrão da média

ET- número de erros totais

LSD- diferença mínima significativa

MAPKs- proteínas quinases associadas a mitógenos

µg- micrograma

µl- microlitro

NE-noradrenalina

PKA- proteína quinase A

RM- memória de referência

SAL- salina

SKF 38393- agonista dopaminérgico D₁

WM- memória de trabalho

Lista de figuras

Figura 1: Tipos de memórias e regiões cerebrais envolvidas na formação das mesmas.	11
Figura 2: Cirurgia no aparelho estereotáxico.	21
Figura 3: Local de colocação das cânulas no hipocampo dorsal para ambas as tarefas do labirinto radial.	22
Figura 4: Procedimento para a infusão das drogas.	22
Figura 5: Labirinto radial de 8 braços.	23
Figura 6: Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF 0h pós-treino no protocolo win- stay.	31
Figura 7: Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF 3h pós-treino no protocolo win-stay.	33
Figura 8: Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina 3h pós-treino no protocolo win-stay.	35
Figura 9: Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina 0h pós-treino no protocolo win-stay.	37
Figura 10: A)Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF 0h pós-treino no protocolo win-shift. B)Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF 3h pós-treino no protocolo win-shift.	38
Figura 11: A)Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina 0h pós-treino no protocolo win-shift. B)Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina 3h pós-treino no protocolo win-shift.	39

RESUMO

É importante caracterizar os múltiplos sistemas neurais que compõem a memória de diferentes tarefas comportamentais, visto que eles possuem diversas nuances que podem ser específicas de uma tarefa ou compartilhadas, dependendo do caso. Ressalta-se ainda que dentro da mesma tarefa estes sistemas podem agir de diferentes maneiras, dependendo de qual fase e/ou divisão da memória que estivermos nos referindo.

Este trabalho teve como objetivo verificar se as sinapses dopaminérgicas D₁ e noradrenérgicas presentes no hipocampo participam da consolidação da memória de dois paradigmas da tarefa labirinto radial de oito braços.

Foram usados ratos Wistar machos adultos (2 a 3 meses), com peso médio de 220g, mantidos com água a vontade. Os animais receberam cânulas na região CA₁ do hipocampo e foram treinados em um dos tipos de protocolo: com ou sem intervalo, sendo que receberam infusões intrahipocâmpais de SKF 38393, agonista dopaminérgico D₁, ou NE, 0 ou 3h pós-treino no primeiro e segundo dias de treinamento.

Como resultados obtivemos que NE obteve um efeito amnésico quando dada 0 h pós-treino no modelo sem intervalo e quando dada 3 h pós-treino no modelo com intervalo. O SKF não teve nenhum efeito independente do modelo ou tempo de administração. Estes achados sugerem que as sinapses noradrenérgicas hipocâmpais são importantes na consolidação da memória de ambos paradigmas nos primeiros dias de treinamento e que o sistema noradrenérgico atua diferentemente em cada paradigma.

Descritores: memória, aprendizagem em labirinto, receptores dopaminérgicos, receptores noradrenérgicos

SUMMARY

Learning and memory can be studied in a variety of tasks. Tasks that require different structures, and different memory processes. It is important to characterize the neurotransmitter systems are involved time-dependently in memory consolidation of different tasks and depending on the case the systems can act in different ways inside of the same task, depending of which phase and/or division of the memory that we are referring.

This work had as aim to determine wheter dopaminergic type 1 (D_1) and β -noradrenergic receptors in the hippocampus participate in memory consolidation of two paradigms of the task eight arms radial maze.

Male Wistar rats (2 to 3 months) were used, with medium weight of 220g, maintained with water "ad-libitum". The animals received stems in the area CA_1 of the hippocampus and they were trained in one of the protocol types: win-stay or win-shift, and they received infusions intrahipocampais of D_1 dopaminergic receptor agonist SKF 38393 or NE, 0 or 3 h post-training in the first and second days of training.

Results showed NE had an amnesic effect when given 0 h post-training in the model win-stay and when given 3 h post-training in the model win-shift. SKF didn't have any independent effect of the model or time of administration. These discoveries suggest that β -noradrenergic receptors in the hippocampus are important in the consolidation of the memory of both paradigms in the first days of training and that the noradrenergic system acts differently in each paradigm.

Key words: memory, maze learning, receptors, adrenergic, dopamine

INTRODUÇÃO

MEMÓRIA

Esta tese tente desvendar um pouco mais sobre um tema que exerce um fascínio na maioria das pessoas, a memória. Afinal é através dela que sabemos quem somos. Tudo o que fazemos depende da nossa capacidade de recordar experiências vividas. Me coloco como exemplo: eu para estar aqui escrevendo esta tese tenho que lembrar da Língua Portuguesa, dos artigos que li sobre o assunto da tese, dos resultados que obtive em meus experimentos e até do melhor modo de usar o computador.

A seguir alguns conceitos de memória:

Do dicionário brasileiro da Língua Portuguesa, 1990:

Memória, s.f. Faculdade de conservar ou readquirir idéias ou imagens; lembrança, reminiscência.

Da Enciclopédia Britânica do Brasil, 1990:

Memória- em sentido amplo é a retenção de qualquer aprendizagem e, nesse caso, não se propõe distinção entre memória propriamente dita e hábito. Em sentido restrito, é a expressão que apenas cobre aquilo que pode ser objeto de evocação ou reconhecimento.

E este trabalho tem por base o seguinte conceito:

Denomina-se memória ao armazenamento e evocação da informação adquirida através de experiências, e aprendizado à aquisição dessa informação . Não há memória sem aprendizado e não há aprendizado sem experiências (Izquierdo, 1989).

Podemos classificar a memória de diferentes formas.

A primeira classificação que podemos fazer é de acordo ao tempo que perduram. Por este critério, as memórias se dividem em memórias de trabalho de curta duração e de longa duração. As primeiras duram apenas segundos, as de curta duração são aquelas que perduram por um breve período de tempo, enquanto que as de longa duração podem durar dias, meses ou até mesmo a vida toda. O achado mais importante em relação a esta classificação é que as memórias de curta e as de longa duração envolvem essencialmente mecanismos separados (Izquierdo et al, 1998).

Uma outra classificação que pode nos ser útil é a que divide a memória em declarativa ou explícita e não declarativa ou implícita (Squire,1987), como podemos ver na Figura 1.

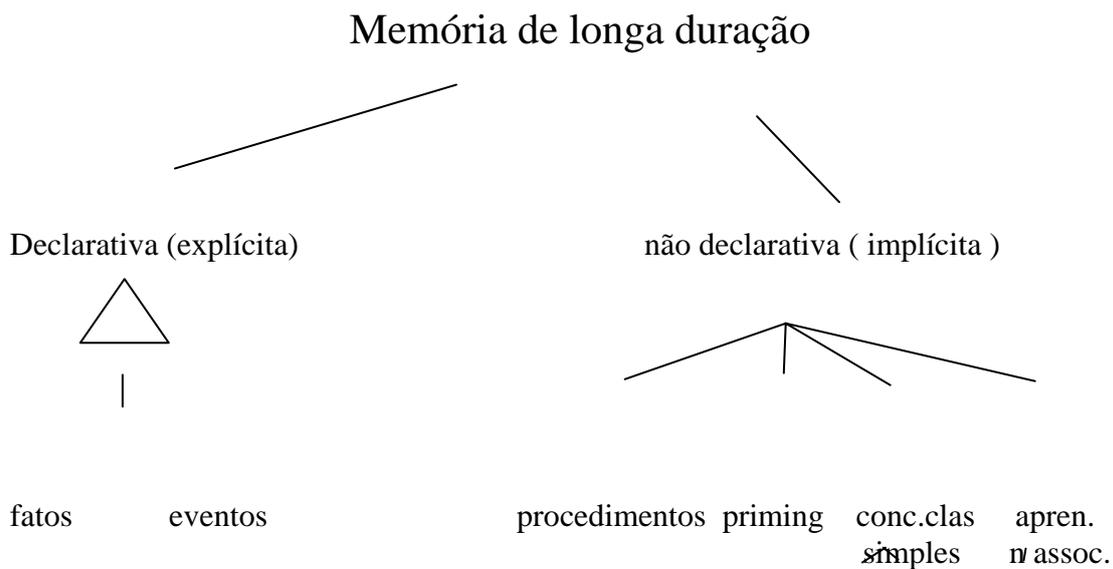


Figura 1: Tipos de memórias envolvidas na formação das mesmas.

As memórias declarativas geralmente referem-se a fatos de nossas experiências prévias, reconhecimento de cenas familiares e objetos enquanto que as não declarativas são as memórias de como fazer as coisas.

Em relação a anatomia da memória, inúmeros estudos tem mostrado que muitas e provavelmente todas as regiões do sistema nervoso central estão envolvidos no processo, e que os traços de memória para os diferentes tipos de aprendizagem não estão localizados em uma única estrutura cerebral, mas distribuídas em diferentes partes do sistema nervoso central, embora algumas estruturas como o hipocampo possam estar mais envolvidas que outras (Markowitsch, 1997).

As memórias declarativas são armazenadas por períodos curtos (< 30 dias), no hipocampo e amígdala; por tempos maiores (30 e 60 dias) no córtex entorrinal; e por períodos mais prolongados (60 dias ou mais) no córtex parietal (Quillfeldt et al, 1996).

A formação da memória começa com a aquisição da informação que chega através dos nossos sentidos sob a forma de estímulos. Ocorre a consolidação que vai envolver uma sequência de processos bioquímicos e futuramente essa memória pode ser evocada por estímulos de alguma forma relacionados a ela (McGaugh & Izquierdo,2000).

Neste trabalho nos deteremos na fase da memória que corresponde a consolidação. Sabemos que não lembramos de todos os fatos que nos acontecem, isto ocorre porque a informação inicialmente adquirida vai sofrer um processo de filtração e fixação que recebe o nome de consolidação. Durante este processo as informações estão sujeitas a uma modulação por fatores químicos, físicos e cognitivos (McGaugh & Izquierdo,2000).

Estudos usando microinfusões de drogas pós-treino em regiões específicas do cérebro revelam alguns processos celulares e modulatórios envolvidos na formação da memória. Segue abaixo um pouco do que já se conhece :

Que a cascata bioquímica da formação da memória se inicia pela ativação de receptores glutamatérgicos AMPA, em muitos casos NMDA e dos metabotrópicos, seguida de entrada de cálcio pré e pós sinápticas (Izquierdo & Medina, 1997).

Os receptores GABA_A no hipocampo, amígdala, septo e córtex entorrinal fornecem as principais influências inibitórias sobre a formação da memória (Izquierdo et al, 1992).

Ocorre a ativação pré e pós sináptica das proteínas quinases A e C e da cálcio calmodulina quinase II (Reymann, 1993).

Que uma das vias mais importantes na formação da memória é a via AMPc/PKA/pCREB (Bernabeu et al, 1997), assim como a via das MAPKs (Bevilaqua et al, 1997).

Que a formação da memória sofre modulação através dos hormônios ligados ao estresse (ACTH, vasopressina, corticóides) (Izquierdo, 1994), bem como pelos sistemas colinérgicos, noradrenérgicos, dopaminérgicos e serotoninérgicos (Izquierdo & Medina, 1997).

Existe um fator de transcrição tipicamente nuclear, CREB, nas mitocôndrias sinápticas e extra-sinápticas do sistema nervoso central que está envolvido com os mecanismos que subjacem a formação da memória (Cammarota et al, 1999). Um outro trabalho ainda mostra que os níveis de pCREB no hipocampo são um marcador molecular do processamento da memória e que a novidade modula a formação da memória pela regulação de pCREB nesta estrutura (Viola et al, 2000).

O estudo dos processos moduladores da memória com animais de laboratório envolve a aquisição de comportamentos não naturais ou a supressão de

respostas inatas. Denomina-se “tarefa” o procedimento comportamental que envolve a colocação do animal em determinado ambiente, expondo-o a estímulos específicos para produzir a emissão ou supressão da resposta desejada. A primeira exposição a determinada tarefa é chamada de “sessão de treino”, e a reexposição a essa tarefa é chamada “sessão de teste”. A partir da evocação, medida pelo desempenho na sessão de teste, infere-se a memória do animal para a tarefa em estudo (Rosat, 1991).

A memória de uma tarefa pode ser facilitada ou diminuída por diversos tipos de tratamento aplicados antes ou após o treino ou ainda antes da sessão de teste. Os tratamentos aplicados após o treino não interferem na aquisição, podendo afetar a consolidação da memória. Os tratamentos aplicados antes da sessão de teste podem alterar a evocação da informação (Izquierdo, 1989).

As tarefas comportamentais diferenciam-se pelo tipo de aprendizado resultante e pela estrutura cerebral envolvida. Sabe-se que as tarefas de esquiva envolvem aprendizados aversivos, pois nestes a emissão de uma resposta (esquiva ativa) ou a inibição de uma resposta (esquiva inibitória), é realizada pelo animal para evitar um estímulo doloroso (choque elétrico nas patas). Já a tarefa de exposição ao campo aberto envolve aprendizado não aversivo, onde o animal explora o ambiente sem ser exposto a estímulos nocivos ou dolorosos (Izquierdo et al, 1980).

Em todas estas tarefas, várias estruturas cerebrais vão atuar, porém o peso relativo da intervenção de cada uma delas é diferente. Na tarefa de esquiva inibitória atuam o hipocampo, o córtex entorrinal, o córtex parietal, o córtex cingulado e a amígdala (Izquierdo, 1994; Ardenghi et al, 1997; Mello e Souza et al, 1999).

Além da exposição ao campo aberto existem outras tarefas de aprendizado espacial, como o labirinto radial de 8 braços (Olton & Papas, 1979) e o labirinto aquático de Morris (Morris et al, 1982).

A incapacidade de formar memórias novas chama-se amnésia anterógrada e a perda das memórias preexistentes denomina-se amnésia retrógrada. Quando as duas acontecem simultaneamente, ocorre amnésia global. Tratamentos dados antes da sessão de treino podem causar amnésia anterógrada; dados após a sessão de treino, podem causar amnésia ou facilitação retrógrada (Izquierdo, 1989).

CATECOLAMINAS E MEMÓRIA

As catecolaminas dopamina, noradrenalina e adrenalina são neurotransmissores e/ou hormônios periféricos e do sistema nervoso central (Siegel, 1994). Estas catecolaminas são todas sintetizadas a partir do aminoácido tirosina numa via de biossíntese comum, sendo L-DOPA o precursor da dopamina e a própria dopamina precursora da noradrenalina (Kandel, 1991).

No sistema nervoso central a noradrenalina excita o encéfalo, produzindo aumento generalizado de sua atividade. Entretanto exerce efeitos inibitórios em determinadas sinapses neuronais. A noradrenalina é usada como um transmissor pelos neurônios cujos corpos celulares estão localizados no locus coeruleus, núcleo localizado bilateral e posteriormente na junção entre a ponte e o mesencéfalo exercendo funções modulatórias complexas. A noradrenalina ativa AMP cíclico e produz ação modulatória excitatória nos neurônios hipocâmpais pelo fechamento do canal de potássio. Fibras noradrenérgicas podem ser divididas em feixes dorsais e ventrais. Os corpos celulares de origem do feixe dorsal estão no locus coeruleus. Axônios dos

neurônios do locus coeruleus projetam-se difusamente por todo o córtex (incluindo hipocampo), cerebelo e medula espinhal (Kandel, 1991),(Guyton, 1991), (Siegel, 1994).

A noradrenalina e a adrenalina atuam em receptores alfa e beta, mas os agonistas e antagonistas tem especificidade, por exemplo, o propranolol que é um antagonista β -adrenérgico (Siegel, 1994).

A destruição dos neurônios dopaminérgicos na substância negra é a causa básica da doença de Parkinson (Guyton, 1991).

Neurônios contendo dopamina podem ser divididos em 3 grupos: nigroestriatal, mesocortical e tuberohipofisial. A principal zona dopaminérgica é a substância negra, que localiza-se anteriormente na região superior do mesencéfalo, que manda axônios que fornecem uma densa inervação para o núcleo caudato e putame do corpo estriado, aproximadamente 80% de toda a dopamina cerebral é encontrada no corpo estriado. No mal de Parkinson, o trato nigroestriatal degenera (Guyton, 1991), (Siegel, 1994).

Os receptores dopaminérgicos foram farmacologicamente agrupados em D_1 e D_2 mas com o avanço da biologia molecular demonstrou-se que são 5 sub-tipos: D_1 (D_1 , D_5) e D_2 (D_2 , D_3 , D_4) (Sigala et al, 1997). O D_1 estimula a atividade da adenilato ciclase que catalisa a conversão de ATP em AMP cíclico, o qual dissocia subunidades da proteína quinase A. O D_2 inibe a atividade da adenilato ciclase (Siegel, 1994).

Fibras noradrenérgicas e dopaminérgicas inervam o hipocampo e receptores dopaminérgicos D_1 e β -adrenérgicos estão presentes nesta estrutura (Siegel,1994).

Existem vários estudos interativos entre catecolaminas e memória, muitos em tarefas espaciais.

Levin & Rose (1995) utilizaram o agonista de receptor D₁ SKF 38393 juntamente com nicotina em ratos treinados em um labirinto radial de 8 braços e observaram que o SKF prejudicou o desempenho dos ratos, sendo este efeito revertido pela administração de nicotina. Já Packard & White, 1991, White et al, 1993, utilizando também agonistas dopaminérgicos na mesma tarefa encontraram resultados contrários. Dados parecidos também foram encontrados por Chrobak & Napier, 1992.

Castellano e colaboradores (1991), treinaram ratos na tarefa de esquiva inibitória e administraram pós-treino agonistas seletivos para D₁ e D₂ e antagonistas destes, obtendo que os agonistas facilitaram o aprendizado enquanto os antagonistas prejudicaram o mesmo.

Cools e colaboradores (1993), treinaram ratos na tarefa de campo aberto e administraram pré-treino um antagonista D₂ dopaminérgico, obtendo déficit de aprendizado nos ratos que receberam o tratamento.

Ratos com lesão no feixe noradrenérgico dorsal foram treinados num labirinto aquático com água fria e seu desempenho foi igual ao dos ratos controle (Valjakka et al, 1990).

Decker & McGaugh, 1989, já apontavam para a importância do sistema noradrenérgico no processo de consolidação da memória de longa duração.

A noradrenalina provoca facilitação da memória de esquiva inibitória quando injetada, no hipocampo imediatamente, 3 e 6 horas pós-treino (Bernabeu et al, 1997).

A maioria dos achados de como funciona a memória foi descoberta com o uso da tarefa de esquiva inibitória, mas também é importante estudar os mecanismos

envolvidos na formação da memória em outras tarefas. Para a realização desta tese escolheu-se trabalhar com a tarefa de labirinto radial de 8 braços. Ela é uma boa tarefa porque não é aversiva e trabalha a habilidade para localizar alimento de uma forma eficiente, o que é essencial para a sobrevivência (Floresco et al, 1997).

Há um consenso geral que o hipocampo é essencial para o aprendizado espacial, porém alguns autores demonstraram que outras estruturas estão envolvidas na tarefa do labirinto, tais como o córtex pré-frontal, o estriado ventral e o núcleo caudato, e que elas teriam papel diverso nas versões com e sem intervalo desta tarefa (Packard & White, 1991; Floresco et al, 1997).

Além disto os protocolos experimentais do labirinto feitos até o presente momento utilizam-se de longos períodos de treinamento (20 dias) infundindo as drogas nos últimos dias de treinamento. Entretanto para este trabalho escolheu-se treinar os animais por um curto período de tempo, injetando-se as drogas nos dois primeiros dias de treinamento para verificar o envolvimento, na consolidação da memória, dos receptores D_1 e β -noradrenérgicos no hipocampo nos protocolos sem e com intervalo do labirinto radial, no início da fase de treinamento.

OBJETIVOS

Objetivo geral: Avaliar os efeitos dos receptores D_1 e β noradrenérgicos, sobre a consolidação da memória, em hipocampo dorsal de ratos, no estágio inicial de aprendizado de dois modelos da tarefa labirinto radial de 8 braços .

Objetivo específico 1: Verificar a ação do agonista dopaminérgico SKF 38393 e do agonista β noradrenérgico L-Noradrenalina dados imediatamente ou 3 horas pós-treino, sobre a consolidação da memória no paradigma win-stay (sem intervalo) do labirinto radial de 8 braços.

Objetivo específico 2: Verificar a ação do agonista dopaminérgico SKF 38393 e do agonista β noradrenérgico L-Noradrenalina dados imediatamente ou 3 horas pós-treino, sobre a consolidação da memória no paradigma win-shift (com intervalo) do labirinto radial de 8 braços.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais

Em todos os experimentos foram utilizados ratos Wistar machos adultos (2-3 meses), com peso médio de 240g, provenientes do Biotério do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram criados e mantidos em caixas de plástico (40 x 30 x 15 cm) com assoalho coberto com serragem, em ciclo de claro e escuro de 12 horas com início do ciclo claro às 7 horas, sendo a água e ração padronizada *ad libitum*.

2. Procedimentos cirúrgicos

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal (i.p.) de tiopental monossódico, numa dose de 40 mg/Kg e colocados em um aparelho estereotáxico com inclinação da cabeça de $-0,33$, conforme recomendação do atlas de Paxinos & Watson (1986) para tal faixa de pesos (Figura 2).



Figura 2 – Cirurgia no aparelho estereotáxico.

A superfície do crânio foi exposta mediante uma incisão sagital e, com o emprego de uma broca odontológica, foram abertos dois orifícios nos locais correspondentes às coordenadas antero-posterior (AP) e latero-laterais (LL) do hipocampo (cuja expressão é bilateral). Uma cânula feita de uma agulha fina (“Mizzy”), com diâmetro externo de 0,3 mm, calibre (gauge) 31, presa à torre móvel do estereotáxico, foi baixada suavemente através de cada um desses orifícios e introduzida no cérebro através de cada um desses orifícios e introduzida no cérebro até a coordenada dorso-ventral (DV) final. A coordenada do hipocampo utilizada será a do atlas de Paxinos e Watson (1986), referentes ao bregma (dadas em cm): AP = 4,3; LL = 4,0; DV = 3,4. Com esta coordenada se atingiu a região CA1 do hipocampo dorsal (Figura 3). A verificação histológica da área estudada foi feita com o auxílio deste mesmo atlas.

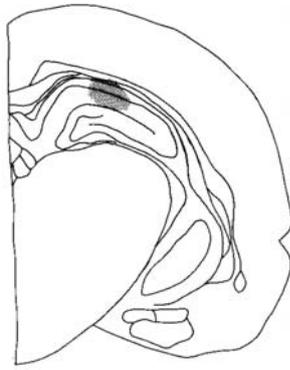


Figura 3: Local de colocação das cânulas no hipocampo dorsal para ambas as tarefas do labirinto radial.

Os animais operados tiveram um pós-operatório de 72 h. Para injetar as drogas nos animais conectou-se a cânula a uma microseringa Hamilton, que tinha a droga (para o animal experimental) ou a solução salina 0,9 % (para o animal controle). A injeção foi feita de forma lenta na estrutura alvo, numa taxa de 0,5 μ l em 60 a 90 segundos. Após a injeção, aguardou-se mais um minuto para que ocorresse a absorção da substância pelo parênquima cerebral (difusão), para então retirar-se lentamente a agulha. A operação foi repetida para a estrutura contralateral (Figura 4).



Figura 4: Procedimento para a infusão das drogas.

O controle de localização das cânulas foi realizado através da infusão de um corante, azul de metileno, através das mesmas, imediatamente antes dos animais serem mortos. Somente os resultados provenientes de animais que apresentaram uma correta localização das cânulas foram utilizados para a análise estatística.

3. Procedimento Comportamental

Labirinto Radial de 8 Braços

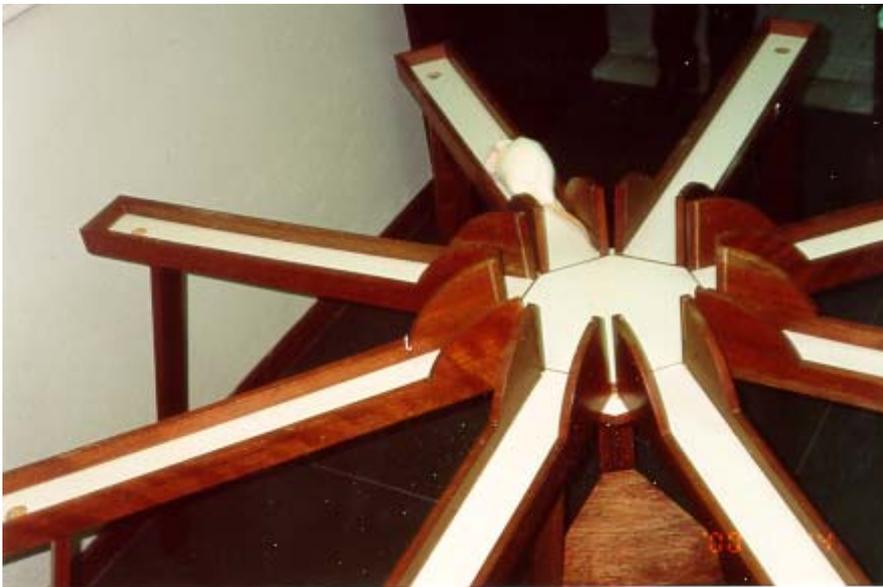


Figura 5 Labirinto radial de 8 braços

Este labirinto consiste de uma plataforma central (28 cm de diâmetro) conectada a 8 braços (78 cm x 8 cm) dispostos radialmente, elevado a 70 cm do chão (Figura 5). Os braços podem ser fechados através de uma porta de madeira removível. Uma recompensa (nescau cereal) estava localizada num orifício no final de 4 braços. Nas paredes da sala onde fica o aparato estão pendurados quadros e setas de cores fortes, que, ao ser observados pelos animais durante sua exploração, são utilizados por estes como sinais ou “dicas” espaciais (Mizumori et al, 1990). Em ambas as versões da

tarefa os ratos foram submetidos inicialmente a um jejum de 24 horas e 3 dias de racionamento de comida, ficando com 85% de seu peso corporal inicial e mantidos assim durante todo o experimento. Nos 3 dias de racionamento foram colocados na caixa de moradia dos animais, em uma placa de Petri, algumas bolinhas de nescau cereal para eles habituarem-se a este alimento.

Neste trabalho foram utilizadas dois paradigmas de labirinto radial: sem e com intervalo. Em ambos no primeiro dia foi realizada a habituação dos animais ao labirinto com todos os braços abertos e sem comida por 10 minutos ou até eles irem em todos os oito braços. Após a habituação o procedimento foi realizado por 4 dias da seguinte forma:

-Versão sem intervalo (Win-Stay): Este modelo foi adaptado de Packard & White (1991). Quatro braços foram selecionados para conter a recompensa durante os 4 dias de treinamento. No treinamento o animal foi colocado cuidadosamente na parte central do labirinto e deixado procurar a recompensa por 10 minutos ou até achá-las nos 4 braços. Após o treino do primeiro e segundo dias, os animais de todos os grupos foram retirados do labirinto e imediatamente ou 3 h pós-treino receberam a infusão intracerebral. Foram aferidos os seguintes parâmetros: erros de memória de trabalho (WM): entrar num braço que continha comida mas já previamente consumida; erros de memória de referência (RM): entrar num braço sem recompensa e número de erros totais (ET).

-Versão com intervalo (Win-Shift): Este modelo tem como característica duas fases, uma fase de amostra e uma fase de teste separadas por um intervalo (Packard & White, 1991); (Williams & McGaugh, 1994), que neste trabalho foi de 2 minutos. Na fase de amostra o labirinto estava com 4 braços abertos e os outros braços fechados. O animal foi colocado cuidadosamente na parte central do labirinto e deixado procurar a

recompensa nos braços abertos por 10 minutos ou até achá-las nos 4 braços. Quando ele realizou esta fase foi colocado de volta em sua caixa até passar o intervalo. Na fase de teste todos os braços estavam abertos, o animal voltou ao labirinto e por 10 minutos deveria ir somente nos braços que anteriormente estavam fechados. Reentradas em braços já visitados foram considerados como erro. Quanto menor este número, melhor a memória. Neste protocolo foram considerados apenas o número de erros totais. Os braços que continham a recompensa variaram randomicamente durante todos os dias do experimento. Após o treino do primeiro e segundo dias, os animais de todos os grupos foram retirados do labirinto e imediatamente ou 3 h pós-treino receberam a infusão intracerebral.

4. Drogas

As drogas utilizadas neste trabalho foram o agonista do receptor dopaminérgico D₁ SKF38393 (5.0µg/lado) e o agonista β noradrenérgico L-Noradrenalina (0.5µg/lado) adquiridas da RBI. Animais receberam salina ou droga ao final do treino do primeiro e segundo dias e não mais durante os dias subsequentes. Grupos experimentais foram: Sal-Sal, Sal-Droga, Droga-Sal e Droga-Droga. Por exemplo o grupo Sal-Sal: após o treino do primeiro dia recebeu salina e após o treino do segundo dia recebeu salina.

5. Análise Estatística

Todos os resultados estão expressos em média ± EP. O tamanho de cada grupo foi aproximadamente 10. Os parâmetros comportamentais foram comparados utilizando análise de variância de medidas repetidas (ANOVA) seguidas de um teste post-hoc LSD (diferença mínima significante) quando necessário. Para todas as comparações, valores

de $p < 0.05$ foram consideradas como estatisticamente significantes. Salientamos que toda a análise estatística desta tese foi feita com o auxílio do Núcleo de Apoio Estatístico desta universidade.

RESULTADOS

Efeito do Sistema Dopaminérgico sobre a Consolidação da Memória no Paradigma Win-Stay (sem intervalo) do Labirinto Radial de 8 Braços

Para verificar o efeito deste sistema injetou-se o agonista dopaminérgico SKF 38393 ou salina imediatamente ou após 3 horas pós-treino na região CA₁ hipocampal nos dois primeiros dias de treinamento desta tarefa. Foram aferidos os seguintes parâmetros: erros de memória de trabalho (WM): entrar num braço que continha comida mas já previamente consumida; erros de memória de referência (RM): entrar num braço sem recompensa e número de erros totais (ET).

Nossos resultados demonstraram que o SKF em ambos os tempos de administração não teve nenhum efeito nos parâmetros aferidos: WM ($F(3,35) = 1.812$; $p = 0.193$), RM ($F(3,35) = 2.841$; $p = 0.062$), e ET ($F(3,35) = 2.857$; $p = 0.06$) quando ele foi dado imediatamente pós-treino (Figura 6) e WM ($F(3,33) = 1.224$; $p = 0.317$), RM ($F(3,33) = 0.202$; $p = 0.894$), e ET ($F(3,33) = 0.251$; $p = 0.860$) quando infundido 3 h pós-treino (Figura 7).

Efeito do Sistema Noradrenérgico sobre a Consolidação da Memória no Paradigma Win-Stay (sem intervalo) do Labirinto Radial de 8 Braços

Para verificar o efeito deste sistema injetou-se o agonista β noradrenérgico L-Noradrenalina ou salina imediatamente ou após 3 horas pós-treino na região CA₁ hipocampal nos dois primeiros dias de treinamento desta tarefa. Foram aferidos os parâmetros descritos anteriormente.

A noradrenalina não demonstrou efeito quando dada 3 horas pós-treino para nenhuma das medidas: WM ($F(3,33) = 0.340$; $p = 0.796$), RM ($F(3,33) = 0.014$; $p = 0.998$), e ET ($F(3,33) = 0.080$; $p = 0.970$) (Figura 8).

Entretanto, quando ela foi infundida imediatamente pós-treino podemos observar um aumento no número total de erros (ET) ($F(3,33) = 4.449$; $p = 0.01$), assim NE prejudica o aprendizado desta tarefa, mas somente na RM ($F(3,33) = 7.309$; $p = 0.001$) sem alterar WM ($F(3,33) = 0.451$; $p = 0.715$). No terceiro dia podemos observar que o grupo SAL-NE apresentou um prejuízo da memória que pode ser visto no maior número de ET que este grupo tem em relação aos grupos SAL-SAL ($p = 0.008$) e NE-SAL ($p = 0.026$) e na sua diferença para os grupos SAL-SAL ($p = 0.017$) e NE-SAL ($p = 0.031$) em relação ao parâmetro RM (LSD post-hoc test). No quarto dia o grupo SAL-NE teve um número mais alto de ET que o grupo SAL-SAL ($p = 0.031$) mostrando um déficit de RM em relação ao grupo SAL-SAL ($p = 0.009$) e o grupo NE-NE teve um número maior de ET quando comparado ao grupo SAL-SAL ($p = 0.007$) também demonstrando um déficit de RM em relação ao grupo SAL-SAL ($p = 0.015$) (LSD post-hoc test) (Figura 9).

Efeito do Sistema Dopaminérgico sobre a Consolidação da Memória no Paradigma Win-Shift (com intervalo) do Labirinto Radial de 8 Braços

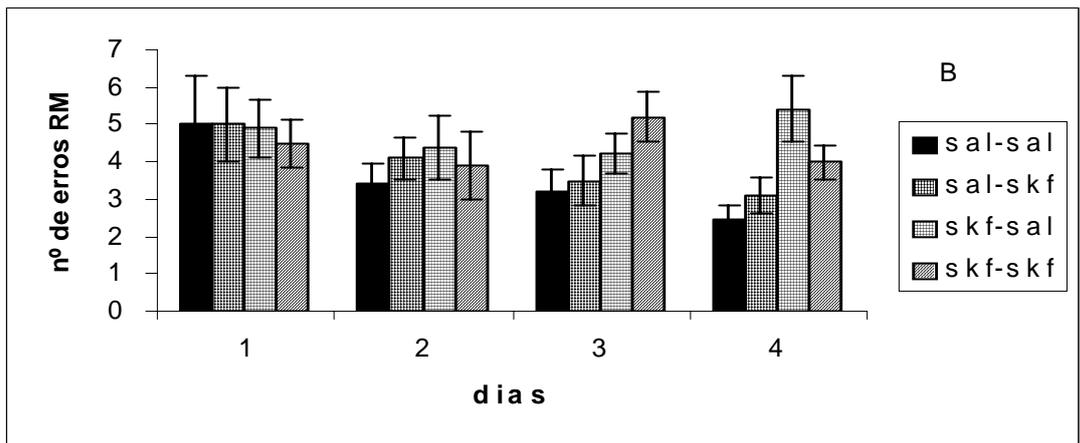
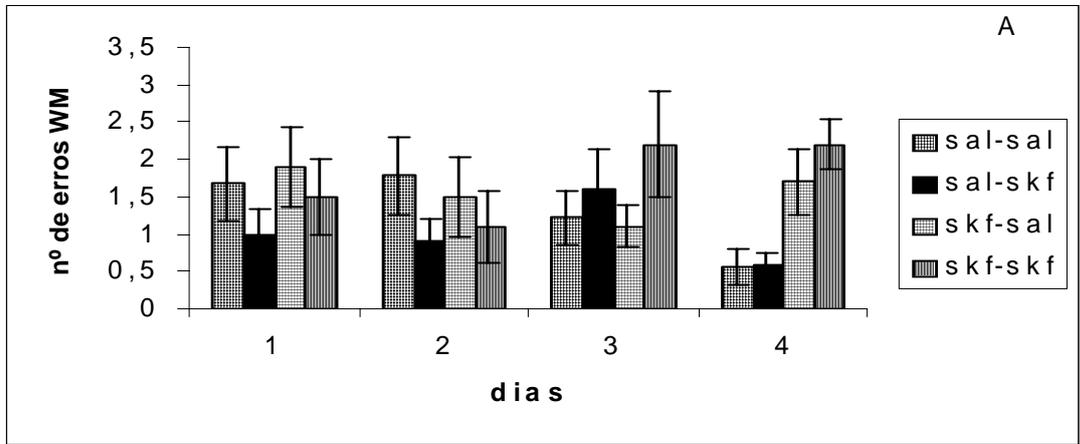
Para verificar o efeito deste sistema nesta tarefa injetou-se o agonista dopaminérgico SKF 38393 ou salina imediatamente ou após 3 horas pós-treino na região CA₁ hipocampal nos dois primeiros dias de treinamento. Foram aferidos somente o número de erros totais.

Do mesmo modo que na tarefa anterior o SKF não foi efetivo em alterar a memória neste protocolo quando dado imediatamente ($F(3,28) = 2.154$; $p = 0.016$) (Figura 10 a) ou 3 horas pós-treino ($F(3,31) = 0.827$; $p = 0.489$) (Figura 10 b) .

Efeito do Sistema Noradrenérgico sobre a Consolidação da Memória no Paradigma Win-Shift (com intervalo) do Labirinto Radial de 8 Braços

Para verificar o efeito deste sistema nesta tarefa injetou-se o agonista β noradrenérgico L-Noradrenalina ou salina imediatamente ou após 3 horas pós-treino na região CA₁ hipocampal nos dois primeiros dias de treinamento. Foram aferidos somente o número de erros totais.

A NE seguiu um padrão inverso em relação ao protocolo win-stay . Na versão win-shift ela não alterou a memória ($F(3,34) = 1.393$; $p = 0.116$) quando foi dada imediatamente pós-treino (Figura 11a), mas sim quando injetada 3 horas pós-treino onde aumentou o número de erros ($F(3,28) = 5.076$; $p = 0.006$) (Figura 11b). Se observarmos os resultados dos grupos no desempenho da tarefa no terceiro dia veremos que o grupo NE-SAL teve um prejuízo de memória em relação ao grupo SAL-SAL ($p = 0.004$) e se nos determos no quarto dia podemos ver que o grupo SAL-NE teve um déficit de memória em relação aos grupos SAL-SAL ($p = 0.001$) e NE-NE ($p = 0.008$) (LSD post-hoc test) .



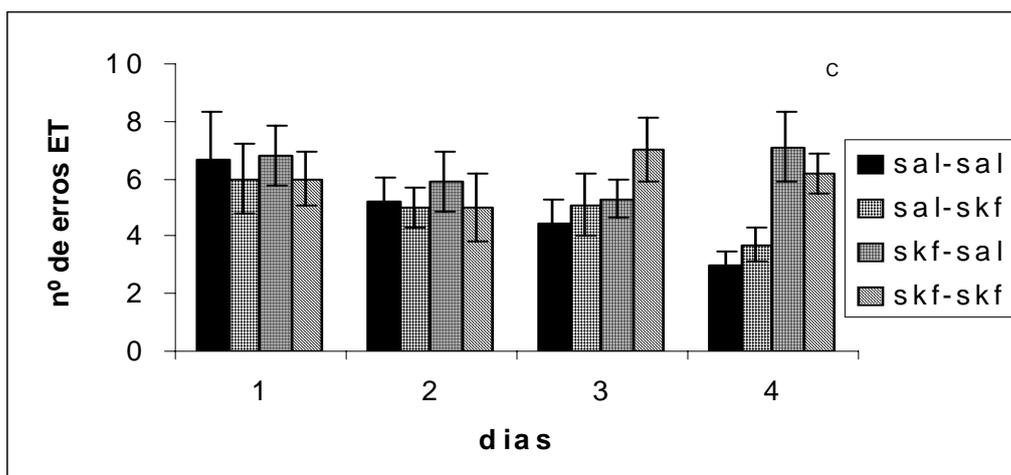
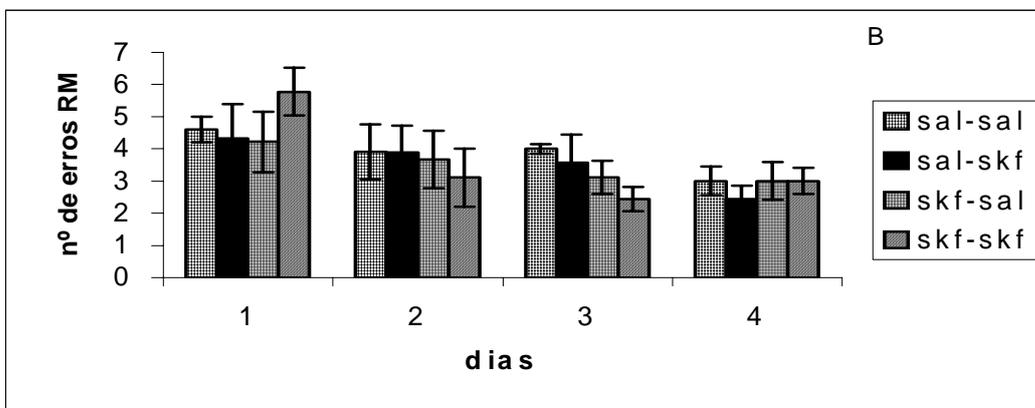
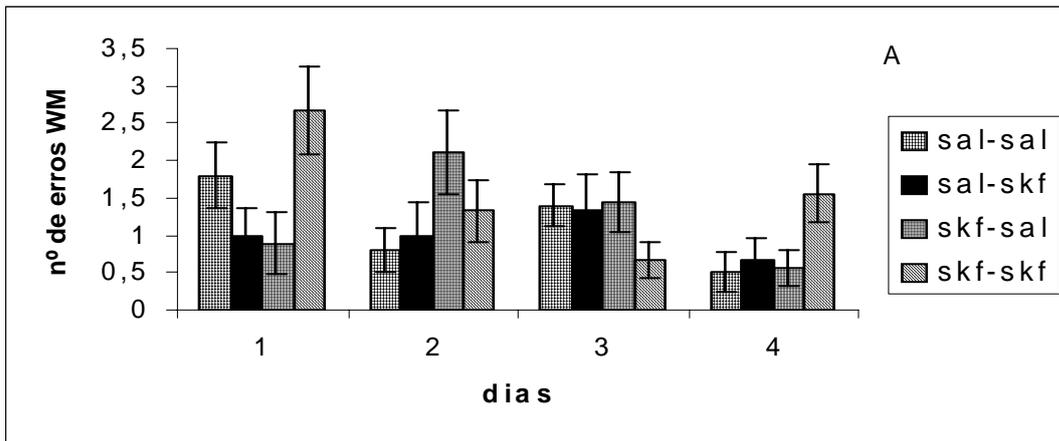


Figura 6: Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF 0 h pós-treino no protocolo win-stay.

Valores estão demonstrados em média \pm EPM.

- A) Representa erros do tipo WM;
- B) Representa erros do tipo RM;
- C) Representa os erros totais.



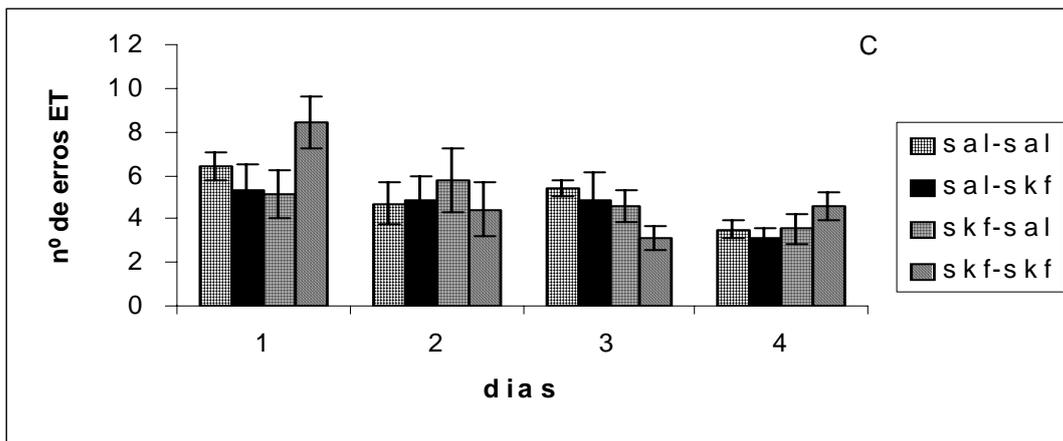
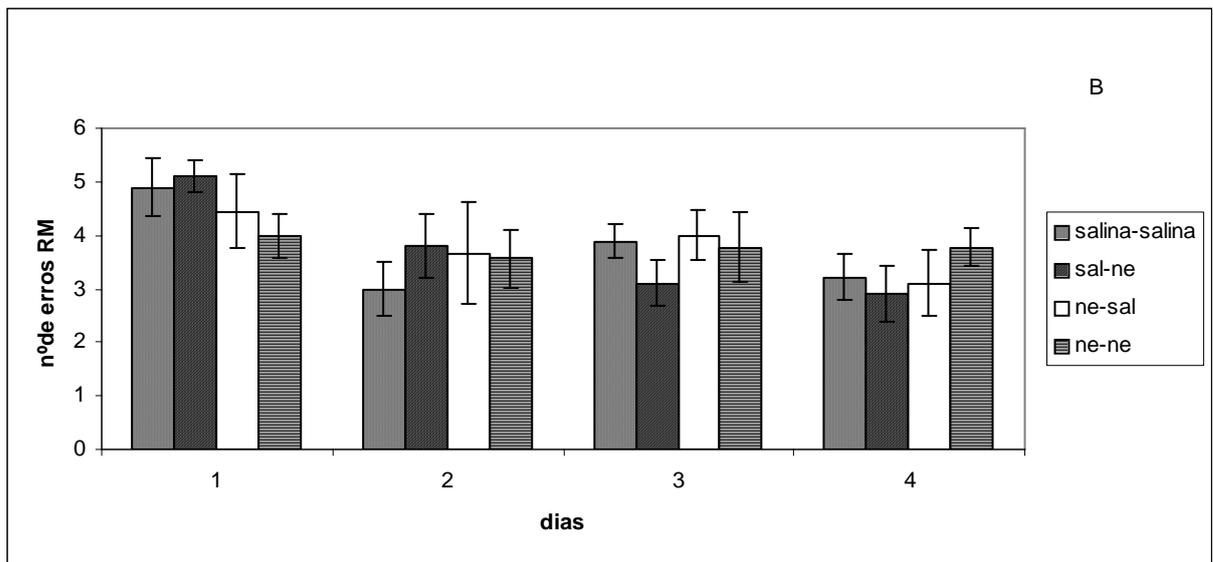
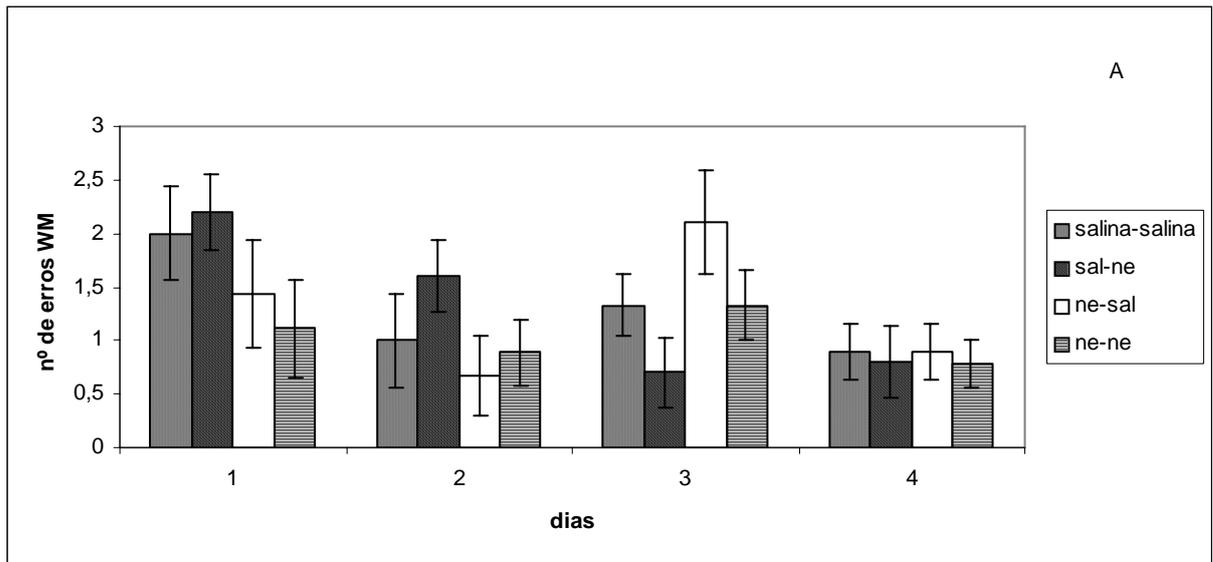


Figura 7: Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF 3 h pós-treino no protocolo win-stay .

Valores estão demonstrados em média \pm EPM.

- A) Representa erros do tipo WM;
- B) Representa erros do tipo RM;
- C) Representa os erros totais.



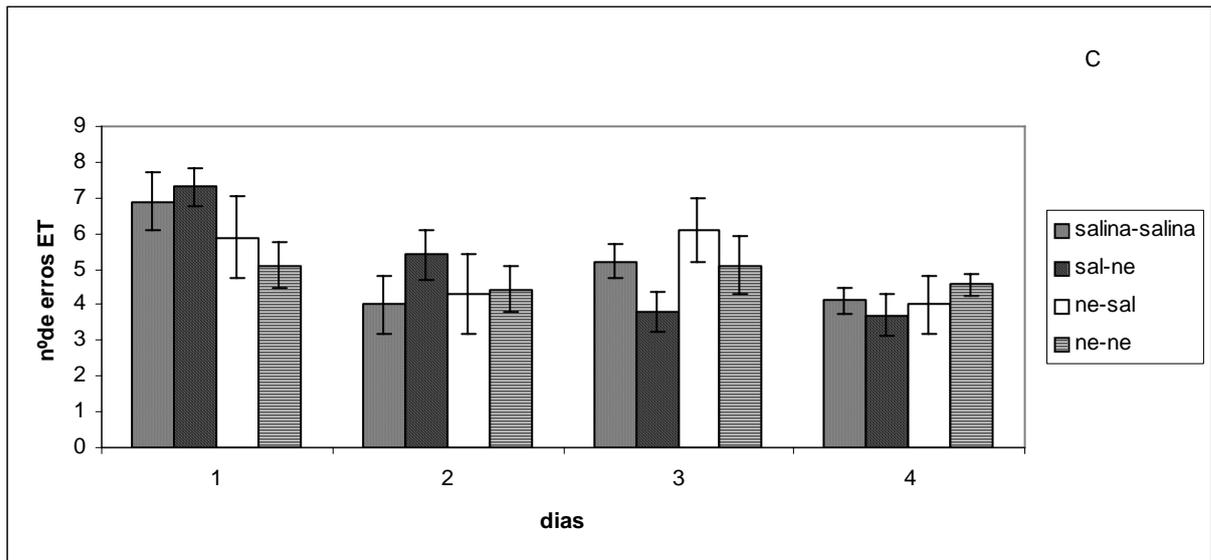
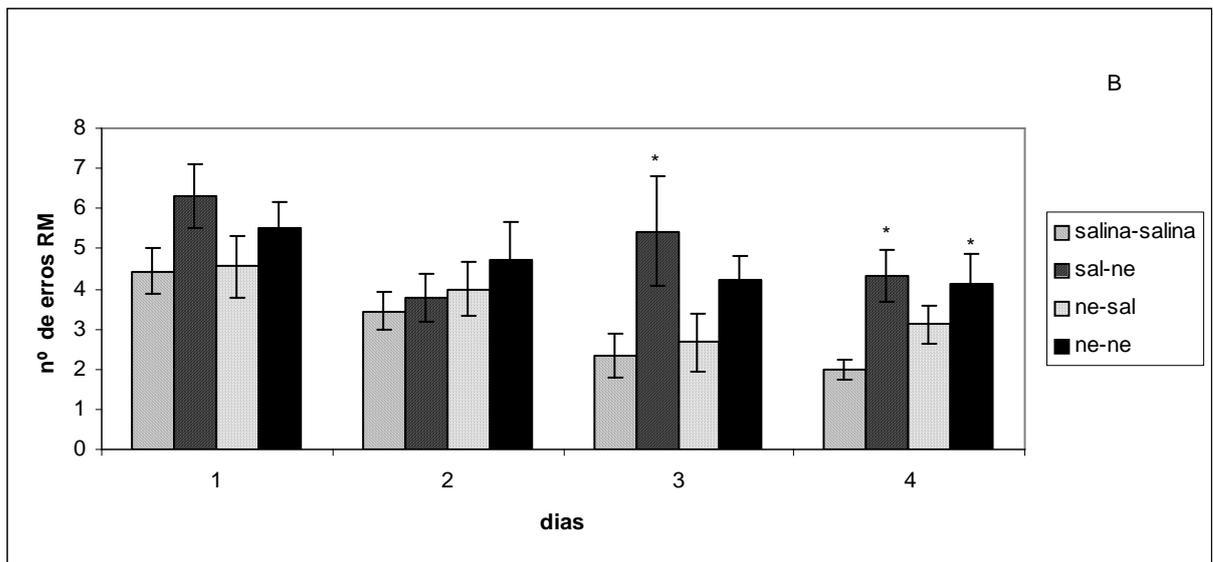
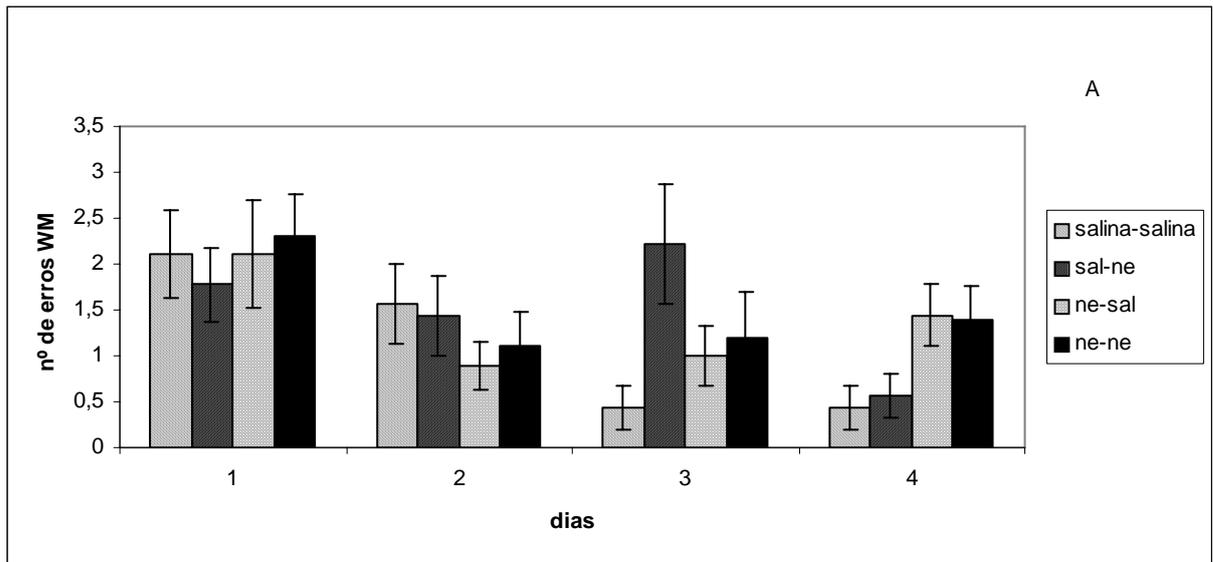


Figura 8: Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina 3h pós-treino no protocolo win-stay.

Valores estão demonstrados em média \pm EPM.

- A) Representa erros do tipo WM;
- B) Representa erros do tipo RM;
- C) Representa os erros totais.



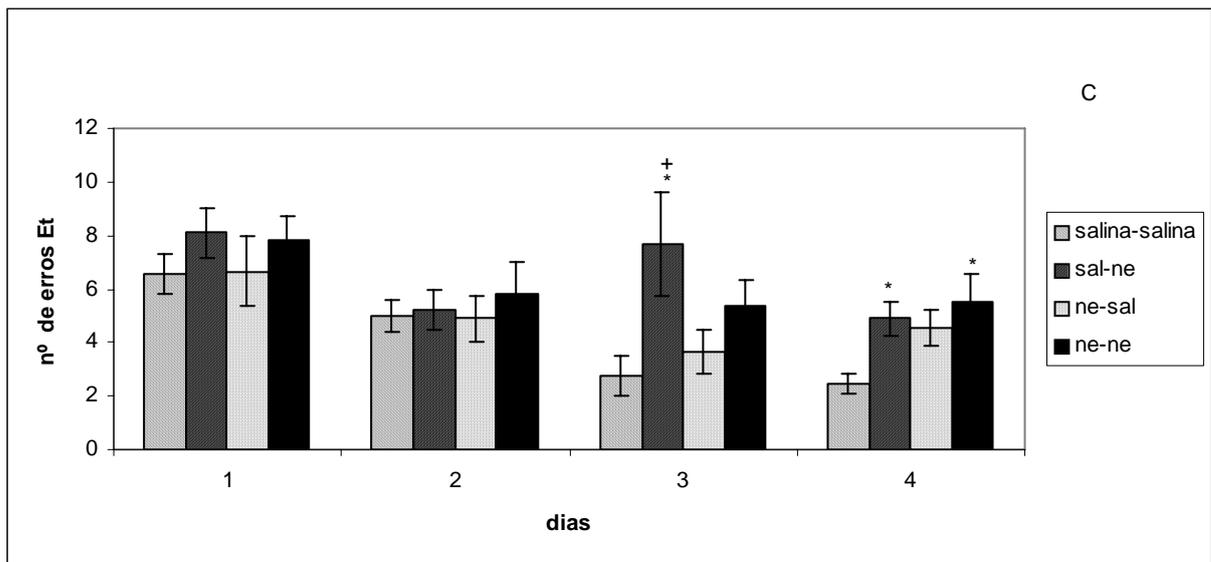


Figura 9: Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina 0 h pós-treino no protocolo win-stay.

Valores estão demonstrados em média \pm EPM.

- A) Representa erros do tipo WM;
- B) Representa erros do tipo RM;
- C) Representa os erros totais.

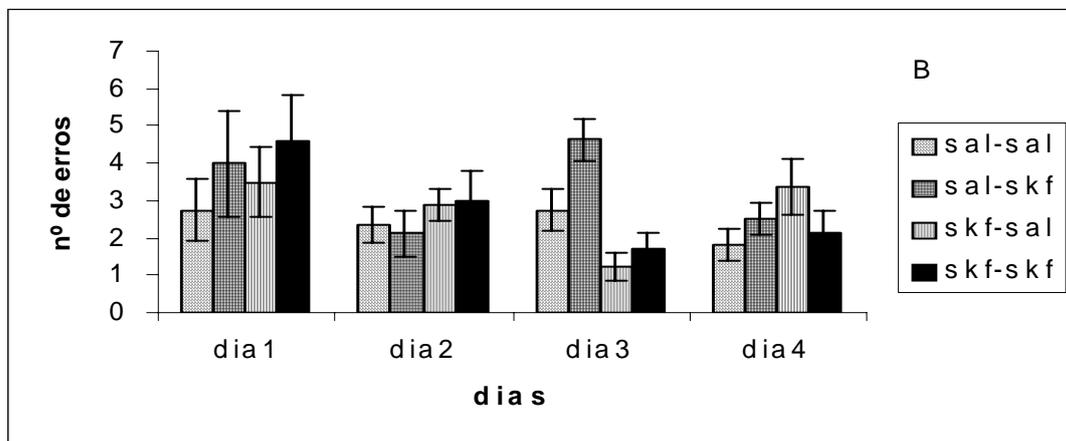
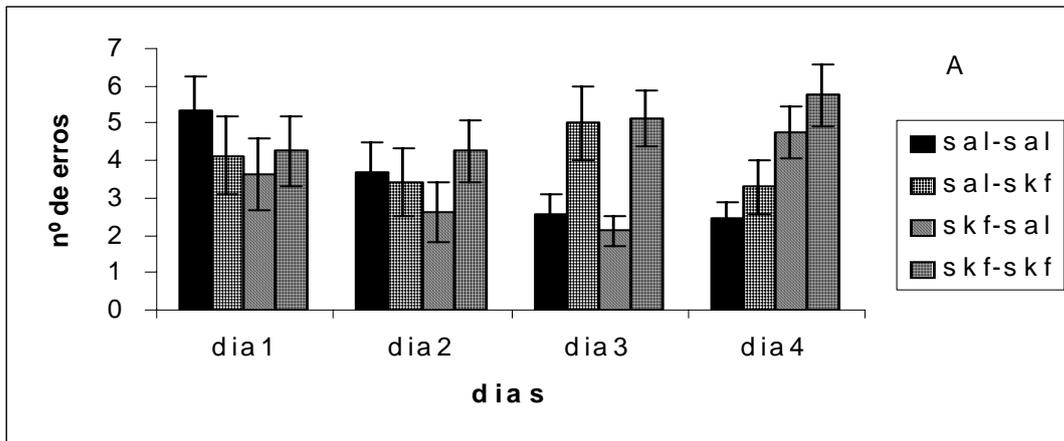


Figura 10: Efeitos da infusão intrahipocampal de SKF no protocolo win-shift :
 A) no tempo de 0 h pós-treino,
 B) no tempo de 3 h pós-treino.
 Valores estão expressos em média \pm EPM.

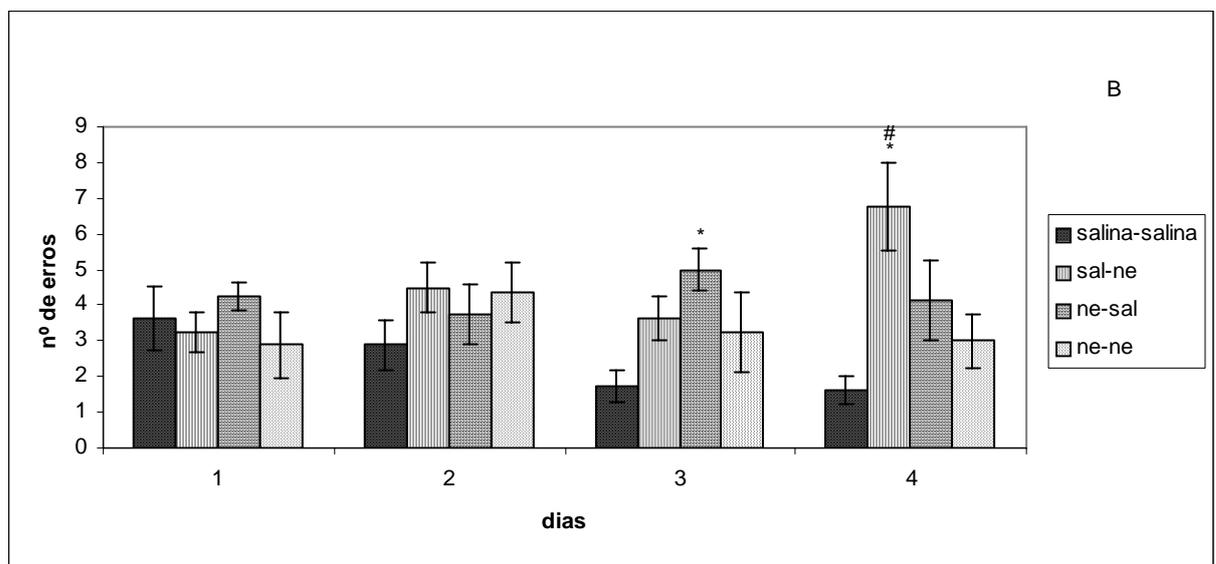
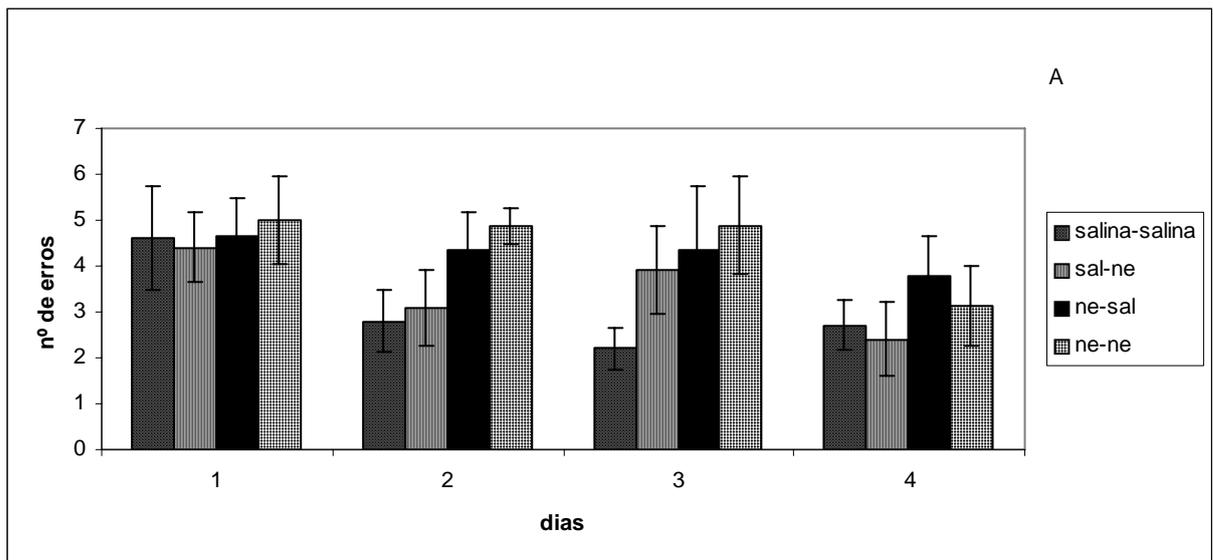


Figura 11: Efeitos da infusão intrahipocampal de noradrenalina no protocolo win-shift:
 A) no tempo de 0h pós-treino;
 B) no tempo de 3h pós-treino.
 Valores estão expressos em média \pm EPM.

DISCUSSÃO

Este trabalho foi realizado com o intuito de desvendar alguns aspectos de uma tarefa predominantemente espacial, o labirinto radial de 8 braços, tendo por objetivo avaliar os efeitos dos receptores D_1 e β noradrenérgicos, sobre a consolidação da memória, em hipocampo dorsal de ratos, no estágio inicial de aprendizado de dois modelos desta tarefa.

Alguns autores consideram que o hipocampo seja o único a contribuir sobre a memória de construir e guardar mapas, outros estendem sua participação em situações nas quais relações complexas entre dicas deve ser determinada (Gisquet-Verrier & Massiqui, 1997).

Packard & White, 1991, postularam que o protocolo do labirinto radial win-shift seria hipocampo dependente enquanto o win-stay seria caudato dependente.

Os nossos resultados sugerem que o hipocampo media a consolidação da memória nos dois tipos de protocolos citados acima por mecanismos sensíveis a ativação de receptores β -noradrenérgicos na fase inicial do aprendizado da tarefa.

Bontempi et al, 1996, demonstraram que o teste num labirinto radial é seguido por uma ativação de 3 horas de toda formação hipocampal (córtex entorrinal, giro dentado, CA_3 , CA_1 e subículo) no primeiro dia de treino, mas somente por uma ativação de uma hora das regiões de saída hipocampais (CA_3 , CA_1 e subículo) no quarto e nono dias. Isto indica que o hipocampo é importante nos primeiros estágios do aprendizado. Nossos resultados reforçam estes dados.

A região ventral CA₁/ subículo do hipocampo e a região pré-límbica do córtex pré-frontal são parte de um circuito neural através do qual a informação espacial é adquirida antes de um intervalo e subsequentemente usada para localizar comida num labirinto radial. Entretanto, o núcleo acumbens é envolvido durante uma tarefa sem intervalo (Floresco et al, 1997). Assim, as versões com intervalo (win-shift) e sem ele (win-stay) requerem estruturas diferentes e assim processos mnemônicos diferentes. A tarefa win-shift requer memória espacial e configural; a win-stay, memória de referência ou associativa simples (Packard & White, 1991). Vale salientar que a tarefa do labirinto radial é uma tarefa complexa, onde um dos componentes é a memória de sequência de eventos (Einon, 1980). A duração do processamento da memória após a aquisição é em função da quantidade de novas informações que podem ser ocupadas pelo sistema nervoso central (Bontempi et al, 1996).

Alguns estudos de ratos com lesões hipocámpais tem encontrado déficits do componente da memória de trabalho do labirinto radial (Davis et al, 1986; Jarrard & Elmes, 1982), enquanto outros enfatizam os déficits na memória de referência (Jarrard, 1983; Okaichi & Oshima, 1990). Nossos resultados indicam que o hipocampo não está envolvido na memória de trabalho da tarefa win-stay. De fato, o córtex pré-frontal é mais envolvido na memória de trabalho (Seamans et al, 1998). Em relação a tarefa win-shift optou-se por medir somente o número de erros totais, porque não faria sentido após um intervalo medir o tipo de erro de memória de trabalho .

Estudos que investigam as bases neuroquímicas da memória tem demonstrado que a administração sistêmica pós-treino de drogas e hormônios que afetam uma grande variedade de sistemas neurotransmissores podem modular a memória de maneira tempo dependente (McGaugh & Izquierdo, 2000).

Em nosso estudo nós utilizamos um agonista de receptor dopaminérgico D₁, o SKF, o qual foi infundido no hipocampo em dois tempos pós-treino. Os nossos resultados demonstraram que nos dois tipos da versão da tarefa utilizados, o SKF não teve qualquer efeito, entretanto, tivemos um quase efeito amnésico quando o SKF foi infundido 0 h pós-treino na versão sem intervalo. Assim não podemos descartar totalmente o envolvimento desses receptores sobre a consolidação da memória desta tarefa, até porque, sabemos do seu envolvimento nas fases mais tardias do aprendizado do labirinto radial de 8 braços (Packard & White, 1991) e que estudos sugerem que a dopamina está envolvida em alguns passos mnemônicos através da ativação de diferentes subtipos de receptores (Sigala et al,1997).

Do mesmo modo usamos também um agonista de receptores β -noradrenérgicos, L-noradrenalina. Estudos destes receptores numa tarefa de associação odor recompensa apontaram para um tempo crítico (2h) do envolvimento destes na consolidação da memória (Sara et al, 1999).

Em nosso trabalho pudemos demonstrar que o sistema noradrenérgico no hipocampo atua diferentemente em ambas tarefas. Receptores β -noradrenérgicos parecem estar envolvidos na consolidação da memória imediatamente após o treino na tarefa win-stay enquanto que na tarefa win-shift sua participação na consolidação da memória é mais tardia (3 h).

A noção que uma memória espacial depende de um domínio gradual e uma duração progressiva da fase de consolidação, a qual deve ser mais forte no segundo dia (Bontempi et al, 1996), foi reforçada por nossos resultados. Primeiro, o grupo SAL/NE foi mais efetivo em prejudicar a memória em ambas as versões do radial que o grupo NE/SAL. Segundo, o efeito amnésico foi observado somente nos dias 3 e 4.

Na tarefa win-stay a noradrenalina prejudicou a memória quando infundida 0 h após o treino do segundo dia, o grupo SAL/NE teve um efeito amnésico observável nos dias 3 e 4 enquanto que no grupo NE/NE este efeito só pode ser visto no quarto dia, mas o número de erros deste grupo no terceiro dia foi maior ao do grupo SAL/SAL porém não significativo.

Na tarefa win-shift o comportamento da noradrenalina foi inverso. O efeito ocorreu 3 h após o treino e ambos NE/SAL e SAL/NE grupos tiveram prejuízo de memória, assim o aprendizado deste protocolo parece já iniciar no primeiro treino. Não sabemos explicar porque a combinação de noradrenalina nos dois dias foi inefetiva, talvez ocorrendo um balanceamento nos receptores

Infusões de agonistas noradrenérgicos diretamente no hipocampo facilitam a memória de esquivas inibitória imediatamente, 3 e 6 horas pós-treino (Bernabeu et al, 1997). Nossos resultados indicam que a ação modulatória da noradrenalina no labirinto radial é oposto ao de tarefas aversivas. Este efeito não pode ser explicado pelo efeito da noradrenalina ser dose- dependente (Gibbs *et al*, 2000), visto que foram usadas doses similares. Assim isto é mais uma evidência que o cérebro utiliza de diferentes sistemas neurais para adquirir e expressar diferentes tipos de aprendizado.

CONCLUSÕES

Este trabalho obteve achados que acredito serão de relevância para quem quiser aceitar o desafio de continuar a estudar a tarefa do labirinto radial de 8 braços, a saber:

- 1- O sistema dopaminérgico não parece estar envolvido na consolidação da memória, ao menos durante os primeiros dias de aprendizado dos modelos sem e com intervalo da tarefa labirinto radial de 8 braços,
- 2- O sistema noradrenérgico parece estar envolvido na consolidação da memória, ao menos durante os primeiros dias de aprendizado dos modelos sem e com intervalo da tarefa labirinto radial de 8 braços. Este envolvimento é imediatamente pós-treino no protocolo sem intervalo e 3 horas pós-treino no protocolo com intervalo,
- 3- O sistema noradrenérgico foi efetivo somente em prejudicar a memória de referência na versão sem intervalo do labirinto radial de 8 braços,
- 4 – O hipocampo está envolvido no aprendizado da fase inicial dos dois modelos estudados da tarefa labirinto radial de 8 braços,
- 5- A consolidação da tarefa labirinto radial de 8 braços parece começar mais efetivamente no segundo dia de treinamento, visto que, o grupo SAL/NE foi o mais efetivo em prejudicar a memória nos dois modelos estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ardenghi P, Barros D, Izquierdo L, Bevilaqua L, Schroder N, Quevedo J, Rodrigues C, Madruga M, Medina J, Izquierdo I. Late and prolonged posttraining memory modulation in entorhinal and parietal cortex by drugs acting on the cAMP/ protein kinase A signaling pathway. *Behavioural Pharmacology* **8**: 745-751,1997.
- Bernabeu R, Bevilaqua L, Ardenghi P, Bromberg E, Schmitz P, Bianchin M, Izquierdo I, Medina J. Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proc. Natl. Acad. Science* **94**: 7041-7046,1997.
- Bevilaqua L, Ardenghi P, Schroder N, Bromberg E, Schmitz P, Schaeffer E, Quevedo J, Bianchin M, Walz R, Medina J, Izquierdo I. Drugs acting upon the cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A signalling pathway modulate memory consolidation when given late after training into rat hippocampus but not amygdala. *Behavioural Pharmacology* **8**: 331-338,1996.
- Bontempi B, Jaffard R, Destrade C. Differential temporal evolution of post-training changes in regional brain glucose metabolism induced by repeated spatial discrimination training in mice: visualization of the memory consolidation process? *European Journal Neuroscience* **8**: 2348-2360,1996.
- Cammarota M, Bevilaqua L, Paratcha G, Stein M, Lopez M, Iraldi A, Izquierdo I, Medina M. Cyclic AMP-responsive element binding protein in brain mitochondria. *Journal of Neurochemistry* **72**: 2272-2277,1999.
- Castellano C, Cestari V, Cabib S, Allegra SP. Post-training dopamine receptor agonists and antagonists affect memory storage in mice irrespective of their selectivity for D1 or D2 receptors. *Behav. Neural Biol.*, **56**:283-291, 1991.

- Chrobak JJ, Napier TC. Delayed-non-match-to-sample performance in the radial arm maze: effects of dopaminergic and gabaergic agents. *Psychopharmacology*, **108** (1-2): 72-78, 1992.
- Cools AR, Ellenbroek B, Heeren D, Lubbers L. Use of high and low responders to novelty in rat studies on the role of the ventral striatum in radial maze performance: effects of intra-accumbens injections of sulpiride. *Can J. Physiol. Pharmacol.*, **71** (5-6): 335-342, 1993.
- Davis HP, Tribuna J, Pulsinelli WA, Volpe BT. Reference and working memory of rats following hippocampal damage induced by transient forebrain ischemia. *Physiology & Behavior* **37**:387-392,1986.
- Decker MW, McGaugh J. Effects of concurrent manipulations of cholinergic and noradrenergic function on learning and retention in mice. *Brain Res.* ,**417**:59-69, 1989.
- Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa. Enciclopédia Britânica do Brasil. Publicações LTDA. 12^a ed. São Paulo-SP,1990.
- Einon D. Spatial memory and response strategies in rats: age, Sex and rearing differences in performance. *Quarterly Journal of Experimental Psychology* **32**:473-489,1980.
- Enciclopédia Mirador Internacional. Enciclopédia Britânica do Brasil. Publicações LTDA., **vol 14** 12^a ed. São Paulo-SP,1990.
- Floresco SB, Seamans JK, Phillips AG. Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *The Journal of Neuroscience* **17**:1880-1890,1997.

- Gibbs ME, Summers RJ. Separate roles for beta2- and beta3-adrenoceptors in memory consolidation. *Neuroscience* **95**:913-922,2000.
- Gisquet-Verrier P, Massiqui N. Selective hippocampal lesions in rats disrupt acquisition and retention of a positive patterning discrimination. *Physiology & Behavior* **61**:577-589,1997.
- Guyton AC. *Neurociência Básica*. Guanabara Koogan, 1991.
- Izquierdo I, Dias RD, Souza DO, Carrasco MA, Elisabetsky E, Perry ML. The role of opioid peptides in memory and learning. *Behav. Brain Res.*, **1**:451-468, 1980.
- Izquierdo I. “Aprendizaje y memoria”. **IN** *Fisiología humana de Bernardo A. Houssay*. El Ateneo, 1989.
- Izquierdo I, Da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsk D, Ferreira MBC, Medina J. Neurotransmitter receptors involved in memory processing by the amygdala, medial septum and hippocampus of rats. *Behavioural Neural Biology*, **58**:16-25, 1992.
- Izquierdo I. Pharmacological evidence for a role of long-term potentiation in memory. *FASEB*, **8**:1139-1145, 1994.
- Izquierdo I, Medina JH. The biochemistry of memory formation and its regulation by hormones and neuromodulators. *Psychobiology* **25**: 1-9,1997.
- Izquierdo I, Barros D, Souza, TM, Souza MM, Izquierdo L. Mechanisms for memory types differ. *Nature* **393**:635-636, 1998.
- Jarrard LE, Elmes DG. Role of retroactive interference in the spatial memory of normal rats and rats with hippocampal lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **96**: 699-711,1982.

- Jarrard LE. Selective hippocampal lesions and behavior: Implications for current research and theorizing. *The hippocampus* **4**: 93-122,1983.
- Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM. *Principles of Neural Science*. Prentice-Hall International Inc, 1991.
- Levin ED, Rose JE. Acute and chronic nicotinic interactions with dopamine systems and working memory performance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **757**: 245-252, 1995.
- Markowitsch HJ. Varieties of memory: systems, structures, mechanisms of disturbance. *Neurology, Psychiatry and Brain Res.* **2**: 49-68,1997.
- McGaugh JL, Izquierdo I. The contribution of pharmacology to research on the mechanism of memory formation. *Tips* **21**: 208-210,2000.
- Mello e Souza T, Roesler R, Madruga M, De Paris F, Quevedo J, Rodrigues C, Santanna M, Medina J, Izquierdo I. Differential effects of post-training muscimol and AP5 infusions into different regions of cingulate cortex on retention of inhibitory avoidance in rats. *Neurobiology of Learn. And Memory* , **72**:118-127, 1999.
- Mizumori SJY, Perez GM, Alvarado MC, Barnes CA, McNaughton BL. Reversible inactivation of the medial septum differentially affects two forms of learning in rats. *Brain Res.* , **528**:12-20, 1990.
- Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP, Keefe J. Place navigation impaired rats with hippocampal lesions. *Nature* **297**:681-683,1982.
- Okaichi H, Oshima Y. Choice behavior of hippocampectomized rats in the radial-arm maze. *Psychobiology* **18**: 416-421,1990.
- Olton DS, Papas BC. Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia* **17**:669-682,1979.

- Packard MG, White NM. Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by posttraining intracerebral injection of dopamine agonists. *Behav. Neuroscience* **105**:295-306,1991.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. San Diego: Academic Press,1986.
- Quillfeldt J, Zanatta M, Schmitz P, Quevedo J, Schaeffer E, Lima J, Medina JH, Izquierdo I. Different brain areas are involved in memory expression at different times from training. *Neurobiology learning memory* **66**:97-101, 1996.
- Reymann K. Mechanisms underlying synaptic long-term potentiation in the hippocampus: focus on postsynaptic glutamate receptors and protein kinases. *Functional Neurology* **8**: 7-32, 1993.
- Rosat RM. Influência do exercício físico sobre a memória: criação de um teste não verbal para avaliação da memória recente. Dissertação de Mestrado, **UFRGS**, Porto Alegre, 1991.
- Sara SJ, Roulet P, Przybylski J. Consolidation of memory for odor-reward association: β -adrenergic receptor involvement in the late phase. *Learning and Memory* **6**:88-96,1999.
- Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG. D₁ Receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *The Journal of Neuroscience* **18**:1613-1621,1998.
- Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Molinoff PB. *Basic Neurochemistry*. Raven Press, 1994.
- Sigala S, Missale C, Spano P. Opposite effects of dopamine D₂ and D₃ receptors on learning and memory in the rat. *European J of Pharmacology* **336**: 107-112, 1997.

Squire LR. *Memory and Brain*. Oxford University Press, 1987.

Valjakka A, Riekkinen PJr, Sirvio J, Nieminen S, Airaksinen M, Miettinen R, Riekkinen P. The effects of dorsal noradrenergic bundle lesions on spatial learning, locomotor activity, and reaction to novelty. *Behav. Neural Biol.*, **54**:323-329, 1990.

Viola H, Furman M, Izquierdo L, Alonso M, Barros D, Souza M, Izquierdo I, Medina J. Phosphorylated cAMP response element-binding protein as a molecular marker of memory processing in rat hippocampus: effect of novelty. *The journal of Neuroscience.*, **20**: 1-5, 2000.

White NM, Packard, MG, Seamans J. Memory enhancement by post-training peripheral administration of low doses of dopamine agonists: possible autoreceptor effect. *Behav. Neural Biol.*, **59** (3): 230-241, 1993.

Williams CL, McGaugh JL. Enhancement of memory processing in a inhibitory avoidance and radial maze task by post-training infusion of bombesin into the nucleus tractus solitarius. *Brain Research* **654**:251-256,1994.

TRABALHOS REALIZADOS DURANTE O DOUTORADO:

Psychopharmacological Screening of *Pfaffia glomerata* spreng. (Amaranthaceae) in Rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, **73**: 261-269, 2000 Paris, F.; Neves, G.; **Salgueiro, J.B.**, Quevedo, J.; Izquierdo, I.; Rates, S.M.

The Anticonvulsant Compound Gabapentin Possesses Anxiolytic But Not Amnesic Effects in Rats. *Behavioural Pharmacology*, **11**: 169-173, 2000 Paris, F.; Busnello, J.V.; Vianna, M.R.M.; **Salgueiro, J.B.**, Quevedo, J.; Izquierdo, I.; Kapcccinski, F.

Comparative Pharmacological Study of Hydroethanol Extracts of *Passiflora alata* and *Passiflora edulis* Leaves. *Phytotherapy Research*, **14**: 1-4, 2000 Petry, R.; Reginatto, F.; Paris, F.; Gosmann, G.; **Salgueiro, J.B.**, Quevedo, J.; Kapcccinski, F.; Ortega, G.G.; Schenkel, E.P.