

SCHEILA MARIA GRACZYK TAKAYASU

**RATOS COM LESÃO UNILATERAL DA SUBSTÂNCIA NEGRA, PARTE
COMPACTA, APRESENTAM PREJUÍZOS SENSORIAIS, MOTORES E DE HÁBITO
NO APRENDIZADO DA TAREFA DO LABIRINTO RADIAL DE 7 - BRAÇOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre em Farmacologia, Curso de Pós-graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Da Cunha
Bolsa: CNPQ

CURITIBA

2007

“A melhor recompensa que a vida oferece é a oportunidade de trabalhar duro em algo que valha a pena”

Theodore Roosevelt

AGRADECIMENTOS

- Ao Criador, pela vida, pelos sentimentos, pela capacidade de pensar, de amar e de ser feliz.
- Aos meus pais pela educação, apoio e carinho.
- Ao meu marido Claudio pela paciência, companheirismo, dedicação. Pelas inúmeras vezes que me ajudou com a montagem e manutenção das luzes do labirinto.
- Ao meu filho Claudio Vinícius Akio, pelo sorriso de todos os dias e por tudo o que tem me ensinado desde o dia do seu nascimento.
- Ao meu orientador, professor Dr. Claudio da Cunha, exemplo de dedicação à ciência e ao trabalho.
- Ao meu amigo Eduardo e amigas Lucélia, Mariza, Silvia, Izonete Cristina, Juliana, Aedra e Michele pelo apoio emocional em todos os momentos.
- A todos os alunos do grupo do professor Cláudio que sempre estiveram comigo, me apoiando, durante todo esse período.
- A todos os professores, funcionários e pós-graduandos do Departamento de Farmacologia.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Doença de Parkinson.....	3
2.2 Função Motora na Doença de Parkinson.....	6
2.3 Função Cognitiva na doença de Parkinson	9
2.3.1 Alterações de Memória na Doença de Parkinson	10
2.3.1.1 Alterações de Memória de Hábito na DP	10
2.3.1.2. Alterações de Memória Operacional na Doença de Parkinson	13
2.4 Função Sensorial na DP	15
2.5 Tratamento da Doença de Parkinson	16
2.6 Modelo animal da Doença de Parkinson (Modelo da 6- OHDA).....	18
2.7 Labirinto Radial.....	21
2.8 O processamento da visão em relação ao campo visual:.....	22
3. OBJETIVO.....	24
4. Manuscrito a ser submetido para publicação “Behaviour Brain Research”	25
5. CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

RESUMO

Pacientes com Doença de Parkinson apresentam prejuízos sensoriais, motores e cognitivos devido à degeneração dos neurônios dopaminérgicos da substância negra que projetam para o estriado. Estudos anteriores relatam que ratos com lesão bilateral parcial da Substância Negra parte compacta apresentam prejuízos no aprendizado de hábito e na memória de trabalho visuo-espacial, mas não apresentam anormalidades motoras. No presente estudo, ratos com lesão total na substância negra parte compacta esquerda e direita (SNpc-L e SNpc-R, respectivamente) induzidas por 6-hidroxidopamina foram testados no labirinto radial de 7 braços. Neste modelo, os animais são liberados do braço de saída com o objetivo de correr para um dos braços iluminado a fim de encontrar a recompensa (comida).

Ambos os ratos SNpc-L e SNpc-R apresentaram prejuízo nas tarefas de aprendizado de hábito e memória de trabalho quando comparados aos animais do grupo sham. Eles também apresentaram um viés ao entrar na arena central do labirinto realizando uma rotação ao lado da lesão. Quando o braço iluminado estava localizado do lado oposto à lesão eles apresentaram uma tendência a fazer voltas para corrigir a direção para entrar no braço iluminado. Na maioria das vezes que os ratos SNpc-L se deparava com o braço iluminado localizado ao lado direito, eles escolheram entrar no braço não iluminado localizado a dois braços à esquerda do iluminado. A propensão oposta simétrica foi observada para os ratos SNpc-R quando o braço iluminado estava localizado em seu lado esquerdo.

Estes resultados sugerem que o labirinto radial de sete braços é sensível para medir anormalidades motoras, sensoriais e perceptuais, assim como déficits na memória de hábito e de trabalho observados nestes ratos semilesionados na SNpc e que possivelmente pode servir de modelo para estudo das anormalidades similares que ocorrem em pacientes com doença de Parkinson.

ABSTRACT

Parkinson's disease patients are known to present sensory, motor, and cognitive impairments, most of them due to the degeneration of the dopaminergic neurons of the substantia nigra that projects to the striatum. Previous studies reported that rats with partial bilateral lesions of the SNpc present habit learning and visuospatial working memory impairments but do not present gross motor abnormalities. In the present study, rats with almost total loss of the left or right substantia nigra pars compacta (SNpc-L or SNpc-R, respectively) induced by 6-hydroxidopamine were tested in the 7-arm radial maze task. In this task the animals are left in one of the arms to run to a lighted arm in order to find a food reward. Both SNpc-L and SNpc-R rats presented poor scores in habit learning and in a working memory test of this task, compared to sham-operated animals. They also presented a bias to enter the central arena of the maze making a turn to the side of the lesion. When the lighted arm was located on the side of the arena that was opposite to the animals' lesion, they tended to make turns that corrected the direction of their paths to the side of the lighted arm. Most times that the SNpc-L rats faced a lighted arm located to their right side, they chose to enter an unlighted arm located two arms to the left of the lighted one. The symmetrically opposite bias was observed for the SNpc-R facing a lighted arm located to their left side. These results suggest that the 7-arm radial maze task is sensible to measure possible motor and/or sensory perceptual abnormalities as well as habit and working memory deficits observed in these hemilesioned SNpc rats and that it possibly models similar abnormalities that occur in Parkinson's disease patients.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Organização simplificada do circuito motor extrapiramidal	7
Figura 2: Representação esquemática do Circuito dos Núcleos da Base em indivíduos saudáveis e portadores de doença de Parkinson.....	9
Figura 3: Semelhança entre as estruturas das catecolaminas e da 6-OHDA	18
Figura 4: Rato com lesão na SNpc por 6-OHDA, sob injeção de Apomorfina exhibe rotação contralateral à lesão.	20
Figura 5: Labirinto radial de Olton	21
Figura 6: Desenho esquemático do processamento visual, levando-se em conta o hemi-campo visual.....	24

LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	Adenosina tri-fostato
DP	Doença de Parkinson
Gpi	Globo pálido interno
Gpe	Globo pálido externo
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
MPP+	1-metil-4-fenilpiridina
R	Resposta motora
S	Estímulo sensorial
S-R	Associação Estímulo-Resposta
SNpc	Substância negra parte compacta
SNr	Substância negra reticulata

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa que é caracterizada pela perda progressiva dos neurônios dopaminérgicos da substância negra parte compacta (DEUMENS *et al*, 2001). Distúrbios motores são os sintomas mais conhecidos da doença (LEWIS *et al*. 2005) (MORRIS & IANSEK, 1996). Porém vários estudos demonstram que pacientes com doença de Parkinson apresentam distúrbios cognitivos, sensoriais e perceptuais (HOOD & COORKIN, 1999; SALMON & BUTTERS, 1995; KNOWTON *et al*, 1996; DUBOIS & PILLOIN, 1997; WOLTERS & FRANCOIS, 1998; LEWIS *et al*, 2005; HARRIS *et al*, 2003); o que pode ocorrer antes mesmo da manifestação dos sintomas motores da doença (DUBOIS & PILLON, 1997).

Modelos experimentais da doença de Parkinson demonstram que desordens relacionadas aos núcleos da base resultam em distúrbios cognitivos e sensoriais (DACUNHA *et al*, 2001; MIYOSHI *et al*, 2002; PACKARD *et al*, 1989; MIDDLETON & STRICK, 2000); o que está de acordo com a proposta de serem os núcleos da base estruturas com função de integração entre áreas que estão anatomicamente separadas, mas que precisam funcionar em sincronismo para desempenhar funções (ALEXANDER & CRUTCHER, 1988).

O modelo da 6-OHDA tem sido amplamente empregado no estudo da doença de Parkinson, tanto para compreender o mecanismo fisiopatológico da doença quanto para estudo de potenciais drogas para seu tratamento (Schwartz & Huston, 1996; HENDERSON *et al*, 2003). Também tem sido proposto a utilização desse modelo para estudos comportamentais das alterações motoras, cognitivas e sensoriais da doença de Parkinson (CARLI *et al*, 1989; TRUONG *et al*, 2006; FITZSIMMONS *et al*, 2006).

A injeção unilateral de 6-OHDA no feixe prosencefálico medial, em ratos, causa a morte dos neurônios dopaminérgicos da via nigro-estriatal, levando conseqüentemente a uma intensa depleção nos níveis de dopamina estriatais ipsilaterais à lesão (Swaring & Huston, 1996; FERRO *et al*, 2005; FITZSIMMONS *et al*, 2006). Esse déficit dopaminérgico resulta em alterações motoras e comportamentais que podem ser preditivas de déficits apresentados pelos pacientes de Parkinson (MILTON *et al*, 2004; TRUONG *et al*, 2006).

O objetivo desse estudo foi testar se a lesão da SNpc dos ratos induz disruptura na associação do estímulo apresentado ipsi ou contralateralmente à lesão, com a resposta motora que envolve a musculatura dos lados ipsi e contralaterais do corpo do rato. Para testar essa hipótese os animais foram lesionados unilateralmente com injeção de toxina 6-OHDA no feixe prosencefálico medial e foram submetidos a uma tarefa de aprendizagem que consistia na associação entre o estímulo (luz) e resposta motora (entrada no braço iluminado) em um labirinto radial de sete braços, para receber a recompensa (glóbulo de sacarose). Os déficits sensoriais, motores e cognitivos para estímulo e resposta relacionados ao lado contralateral à lesão foram apresentados e discutidos em comparação aos prejuízos observados na doença de Parkinson.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson foi descrita por James Parkinson em 1817, e é uma doença neurodegenerativa crônica e progressiva que afeta cerca de 1% da população com mais de 55 anos (DEUMENS *et al*, 2001); porém cerca de 3 a 4% dos casos são diagnosticados em pessoas com idade inferior a 40 anos e ainda, raramente a doença pode se manifestar em pessoas com idade inferior a 21 anos, sendo denominada, nesse caso, parkinsonismo juvenil. (DINIS-OLIVEIRA, *et al*. 2006) (SCHRAG & SCHOTT, 2006). É a segunda desordem degenerativa mais freqüente na população, sendo que a mais comum é a doença de Alzheimer (LAU & BRETELER, 2006).

A doença de Parkinson é diagnosticada clinicamente por apresentação de pelo menos dois dos seguintes sintomas: bradicinesia, rigidez muscular, tremor de repouso, instabilidade postural e acinesia, com exclusão de potenciais causas de parkinsonismo secundário (LAU & BRETELER, 2006), sendo que essas são as principais características da doença (LEWIS *et al*. 2005) (MORRIS & IANSEK, 1996).

É necessária uma diminuição substancial de cerca de 80% nos níveis de dopamina estriatal para que os sintomas motores se manifestem (DEUMENS *et al*, 2001).

Na doença de Parkinson existe o predomínio sintomatológico unilateral, principalmente nas fases precoces da doença, podendo esse predomínio se estender durante muito tempo no transcorrer da doença, podendo chegar a 20 ou 30 anos (DJALDETTI *et al*, 2006).

A etiologia da doença de Parkinson ainda é pouco compreendida, muitos fatores têm sido associados à predisposição e à manifestação da doença, entre eles fatores

genéticos e ambientais (ERIKSEN & PETRUCELLI, 2004). Entre os fatores genéticos, mutações em alguns genes como α sinucleína, parkina, UCHL1, DJ1 e PINK1 têm sido associados à manifestação da doença de Parkinson em determinadas famílias (SELLBACH, *et al.* 2005) (LAU & BRETELER, 2006),

Entre os fatores ambientais que têm sido relacionados à doença estão a exposição a determinados pesticidas, herbicidas e metais pesados (LAU & BRETELER, 2006). Alguns trabalhos, entretanto, têm proposto que o consumo de algumas substâncias apresenta uma correlação inversa com a manifestação dos sintomas da doença de Parkinson, entre elas o consumo de cigarro e café; o que necessita de mais estudos. (DINIS-OLIVEIRA, *et al.* 2006) (LAU & BRETELER, 2006),

A anormalidade bioquímica predominante na doença de Parkinson é uma diminuição acentuada dos níveis de dopamina no cérebro, primariamente, porém não exclusivamente atribuídos à perda dos neurônios da via nigroestriatal (DAUER & PRZEDBORKI, 2003). Essa via é composta por neurônios dopaminérgicos que possuem seus corpos celulares localizados na substância negra parte compacta e que projetam seus axônios para o estriado (BEAR, 2002). Junto com a degeneração da via nigroestriatal têm-se demonstrado uma depleção de dopamina no córtex pré-frontal e áreas límbicas que recebem projeções dopaminérgicas da área tegmental ventral. Essa anormal degeneração das vias dopaminérgicas é acompanhada por alterações das vias noradrenérgicas, serotoninérgicas e colinérgicas centrais (DEUMENS *et al.*, 2002; WOLTERS, 1998).

Ao lado da degeneração observada na via nigro-estriatal, outra predominante característica neuropatológica inclui a presença dos corpúsculos de Lewi, que são o maior marco patológico da Doença de Parkinson, essas estruturas são agregados protéicos intracitoplasmáticos, compostos principalmente de α sinucleína e

ubiquitina, entre outras proteínas em concentrações menores (ERIKSEN & PETRUCELLI, 2004).

O mecanismo molecular da DP não é totalmente compreendido, o acúmulo desordenado das proteínas no citoplasma dos neurônios pode ser um dos fatores que contribuem para a morte neuronal (ERIKSEN & PETRUCELLI, 2004). Algumas neurotoxinas utilizadas em modelos animais de Doença de Parkinson têm ajudado na elucidação do mecanismo molecular da doença (BOVÉ *et al*, 2005); MPTP, após ser biotransformada em MPP⁺ nos astrócitos e 6-OHDA são captadas para o interior do neurônio via transportadores de dopamina; rotenona e paraquate possuem penetração livre através da membrana celular em neurônios dopaminérgicos; todos esses compostos atuam sobre o Complexo I da cadeia de elétrons, geram espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais livres, desacoplamento da fosforilação oxidativa e colapso do potencial da membrana da mitocôndria, o que provoca redução da concentração do ATP, levando assim a célula à morte (ERIKSEN & PETRUCELLI, 2004; BLUM *et al*, 2001). Com isso, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo e apoptose podem ser os principais responsáveis pela injúria neuronal. Além disso, outros fatores incluindo processo de atividade inflamatória e eventos de excitotoxicidade podem estar envolvidos nos mecanismos moleculares da doença de Parkinson. (BONIFATI & KISHORE, 2006), (ERIKSEN & PETRUCELLI, 2004).

A perda progressiva de neurônios dopaminérgicos da substância negra leva os pacientes portadores da doença de Parkinson a um declínio acentuado no que se refere às habilidades de execução de tarefas motoras simples, levando-os a um quadro de dependência e perda de autonomia. (ERIKSEN & PETRUCELLI, 2004)

Schrag, 2006 em sua revisão sobre qualidade de vida e Doença de Parkinson descreveu que os escores obtidos, por portadores dessa doença, na escala psicométrica para avaliação da qualidade de vida relacionada a doenças, são

inferiores, não só no que diz respeito às habilidades motoras, mas também a reações emocionais, isolamento social e energia, auto-imagem, sono, função sexual, comunicação e função cognitiva quando comparado aos escores obtidos por pessoas da mesma idade sem patologias ou mesmo quando comparado com os escores obtidos por pacientes portadores de outras doenças crônicas como diabetes mellitus, demonstrando o alto grau de impacto, tanto a nível individual quanto social que a doença de Parkinson exerce.

2.2 Função Motora na Doença de Parkinson

O circuito motor extrapiramidal compreende projeções entre o córtex, núcleos da base e tálamo e constitui uma das cinco vias que têm a função de processamento de informações entre o córtex e os núcleos da base (Alexander & Crutcher, 1990). Impulsos provenientes de áreas motoras são processadas pelo putâmen, estrutura que juntamente com o caudado forma o estriado. O putâmen envia informações motoras através de suas projeções para o globo pálido interno e substância negra reticulata, que são as estruturas responsáveis por enviar projeções inibitórias ao tálamo. Os núcleos da base também compreendem o globo pálido externo e núcleo subtalâmico (ver figura 1) (BORAUD, 2001).

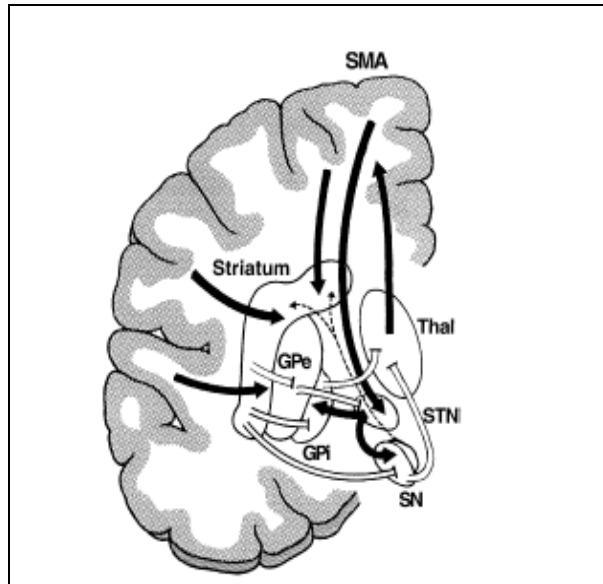


Figura 1: Organização simplificada do circuito motor extrapiramidal que compreende associação do córtex motor, núcleos da base e tálamo. SMA: Área motora suplementar; Striatum: estriado, que é formado pelo caudado + putâmen; Thal: núcleo motor do tálamo; SN: substância negra; GPe: Globo Pálido externo e GPi: Globo Pálido interno (BORAUD, 2001)

As estruturas acima citadas organizam-se no controle motor em duas vias chamadas de via direta e via indireta.

O córtex envia projeções excitatórias para o estriado, que é a principal estrutura dos núcleos da base que recebe informações. O estriado envia projeções inibitórias gabaérgicas tanto para o globo pálido externo quanto para o globo pálido interno e substância negra reticulata. O globo pálido interno e substância negra reticulata enviam projeções inibitórias gabaérgicas para o tálamo tonicamente, o que exerce um controle inibitório do movimento. Quando a via estriato-palital é ativada há uma liberação da inibição tônica do tálamo pelo globo pálido interno e substância negra reticulata. Essa é chamada via direta e é a via responsável pela ativação do córtex motor e iniciação do movimento.

O estriado também envia projeções inibitórias para o globo pálido externo. O núcleo subtalâmico, através de suas projeções glutamatérgicas ao globo pálido interno e substância negra reticulata exerce uma ativação tônica da inibição do

tálamo. O globo pálido externo, quando inibido através da ativação da via gabaérgica proveniente do estriado libera o globo pálido interno e SNr da ativação pelo núcleo subtalâmico, liberando assim o tálamo da inibição tônica exercida pelo GPi e SNr. Essa é a via motora indireta.

A ativação ou inibição das vias direta e indireta é responsável pelo mecanismo de controle dos movimentos, já que a ativação da via direta induz a ativação motora e a ativação da via indireta inibe o movimento.

Tanto a via direta quanto à indireta estão sujeitas à modulação pela dopamina liberada no estriado via projeções dopaminérgicas nigro-estriatais. Porém, na via direta a ação da dopamina é via receptores D1, estimulatórios; enquanto na via indireta a ação da dopamina é via receptores D2, inibitórios. Ou seja, a dopamina tem uma ação excitatória na via direta e uma ação inibitória na via indireta (ROUSE et al, 2000).

Na doença de Parkinson, como já mencionado, ocorre uma degeneração dos neurônios dopaminérgicos da Substância Negra compacta, que liberam dopamina no estriado. Como consequência dessa falta de dopamina no estriado ocorre uma inibição dos neurônios talamocorticais, maior ativação da via indireta e inibição da via direta, conforme demonstrado na figura abaixo (figura 2), resultando nos sintomas motores da doença de Parkinson tais como rigidez, bradicinesia e acinesia (ROUSE et al, 2000; MORRIS & IANSEK, 1996).

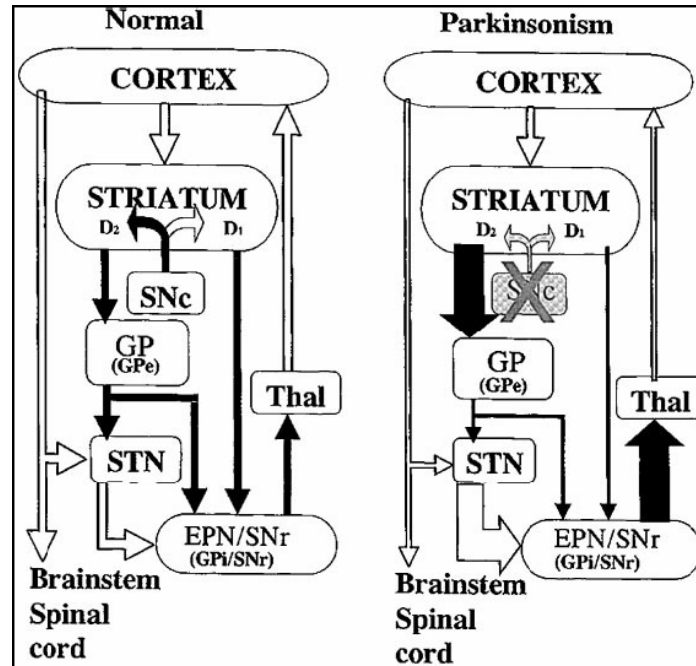


Figura 2: Representação esquemática do Circuito dos Núcleos da Base. O esquema a esquerda representa a transmissão normal através dos Núcleos da Base. O esquema a direita representa o desbalanço que ocorre na transmissão através dos Núcleos da Base em pacientes com Doença de Parkinson. As flechas em negrito representam projeções inibitórias, as flechas em branco representam projeções excitatórias e as flechas em negrito, mais robustas, representam a atividade relativa daquela projeção em particular, em relação às outras (ROUSE et al, 2000).

2.3 Função Cognitiva na doença de Parkinson

Além dos problemas motores que caracterizam a doença de Parkinson, muitos pacientes apresentam declínio cognitivo, de memória e de aprendizagem (DUBOIS & PILLON, 1997) e também apresentam alterações de humor como depressão e apatia (SCHRAG, 2006). Os prejuízos, mais comumente observados, são constatados em tarefas que envolvem funções de memória, executiva e visuoespaciais (DUBOIS & PILLON, 1997).

Muitas dessas alterações estão presentes em estágios precoces da doença de Parkinson, antes mesmo do aparecimento dos sintomas motores (Dubois & Pillon, 1997), dentre elas é comum o surgimento de uma síndrome disexecutiva que se apresenta na forma de alterações cognitivas semelhantes às observadas em

pacientes com alterações no lobo frontal (DUBOIS & PILLON, 1997), onde o paciente apresenta dificuldades relacionadas à atenção seletiva, gerenciamento de tarefas, planejamento, codificação, entre outras relacionadas a funções executivas (ZGALJARDIC, *et al.* 2004; GOLDAMAN-RACKIC, 1987).

Braak *et al.*, 2006 demonstrou existir uma correlação direta entre o estágio neuropatológico da doença e o declínio cognitivo decorrente da doença de Parkinson, sendo os sintomas cognitivos agravados com o transcorrer da doença, assim como ocorre com os sintomas relacionados à função motora.

2.3.1 Alterações de Memória na Doença de Parkinson

Vários trabalhos têm demonstrado que pacientes parkinsonianos, quando comparados a sujeitos controles, apresentam seu desempenho em tarefas que envolvem memória de hábito ou procedural (SALMON & BUTTER, 1995) e memória operacional prejudicado (DUBOIS & PILLON, 1997).

2.3.1.1 Alterações de Memória de Hábito na DP

Memória de hábito, segundo Salmon & Butters, 1995, refere-se à formação de uma simples associação na qual um estímulo neutro adquire a capacidade de elicitar uma certa resposta motora, com a função de obtenção de um reforço.

O aprendizado de hábito é descrito como um mecanismo inconsciente que é adquirido gradualmente e lentamente e é independente do lobo temporal medial; o modelo para aprendizado de hábito é distinto de outros tipos de memórias implícitas, pois esse tipo de memória caracteriza-se por uma associação automática de um estímulo com uma resposta comportamental (HOOD & CORKIN, 1999).

Existem evidências de que a associação do estímulo sensorial com a resposta comportamental é processada pelo estriado, sendo que vários trabalhos, utilizando animais, evidenciaram a dissociação do sistema estriatal, do sistema hipocampal, para aprendizado de hábito (PACKARD, HIRSH & WHITE, 1989; PACKARD & McGAUGH, 1992; WHITE & McDONALD, 2002; POLDRACK & RODRIGUES, 2004).

No ser humano podemos identificar claramente a presença do aprendizado de hábito dependente do estriado; há evidências de déficits nesse tipo de aprendizado em pacientes com doença de Parkinson. Esses pacientes apresentam dificuldade na performance em tarefas de aprendizado de hábito, como por exemplo, na tarefa de traçar desenhos através de um espelho (tracing mirror). Nessa tarefa, é solicitado ao sujeito para desenhar uma estrela observando-a através de um espelho; em sujeitos controles, a performance nesse tipo de tarefa melhora com o decorrer dos dias de treino; enquanto que pacientes com DP possuem o seu aprendizado prejudicado. Na tarefa de classificação probabilística ou tarefa de predição do tempo o sujeito é submetido a várias tentativas para prever o tempo através de uma combinação de cartas com formas abstratas, após cada tentativa, é dado um feedback da resposta; se o indivíduo acertar, aparece o desenho de um rosto sorridente, se o sujeito errar, aparece o desenho de um rosto entristecido. O sujeito controle tem sua performance melhorada, ou seja, aumenta o número de acertos, no decorrer dos dias de treino; enquanto, pacientes com DP são incapazes de adquirir o aprendizado para esse tipo de tarefa (KNOWLTON & SQUIRE, 1996).

Packard e McGaugh, 1992 demonstraram que ratos com lesão no estriado aprendem a versão espacial da tarefa no labirinto aquático, porém não aprendem a tarefa com dicas visuais, que envolve o aprendizado de estímulo-resposta, para obtenção de um reforço.

Packard e McGaugh, 1996 utilizando lidocaína para inativação do hipocampo e do núcleo caudado também observaram que a inativação do hipocampo eliminava a estratégia de lugar, porém não tinha efeito sobre o aprendizado de resposta no labirinto em T e vice-versa, quando havia a inativação do núcleo caudado havia prejuízo no aprendizado de resposta, porém não interferia no aprendizado de lugar.

O estriado dorsal recebe aferências tanto do córtex como da substância negra *pars compacta*. No caso da memória de hábito a via córtico-tálamo-estriatal é usada para produzir respostas motoras na presença de uma informação sensorial particular.

A via nigroestriatal envia projeções dopaminérgicas da substância negra *pars compacta* (SNpc) para o estriado. Muitos trabalhos têm demonstrado que a integridade da via Nigro-estriatal é necessária para o aprendizado estímulo-resposta (aprendizado S-R) (DACUNHA *et al*, 2003; MIYOSHI *et al*, 2002), e que a depleção da dopamina estriatal bloqueia a associação do estímulo com a resposta. Dessa forma o impulso dopaminérgico para o estriado providencia o sinal reforçador para associação do estímulo com a resposta.

No matrissoma há a representação neural de estímulos sensoriais e ações motoras enviados respectivamente pelo córtex sensorial e córtex motor. Quando há coincidência temporal de um estímulo sensorial com uma ação motora, envolvendo uma recompensa, ocorre a associação do estímulo com a resposta, através da plasticidade neuronal entre os neurônios representativos do estímulo com os neurônios representativos da resposta motora.

Na situação em que o córtex envia informações ao matrissoma sobre a ocorrência do estímulo sensorial S e da resposta motora R simultaneamente, ocorre a liberação de dopamina neste mesmo local, há a formação da associação S---R; portanto a dopamina é o sinal reforçador da associação, conforme comentado

anteriormente. Futuramente, após nova exposição ao estímulo S, o córtex sensorial informará o estriado através da via corticoestriatal sobre a presença do estímulo e a resposta motora que está associada, no estriado, será interpretada. O estriado, através de projeções neurais, informará ao globo pálido e este último ao tálamo que enviará ao córtex motor primário a ordem de execução da resposta motora associada ao estímulo (S) recebido (WHITE, 1997; KIMURA, 1995).

A disrupção do sistema nigroestriatal e a diminuição de dopamina no estriado, que ocorrem na doença de Parkinson, provavelmente são responsáveis pelos prejuízos na aquisição do aprendizado de tarefas de hábito.

2.3.1.2. Alterações de Memória Operacional na Doença de Parkinson

Memória Operacional ou memória de trabalho é o termo que se refere à associação de dois fatores: a memória de curta duração e as funções executivas; e pode ser definida como a habilidade de manipular informações adquiridas anteriormente e as mantidas na memória de curta duração e a capacidade de tomada de decisões corretas baseadas nessas informações e em informações recebidas de estímulos imediatos (GOLDMAN-RACKIC, 1987; BECKER & MORRIS, 1999).

Memória operacional, como originalmente foi definido por Baddeley e Hitch, consiste em três componentes integrados: uma central executiva e dois sistemas paralelos, um deles especializado em informações verbais denominado de alça fonológica, envolvida em tarefas de memória que envolve informações verbais; e outro especializado em informações não-verbais, denominado compartimento visuo-espacial (BADDELEY, 2003).

A central executiva pode ser considerada como sendo o sistema responsável pelo armazenamento da memória de curta duração e responsável pelos processos executivos, partilhando das informações de ambos os sistemas paralelos (BADDELEY, 2003).

O córtex frontal medeia as funções cognitivas no que se refere às funções executivas, que são necessárias para otimizar a performance em tarefas complexas que envolvem vários processos psicológicos tais como, percepção e seleção de informações pertinentes; manutenção, manipulação e recuperação de informações mantidas pela memória de trabalho “on-line”; planejamento e organização voltados a um objetivo; controle do comportamento e adaptação a mudanças ambientais e tomadas de decisões (CHUDASAMA & ROBBINS, 2006).

A disfunção nas funções cognitivas-executivas que se apresenta em pacientes com doença de Parkinson levam a crer na existência de uma relação direta entre o funcionamento regulado dos núcleos da base e o córtex pré-frontal (DOWNES *et al*, 1989; CHUDASAMA & ROBBINS, 2006).

Esses achados coincidem com a organização anatômica e estrutural descrita por Alexandre *et al*, 1986, onde é proposta a existência de uma organização paralela, de cinco circuitos corticoestriatais, que são responsáveis pelo processamento da informação córtical, pelos núcleos da base, via tálamo. Esses circuitos compreendem o circuito motor, oculomotor, dorsolateral prefrontal, lateral orbitofrontal e anterior cingulado (ALEXANDER & CRUTCHER, 1990).

Vários trabalhos têm demonstrado que pacientes parkinsonianos apresentam prejuízo em tarefas que envolvem memória operacional, tanto verbal quanto visuo-espacial, e prejuízo em tarefas que envolvem funções executivas (CHUDASAMA & ROBBINS, 2006).

Hochstadt *et al*, 2005 e Skeel *et al*, 2001 demonstraram que pacientes com DP, quando comparados com indivíduos controle, apresentam comprometimento na habilidade de compreensão de sentenças verbais; Monetta & Pell, 2006 demonstraram existir um déficit em compreensão de metáforas. Outros trabalhos têm demonstrado que pacientes com DP exibem dificuldades de processamento de linguagem e também na interpretação de informações não-verbais como expressão facial, gestual, entre outros (Mc NAMARA & DURSO, 2003).

Muitos trabalhos também têm demonstrado prejuízo em tarefas que envolvem memória de trabalho visuo-espacial em pacientes com DP (POSTLE *et al*, 1997).

Déficits na função executiva, como dificuldade em manter atenção e em ordenação temporal, dificuldade seqüencial e de planejamento, prejuízo em atenção focada e distractibilidade, perseverança e falta de iniciativa, também são descritas em pacientes com DP (BRADLEY *et al*, 2002; COOLS *et al*, 2001; OWEN *et al*, 1992; OWEN *et al*, 1993; MORRIS *et al*, 1988; SHARP, 1990; SHARP, 1992).

2.4 Função Sensorial na DP

Uma das funções dos núcleos da base consiste no processamento de várias informações sensoriais; como por exemplo: visuais, auditivas e cutâneas; para serem utilizadas posteriormente para guiar o movimento. Essa função está de acordo com a proposta de serem os núcleos da base estruturas responsáveis por integrar regiões corticais anatomicamente separadas, mas que devem estar funcionalmente coordenadas (ADAMOVICH *et al*, 2001).

De acordo com o proposto acima os pacientes parkinsonianos exibem dificuldade em incorporação das informações sensoriais no planejamento motor. Esses pacientes demonstram dificuldades relacionadas à percepção do espaço,

como, por exemplo, relatam a sua dificuldade na locomoção em ambientes familiares, muitas vezes se chocando contra as portas e mobílias presentes no local; também relatam dificuldade para estimar relações espaciais entre objetos e demonstram alterações posturais como instabilidade postural e dificuldades em fazer curvas (DAVIDSDOTTIR *et al*, 2005).

2.5 Tratamento da Doença de Parkinson

Nenhum dos tratamentos utilizados na doença de Parkinson tem a capacidade de alterar o curso progressivo da doença, nem de regenerar ou restaurar a morte neuronal. Porém, desde a descoberta do déficit da dopamina presente na doença de Parkinson, e a introdução da levodopa houve uma revolução no tratamento dessa doença neurológica (LANG & OBESO, 2004).

Os primeiros fármacos utilizados para o tratamento dos sintomas da doença de Parkinson, que são utilizados até hoje, e que são efetivos principalmente no controle dos tremores, são os agentes anticolinérgicos, tais como o biperideno, triexifenidil, prociclidina, benztropina, difenidramina, orfenadrina, porém essas drogas não possuem muita eficácia no controle dos outros sintomas motores.

A terapia com levodopa é a que oferece o melhor controle sintomático da DP, e tem sido utilizada a mais de trinta anos na clínica, entretanto a cada ano de tratamento com essa droga cerca de 10% dos pacientes desenvolvem complicações motoras como discinesias e flutuações motoras, estas últimas conhecidas com fenômeno on-off (STOCCHI, 2003). A levodopa é um precursor da dopamina, e é administrada junto com um inibidor da dopa-descarboxilase periférica; no SNC ela é biotransformada em dopamina, repondo assim o conteúdo de dopamina cerebral (LANG & OBESO, 2004).

Outra classe de medicamento, que tem sido utilizada, é a dos agonistas dopaminérgicos, tanto D1 quanto D2; os agonistas não seletivos, que ativam tanto D1 quanto D2 como a bromocriptina, pergolide e apomorfina são utilizados clinicamente para o controle das flutuações motoras. Já os agonistas seletivos D2, como cabergolina, lisuride, pramipexol e ropirinol, são utilizados nos estágios precoces da DP, para prevenção e no controle das flutuações motoras (STOCCHI, 2003; LANG & OBESO, 2004).

As drogas selegilina e rasagilina, que possuem seu mecanismo de ação através da inibição da enzima monoamino oxidase B, têm sido utilizada na clínica por pacientes que se encontram nos estágios precoces da doença e também para o controle das flutuações motoras (STOCCHI, 2003); além disso, possuem um efeito neuroprotetor, ainda não comprovado clinicamente (MILLER, 2002; LANG & OBESO, 2004).

Outra classe de inibidores enzimáticos, tolcapone e entacapone, que inibem a enzima catecol-orto-metiltransferase, e prolongam a meia vida da levodopa tem sido utilizada na clínica para o controle das flutuações motoras associadas ao uso de levodopa (LANG & OBESO, 2004).

Amantadina, um reconhecido antagonista de receptores NMDA, também tem sido utilizada nos estágios precoces da DP para tratamento dos sintomas iniciais e também para tratamento das discinesias (MILLER, 2002).

Outra forma de tratamento é o cirúrgico, entre as técnicas mais utilizadas mundialmente estão: a talamotomia, palidotomia, a estimulação talâmica e a estimulação subtalâmica ou palidal (SCHULZ & GRANT, 2000).

2.6 Modelo animal da Doença de Parkinson (Modelo da 6- OHDA)

Vários modelos experimentais animais têm sido utilizados para o estudo da doença de Parkinson (BOVÉ *et al*, 2005). Entre eles estão aqueles que, farmacologicamente, induzem distúrbios funcionais na neurotransmissão dopaminérgica, como o modelo da reserpina, a indução de catalepsia por neurolépticos e indução de acinesia e bradicinesia pelo haloperidol. E ainda os que induzem, experimentalmente, a degeneração de neurônios dopaminérgicos da via nigro-estriatal como o modelo do MPTP, o modelo do Ferro III, o modelo da rotenona e o modelo da 6-OHDA (GERLACH & RIEDER, 1996).

O modelo da 6-OHDA tem sido amplamente utilizado nos estudos dos aspectos fisiopatológicos e farmacológicos da doença de Parkinson (DEUMENS *et al*, 2002).

A 6-OHDA é uma neurotoxina que possui uma estrutura análoga à das catecolaminas (ver figura 3) (BOVÉ *et al*, 2005). O mecanismo de ação da 6-OHDA se deve à sua captação que ocorre pelos neurônios catecolaminérgicos, através dos transportadores de catecolaminas para dentro dos neurônios, onde a substância é acumulada como um falso neurotransmissor (SCHWARTING & HUSTON, 1996).

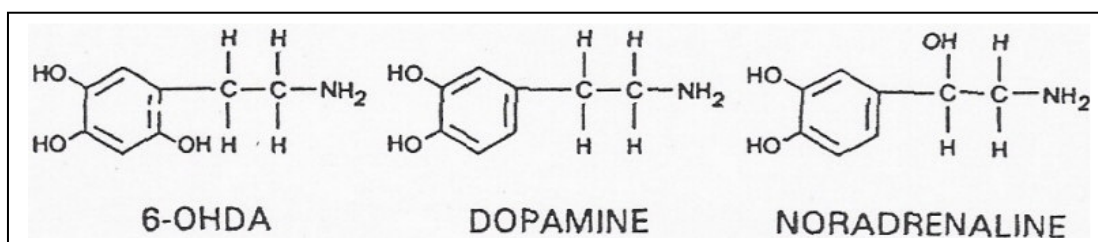


Figura 3: Semelhança entre as estruturas das catecolaminas e da 6-OHDA

Sendo um composto muito eletroativo, a 6-OHDA é rapidamente oxidada, levando à produção de vários compostos neurotóxicos, como radicais livres, que danificam o neurônio por afetar proteínas, lipídios de membrana e DNA. Para evitar

que a 6-OHDA seja metabolizada antes de ser captada para dentro do neurônio é adicionado antioxidante (ácido ascórbico 0.02-0.2%) ao veículo.

A administração sistêmica de 6-OHDA não é capaz de produzir destruição dos neurônios do mesencéfalo, já que esse composto é incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica (BOVÉ *et al*, 2005). Entretanto, a administração de pequenas doses diretamente nas estruturas cerebrais é capaz de destruir seletivamente neurônios catecolaminérgicos. Isso resulta em depleção de dopamina, noradrenalina e adrenalina nas regiões cerebrais afetadas (SWARTING & HUSTON, 1996). Ocorre, ainda, diminuição no número de sítios de recaptção de catecolaminas, redução nos níveis de metabólitos das catecolaminas, e diminuição dos neurônios imunorreativos para a enzima tirosina hidroxilase (SWARTING & HUSTON, 1996). Uma simultânea aplicação de um inibidor de alta especificidade da recaptção de noradrenalina, como a desipramina, faz com que a 6-OHDA seja prejudicial apenas a neurônios dopaminérgico (BOVÉ *et al*, 2005; DEUMENS *et al*, 2002)

Após lesão unilateral da substância negra *pars compacta* com 6-OHDA, há morte maciça de neurônios dopaminérgicos (KONDO, 2004). Animais com essa lesão mostram comportamento motor assimétrico seguido à administração de agonista de receptor dopaminérgico, L-Dopa e drogas que estimulam a liberação da dopamina. Com o uso dessas drogas o animal adquire uma distinta assimetria no corpo e um característico comportamento rotatório, que pode ser quantificado através de testes rotacionais. L-DOPA e agonistas diretos de receptor dopaminérgico levam a rotação contralateral (rotação para o lado onde a substância negra não foi lesada (ver figura 4). Substâncias que liberam a dopamina como anfetamina e amantadina leva a rotação ipsilateral, rotação para o lado lesado da substância negra (SCHWARTING & HUSTON, 1996).

A indução do movimento de rotação contralateral, após administração de apomorfina, reflete o forte impacto que a destruição da substância negra *pars compacta* tem na indução da supersensibilização pós-sináptica que ocorre nos receptores dopaminérgicos do estriado ipsilateral (UNGERSTEDT, 1971; KONDO, 2004). Esse teste tem sido usado por muitos pesquisadores como teste *screening* para selecionar os animais com lesão maciça dos neurônios dopaminérgicos (SCHWARTING & HUSTON, 1996); além de ser um modelo muito utilizado para *screening* de drogas potencialmente anti-parkinsonianos (DEUMENS *et al*, 2002).

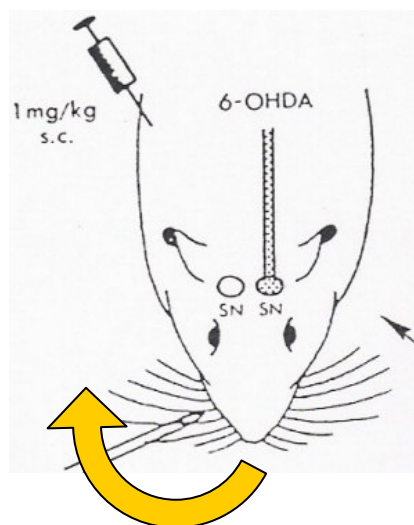


Figura 4: Rato com lesão na SNpc por 6-OHDA, sob injeção de Apomorfina exibe rotação contralateral à lesão.

Ratos tratados com 6-OHDA constituem um excelente modelo da doença de Parkinson (DEUMENS *et al*, 2002). O modelo da 6-OHDA para Doença de Parkinson tem sido usado para vários estudos comportamentais. Alguns trabalhos têm demonstrado que a lesão com 6-OHDA pode prover um bom modelo para o estágio pré-sintomático da doença, em que se evidenciam déficits cognitivos, de memória e aprendizado (OGURA *et al*, 2005; FERRO *et al*, 2005).

Muitos aspectos observados em ratos pré-tratados com 6-OHDA possuem uma correlação direta com os observados em pacientes parkinsonianos, como por

exemplo, a destruição da via nigroestriatal pela 6-OHDA, o que causa severa deficiência neurológica, acinesias e prejuízo sensorial (SCHWART & HUSTON, 1996). Além disso, muitos dos efeitos da 6-OHDA podem ser revertidos temporariamente com o uso de agonistas dopaminérgicos (ZIGMON *et al.*, 2002). Truong *et al.*, 2006 demonstrou, em ratos com lesão unilateral induzida por administração de 6-OHDA em várias concentrações no feixe prosencefálico medial, alterações posturais com viés corporal e da cabeça ipsilaterais, déficits sensoriomotores e anormalidades atencionais que podem ser correlacionados com sintomas apresentados por pacientes com DP nas fases precoces da doença.

2.7 Labirinto Radial

O labirinto radial de oito braços é específico para o estudo de memória e aprendizado e tem sido utilizado em diversos protocolos. Ele foi elaborado por David Olton e colaboradores (OLTON *et al.*, 1972), na Universidade Johns Hopkins. Esse aparato consiste de braços ou corredores que se irradiam de uma plataforma central, conforme Figura 5 (BEAR, 2002).

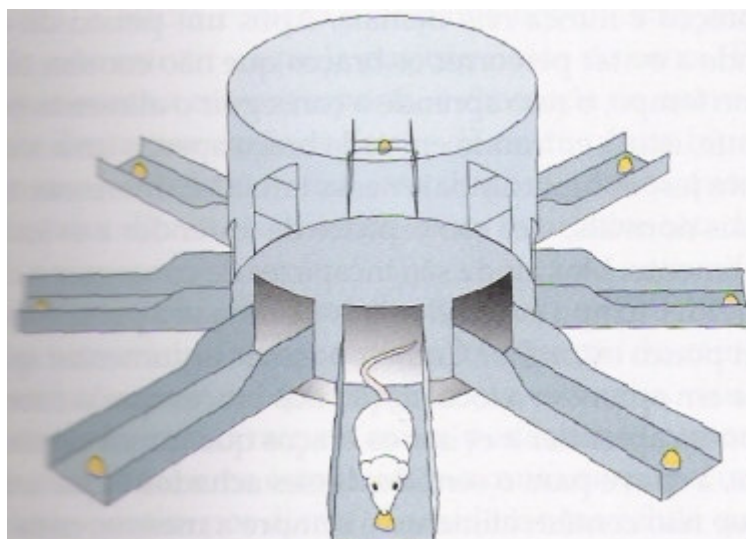


Figura 5: Labirinto radial de Olton

Um dos estudos mais relevantes de memória e aprendizado, com ratos, utilizando-se do labirinto radial de oito braços, foi realizado por Packard, em 1989. Nesse estudo, Packard utilizou-se do aparato em duas versões. Na versão *win-shift*, os ratos obtinham a comida visitando cada braço do labirinto apenas uma vez. Cada entrada no braço já visitado era computada como um erro. Essa versão é utilizada para avaliar a memória referencial ou declarativa em ratos. Na versão *win-stay*, quatro dos oito braços eram iluminados, e apenas esses braços continham recompensa. Nessa versão, o rato aprendia a discriminar visualmente o braço do qual ele deve se aproximar. Essa versão envolve a aquisição de memória de hábito, ou aprendizado do tipo estímulo-resposta (S-R).

2.8 O processamento da visão em relação ao campo visual:

O processamento da visão é algo tão notável que cerca de metade do córtex cerebral humano está envolvido nessa tarefa.

Tudo o que enxergamos está associado à energia luminosa que emana dos objetos e seres. O olho, então, é o órgão especializado para detectar, localizar e analisar a luz.

A retina contém fotorreceptores especializados na conversão de energia luminosa em atividade neural. O restante do olho atua formando imagens nítidas do mundo sobre a estrutura da retina. Os axônios da retina se unem em nervos ópticos que distribuem a informação visual, na forma de potenciais de ação a diversas estruturas encefálicas que realizam várias funções.

A primeira estação sináptica na via que serve para que a percepção ocorra é um grupo celular do tálamo dorsal, chamado núcleo geniculado lateral (NGL), do qual a informação ascende ao córtex cerebral, onde será interpretada e lembrada.

A via que sai do olho, a começar pelo nervo óptico, é denominada projeção retinofugal. Os axônios das células ganglionares que partem da retina passam por três estruturas antes de estabelecer em suas sinapses no tronco encefálico: o nervo óptico, o quiasma óptico e o tracto óptico. Os nervos ópticos de ambos os olhos se unem na base do encéfalo para formar o quiasma óptico. No quiasma óptico, os axônios que se originam nas porções nasais das retinas, cruzam de um lado para outro. Após a decussação parcial no quiasma óptico, os axônios das projeções retinofugais formam os tractos ópticos, que passam logo abaixo da pia-máter ao longo das superfícies laterais do diencéfalo.

Existem células ganglionares em ambas as retinas que respondem a estímulos visuais, tanto do hemisfério visual esquerdo como a estímulos do hemisfério visual direito. As células ganglionares nasais (retina nasal) do olho esquerdo respondem a estímulos visuais localizados no hemisfério visual esquerdo; a retina nasal do olho direito responde a estímulos localizados no hemisfério visual direito. Já, a retina temporal do olho esquerdo responde a estímulos visuais que estão no campo visual direito e vice-versa. Uma vez que ocorre a decussação parcial das fibras da porção nasal da retina no quiasma óptico, toda informação a respeito do hemisfério visual esquerdo será processada pelo hemisfério direito do cérebro e toda informação a respeito do hemisfério visual direito será processada pelo hemisfério esquerdo do cérebro (ver figura 6) (BEAR, 2004).

Assim como em humanos, nos ratos, o processamento visual também ocorre contralateralmente, ou seja, a visão do hemisfério direito é processada pelo lado esquerdo do cérebro, e a do hemisfério esquerdo é processada pelo lado direito do cérebro (SEFTON & DREHER, 2004).

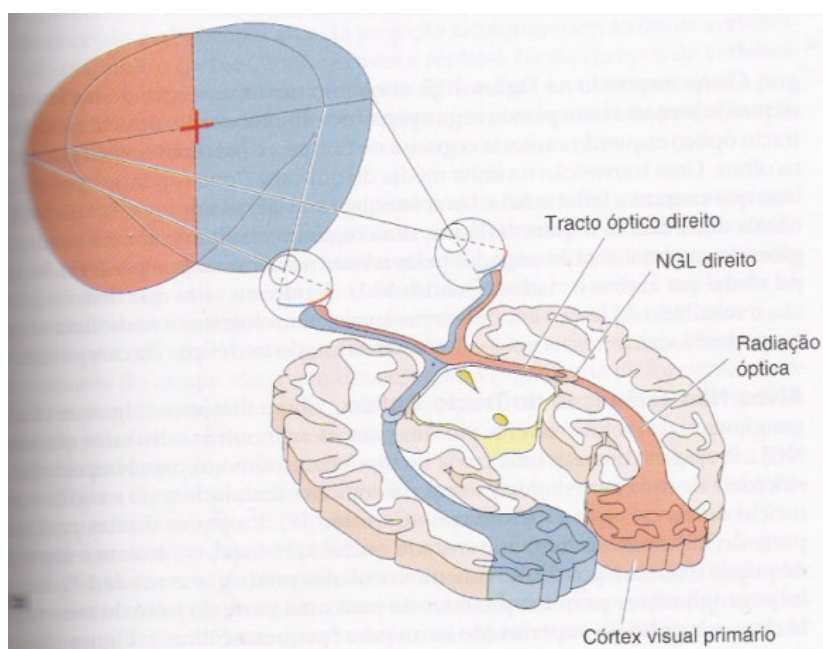


Figura 6: Desenho esquemático do processamento visual, levando-se em conta o hemi-campo. Estímulos visuais localizados no hemicampo visual esquerdo (em vermelho) são processadas no lado direito do cérebro e estímulos visuais localizados no hemicampo visual direito (azul), são processados no lado direito do cérebro; Observar a decussação ocorrida no quiasma óptico dos axônios dos neurônios da retina nasal tanto direita como esquerda. (BEAR, 2002).

3. OBJETIVO

O objetivo do estudo foi verificar se ratos com lesão unilateral na substância negra, parte compacta, apresentam aprendizado estímulo-resposta diferente, quando o estímulo é apresentado nos campos visuais esquerdo ou direito.

4. Manuscrito a ser submetido para publicação “Behaviour Brain Research”

RATS WITH UNILATERAL LESION OF THE *SUBSTANTIA NIGRA pars compacta* PRESENTED SENSORY, MOTOR, AND HABIT IMPAIRMENTS TO LEARN THE 7- ARM RADIAL MAZE TASK

¹Scheila Maria Graczyk Takayasu, ¹Edmar Miyoshi, ¹Patrícia Dombrowski, ²Joana
Lea Meira Silveira, ³Newton Sabino Canteras, ^{*1}Claudio Da Cunha.

¹ Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central, Departamento de Farmacologia, UFPR, Curitiba, Brazil;

² Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFPR, Curitiba, Brazil;

³ Departamento de Anatomia, Instituto de Ciências Biomédicas-3, USP, São Paulo, Brazil.

* **Author for correspondence:** Claudio Da Cunha, Laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central, Departamento de Farmacologia, UFPR, C.P. 19.031, 81.531-980 Curitiba PR, Brazil. Tel: +55 41 3361-1717. Fax: +55 41 3266-2042. E-mail: dacunha@ufpr.br

ABSTRACT

Parkinson's disease patients are known to present sensory, motor, and cognitive impairments, most of them due to the degeneration of the dopaminergic neurons of the substantia nigra that projects to the striatum. Previous studies reported that rats with partial bilateral lesions of the SNpc present habit learning and visuospatial working memory impairments but do not present gross motor abnormalities. In the present study, rats with almost total loss of the left or right substantia nigra pars compacta (SNpc-L or SNpc-R, respectively) induced by 6-hydroxidopamine were tested in the 7-arm radial maze task. In this task the animals are left in one of the arms to run to a lighted arm in order to find a food reward. Both SNpc-L and SNpc-R rats presented poor scores in habit learning and in a working memory test of this task, compared to sham-operated animals. They also presented a bias to enter the central arena of the maze making a turn to the side of the lesion. When the lighted arm was located on the side of the arena that was opposite to the animals' lesion, they tended to make turns that corrected the direction of their paths to the side of the lighted arm. Most times that the SNpc-L rats faced a lighted arm located to their right side, they chose to enter an unlighted arm located two arms to the left of the lighted one. The symmetrically opposite bias was observed for the SNpc-R facing a lighted arm located to their left side. These results suggest that the 7-arm radial maze task is sensible to measure possible motor and/or sensory perceptual abnormalities as well as habit and working memory deficits observed in these hemilesioned SNpc rats and that it possibly models similar abnormalities that occur in Parkinson's disease patients.

1. INTRODUCTION:

Parkinson's disease (PD) is a debilitating neurological condition that affects approximately 1% of the people over 55 years of age (DEUMENS *et al*, 2001); It is the second most common neurodegenerative disorder after Alzheimer's disease (LAU & BRETELER, 2006). In addition to motor impairments, cognitive (BRAAK, *et al*. 2006; BROW *etal*, 1997; NIEOULLON,2002; DUBBOIS & PILLON,1996.), sensory, and perceptual (JONES & DONALDSON, 1995; BARRET, *et al*, 2001; LAATU, *etal*, 2004; BROWN *etal* ,1997) deficits are seen in many (PD) patients. The cognitive deficits include visuospatial working memory and other executive functions (DUBBOIS&PILLON, 1997, WOLTERS, 1998, LEBRAS *et al*, 1999), and habit learning (KNOLTOWN & SQUIRE, 1996; THOMAS *et al*, 1996; PASCUAL-LEONE *et al*, 2004)

The most prominent functional abnormality in PD is a huge depletion of striatal dopamine due to loss of dopaminergic neurons of the *substantia nigra pars compacta* (SNpc) (DAUER & PRZDSBORSK, 2003; WOLTERS, 1998). The SNpc and the striatum are part of a complex loop between the cerebral cortex and basal ganglia. The role of the basal ganglia motor functions is well known (ALEXANDER & CRUTCHER, 1990; DELONG, 1990; TURNER & ANDERSON, 1997). More recently many studies have shown that the basal ganglia are also involved in cognitive functions (TAKAKUSAKI, *et al*, 2004; WOLTERS, 1998; MIDDLETON & STRICK, 2000; PACKARD & KNOWLTON, 2002; GRAYBIEL, 1998; WHITE, 1997).

Habit learning is described as an unconscious mechanism that is acquired gradually and slowly, independent of the medial temporal lobe. Habit learning refers to the increase in the likelihood that an specific behavioural (motor) is performed in response to a stimulus that signal a reward (HOOD & CORKIN, 1999; SALMON &

BUTTERS, 1995). There is evidence that this association is mediated by the striatum (McDONALD & WHITE, 1993; PACKARD, HIRSCH & WHITE, 1989; KNOWLTON & SQUIRE, 1996; ATALLAH *et al*, 2006).

Previous studies have shown the rats with partial and bilateral lesions in the SNpc are impaired to learn some habit task as well as other visuospatial working memory tasks. (Da CUNHA *et al*, 2001; MIYOSHI *et al*, 2004; BELLISSIMO *et al*, 2004; BRAGA *et al*, 2004).

The aim of the present study is to test whether a unilateral and complete lesion of the SNpc impairs rats (habit) learning of the association of a stimulus presented in its contralateral visual field to the response to approach to it in order to receive a reward. In order to test this hypothesis, rats with unilateral lesions induced by the infusion of 6-OHDA into the left or right SNpc (SNpc-L or SNpc-R, respectively) were tested in the 7-arms radial maze task. This test allows to scores the mistakes committed by the animals to enter a right or left arm when it is lighted (rewarded) and, at the same time, to score perceptual and motor bias.

2. MATERIALS AND METHODS:

2.1. Animals

Adult male Wistar rats, weighing 280-310 g or our own breeding stock were used in this study. The animals were maintained in a temperature controlled room (22 ± 2 ° C), with light/dark cycle of 12 hours (lights on at 7 a.m.), water and food *ad libitum* until one week before the training beginning. After this period, they were kept isolated (one per cage) and with food restriction (explained further below) and free access to water. All experiments were conducted during the morning time, between 7 and 12 a.m.

2.2. Surgery

The animals were divided in three groups: sham-operated (N=11), SNpc-L (N=12), and SNpc-R (N=10). All of them were given desipramine (25 mg/Kg, i.p.) solved in water 20 minutes before the surgery. Atropine (0,4 mg/Kg, i.p.) sulfate was also administered and the anaesthesia was performed with equitesin (3 ml/Kg, i.p.; 1% thiopental; 4,25% cloral hydrate; 2,13% magnesium sulfate; 42,8% propilenoglycol and 3,7% ethanol solved in water). 6-OHDA (Sigma, 8 µg solved in 1µl of liquor + ascorbic acid 0,2% solution) was infunded directly at the medial prosencefalic bundle of the rats at 0,25 ml/minute following the adaptaded coordinates of Paxinos and Watson Atlas (1986): anteroposterior (AP): -1,9mm from the bregma; mediolateral (ML): -1,9 mm from the midline; – dorsoventral (DV): - 7,9mm from the skull. Sham operated animals were submitted to the same procedure, but the needle was not lowered to the SNpc.

In order to assess the efficacy of the SNpc lesion, seven days after surgery the turning behaviour of the animals was tested after they were challenged with 0,1 mg/kg apomorphine (s.c.). The animals were placed in a small circular arena, 25 cm in diameter and 28 cm in height and observed for 1 h. The animals that presented less than 50 contraversive turns were discarded.

2.3. Food restriction

Food restriction started 2 weeks after surgery and was maintained until the end of the experiment to keep the animals with 85-90% of their initial weight.

2.4. Apparatus

A sketch of the 7-arm radial maze is shown in Fig. 1. It was made of transparent acrylic and is similar to the Olton 8-arm radial maze (OLTON et al, 1979),

except that one of the arms was used as the entrance arm and the opposite arm was removed. The arms are linked to a central arena. Therefore, when a rat leaves the entrance arm to enter the central arena it may choose to enter one of the 3 arms to its left or one of the other 3 arms to its right side. Each arm is 47 cm long, 10 cm wide, and 18 cm high. The central arena is 45 cm diameter and 30 cm high. All of the walls of the maze arms are transparent, except for the entrance arm which walls were covered with white paper. The transparent acrylic guillotine-like sliding doors that separate the arms from the central arena could be individually operated by the experimenter. At the end of each arm, except the entrance one, there was a 1 cm in diameter round hole where a reward (a 45,5 mg sucrose pellet) could be placed. White light bulb were fixed at the entrance and at the end of each of the 6 arms. The lights on each arm could be individually operated by the experimenter.

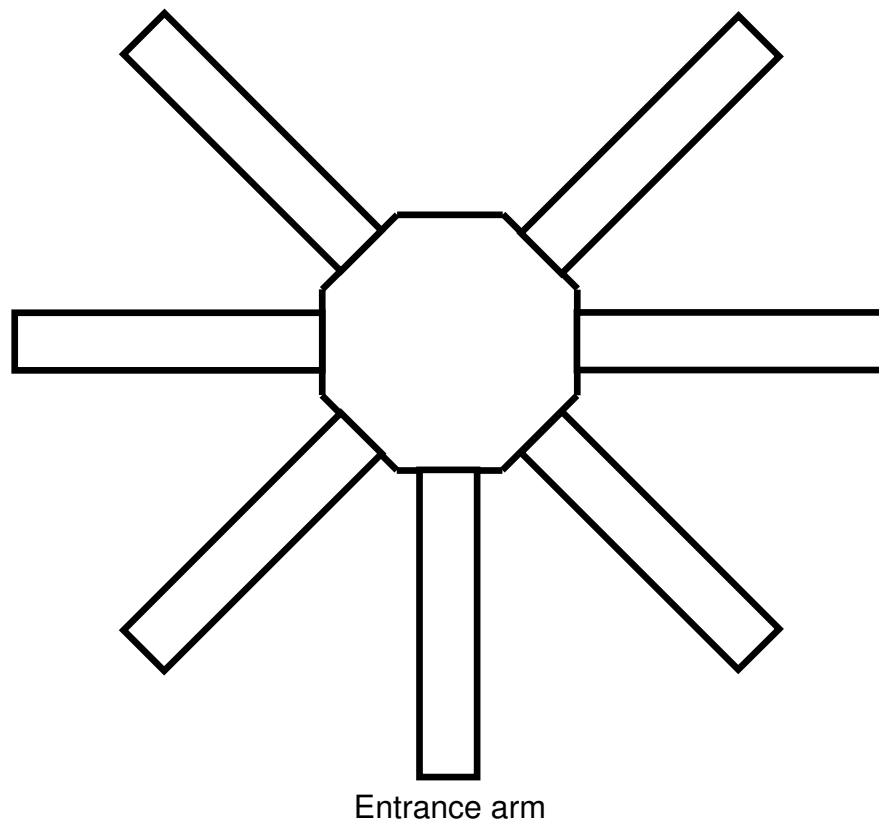


Fig. 1. The 7-arm radial maze.

2.5 The 7-arm radial maze task

Three weeks after surgery the animals were submitted to the **habituation sessions**, in which they were placed at the end of the entrance door and allowed to explore the maze freely. During these habituation sessions the lights in all the 6 arms were kept on. Also there was a sucrose pellet in each of the 6 arms of the maze and they were replaced each time the rat consumed them and left that arm. The rats were submitted to one habituation session per day until they collected 18 sucrose pellets in less than 30 seconds.

The 7-arm radial maze task training sessions started the day after each rat achieved the criterion of collecting 18 sucrose pellets in less than 30 s in three habituation session.

A training session consisted of consecutive trials to find the reward (lighted) arm. On each trial the rat was placed at the end of the entrance arm and left to run to the central arena and choose to enter an open arm.

Just after that, the door of this arm was closed, the animal was left there for 10 s and then it was placed again on the entrance arm to start another trial. On the first trial of the session, only the 3 left or the 3 right doors were open and only one of them was lighted and baited with the sucrose pellet. The doors of the arms on the opposite side remained closed. If the rat chose to enter the lighted arm, on the next trial, only the other 3 doors of the opposite site were opened. If the rat did not choose to enter the lighted arm it was scored as an error and, in the next trial, the doors of the same 3 arms were kept open, and, the same arm was kept lighted. If the rat choose to enter the lighted arm or if it kept choosing to enter an unlighted arm for 3 consecutive trials, on the next trial the doors of the unlighted arms were closed so that, it could choose only the arm that contained the reward. After the rat had entered a lighted arm of one side, the light bulb fixed on the end of the arm was turned on.

On the next trial only the 3 arms of the opposite side will be open, one of them lighted and baited with a sucrose pellet. On each session the rats were given the number of trials necessary for them to be rewarded once in each of the 6 arms.

The rats were given one training session per day until their scores had not improve for 3 consecutive days. On the next day they were submitted to a **habit learning test**. This was similar to a training session, except that the rats were given the number of trials necessary for them to be rewarded 4 times in each of the 6 arms.

On the next day the animals were submitted to a **working memory test** that was similar to the habit learning test except for two alterations: 1) The light bulb at the entrance of the baited arm was turned off just after the rat put its nose into the central arena; 2) All the 3 doors of the arms where the reward could be found remained always open. In order to find the sucrose reward the rat had to keep into its working memory the location of the arm that was lighted when it entered the central arena.

The behaviour of the animals in the maze were video-taped and the following parameters were scored: number of errors (entrances in an unlighted arm). On the test session it was also scored: the number of times the animals left the entrance arm to the left and to right sides of the arena; the number of times the animal made a turn in order to correct its path and enter the arm of choice; whenever the rats chose to enter an unlighted arm it was registered how far – how many arms to the left or to the right the chosen arm was from the lighted arm. The deviations to the left were scored as negative values and those to the right as positive ones.

2.6 Tyrosine Hydroxylase immunohistochemistry

After the behavioral tests, the animals were killed by decapitation and their dorsal striata were removed for the determination of dopamine concentration (see below). The posterior part of the rat brain was preserved in formalin for 1 week and

placed in 20% sucrose formalin 48 h before sectioning. Four series of 30- μ m thick sections were cut with a sliding microtome on the frontal plane and collected from the caudal diencephalon to the caudal midbrain. The sections were immunostained with a monoclonal antibody against TH (diluted 1:5000). The antigen-antibody complex was localized with an ABC Elite kit. Slides were then dehydrated and coverslipped with DPX.

2.7 Determination of dopamine and its metabolites by HPLC-electrochemical detection

Endogenous levels of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), and homovanillic acid (HVA) were assayed by reverse-phase HPLC with electrochemical detection. The system consisted of a Synergi Fusion-RP C-18 reverse-phase column (150 x 4.6 mm i.d., 4- μ m particle size), an L-ECD-6A electrochemical detector (Shimadzu), and an LC-10AD pump (Shimadzu). The column was maintained inside a temperature-controlled oven (30°C, Shimadzu). The oxidation potential was fixed at + 0.80 V using an Ag/AgCl working electrode. The tissue samples were homogenized with a Vibra-Cell ultrasonic cell disrupter (Sonics, Newtown, CT, USA) in 0.1 M perchloric acid. After centrifugation at 15,000 x *g* for 30 min, 20 μ l of the supernatant was injected into the chromatograph. The mobile phase, used at a flow rate of 1 ml/min, had the following composition: 15.7 g citric acid, 471.5 ml HPLC-grade water, 78 mg heptanesulfonic acid, 20 ml acetonitrile, and 10 ml tetrahydrofuran, pH 3.0. The peak areas of the external standards were used to quantify the sample peaks.

2.8 Materials

The drugs and other chemical compounds used in these experiments were purchased from the following sources: chloral hydrate (Reagen, Rio de Janeiro,

Brazil), ethanol, methanol and perchloric acid (all from Merck, Darmstadt, Germany), penicillin G-procaine (Bristol-Myers Squibb, New York, NY, USA), magnesium sulfate, ascorbic acid and propylene glycol (all from Synth, São Paulo, Brazil), sodium thiopental (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA), and atropine sulfate, acetaldehyde, amphetamine, apomorphine, citric acid, dopamine, desipramine, DOPAC, EDTA, HVA, MPTP HCl, heptanesulfonic acid and 6-OHDA (all from Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). The monoclonal antibody against TH raised in mice was purchased from Incstar Corp. (Stillwater, MN, USA), and the ABC Elite kit to localize the antigen-antibody complex was purchased from Vector Laboratories (Burlingame, CA, USA). The C-18 reverse-phase columns were purchased from Phenomenex (Torrance, CA, USA).

2.9 Statistical Analysis

All results are presented as the mean \pm SEM. Differences among groups were analyzed by one or two-way ANOVA, followed by the Newman Keuls test. Differences were considered to be statistically significant when $p < 0.05$.

3. RESULTS:

3.1. Evaluation of the hemi-lesion of the SNpc induced by 6-OHDA

Fig. 2 illustrates that the hemilesioned rats presented an almost complete loss of the dopaminergic neurons in the side of the SNpc in which the 6-OHDA solution was infused.

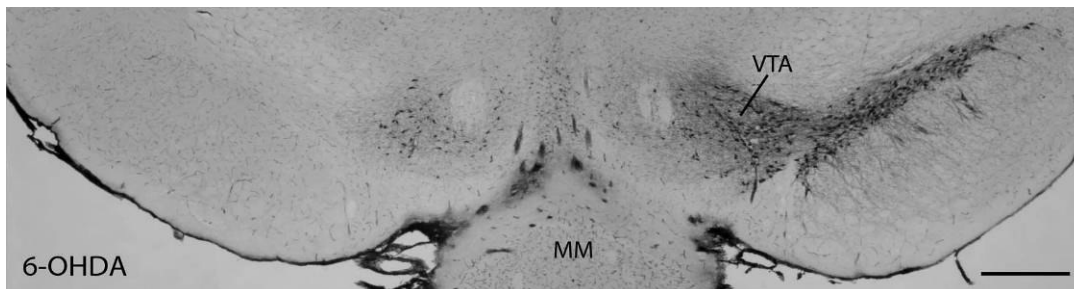


Fig. 2. Representative bright-field photomicrographs of tyrosine hydroxylase-immunostained sections illustrating the presence of unilateral 6-OHDA dopaminergic cell lesions on the left side of the brain. MM = medial mammillary nucleus; SNpc = *substantia nigra pars compacta*; SNpr = *substantia nigra pars reticulata*; VTA = ventral tegmental area. Scale bars: 500 μ m.

The hemi-lesion of the SNpc with 6-OHDA caused significant depletion of dopamine and its metabolites in the ipsilateral striatum, as can be seen in Fig. 3. A two-way ANOVA showed a significant effect for the factor lesion ($F(2,20) = 27.4$, $p < 0.001$) but not for the factor side of the striatum ($F(1,20) = 1.97$, $p = 0.17$). This analysis also found a significant interaction between these two factors ($F(1,20) = 145.46$, $p < 0.001$). The analysis of DOPAC measures showed significant effects for the factor lesion ($F(2,20) = 22.74$, $p < 0.001$), for the factor side of the striatum ($F(1,20) = 4.83$, $p < 0.05$) and for the interaction between these two factors ($F(1,20) = 84.79$, $p < 0.001$). The analysis of HVA measures showed significant effects for the factor lesion ($F(2,20) = 61.8$, $p < 0.001$), for the factor side of the striatum ($F(1,20) = 5.99$, $p < 0.05$) and for the interaction between these two factors ($F(1,20) = 207.00$, $p < 0.001$). Note that the levels of dopamine and its metabolites in the non-lesioned of the SNpc-L side are slightly higher compared to non-lesioned side of the SNpc-R rats (see Fig. 3 for details).

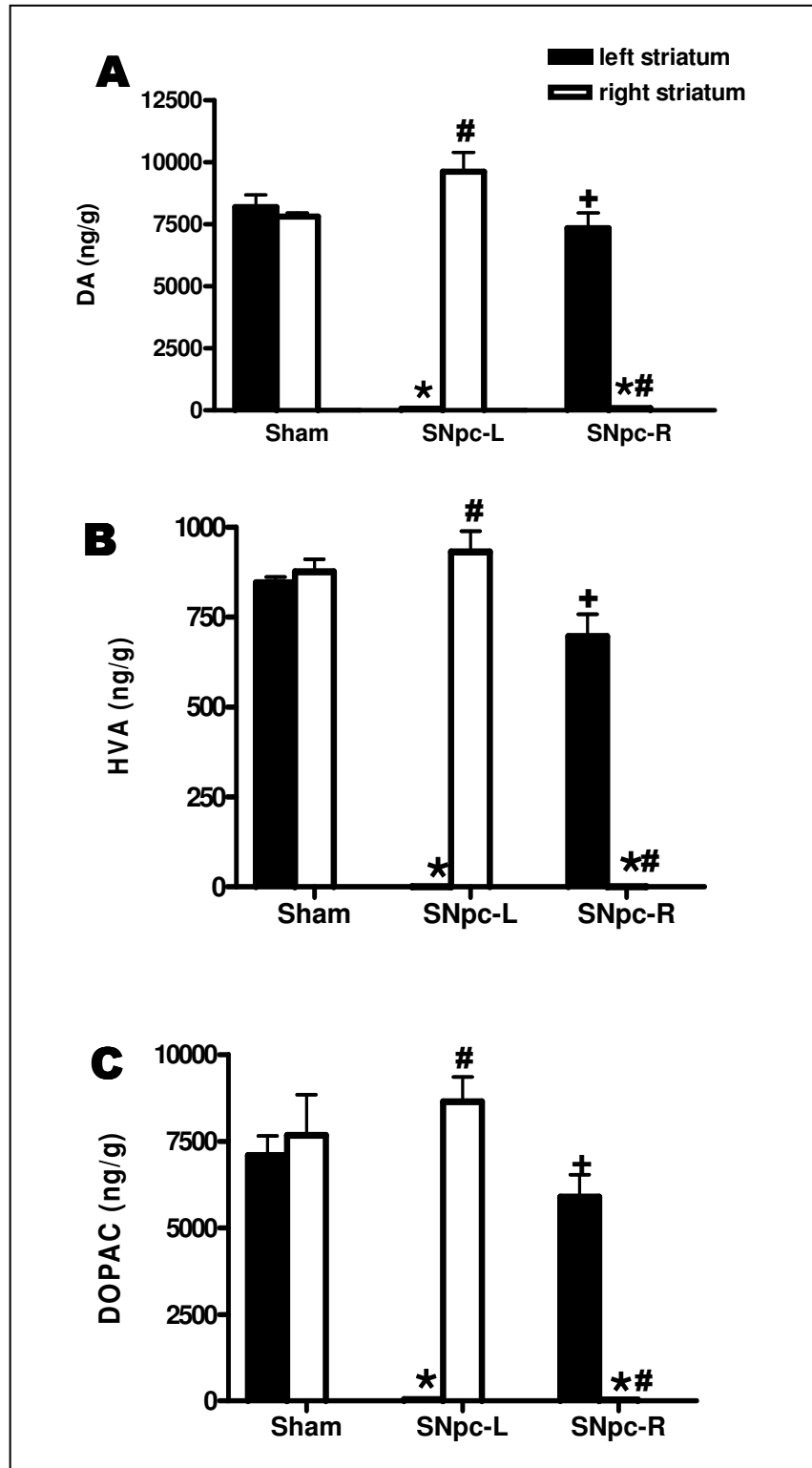


Fig. 3. Effect of the administration unilateral of 8 μ mol 6-OHDA into the MFB on. Bars represent striatal DA (fig 3A), HVA (fig 3B) and DOPAC (fig 3C) concentration expressed as ng/g wet tissue (means \pm SEM). * $p < 0.05$ compared to sham. # $p < 0.05$ compared to the left striatum of the same rats; + $p < 0.05$ compared to the right striatum of the SNpc-R rats. Newman-Keuls test after two-way ANOVA.

The contraversive turning behaviour of SNpc challenged with apomorphine was also suggestive that the 6-OHDA treatment caused an almost total hemidepletion of striatal dopamine as can be seen in Fig. 4. It was performed two separate one-way ANOVA for the number of turns made by the animals to the right ($F(2,30)=43.39$, $p<0.001$) and left ($F(2,30)=59.04$, $p<0.001$)

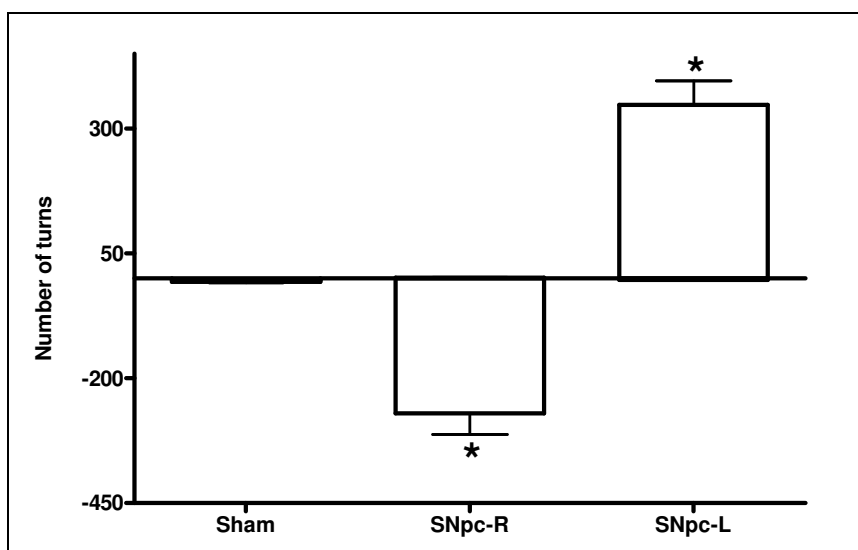


Fig. 4. Turning behaviour of SNpc unilaterally lesioned rats. Bars represent the means \pm SEM of turns directed to the right (positive values) or to the left (negative values) side, scored for 1 h after the rats were challenged with a s.c. injection of 0.1 mg/kg apomorphine. * $p<0.05$ compared to the sham group. Newman-Keuls test after one-way ANOVA.

3.2 Learning of the 7-arm radial maze task

SNpc rats presented a slower learning of the 7-arm radial maze task compared to control animal as can be seen in Fig. 5. A two-way ANOVA showed significant effects for lesion factor ($F(2,30) = 19.97$, $p < 0.001$) and day factor ($F(17,510) = 46,36$, $p < 0.001$). A Newman-Keuls post-hoc analysis showed significant differences among the learning curves of sham, SNpc-L, and SNpc-R groups ($p < 0.05$). The scores of the SNpc-R were even worse than the scores of the SNpc-L rats (see details in Fig. 5).

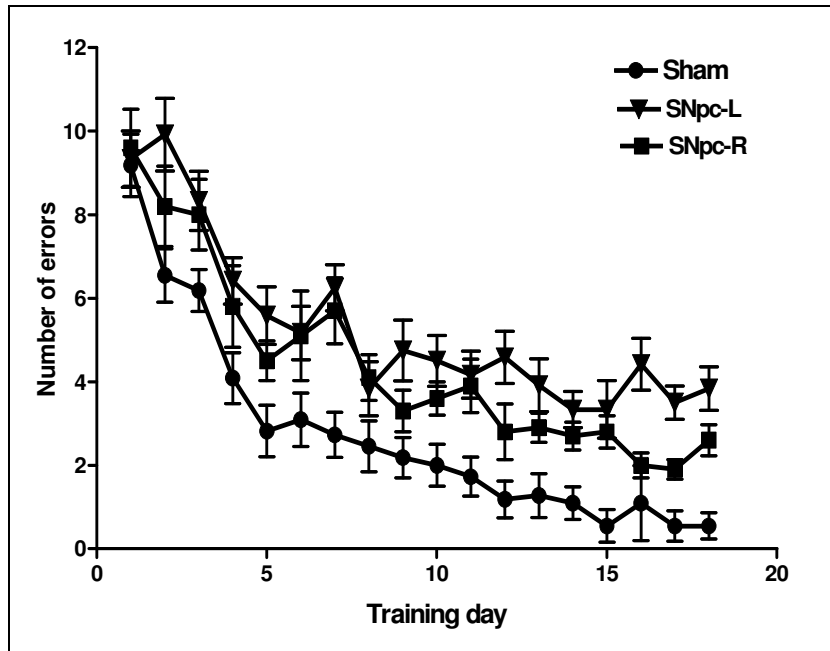


Fig. 5. Effect of unilateral lesion of the SNpc on learning of the 7-arm radial maze task. Data represents the mean total number of errors \pm SEM.

These deficits of SNpc rats are more evident in the results presented in Fig. 6 where a two-way ANOVA showed a significant effect of the lesion factor ($F(2,60) = 10.22, p < 0.001$). However, both SNpc-L and SNpc-R rats seemed to be equally impaired to perform this test. The difference between the number of errors committed by rats of both groups were not significantly different, independent of the side the visual stimulus were presented (lighted arm): side of the stimulus factor ($F(1,60) = 1.22, p = 0.27$).

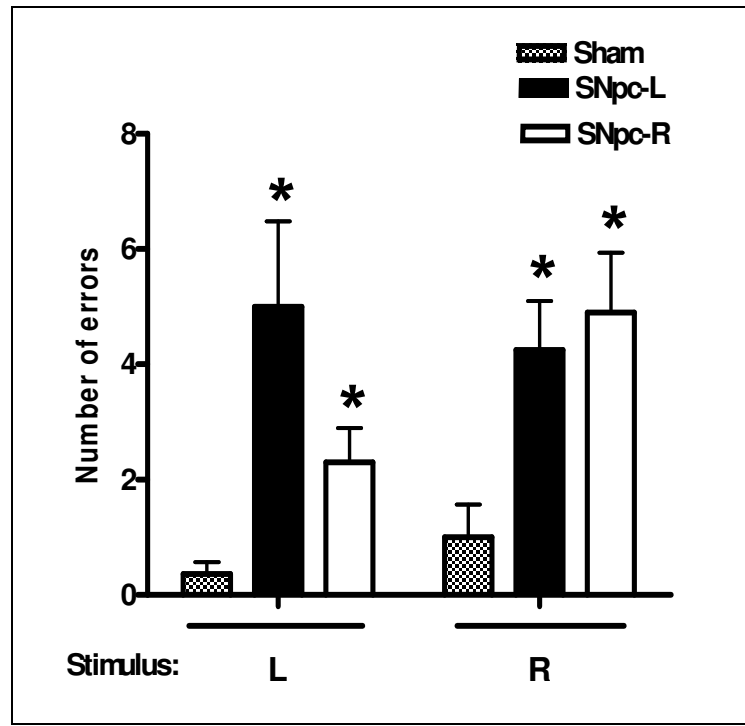


Fig. 6. Effect of the unilateral lesion of the SNpc on the test of habit learning performed after extensive training in the 7-arm radial maze task. Bars represent the mean number of errors \pm SEM, scored when a right (R) or a left (L) arm of the maze was lighthed. * $p < 0.05$ compared to sham. Newman-Keuls test after two-way ANOVA.

As can be seen in Fig. 7. similar impairments were observed for the scores of these rats in the working memory test: lesion factor ($F(2,60) = 29.11, p < 0.001$); side of the stimulus factor, ($F(1,60) = 1.72, p = 0.19$).

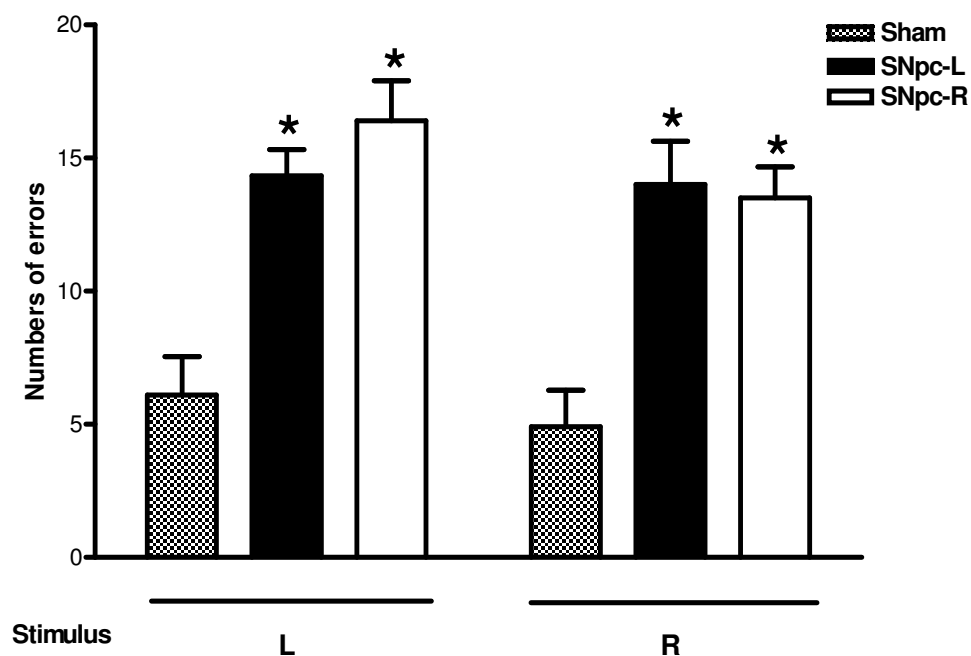


Fig. 7. Working memory of SNpc unilaterally lesioned rats tested in the 7-arm radial maze task. The protocol of this test was the same used to test habit learning, except that the light of the baited arm was turned off when the rats entered the central arena. Bars represent the mean number of errors \pm SEM, scored when the stimulus was presented in the right (R) or in the left (L) arms of the maze. * $p < 0.05$ compared to the sham group. Newman-Keuls test after two-way ANOVA.

Turning behaviour the SNpc unilaterally lesioned undrugged rats were not as evident as after an apomorphine challenge (Fig. 4). However they presented a significant preference to leave the main arm and enter the central arena headed to the same side of the SNpc lesion, as can be seen in Figure 8: Number of exits to the left side: ($F(2,30) = 211.51, p < 0.001$) of exits to the right side: ($F(2,30) = 226.96, p < 0.001$); one way ANOVA.

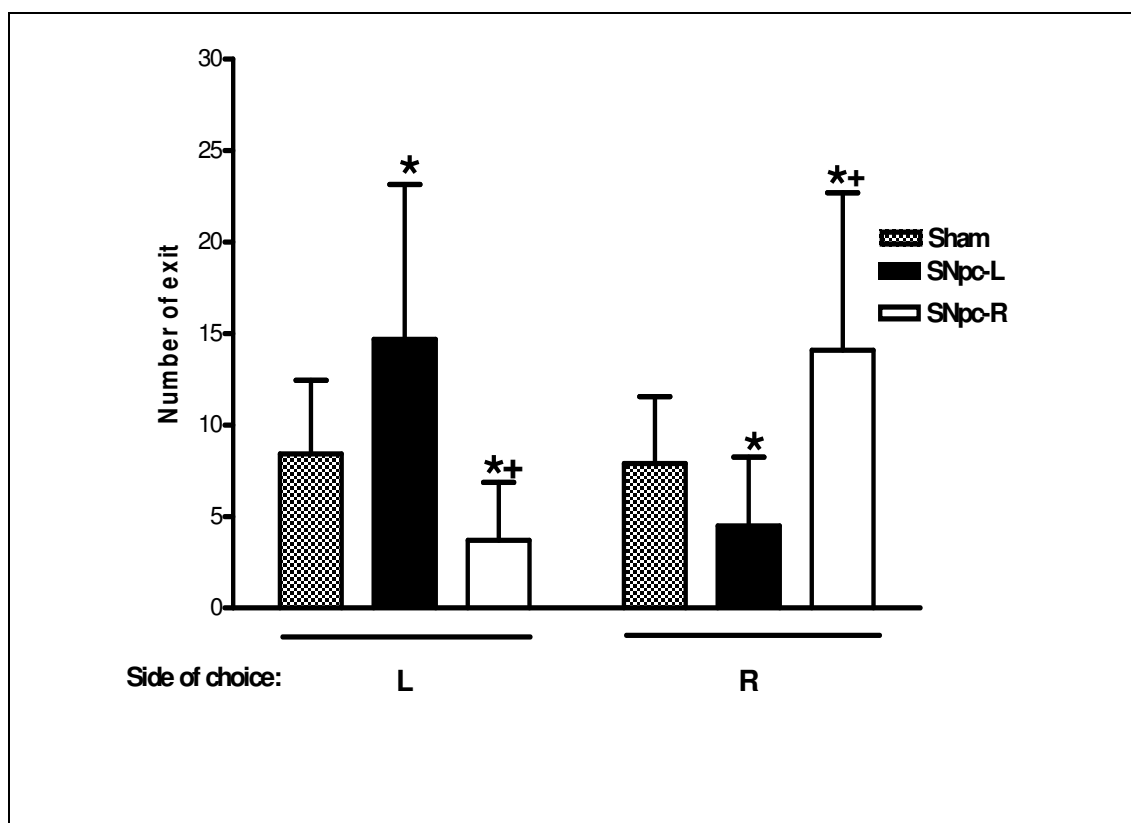


Fig. 8. Number of times that the rats with unilateral lesion of the SNpc have chosen to go left (L) or right (R) when they leave the main arm to enter the central arena of the 7-arm radial maze in the day of the habit test. Bars represent the mean number of choices \pm SEM. Newman-Keuls test after two-way ANOVA.

After extensive training in the 7-arm radial maze task, many SNpc unilaterally lesioned rats usually corrected their path when they did not enter the central arena headed to the lighted arm. A typical path of a SNpc-L rat is drawn in Fig. 9A. Numerical data can be seen in Fig. 9B . A two-way ANOVA showed a significant effects for the factor lesion ($F(2,60) = 60.2, p < 0.001$) and interaction lesion versus side of the stimulus ($F(2,60) = 65.90, p < 0.001$). A Newman Keuls post-hoc analysis showed that the SNpc rats made significantly more corrections in the trials in which the lighted arm was located in the side of the maze that was opposite to side of its lesion.

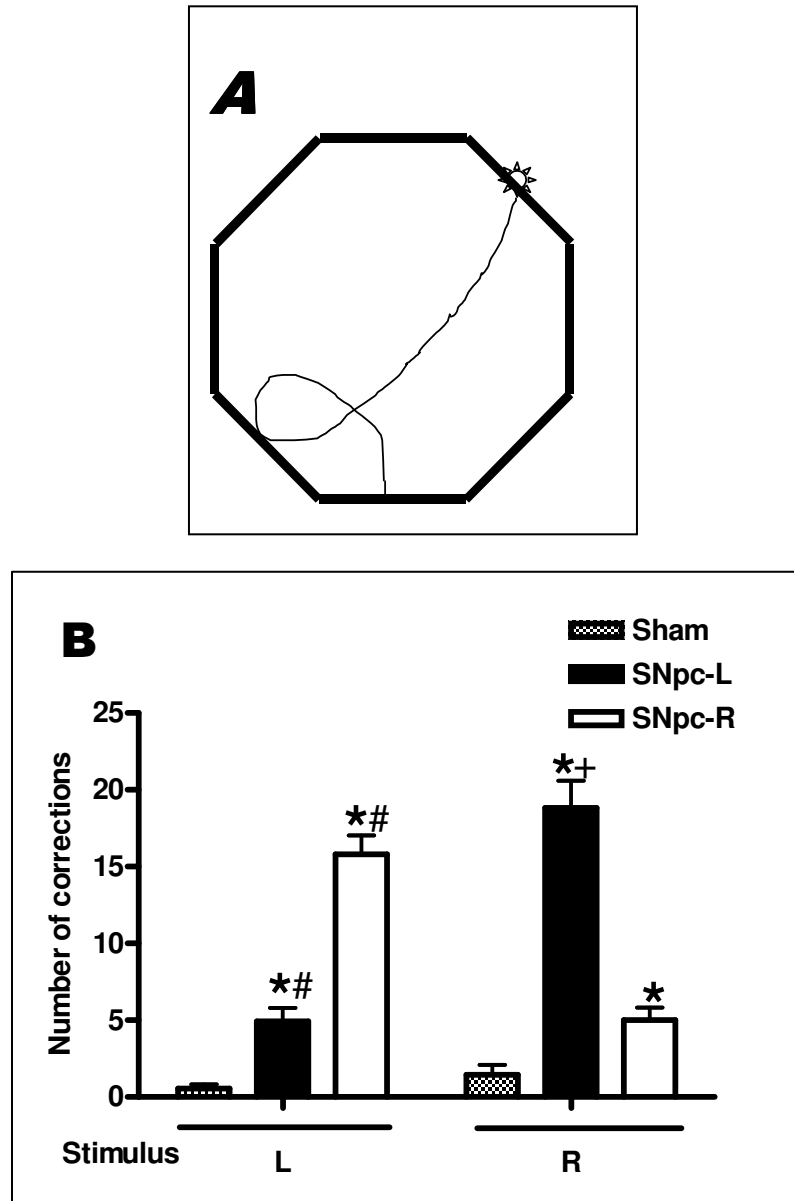


Fig.9. After extensive training in the 7-arm radial maze task, many SNpc unilaterally lesioned rats usually corrected their path when they did not enter the central arena headed to the lighted arm. A typical path of a SNpc-L rat is drawn in A. The bars in B represent the mean number of corrections (turns) \pm SEM made by these rats before choosing to enter an arm, scored when the stimulus was presented in the right (R) or in the left (L) arms of the maze. * $p < 0.05$ compared to the sham group. # $p < 0.05$ compared to the same group in the opposite side. + $p < 0.05$ compared to the SNpc-R in the opposite side. Newman-Keuls test after two-way ANOVA.

As can be seen in Fig. 10, when the SNpc rats did not enter the lighted arm, they did not choose to enter an unlighted arm randomly. A two-way ANOVA followed by the Newman Keuls test showed that when the lighted arm was located in the left side, the SNpc-L rats chose to enter significantly more times into the second arm located right to the lighted arm. Conversely, when the lighted arm was located in the right side, the SNpc-R rats chose to enter significantly more times into the second arm located left to the lighted arm: lesion factor: ($F(2,60) = 645.94, p < 0.001$), factor side where the stimuli were presented: ($F(1,60) = 385.31, p < 0.001$); interaction lesion versus side of the stimulus: ($F(2,60) = 74.63, p < 0.001$).

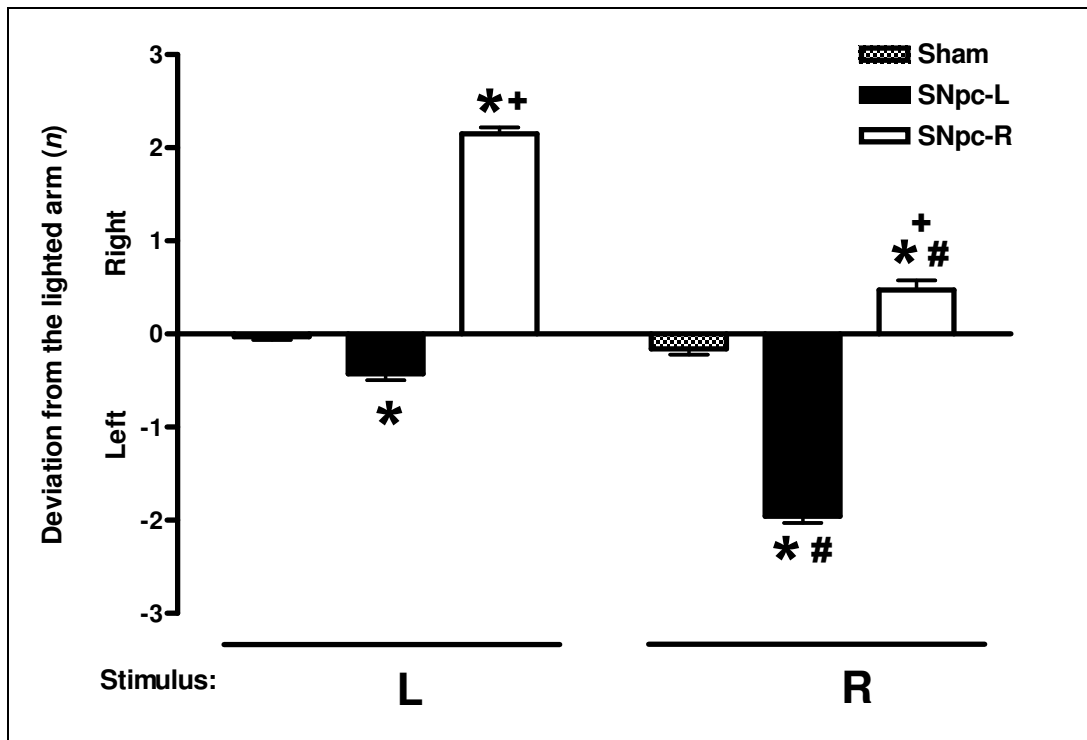


Fig.10. SNpc unilaterally lesioned rats have usually chosen to enter an arm that was n arms left (scored as a positive number) or n arms right (scored as a negative number) far from the lighted arm. In this graphic the bars represent means \pm SEM deviation (n) scored during the habit test. * $p < 0.05$ compared to sham. # $p < 0.05$ compared to the same group when the a left arm lighted arm was lighted. + $p < 0.05$ compared to the other group in the same side.

4. Discussion:

The present study aimed to test whether the right and left SNpc played a role in habit learning. The results presented above showing that, even after extensive training, both SNpc-L and SNpc-R rats presented poor scores in the habit learning test of the 7-arms radial maze task suggest that this hypothesis is true. This finding is in agreement with previous studies that reported that rats with a partial and bilateral lesions in the SNpc were impaired to learn other habit learning tasks, such as the cued version of the Morris water maze (Da CUNHA et al, 2003), and the two-way active avoidance (Da CUNHA et al, 2001). Habit learning deficit was also reported in mice and monkeys models of PD, as well as in PD patients (HOOD & COORKIN, 1999; SALMON & BUTTERS, 1995, RONCACCI,S, et al, 1996; KNOWTON et al, 1996; FERNANDES-RUIZ et al, 2001; KIMURA, 1995; TENG et al, 2000).

In the present study, the rats with an hemilesion in the SNpc was also impaired to find the baited arm when the light was turned off just after the rats entered the central arena. This protocol requires that the animal to keep the location of this arm in it's working memory while it runs to it. This result is in agreement with previous studies reporting that, as well as PD patients (CARBON & MARIE, 2003; COSTA et al, 2003; CRUCIAN & OKUN, 2003; DUBOIS & PILLON, 1997; LEWIS et al, 2003), rats with partial lesion of the SNpc presented deficits in visuospatial working memory tasks (MIYOSHI et al, 2002; BELLISSIMO et al, 2004; Da Cunha et al, 2002).

The common feature in all these cases is a depletion of striatal dopamine. Midbrain neurons have been shown to fire and release of dopamine into the striatum when, there is a mismatch between the subject's reward expectation and the reward outcome that follows a response (R) to an environment stimulus (S) (SCHULTZ et al, 1997; SCHULTZ, 2000). It is precisely in these situations that new habits need to be

formed or broken. There is compelling evidence that the striatum is the site in which the neural representation of a stimulus and a rewarded response is formed during habit learning (WHITE, 1997; KIMURA, 1995; WHITE & McDONALD, 2002). However, synaptic plasticity phenomena that allows that old S-R associations that are no longer rewarded can be broken or new S-R habits can be made, require activation of dopamine receptors in the striatum (MIDDLETON & STRICK, 2000; PACKARD & KNOWLTON, 2002; McDONALD & WHITE, 1993; PACKARD et al, 1989). According to this theory both the SNpc and the striatum are critical for habit learning.

The habit learning deficits observed in patients and in animal models of PD supports that the theory that the SNpc plays an important role in habit learning. However, in the previous and in the animals used as models of PD were presented only a partial impairment to learn habit tasks. They learned these tasks more slowly than the controls, but they could improve their scores after extensive training. Does it mean that the SNpc is important and not essential for habit learning?

An important difference between the previous and the present study of habit learning in a rat model of PD was that the former used animals with a partial and bilateral lesion of the SNpc induced by MPTP (BRAGA et al, 2004; MIYOSHI et al, 2002; Da CUNHA et al, 2002). The present study, on the other hand, was carried out in rats with an unilateral lesion of the SNpc that caused an almost complete depletion of dopamine in the ipsilateral striatum, as illustrated in Fig 3. In agreement with extensive literature on the 6-OHDA rat model of PD, these animals presented contraversive turning behaviour when challenged with apomorphine, as shown in Fig. 4. This pattern of turning behaviour is also suggestive of an almost total loss of striatal dopamine (UNGERSTED, 1971; HENDERSON et al, 2003; TRUONG et al,

2006; KONDO et al, 2004; SCHARTING & HUSTON, 1996; GERLACH & RIEDERER, 1996).

The previous studies obtained with rats with a partial lesion of the SNpc could not answer the question stated above, since their slow habit learning could have happened because part of their SNpc had been preserved. However, as shown in the present study, rats with a complete unilateral lesion of the SNpc have also presented evidence of a slow and partial learning of a habit task. This finding does not mean that the SNpc is not essential for habit learning. An alternative explanation is that the right or the left SNpc can mutually compensate for the lesion of the other. Unfortunately, rats with complete and bilateral lesion of the SNpc do not survive (FERRO et al, 2005; CASAS et al, 2000; RODRIGUEZ et al, 2001; DEUMENS et al, 2002).

Therefore, the present study, like the other previous, can only suggest that the SNpc is important for habit learning. However, the present study can address the question of whether the left or the right SNpc is more important than the other for habit learning. As shown in Fig. 5, the learning curve for the 7-arm radial maze task of the SNpc-L rats was slightly (but significantly) worse than that of the SNpc-R rats. This small difference may be related to a previous study that suggested that the left SNpc is more important to visuospatial working memory than the right SNpc based on scores rats with unilateral lesions of the SNpc a working memory version of the Morris Water maze (BELLISSIMO et al, 2004). However, in the present study, after extensive training, the SNpc-L did not score significantly worse than SNpc-R in the habit test and in the working memory test of the 7-arm radial maze task. Significant differences between SNpc-L and SNpc-R rats in these tests were not found even when the location where of stimulus was presented (whether a left or a right lighted arm was lighted) was considered in the analysis (see Figs. 6 and 7). Thus, we can

say that the results shown in Figures 6 and 7 does not support the idea that the left SNpc is more important for habit learning and visuospacial working memory. But the results shown in Fig. 5 call for caution before discarding this hypothesis that should be further tested in future experiments.

It is known that most of the visual information processed in the rat left striatum comes from the right visual hemisphere, and vice-versa (SEFTON et al, 2004). Besides, near 95% of the nigrostriatal projections come from the ipsilateral SNpc (SCHWARTING & HUSTON, 1996). As stressed above, there is also evidence that in order to make stronger an association between the neural representation of an specific stimulus and an specific response in the striatum, it is necessary the release of dopamine by nigrostriatal neurons (Da CUNHA et al, 2001; MIYOSHI et al, 2002; KIMURA, 1995). Based on this knowledge it was expected that the SNpc-L rats would present a higher impairment to learn that when a right arm of maze was lighted it was baited with food than to learn the same relation for the left arms. Conversely, the opposite pattern of learning was expected for the SNpc-R rats. However, as discussed above, the side where the stimulus was presented in the maze (the location of the lighted arm) did not significantly influence the scores of both SNpc-L and SNpc-R rats after extensive learning (see Figs. 6 and 7). However, as can be seen in Fig. 5, both SNpc-L and SNpc-R scored significantly worse than Sham rats from the first training days to the test days carried out after extensive learning.

Besides the habit learning impairment observed in present and in previous studies with SNpc lesioned rats (Da CUNHA et al, 2001; MIYOSHI et al, 2002), other sensorimotor impairments could have contributed to their low scores. At the time the training rats started, 3 weeks after surgery, undrugged 6-OHDA rats does not present spontaneous tight turns as those shown in Fig. 4, observed after they were challenged with apomorphine (HENDERSON et al, 2003; KONDO et al, 2004;

TRUONG et al, 2006). However this rats are known to have the motor bias of explore a circular arena facing the wall with the side of their body that is ipsilateral to the SNpc lesion (DUNNET & IVERSEN, 1982; FAIRLEY & MARSHALL, 1986; LJUNGBERG & UNGERSTED, 1976; MARSHALL, BERRIOS & SAWYER, 1980; SCHNEIDER, McLAUGHLIN & ROELTGER, 1992). This bias was observed in the SNpc rats of the present study and affected the side they chose to leave the main arm of to enter the central arena of the maze, as can be seen in Fig. 8. In order to go more directly to the arm of their choices they learned to make tight turns to correct their path, as can be seen in Fig. 9. They behave as a driver that needs to make a left while in a car that can only make right turns. These turns can also have been made by the rats in order to better see the lighted arm with the contralateral eye in relation to the lesioned SNpc. It is possible that the learning of how to make the correct turn in order to enter the lighted arm accounted for their delay to learn this habit task, compared to control animals.

However, even making ipsiversive tight turns to compensate for their bias to enter the central arena making a turn to the side of the lesion, and even after they have been trained until their learning curves achieved asymptosis, SNpc rats keep committing significantly more errors to enter the lighted arms than Sham rats. As can be seen in Fig. 10, the wrong arm chosen by the SNpc rats were not randomly chosen. When SNpc-L rats committed a mistake, they more usually chose to enter the second arm left to the lighted arm if it was located to their right side, while SNpc-R rats usually chose to enter the second arm right to the lighted arm if it was located to their left side. This bias is suggestive that these SNpc animals have a distorted perception of their visual field contralateral to the lesion. Alternatively they may have a motor bias that heads their run to an angle that is deviated to the contralateral side of the lesion in relation to the target. Previous studies have reported that PD patients

and animals with unilateral lesion of the SNpc also behave as if they have a distorted visual perception (HARRIS et al, 2003; LEE et al, 2001; DAVIDSDOTTIR et al, 2005).

In summary, the present study suggests that both left and right SNpc are important for habit learning and visuo-spatial working memory. It is not possible to consider the impairment observed in unilaterally SNpc lesioned rats to learn the 7-arm radial maze as a conclusive evidence that the SNpc is essential for habit learning. The slow and incomplete learning of these animals may also be resultant of behaviours these animals did to compensate for sensory and/or motor impairments. This complex picture implicated in the learning of the 7-arm radial maze by SNpc rats, that probably involves sensory, motor, sensory-motor integration, visuospatial working memory, and habit learning abnormalities seems to be a good model to study the multifunctional abnormalities of PD.

REFERENCES

ALEXANDER, G.E.; CRUTCHER, M.D.; Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. **TRENDS NEUROSCIENCE**. V. 13, p. 266-271, 1990.

ATALLAH, H.E.; LOPEZ-PANIAGUA, D.; RUDY,J.W.; O'REILLY,R.C. Separate neural substrates for skill learning and performance in the ventral and dorsal striatum. **Nature Neuroscience**. V. 10-1, p. 126-131, 2007.

BARRET, A.M.; CRUCIAN, G.; SCHWARTZ,R. NALLANMSHETTY,H.; HEILMAN,K.M. Seeing trees but not the forest- Limited perception of large configurations in PD. **Neurology**. V. 56, p. 724-729, 2001.

BELLISSIMO, M.I.; KOUZMINE, I.; FERRO, M.M.; OLIVEIRA, B.H.; CANTERAS, N.S.; DaCUNHA, C. Is the unilateral lesion of the left substantia nigra pars compacta sufficient to induce working memory impairment in rats? **Neurobiology of Learning and Memory**. V.82, p. 150-158, 2004.

BRAAK, H.; RUB, U.; TREDICI, K.D. Cognitive decline correlates with neuropathological stage in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Science**. 2006.

BRAGA, R. KOUZMINE, I.; CANTERAS, N.B.; DaCUNHA, C. Lesion of the substantia nigra, pars compacta impairs delayed alternation in Y-maze in rats. **Experimental Neurology**. V. 192, p. 134-141, 2005.

BROWN, L.L.; SCHNEIDER, J.; LIDSKY,T.I. Sensory and cognitive of the basal ganglia. **Current Opinion in Neurobiology**. V.7, p. 157-163, 1997.

BROWN,L.A.; COOPER,S.A.; DOAN,J.B.; DICKIN,D.C.; WHISHAW,I.Q.; PELLIS,S.M.; SUCHOWERSKY,O. Parkinsonian deficits in sensory integration postural control: Temporal response to changes in visual input. **Parkinsonism & Related Disorders**. V.12, p.376-381, 2006.

CARBON, M.; MARIE, R.M. Functional imaging of cognition in Parkinson's disease. **Current Opinion in Neurology**. V.16, p. 475-480, 2003.

CASAS, M.; PRAT,G.; ROBLEDO,P.; BARBANOJ,M.; KULIEVSKY,J.; JANÉ,F. Methylxantines reverse the adipsic and aphagic syndrome induced by bilateral lesions of the nigrostriatal pathway in rats. **Pharmacol Biochem Behavior**. V. 66, p. 257-263, 2000.

COSTA, A.; PEPPE, A.; Dell'Agnello, G.; CARLESIMO, G.A.; MURRI,L. et al. Dopaminergic modulation of visuospatial working memory in Parkinson's disease. **Dementia and Geriatric Cognitive disorders**. V.15, p. 55-66, 2003.

CRUCIAN, G.P.; OKUN, M.S. Visual-spatial ability in Parkinson's disease. **Frontiers in Bioscience**. V.8, p. S992-S997, 2003.

DACUNHA, C; GEVAERD, M.S.; VITAL,M.A. B.F.; MYIOSHI,E.; ANDREATINI,R. SILVEIRA,R. *et al.* Memory in rats with nigral lesion induced by MPTP: A model for early Parkinson's disease amnesia. *Behavioural Brain Research*. V. 124, 9-18, 2001.

DACUNHA, C.; ANGELLUCCI, M.E.M; CANTERAS,N.S.; WONNACOTT,S.; TAKAHASHI,R.N. The lesion of the rat substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons as a model for Parkinson's disease memory disabilities. **Cell Mol Neurobiol**. V 22, p 227 – 237, 2002.

DACUNHA, C.; WIETZIKOSKI, S.; WIETZIKOSKI, E.C.; MIYOSHI, E.; FERRO, M.M.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; CANTERAS.N.S. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. **Neurobiology of Learning and Memory**. V 79, p 236 – 242, 2003.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI,S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. **Neuron**. V.39, p. 889-909, 2003.

DAVIDSDOTTIR,S.; CRONIN-GOLOMB,A.; LEE,A. Visual and spatial symptoms in Parkinson's disease. **Vision Research**. V. 45, p. 1285-1296, 2005.

DELONG,M.R.; Primates models of movement disorders of basal ganglia origin. **TREND NEUROSCIENCE**, V. 13, p. 281-289, 1990.

DEUMENS,R.; BLOKLAND,A.; PRICKARERTS,J. Modeling Parkinson's Disease in Rats: An Evaluation of 6-OHDA Lesion of the Nigrostriatal Pathway. **Experimental Neurology**. V. 175, p. 303-307, 2002.

DUBOIS, B.; PILLON,B. Cognitive deficits in Parkinson's disease. **Journal Neurology**. V. 244, p.2-8, 1997.

DUNNET, S.B.; IVERSEN,S.D. Sensorimotor impairments following localized kainic acid and 6-hydroxidopamine lesions of the neostriatum. **Brain Research**. V. 215, p. 147-161, 1982.

FAIRLEY, P.C. MARSHALL,J.F. Dopamine in the lateral caudate-putamen of the rat is essential for somatosensory orientation. **Behavioural Neuroscience**. V. 100, p. 652-663, 1986.

FERNANDEZ-RUIZ J.; WANG, J.; AIGNER,T.G. MISHKIN,M. Visual habit formation in monkeys with neurotoxic lesions of the ventrocaudal neostriatum. **Proc.Natl.Acad. Sci**. V.100, p. 4196-4201, 2001.

FERRO, M.M.; BELLISSIMO, M.I.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; ANGELLUCCI,E.; CANTERAS,N.S.; DACUNHA,C. Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's Disease : Histological, neurochemical, motor and memory alterations. **Journal of Neuroscience Methods**. V. 148, p. 78-87, 2005.

GERLACH, M.; RIEDERER,P. Animals models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in men. **Journal of Neural Transmission**. V. 103, p. 987-1041,1996.

GRAYBIEL, A. The Basal Ganglia and Chunking of Action Repertoires. **Neurobiology of Learning and Memory**. V. 70, p. 119-136, 1998.

HARRIS, J.P.; ATKINSON,E.A.; LEE,A.C.; NITHI,K.; FOWLER,M.S. Hemispace difference in the visual perception of size in left hemiParkinson's disease. **Neuropsychologia**. V. 41, p. 795-807, 2003.

HENDERSON, J.M.; WATSON,S.; HALLIDAY,G.M.; HEINEMANN,T.; GERLACH. Relationships between various behavioural abnormalities and nigrostriatal dopamine depletion in the unilateral 6-OHDA-lesioned rat. **Behavioural brain research**. V. 139, p. 105-113, 2003.

HOOD, K.L.; POSTLE,B.R.; CORKIN,S. An evaluation of the concurrent discrimination task as a measure of habit learning: performance of amnesic subjects. **Neuropsychologia**. V. 37, p. 1375-1386, 1999.

JONES, R.D.; DONALDSON, I.M. Fractionation of visuaoperceptual dysfunction in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**. V. 131, p. 43-50, 1995.

KIMURA, M. Role of basal ganglia in behavioral learning. **Neuroscience Research**. V. 22, p. 353-358, 1995.

KNOWLTON, B.; MANGELS, J.A.; SQUIRE,L.R. A Neostriatal Habit Learning System in Humans. **Science**. V. 273, p. 1399-1402, 1996.

KONDO, J.; KITAMURA, Y.; INDEN,M.; TANIGUCHI.T. Hemiparkinsonian rat models: different sensitivity of dopaminergic neurotoxins. **International Congress Series**. V. 1260, p. 281-285, 2004.

LAATU, S.; REVONSUO, A.; PIHKO, L.; PORTIN, R; RINNE, J.O. Visual object recognition deficits in early Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**. V. 10, p. 227-233, 2004.

LAU, L.M.L.; BRETELER, M.M.B. Epidemiology of Parkinson's disease. **Lancet Neurology**.

LE BRAS,C.; PILLON,B.; DAMIER,P.; DUBOIS,B. At which steps of spatial working memory processing do striatofrontal circuits intervene in humans? **Neuropsychologia**. V. 37, p. 83-90, 1999.

LEE, A.C.; HARRIS, J.P.; ATKINSON, E.A.; FOWLER, M.S. Evidence from a line bisection task for visuospatial neglect in left hemiparkinson's disease. **Vision Research**. V. 41, p. 2677-2686, 2001.

LEWIS, S.J.G.; COOLS,R.; ROBBINS,T.W.; DOVE,A.; BARKER,R.A.; OWEN,A.M. Using executive heterogeneity to explore the nature of working memory deficit in Parkinson's disease. **Neuropsychologia**. V. 41, p. 645-654, 2003.

LJUNGBERG, T.; UNGERSTEDT, U. Sensory inattention produced by 6-OHDA-induced degeneration of ascending DA neurons in the brain. **Experimental Neurology**. V. 53, p. 585-609, 1976.

MARSHALL, J.F.; BERRIOS,N.G. SAWYER,S. Neostriatal dopamine and sensory inattention. **Journal of Comparative Physiology and Psychology**. V. 94, p. 833-846, 1980.

McDONALD, R.J.; WHITE, N.M. A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. **Behavioral Neuroscience**. V. 107, p. 03-22,1993.

MIDDLETON, F.A.; STRICK, P.L. Basal Ganglia Output and Cognition: Evidence from Anatomical, Behavioral, and Clinical Studies. **Brain and Cognition**. V. 42, p. 183-200, 2000.

MIYOSHI, E.; WIETZIKOSKI,S.; CAMPLESSEI,M.; SILVEIRA,R.; TAKAHASHI,E.N.; DACUNHA, C. Impaired learning in a spatial working memory version and in a cued

version of the water maze in rats with MPTP-induced mesencephalic dopaminergic lesion. **Brain Research Bulletin**. V.58, p. 41-47, 2002

NIEOULLON, A. Dopamine and regulation of cognition and attention. **Progress in Neurobiology**. V.67, p 53-83, 2002.

OLTON, D.S.; BECKER,J.T.; HANDLEMANN,G.E. Hippocampus, Space and Memory. **Brain Behaviour Science**. V.2, p. 313-365, 1979.

PACKARD, M.G.; HIRSH, R.; WHITE,N.M. Differential effects of fornix and caudate nucleus lesion on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. **Journal of Neuroscience**. V. 9, p. 1465-1472, 1989.

PACKARD, M.G.; KNOWLTON, B.J. Learning and memory functions of the basal ganglia. **Annual Review of Neuroscience**. V.25,p.563-593,2002.

PASCUAL-LEONE, A.; GRAFMAN, J.; CLARK, K.; STEWART, M.; MASSAQUOI, S.; LOU,J-S. HALLETT, M. Procedural Learning in Parkinson's Disease and Cerebellar Degeneration. **Ann Neurol**. V.34, p. 594-602, 1993.

PACKARD, M.G.; KNOWLTON, B.J. Learning and memory functions of the basal ganglia. **Annual Review of Neuroscience**. V.25, p.563-593,2002.

PAXINOS, G.; WATSON,C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2 ed. San Diego: Academic Press; 1986.

RODRIGUES, M.; BARROSO-CHINEA, P.; ABDALA, P.; OBESO, J.; GONZALES-HERNANDEZ, T. Dopamine cells degeneration induced by intraventricular administration of 6-hydroxydopamine in rat: similarities with cell loss in Parkinson's Disease. V. 169, p.163-181, 2001.

RONCACCI, S.; TROISI, E.; CARLESIMO, G.A.; NOCENTINI, U.; CALTAGIRONE, C. Implicit Memory in Parkinsonian Patients: Evidence for Deficient Skill Learning. **European Neurology**. V. 36, p. 154-159, 1996.

SALMON, D.P.; BUTTERS, N. Neurobiology of skill and habit learning. **Current Opinion in Neurobiology**. V. 5. p. 184-190, 1995.

SEFTON, A.J.; DREHER, B.; HARVEY, A. Visual System. 3.ed. 2004.

SCHNEIDER, J.S.; McLAUGHLIN, W.W.; ROELTGEN, D.P. Motor and nonmotor behavioral deficits in monkeys made hemiparkinsonian by intracarotid MPTP infusion. V.42, p. 1565-1572, 1992.

SCHULTZ, W.; DAYAN, P.; MONTAGUE, P.R. A neural substrate of prediction and reward. **Science**. V. 275, p. 1593-1599, 1997.

SCHULTZ, W. Multiple reward signals in the brain. **NAT. REV. NEUROSCIENCE**. V. 1, p. 199-208, 2000.

SCHWARTING, R.K.W.; HUSTON, J.P. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral brain research. Analyses of functional deficits, recovery and treatments. **Progress in Neurobiology**. V. 50, p. 275-331, 1996.

SCHWARTING, R.K.W.; HUSTON, J.P. Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. **Progress in Neurobiology**. V. 49, p. 215-266, 1996.

TAKAKUSAKI, K.; SAITOH, H.; HARADA, H.; KASHIWAYANAGI, M. Role of basal ganglia-brainstem pathways in the control of motor behaviors. **Neuroscience Research**. V.50, p. 137-151, 2004.

TENG, E.; STEFANACCI, L.; SQUIRE, L.R.; ZOLA, S.M. Contrasting effects on discrimination learning after hippocampal lesions and conjoint hippocampal-caudate lesions in monkeys. **Journal Neuroscience**. V.20, p. 3853-3863, 2000..

THOMAS, V; REYMANN, JM; LIEURY, A; ALLAIN, R. Assessment of procedural memory in Parkinson's disease. **Neuropsychopharmacology & Biol Psychiatric**. V. 20, p.641-650, 1996.

TURNER, R.S.; ANDERSON, M.E. Pallidal discharge related to the kinematics of reaching movements in two dimensions. **Journal Neurophysiology**. V.77, p. 1051-1074, 1997.

TRUONG, L.; ALLBUTT, H.; KASSIOU, M; HENDERSON, J.M. Developing a preclinical model of Parkinson's disease: A study of behaviour in rats with graded 6-OHDA lesion. **Behavioural Brain Research**. V. 169, p. 1-9, 2006.

WHITE, N.M. Mnemonic functions of the basal ganglia. **Cognitive neuroscience**. V.7, p.164-169,1997.

WHITE, N.M.; McDONALD,R.J. Multiple Parallel Memory Systems in the Brain of the Rat. **Neurobiology of Learning and Memory**. V 77, p 125-184, 2002.

WOLTERS, E.C.; FRANCOIS, C.M.J.E. Mental dysfunction in Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**. V.4, p.107-112, 1998.

5. CONCLUSÃO

Os resultados desse estudo mostraram que ratos com lesão unilateral da substância negra, parte compacta, efetuada pela injeção de 6-OHDA no feixe prosencefálico medial apresentam déficits motores, sensoriais e de hábito no aprendizado da tarefa em labirinto radial de 7-braços.

O modelo do labirinto radial de 7-braços pode ser utilizado como modelo experimental da Doença de Parkinson para estudar os déficits motores, sensoriais e de hábito, uma vez que essas alterações também são encontradas em pacientes com doença de Parkinson.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMOVICH, S.V.; BERKINBLIT, M.B.; HENING, W.; SAGE, J.; POIZNER, H. The interaction of visual and proprioceptive inputs in pointing to actual and remembered targets in parkinson's disease. **Neuroscience**. V.104, p.1027-1041, 2001.

ALEXANDER, G.E.; CRUTCHER, M.D.; Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. **TRENDS NEUROSCIENCE**. V.13, p.266-271, 1990.

ATALLAH, H.E.; LOPEZ-PANIAGUA, D.; RUDY, J.W.; O'REILLY, R.C. Separate neural substrates for skill learning and performance in the ventral and dorsal striatum. **Nature Neuroscience**. V. 10-1, p. 126-131, 2007.

BADDELEY, A. Working Memory: Looking back and looking forward **Neuroscience**. V.4, p. 829-839, 2003.

BARRET, A.M.; CRUCIAN, G.; SCHWARTZ, R. NALLANMSHETTY, H.; HEILMAN, K.M. Seeing trees but not the forest- Limited perception of large configurations in PD. **Neurology**. V.56, p. 724-729, 2001.

BECKER, J.T.; MORRIS, R.G. Working Memory (s). **Brain and Cognition**. V. 41, p. 1-8, 1999.

BEER, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO M.A. **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.855p.

BELLISSIMO, M.I.; KOUZMINE, I.; FERRO, M.M.; OLIVEIRA, B.H.; CANTERAS, N.S.; DACUNHA, C. Is the unilateral lesion of the left substantia nigra pars compacta sufficient to induce working memory impairment in rats? **Neurobiology of Learning and Memory**. V.82, p. 150-158, 2004.

BONIFATI, D.M.; KISHORE, U. Role of complement in neurodegeneration and neuroinflammation. **Molecular Immunology**. V. 44, p. 999-1009, 2006.

BRAAK, H.; RUB, U.; TREDICI, K.D. Cognitive decline correlates with neuropathological stage in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Science**. 2006.

BOURAUD, T.; BEZARD, E.; BIOULAC, B.; GROSS, C.E. From single extracellular unit recording in experimental and human Parkinsonism to the development of a functional concept of the role played by the basal ganglia in motor control. **Progress in Neurobiology**. V.66, p. 265-283, 2002.

BOVÉ, J.; PROU, D.; PERIER, C.; PRZEDBORSKI, S. Toxin-Induced Models of Parkinson's Disease. **The American Society for Experimental NeuroTherapeutics**. V.2, p. 484-494, 2005.

BRAGA, R. KOUZMINE, I.; CANTERAS, N.B.; DACUNHA, C. Lesion of the substantia nigra, pars compacta impairs delayed alternation in Y-maze in rats. **Experimental Neurology**. V.192, p. 134-141, 2005.

BROWN, L.L.; SCHNEIDER, J.; LIDSKY, T.I. Sensory and cognitive of the basal ganglia. **Current Opinion in Neurobiology**. V.7, p.157-163, 1997.

BROWN, L.A.; COOPER, S.A.; DOAN, J.B.; DICKIN, D.C.; WHISHAW, I.Q.; PELLIS, S.M.; SUCHOWERSKY, O. Parkinsonian deficits in sensory integration postural control: Temporal response to changes in visual input. **Parkinsonism & Related Disorders**. V.12, p.376-381, 2006.

CARLI, M.; JONES, G.H.; ROBBINS, T.W. Effects of unilateral dorsal and ventral striatal dopamine depletion on visual neglect in the rat: a neural and behavioural analysis. **Neuroscience**. V. 29, p.309-327, 1989.

CHUDASAMA, Y.; ROBBINS, T.W. Functions of frontostriatal systems in cognition: Comparative neuropsychopharmacological studies in rats, monkeys and humans. **Biological Psychology**. V. 73, p.19-38, 2006.

DACUNHA, GEVAERD,M.S.; VITAL,M.A. B.F.; MYIOSHI,E.; ANDREATINI,R. SILVEIRA,R. *et al.* Memory in rats with nigral lesion induced by MPTP: A model for early Parkinson's disease amnesia. *Behavioural Brain Research*. V. 124, p.9-18, 2001.

DACUNHA, C.; WIETZIKOSKI, S.; WIETZIKOSKI, E.C.; MIYOSHI, E.; FERRO, M.M.; ANSELMO-FRANCI, J.A.; CANTERAS.N.S. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. **Neurobiology of Learning and Memory**. V .79, p. 236 – 242, 2003.

DAUER, W.; PRZEDBORSKI,S. Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. **Neuron**. V.39, p. 889-909, 2003.

DAVIDSDOTTIR,S.; CRONIN-GOLOMB,A.; LEE,A. Visual and spatial symptoms in Parkinson's disease. **Vision Research**. V. 45, p. 1285-1296, 2005.

DINIS-OLIVEIRA, R.J. REMIÃO,F.; CARMO,H.; DUARTE,J.A.;NAVARRO,AS.; BASTOS,M.L.; CARVALHO,F. Paraquat exposure as na etiological factor of Parkinson's disease. **Neurotoxicology**.

DJALDETTI, R.; ZIV,I.; MELAMED,E. The mystery of motor asymmetry in Parkinson's disease. **Lancet Neurology**. V. 5, p. 796-802, 2006.

DOWD,E.; DUNNETT,S.E. Comparison of 6-hydroxydopamine-induced medial forebrain bundle and nigrostriatal terminal lesions in rats using a lateralised nose-poking task with low stimulus-response compatibility. **Behavioural Brain Research**. V.165, p.181-186, 2005.

DECAMP,E.; TINKER,J.P.; SCHNEIDER,J.S. Attentional cueing reverses deficits in spatial working memory task performance in chronic low dose MPTP-treated monkeys. **Behavioural Brain Research**. V.152, p.259-262, 2004.

DEUMENS,R.; BLOKLAND,A.; PRICKARERTS,J. Modeling Parkinson's Disease in Rats: An Evaluation of 6-OHDA Lesion of the Nigrostriatal Pathway. **Experimental Neurology**. V.175, p. 303-307, 2002.

DJALDETTI,R. ZIV,I. MELAMED,E. The mystery of motor asymmetry in Parkinson's disease. **Lancet Neurology**. V.5, p.796-802, 2006.

DUBOIS, B.; PILLON,B. Cognitive deficits in Parkinson's disease. **Journal Neurology**. V.244, p.2-8, 1997.

ERICKSEN,J.L.; PETRUCELLI,L.; Parkinson's disease – molecular mechanisms of disease. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**. V.1, p. 399 – 405, 2004.

FERRO, M.M.; BELLISSIMO,M.I.; ANSELMO-FRANCI,J.A.; ANGELLUCCI,E.; CANTERAS,N.S.; DACUNHA,C. Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's Disease : Histological, neurochemical, motor and memory alterations. **Journal of Neuroscience Methods**. V.148, p.78-87, 2005.

FITZSIMMONS,D.F.; MOLONEY, T.C.; DOWD,E. Further validation of the corridor task for assessing deficit and recovery in the hemi-Parkinsonian rat: Restoration of bilateral food retrieval by dopamine receptor agonism. **Behavioural Brain Research**, V.169, p. 352-355,2004.

GERLACH,M.;RIEDERER,P. Animals models of Parkinson's disease: an empirical comparison with the phenomenology of the disease in men. **Journal of Neural Transmission**. V.103, p. 987-1041,1996.

GRAYBIEL, A. The Basal Ganglia and Chunking of Action Repertoires. **Neurobiology of Learning and Memory**. V.70, p. 119-136, 1998.

HARRIS,J.P.; ATKINSON,E.A.; LEE,A.C.; NITHI,K.; FOWLER,M.S. Hemispace difference in the visual perception of size in left hemiParkinson's disease. **Neuropsychologia**. V. 41, p. 795-807, 2003.

HENDERSON, J.M.; WATSON,S.; HALLIDAY,G.M.; HEINEMANN,T.; GERLACH. Relationships between various behavioural abnormalities and nigrostriatal dopamine depletion in the unilateral 6-OHDA-lesioned rat. **Behavioural brain research**. V. 139, p. 105-113, 2003.

HOOD,K.L.; PSTLE,B.R.; CORKIN,S. An evaluation of the concurrent discrimination task as a measure of habit learning: performance of amnesic subjects. **Neuropsychologia**. V.37, p. 1375-1386, 1999.

JONES,R.D.; DONALDSON,I.M. Fractionation of visuaoperceptual dysfunction in Parkinson´s disease. **Journal of the Neurological Sciences**. V.131, p. 43-50, 1995.

KIMURA, M. Role of basal ganglia in behavioral learning. **Neuroscience Research**. V. 22, p. 353-358, 1995.

KNOWLTON,B.; MANGELS,J.A.; SQUIRE,L.R. A Neostriatal Habit Learning System in Humans. **Science**. V.273, p. 1399-1402, 1996.

KOENIG, O.; THOMAS-ANTERION,C.; LAURENT,B. Procedural learning in Parkinson´s disease: Intact and impaired cognitive components. **Neuropsychologia**. V.37, p.1103-1109, 1999.

KONDO, J.; KITAMURA, Y.; INDEN,M.; TANIGUCHI.T. Hemiparkinsonian rat models: different sensitivity of dopaminergic neurotoxins. **International Congress Series**. V. 1260, p. 281-285,2004.

LAATU,S.; REVONSUO,A.; PIHKO,L.; PORTIN,R; RINNE,J.O. Visual object recognition deficits in early Parkinson`s disease. **Parkinsonism and Related Disorders**. V.10, p. 227-233, 2004.

LANG,A.E.; OBESO,J.A. Challenges in Parkinson´s disease: restoration of the nigrostriatal dopamine system is not enough. **The Lancet Neurology**. V.3, p. 309-316, 2004.

LAU, L.M.L.; BRETELER, M.M.B. Epidemiology of Parkinson's disease. **Lancet Neurology**.

LE BRAS, C.; PILLON, B.; DAMIER, P.; DUBOIS, B. At which steps of spatial working memory processing do striatofrontal circuits intervene in humans? **Neuropsychologia**. V.37, p. 83-90, 1999.

LEE, A.C.; HARRIS, J.P.; ATKINSON, E.A.; FOWLER, M.S. Evidence from a line bisection task for visuospatial neglect in left hemiparkinson's disease. **Vision Research**. V. 41, p. 2677-2686, 2001.

LEWIS, S.J.G.; SLABOSZ, A.; ROBBINS, T.W.; BARKER, R.A.; OWEN, W.M. Dopaminergic basis for deficits in working memory but not attentional set-shifting in Parkinson's disease. **Neuropsychologia**. V.43, p. 823-832, 2005.

LEVIN, B.E.; LLABRE, M.M.; WEINER, W.J. Cognitive impairments associated with early Parkinson's disease. **Neurology**. V.39, p. 557-561, 1989.

McDONALD, R.J.; WHITE, N.M. A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. **Behavioral Neuroscience**. V.107, p. 03-22, 1993.

McNAMARA, P.; DURSO, R. Pragmatic communication skills in patients with Parkinson's disease. **Brain and Language**. V. 84(3), p.414-423, 2003.

MIDDLETON, F. A.; STRICK, P. L. Basal Ganglia Output and Cognition: Evidence from Anatomical, Behavioral, and Clinical Studies. **Brain and Cognition**. V. 42, p. 183-200, 2000.

MIYOSHI, E.; WIETZIKOSKI, S.; CAMPLESSEI, M.; SILVEIRA, R.; TAKAHASHI, E.N.; DACUNHA, C. Impaired learning in a spatial working memory version and in a cued version of the water maze in rats with MPTP-induced mesencephalic dopaminergic lesion. **Brain Research Bulletin**. V.58, p. 41-47, 2002

MILLER, J.L. Parkinson's Disease Primer. **Geriatric Nursing**. V.23, p.69-75, 2002.

MILTON, A.L.; MARSHALL, J.W.B.; CUMMINGS, R.M.; BAKER, H.F.; RIDLEY, R.M. Dissociation of hemi-spatial and hemi-motor impairments in a unilateral primate model of Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research**. V. 150, p. 55-63, 2004.

MORRIS, M.E.; IANSEK, R. Characteristics of motor disturbance in Parkinson's disease and strategies for movement rehabilitation. **Human Movement Science**. V. 15, p. 649-669, 1996.

NIEOULLON, A. Dopamine and regulation of cognition and attention. **Progress in Neurobiology**. V.67, p. 53-83, 2002.

OGURA, T.; OGATA, M.; AKITA, H.; JITSUKI, S.; AKIBA, L.; NODA, K.; HAKA, S.; SAJI, M. Impaired acquisition of skilled behavior in rotarod task by moderate depletion of striatal dopamine in a pre-symptomatic stage model of Parkinson's disease. **Neuroscience Research**. V.51, p.299-308, 2005.

OLTON, D.S. The radial arm maze as a tool in behavioral pharmacology. **Physiology & Behaviour**. V. 40, p. 793-797, 1987

PACKARD, M.G.; HIRSH, R.; WHITE, N.M. Differential effects of fornix and caudate nucleus lesion on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. **Journal of Neuroscience**. V. 9, p. 1465-1472, 1989.

PACKARD, M.G.; McGAUGH, J.L. Double Dissociation of fornix and caudate nucleus lesions on acquisition of two water maze task: further evidence for multiple memory systems. **Behavior Neuroscience**, V. 106, n.3, p. 439-446, 1992.

PASCUAL-LEONE, A.; GRAFMAN, J.; CLARK, K.; STEWART, M.; MASSAQUOI, S.; LOU, J-S. HALLETT, M. Procedural Learning in Parkinson's Disease and Cerebellar Degeneration. **Ann Neurol**. V.34, p. 594-602, 1993.

PACKARD, M.G.; KNOWLTON, B.J. Learning and memory functions of the basal ganglia. **Annual Review of Neuroscience**. V.25, p.563-593, 2002.

PACKARD, M.G.; McGAUGH, J.L. Inactivation of Hippocampus or Caudate Nucleus with Lidocaine Differentially Affects Expression of Place and Response Learning. **Neurobiology of Learning and Memory**, V. 65, p.65-72, 1996.

PAXINOS,G.; WATSON,C. editors. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2 ed. San Diego: Academic Press; 1986.

POLDRACK, R.A.; RODRIGUEZ, P. How do memory systems interact? Evidence from human classification learning. **Neurobiology of Learning and Memory**, V. 82, p. 324-332, 2004.

RONCACCI,S.; TROISI,E.; CARLESIMO,G.A.; NOCENTINI,U.; CALTAGIRONE,C. Implicit Memory in Parkinsonian Patients: Evidence for Deficient Skill Learning. **European Neurology**. V.36, p. 154-159, 1996.

ROUSE,S.T.; MARINO,M.J.; BRADLEY,S.R.; AWAD,H.;WITTMANN,M.; CONN,P.J. Distribution and roles of metabotropic glutamate receptors in the basal ganglia motor circuit: implications for treatment of Parkinson's Disease and related disorders. **Pharmacology & Therapeutics**. V. 88. p. 427-435, 2000.

SALMON, D.P.; BUTTERS, N. Neurobiology of skill and habit learning. **Current Opinion in Neurobiology**. V. 5. p. 184-190, 1995.

SCHRAG,A.; Quality of life and depression in Parkinson's disease. **Journal of the Neurological Sciences**. 2006

SCHRAG,A.; SCHOTT,J.M.; Epidemiological, clinical, and genetic characteristics of early-onset parkinsonism. **Lancet Neurology**. V. 5. p. 355-363, 2006.

SCHULZ,G.M.; GRANT,M.K. Effects of speech therapy and pharmacologic and surgical treatments on voice and speech in Parkinson's disease: A review of the literature. **Journal Commun. Disorders.** V. 33. p.59-88, 2000.

SCHWARTING, R.K.W.; HUSTON, J.P. The unilateral 6-hydroxidopamine lesion model in behavioral brain research. Analyses of functional deficits, recovery and treatments. **Progress in Neurobiology.** V.50, p. 275-331, 1996.

SCHWARTING, R.K.W.; HUSTON, J.P. Unilateral 6-hydroxidopamine lesions of meso-striatal dopamine neurons and their physiological sequelae. **Progress in Neurobiology.** V.49, p. 215-266, 1996.

SELLBACH, A.N; BOYLE, R.S.; SILBURN,P.A.; MELLICK,G.D. Parkinson's disease and family history. **Parkinsonism & Related Disorders.** V.12, p 399-409, 2006.

SHOHAMI, D.; MYERS, C.E.; GROSSMAN,S.; SAGE,J. GLUCK,M.A. The role of dopamine in cognitive sequence learning: evidence from Parkinson's disease. **Behavioural Brain Research.** V 156, p191-199, 2005.

STOCCHI, F. Prevention and treatment of motor fluctuations. **Parkinsonism and Related Disorders.** V.9, p. 73-81, 2003.

TAKAKUSAKI,K.; SAITOH,H.; HARADA,H.; KASHIWAYANAGI,M. Role of basal ganglia-brainstem pathways in the control of motor behaviors. **Neuroscience Research.** V.50, p. 137-151, 2004.

THOMAS, V; REYMANN,JM; LIEURY,A; ALLAIN,R. Assessment of procedural memory in Parkinson's disease. **Neuropsychofarmacology & Biol Psychiatric.** V.20, p.641-650, 1996.

TRUONG,L.; ALLBUTT,H.; KASSIOU,M; HENDERSON,J.M. Developing a preclinical model of Parkinson's disease: A study of behaviour in rats with graded 6-OHDA lesion. **Behavioural Brain Research.** V. 169, p. 1-9, 2006.

UNGERSTED, U. Postsynaptic supersensitivity after 6-Hydroxydopamine Induced Degeneration of the Nigro-striatal Dopamine System. **Acta Physiological Scandinava**. V.367. Suppl.69, p.28-40, 1971.

WHITE,N.M. Mnemonic functions of the basal ganglia. **Cognitive neuroscience**. V.7, p.164-169, 1997.

WHITE, N.M.; McDONALD,R.J. Multiple Parallel Memory Systems in the Brain of the Rat. **Neurobiology of Learning and Memory**. V 77, p 125-184, 2002.

WOLTERS,E.C.; FRANCOIS,C.M.J.E. Mental dysfunction in Parkinson's disease. **Parkinsonism & Related Disorders**. V.4, p.107-112, 1998.

ZGALJARDIC,D.J.; FOLDI,N.S.; BOROD, J.C. Cognitive and behavioral dysfunction in Parkinson's disease: neurochemical and clinicopathological contributions. **Journal of Neural Transmission**. V.111, p 1287-1301, 2004.