

MICHELE LIMA GREGORIO

**ESTUDO DO APRENDIZADO DE HÁBITO EM UM MODELO ANIMAL DE
PARKINSONISMO**

Monografia apresentada ao Departamento de Farmacologia,
Setor Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná,
Curso de Ciências Biológicas, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio da Cunha.

CURITIBA

2004

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	3
1.1. MODELOS ANIMAIS DA DOENÇA DE PARKINSON.....	4
1.2. MEMÓRIA.....	7
1.3. MODELOS DE MEMÓRIA.....	9
1.4. UM EXEMPLO DE TESTE DE MEMÓRIA DE HÁBITO.....	13
1.5. UM EXEMPLO DE TESTE DE HABITUAÇÃO ALIMENTAR.....	14
1.6. O MODELO DO MPTP PARA A DOENÇA DE PARKINSON.....	17
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL.....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3. METODOLOGIA	18
3.1. ANIMAIS.....	18
3.2. BUSCANDO UM MODELO DE MEMÓRIA DE HÁBITO EM RATOS – DISCRIMINAÇÃO PROBABILÍSTICA DE DICAS VISUAIS EM UM LABIRINTO AQUÁTICO.....	19
3.3. BUSCANDO UM MODELO DE MEMÓRIA DE HÁBITO EM RATOS – DISCRIMINAÇÃO PROBABILÍSTICA DE DICAS VISUAIS COM REFORÇO ALIMENTAR.....	21
4. RESULTADOS	22
4.1. RESULTADOS DO TESTE DE DISCRIMINAÇÃO DE PADRÕES NO LABIRINTO AQUÁTICO.....	22
4.2. RESULTADOS DO TESTE DE DISCRIMINAÇÃO PROBABILÍSTICA DE DICAS VISUAIS COM REFORÇO ALIMENTAR.....	24
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	26

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....27

1. INTRODUÇÃO

A doença de Parkinson constitui um dos distúrbios do movimento mais encontrado na população idosa mundial, sendo que sua incidência é de aproximadamente 0,15% da população total e 0,5% das pessoas com mais de 50 anos (STOOF *et al.*, 1999). A doença de Parkinson é uma das desordens neurodegenerativas relacionadas à idade mais comuns em seres humanos, tendo sido descrita pela primeira vez por James Parkinson, em 1817 como uma “paralisia agitante”, uma doença crônica e progressiva que provoca distúrbios motores (BLUM *et al.*, 2001). Os sintomas mais característicos desta doença são o tremor de repouso, a bradicinesia ou acinesia e a rigidez muscular do tipo plástica (BLUM *et al.*, 2001; MENEZES, 1996). Outros sintomas que podem ser apresentados pelos pacientes portadores desta doença são a micrografia, disfunções do sistema nervoso autônomo, depressão e alterações cognitivas.

Algumas evidências indicam que a degeneração de neurônios dopaminérgicos nigrais e, conseqüentemente, a diminuição da quantidade de dopamina estriatal são os responsáveis pelos sintomas da doença (GERLACH *et al.*, 1996; ALLAIN e BENTUEFERRER, 1997).

A causa primária da doença de Parkinson não é conhecida, mas a idade é um dos fatores que influenciam a prevalência da doença (HAGAN *et al.*, 1997). A lesão dos neurônios dopaminérgicos localizados na substância negra, parte compacta (SN_c), os quais se projetam para o estriado, provoca uma queda nos níveis de dopamina. A doença de Parkinson só é detectada quando a perda dos neurônios dopaminérgicos chega a 50 - 70%, ocasião em que os sintomas motores já estão avançados (BLUM *et al.*, 2001).

A via dopaminérgica nigroestriatal origina-se no grupo celular A9, que se localiza na SN_c, onde os axônios neuronais percorrem o feixe prosencefálico medial até o estriado dorsal. Devido à perda destes neurônios, há uma queda nos níveis de dopamina no estriado, o que promove prejuízos motores. Por provocar uma perda progressiva dos neurônios da SN_c, a doença de Parkinson é considerada uma doença neurodegenerativa (DEUMENS *et al.*, 2002).

O estriado pode ser dividido em uma parte dorsal (putâmen e núcleo caudado) e ventral (núcleo accumbens). O núcleo caudado e o putâmen são separados pela cápsula interna no cérebro humano enquanto que, no rato, essas estruturas são fundidas no complexo caudado-putâmen (DEUMENS *et al.*, 2002).

O estriado é a principal estrutura que recebe aferências da SN_c, além de receber aferências de diversas áreas corticais, e projeta fibras por vias intrínsecas para outras estruturas dos núcleos da base como o globo pálido e a substância negra, parte reticulata (SN_R). Os neurônios destas duas estruturas projetam para os núcleos motores ventral e intralaminar do tálamo de onde projetam neurônios de volta para o córtex frontal e estriado (FERRO, 2003). A dopamina modula todo o circuito, pois, ao ser liberada dos terminais nervosos, modula a atividade das células estriatais (FERRO, 2003).

Além dos sintomas motores, pacientes com doença de Parkinson exibem disfunções cognitivas, onde, em casos mais extremos, os pacientes sofrem de demência (DEUMENS *et al.*, 2002). Danos nos núcleos da base produzem alterações tanto motoras quanto cognitivas com a evolução da doença (MIDDLETON *et al.*, 2000) afetando a capacidade de atenção e concentração (dependentes do córtex pré-frontal) além da memória de procedimentos (dependente do estriado). Lesões no estriado prejudicam o desempenho em testes de memória implícita (PACKARD e TEATHER, 1998; McDONALD e WHITE, 1994).

Conseqüentemente, nos últimos anos, tem-se observado um maior interesse pelos déficits cognitivos da doença de Parkinson, pois muitos estudos mostram o déficit de memória associado a esta doença, sendo que a maioria dos trabalhos foi realizada com humanos (JACKSON *et al.*, 1995; RONCACCI *et al.*, 1996; FAGLIONI *et al.*, 1997; DUBOIS e PILLON, 1997; PILLON *et al.*, 1998; HELMUTH *et al.*, 2000) devido a modelos animais insuficientes para tal estudo.

Para suprir esta carência, neste trabalho buscamos desenvolver um modelo animal de déficit de memória associada à doença de Parkinson com a utilização de MPTP na SN_c de ratos.

1.1. MODELOS ANIMAIS DA DOENÇA DE PARKINSON

Modelos animais são de grande auxílio nos estudos pré-clínicos de doenças porque permitem o estudo dos mecanismos fisiológicos da evolução de patogenias e dos seus

princípios de tratamento. Uma vez que o mecanismo fisiológico que causa a patologia é compreendido, o modelo é útil para a determinação de estratégias terapêuticas. Esses modelos animais são então válidos desde que sejam capazes de reproduzir com certa fidelidade o estado da doença quando esta acomete o homem (GERLACH *et al.*, 1996).

Um modelo animal pode ser definido como sendo uma preparação experimental que tem o propósito de estudar uma patologia humana em uma outra espécie animal. São preparações que tentam reproduzir condições humanas, incluindo neuropatologias, uma vez que muitos estudos são eticamente inviáveis em pacientes vivos (RODRIGUEZ *et al.*, 2001). Quando se desenvolve um modelo animal, é importante e necessário que se considere explicitamente o propósito de tal preparação, pois isso determinará o critério ao qual o modelo satisfará e estabelecerá a sua validade.

Uma proposta ambiciosa é a tentativa de se desenvolver um modelo que reproduza uma patologia em toda sua extensão, o que é uma tarefa muito complexa (GEYER e MARKOU, 1995). Uma outra proposta, mais realista, pretende estudar sistematicamente os efeitos potenciais de estratégias terapêuticas. Neste caso, o modelo pode não reproduzir todas as características da patologia, e com este modelo tem-se a intenção apenas de refletir a eficácia de agentes terapêuticos, levando ao desenvolvimento de novos tratamentos farmacológicos. Estes modelos animais devem responder a critérios como a reprodutibilidade e as validades preditiva e etológica (DEUMENS *et al.*, 2002; GEYER e MARKOU, 1995).

Não há modelos perfeitos, pois cada modelo desenvolvido possui aspectos positivos e negativos, ou seja, apresentam limitações, as quais devem ser levadas em consideração para que se possa usar o modelo mais adequado em cada investigação. Então, pode-se considerar que múltiplos modelos são necessários para cada patologia, para que cada modelo ajude na investigação de uma característica da doença de modo mais refinado (GEYER e MARKOU, 1995).

Desde os primeiros estudos neuroquímicos *post mortem* em pacientes portadores da doença de Parkinson, muitos modelos animais foram desenvolvidos com o objetivo de reproduzir diferentes aspectos anatômicos e sintomáticos da doença (BEAL, 2001). Tais modelos têm contribuído muito para consideráveis avanços no conhecimento da fisiopatologia das doenças neurodegenerativas e são extremamente necessários na pesquisa atual (RODRÍGUEZ *et al.*, 2001; DEUMENS *et al.*, 2002; KAAKOLA, *et al.*, 1990).

A doença de Parkinson é uma das doenças que não se desenvolve em outros animais além do homem. Apesar disso, suas características motoras e cognitivas podem ser reproduzidas em outras espécies animais através da administração sistêmica ou intracerebral de compostos como a 6-hidroxidopamina (6-OHDA), a metanfetamina, a rotenona, a reserpina, ou o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP).

A maioria destes modelos envolve lesões atingindo principalmente núcleos como a substância negra, o feixe mesencefálico ou o estriado, utilizando agentes físicos ou químicos que provocam a depleção da dopamina estriatal. Como animais alvos de tais lesões, são usados principalmente macacos e roedores (HENDERSON *et al.*, 2003; DEUMENS *et al.*, 2002). Como a doença é reconhecida pelos seus sintomas motores, existem atualmente poucos modelos que visam facilitar o estudo dos sintomas cognitivos da doença de Parkinson, como, por exemplo, o déficit de memória (MIYOSHI *et al.*, 2002).

Os modelos animais de doença de Parkinson em roedores são bem aceitos em relação às suas características anatômicas e bioquímicas, porém não podem ser considerados modelos funcionais completos pois a síndrome comportamental é superficialmente semelhante aos aspectos da forma idiopática da doença de Parkinson, além do fato de que muitos não são capazes de reproduzir a natureza progressiva da doença. Para este aspecto, modelos em primatas são os mais indicados (BANKIEWICZ *et al.*, 1999).

A doença de Parkinson é progressiva, o que significa que podem ser identificados diferentes estágios de depleção de dopamina. A maioria dos modelos animais envolvendo o sistema dopaminérgico implica em lesão única, não evolutiva. Deste modo, deve ser questionado em qual estágio do desenvolvimento desta síndrome no ser humano é interessante o desenvolvimento do modelo. Quando os sinais motores da doença aparecem, mais de 70% dos neurônios já foram destruídos e a concentração de dopamina no estriado encontra-se ao menos 80% mais baixa (DEUMENS *et al.*, 2002).

Um dos modelos animais que melhor caracteriza a doença de Parkinson é o que utiliza a neurotoxina MPTP porque este modelo já foi anteriormente testado em diversos estudos, os quais demonstraram sua eficácia no desenvolvimento de tal modelo. Esta neurotoxina é altamente lipofílica e atravessa facilmente a barreira hematoencefálica, sendo então convertida para a sua forma ativa o 1-metil-4-fenilpiridina (MPP⁺) pela enzima monoamina oxidase B (MAO B). O MPP⁺ é então captado pelo transportador de dopamina

de membrana pelo qual possui muita afinidade. É por isso que animais que são deficientes deste sistema de transporte apresentam resistência à toxicidade do MPTP (GHORAYEB *et al.*, 2002).

O MPP⁺ captado é concentrado na mitocôndria e inibe o complexo I da cadeia de transporte de elétrons, o que acaba reduzindo a produção de ATP (BEAL, 2001). A falha na produção de energia pelas mitocôndrias pode levar a uma despolarização e ativação secundária de receptores voltagem-dependentes NMDA do glutamato. Assim, o papel do MPP⁺ na morte neuronal pode ser o de aumentar a vulnerabilidade da célula a um estresse oxidativo (LEE *et al.*, 2000).

1.2. MEMÓRIA

Memória pode ser definida como o processo pelo qual se adquire e se retém informações que possam ser recuperadas e usadas posteriormente (LENT, 2001). Esses processos podem ser severamente prejudicados no caso de doenças neurodegenerativas, como as relacionadas ao parkinsonismo (IZQUIERDO, 2002). Os processos de memória podem ser divididos em aquisição, consolidação e evocação, os quais envolvem mecanismos celulares e estruturas neuronais diferentes (IZQUIERDO, 2002). Segundo KANDEL (1995), a aquisição da memória refere-se a alterações em circuitos neurais existentes devido ao contato com uma situação de aprendizagem nova. A consolidação é o processamento dessas informações, que faz com que elas fiquem armazenadas por períodos maiores, podendo haver mudanças plásticas nas conexões sinápticas responsáveis pelo armazenamento. A evocação corresponde ao ato de lembrar ou acessar memórias quando se faz necessário (IZQUIERDO, 2002; LENT, 2001; ZIGMOND *et al.*, 1999; FUSTER, 1997).

A classificação das memórias pode ser feita, de acordo com sua duração, em memória de longa duração, memória de curta duração e memória operacional ou de trabalho. A memória de longa duração é aquela que dura horas, dias, meses ou anos. A memória de curta duração é o processo que mantém a memória funcionando durante as horas nas quais a de longa duração ainda não adquiriu a sua forma. A memória operacional dura alguns segundos ou poucos minutos, enquanto ela está sendo processada. Este é

um tipo de memória muito breve, que serve apenas para “gerenciar a realidade” e orientar o pensamento e o comportamento.

A memória de longa duração pode ser dividida em memórias declarativas (ou explícitas), as quais são memórias conscientes que podem ser evocadas verbalmente e em memórias implícitas (procedurais ou de hábitos), as quais são adquiridas e evocadas automaticamente (SALMON e BUTTERS, 1995; IZQUIERDO, 1999).

O armazenamento de memórias explícitas requer a ativação do hipocampo e de áreas adjacentes ao lobo temporal (IZQUIERDO, 2002; KANDEL, 1995). As memórias implícitas incluem o aprendizado perceptual e motor, que não requer conscientização. A consolidação deste tipo de memória envolve estruturas como o cerebelo, a amígdala e os núcleos da base (KOLB e WHISHAW, 2002; ZIGMOND *et al.*, 1999; KANDEL, 1995).

Alguns estudos sugerem que pacientes com doença de Parkinson são prejudicados no teste de memória operacional e em outras funções executivas centrais (MIYOSHI *et al.*, 2002). Tais déficits podem ser causados por uma lesão parcial da via dopaminérgica mesocortical ou pela falta de dopamina no estriado e, conseqüentemente, da perda da modulação dopaminérgica das projeções glutamatérgicas do córtex pré-frontal ao estriado (MIYOSHI *et al.*, 2002). Isto porque os núcleos da base interagem com o córtex pré-frontal através de um circuito neuronal específico (ALEXANDER *et al.*, 1986) o qual também está implicado na memória operacional (KERMADI & JOSEPH, 1993; PARTIOT *et al.*, 1996; LEVY *et al.*, 1997).

A dopamina tem um papel muito importante na memória, pois manipulações farmacológicas periféricas e centrais da dopamina apresentam efeito modulatório sobre processos concomitantes de armazenamento de memória (MIYOSHI, 2001). Como na doença de Parkinson é observada uma depleção severa nos níveis de dopamina nos núcleos da base (GERLACH *et al.*, 1996; BARRIO *et al.*, 1997; BEZARD *et al.*, 1997; LINDNER *et al.*, 1999) e no córtex pré-frontal (STEBINS *et al.*, 1999; MARIÉ *et al.*, 1999), é provável que essa seja uma das principais causas dos déficits cognitivos relacionados a esta doença.

Estudos têm demonstrado que o aprendizado espacial em ratos depende criticamente da integridade do hipocampo enquanto que o aprendizado, no teste com dica visual, depende criticamente da integridade do estriado dorsal (DA CUNHA *et al.*, 2003). Este é um modelo das deficiências cognitivas observadas em pacientes na fase inicial da doença de

Parkinson nos quais a via nigroestriatal está prejudicada, apresentando prejuízos no aprendizado de hábitos (DA CUNHA *et al.*, 2003).

O papel dos núcleos da base permanece enigmático apesar de décadas de intensa investigação. Uma especulação comum é que os núcleos da base realizam respostas relativamente automáticas a aferências sensoriais, aprendidas ou inatas. Essa suposição foi denominada de hipótese do hábito que envolveria a participação dos núcleos da base (WISE, 1996). MISHKIN *et al.* (1984a , 1984b, 1987) propuseram, inicialmente, que os núcleos da base e suas aferências cortico-estriatais realizavam o que eles denominavam 'hábitos'. Os aspectos chave do comportamento habitual incluem: (a) aprendizagem lenta, (b) relativamente estável no tempo, exceto sob condições de extinção, (c) pequena transferência entre os sistemas efetores e o contexto comportamental, e (d) indisponível aos mecanismos da consciência. Em humanos, este tipo de memória tem sido considerada uma dentre muitas formas de conhecimento não declarativo, implícito ou procedural (WISE, 1996).

WEBSTER *et al.*(1993) repetiram a idéia de que 'o caminho do córtex temporal inferior até o estriado é parte de um circuito que fundamenta associações visuo-motoras ou 'hábitos' visuais'. SQUIRE *et al.* (1993) concluem que 'diversos trabalhos sugerem que as estruturas cerebrais importantes na aquisição de habilidades e hábitos envolvem o sistema cortico-estriatal'. BACHEVALIER (1990) afirma do sistema de hábito cortico-estriatal tem um desenvolvimento precoce na infância, precedendo o sistema de memória declarativa mediada pela formação hipocampal.

O aprendizado e a retenção da discriminação visual têm sido relatados como sendo prejudicados por danos na cauda do núcleo caudado (DIVAC *et al.*, 1967) no putâmen ventroposterior e arredores. Déficits na discriminação do padrão visual podem ser devido a uma inabilidade em aprender uma resposta ao estímulo, por uma inabilidade em formar este hábito (WISE, 1996).

1.3. MODELOS DE MEMÓRIA

Produzir um modelo animal com prejuízo de memória observado na doença de Parkinson é um desafio, pois esta doença é caracterizada por prejuízos motores e, em testes de aprendizado e memória, a memória é expressa através de respostas motoras. Entretanto,

como os déficits de aprendizado e memória ocorrem nos estágios iniciais da doença de Parkinson, quando os prejuízos motores são dificilmente diagnosticados, a utilização de ratos com lesão parcial da SNc que afeta apenas o aprendizado e memória e não as habilidades motoras, são ótimos modelos da doença de Parkinson (DA CUNHA *et al.* 2002).

A administração de intranigral de drogas que causa uma lesão parcial da SNc, como o MPTP, ocasiona uma perda específica de dopamina e seus metabólitos no estriado de ratos. Estes animais apresentam déficits no aprendizado e memória, mas não têm prejuízos senso-motores. Os déficits cognitivos observados nestes animais afetam testes de memória como o modelo de aprendizado de hábito e de memória operacional, mas não prejudica o teste de memória espacial (DA CUNHA *et al.* 2002).

Estes são diferentes testes de memória, realizados no Labirinto Aquático de Morris. Este labirinto consiste em uma piscina de cor preta de forma circular, com 1,68 m de diâmetro e 0,5 m de altura, e possui 4 pontos de partida que delimitam 4 quadrantes. No centro de cada um deles há um encaixe, no fundo da piscina, para a fixação de plataformas, as quais são de acrílico transparente (com base de 11 x 14 cm) e ficam submersas a 2 cm abaixo da superfície da água. Nas paredes da sala onde se encontra o labirinto há dicas visuais, as quais servem de ponto de referência para a localização do animal dentro do labirinto.

Um dos testes de memória é chamado *Working Memory* ou Memória Operacional. Este teste avalia a memória de curta duração, testando a capacidade do animal em aprender rapidamente e aplicar logo em seguida o que aprendeu, sem o envolvimento de aprendizados anteriores. Neste teste, a plataforma fica fixa em um dos 4 quadrantes e o animal possui 60 s para encontrá-la, caso contrário é conduzido até ela, onde permanece por 20 s. A plataforma permanece no mesmo quadrante e o animal é solto dos outros pontos da piscina. No dia seguinte, a plataforma muda de quadrante, de modo que as localizações da plataforma e os pontos de partida são trocados diariamente, de maneira aleatória. O teste tem a duração de 5 dias.

O outro teste é o teste de Memória de Hábito que utiliza dica visual na plataforma, a qual consiste em uma bola branca de 7 cm de diâmetro que fica em cima da plataforma submersa e acima do nível da água. Neste teste, cada animal é submetido a quatro treinos diários no labirinto aquático sendo que em cada treino a posição da plataforma muda de quadrante. Em cada treino, o animal é liberado de um ponto diferente da piscina e dispõe de 60 s para encontrar a plataforma, onde permanece por 20 s. Após este intervalo de tempo é

colocado em sua gaiola por 30 s e, ao término deste tempo, retorna ao labirinto. Este teste é desenvolvido por 4 dias.

O teste de Memória Espacial de Referência é realizado durante 5 dias. Neste teste, o animal realiza 4 treinos diários e é liberado de 4 diferentes pontos da piscina, mas a posição da plataforma é a mesma durante os 5 dias de teste, ou seja, não muda de quadrante. O animal dispõe de 60 s para encontrá-la e nela permanece por 20 s. Em seguida é colocado em sua gaiola por 30 s e após este tempo retorna a piscina para a realização do treino subsequente.

Acredita-se que a cafeína e outras xantinas relacionadas melhoram o aprendizado e a memória (ANGELUCCI *et al.*, 1999). Por outro lado, uma revisão dos estudos sobre este assunto mostra que há uma controvérsia sobre isso. Enquanto muitos estudos sugerem que a cafeína possui um efeito de melhora em modelos de aprendizado e memória tanto animais (PARÉ, 1961; RAHMANN, 1963; FLEXNER e FLEXNER, 1975; ROUSSINOV e YONKOV, 1976; FLOOD *et al.*, 1978; YONKOV e ROUSSINOV, 1983; VALZELLI *et al.*, 1986; MOLINENGO *et al.*, 1995; CESTARI e CASTELLANO, 1996; HOWELL *et al.*, 1997) como humanos (CALEV, 1994; RIEDEL e JOLLES, 1996; RIEDEL *et al.*, 1995; POLLINA e CALEV, 1997), outros estudos mostram que a cafeína não afeta a memória (LOKE, 1988; LOKE *et al.*, 1985; FURUSAWA, 1991; HUDZIK e WENGER, 1993; SMITH *et al.*, 1994) ou mesmo a prejudica (BARTUS, 1979; IZQUIERDO *et al.*, 1979; ERIKSON *et al.*, 1985; TERRY e PFIFER, 1986; KANT, 1993; SANSONE *et al.*, 1994; PAN, 1995; FISHER e GUILLET, 1997).

Uma possível razão para tal controvérsia talvez seja porque a cafeína não possui um efeito geral de melhora em todos os tipos de memória e que seu efeito pode ser o mesmo em todas as fases do processamento da memória. Apesar do grande número de estudos existentes na literatura sobre o efeito da cafeína na memória, nenhum deles apresentou um estudo sistemático dos efeitos da cafeína na memória considerando o estágio específico do armazenamento da memória que é afetado e as especificidades de cada teste de memória (ANGELUCCI *et al.*, 1999).

ANGELUCCI *et al.* (1999) estudaram o efeito da cafeína na aquisição, consolidação e evocação de dois testes de memória animal. Usaram a esQUIVA inibitória e habituação porque estes testes de memória representam diferentes tipos de aprendizado, suficientes para testar o efeito da cafeína em diferentes situações de aprendizagem. Além disso, no teste da esQUIVA inibitória, a natureza do estímulo (choque nas patas) é forte o suficiente

para permitir aos animais aprenderem a evitar o compartimento escuro da esquiwa logo após um único treino, o que sugere que este teste seja ideal para estudar o efeito da cafeína nos diferentes estágios da formação da memória. Por outro lado, o teste da habituação usa um estímulo menos estressante e é adquirido pelos animais após cinco treinos.

Assim, o estudo feito por ANGELUCCI *et al.* (1999) sugere que a cafeína realmente apresenta diferentes efeitos nos diferentes estágios de processamento da memória e esses efeitos dependem das características do teste de memória. A administração de cafeína pode aumentar o comportamento exploratório do animal em um campo aberto. Este estudo também enfatiza algumas particularidades do efeito da cafeína no aprendizado e memória: 1) a administração de grandes doses de cafeína antes das sessões de treino prejudica a retenção da memória; 2) a cafeína pode melhorar a consolidação da memória, mas apenas quando administrada em doses moderadas (baixas) e este efeito não pode ser generalizado para todas as situações de aprendizado; 3) a administração de doses moderadas de cafeína antes do teste melhora a evocação da memória; 4) o efeito prejudicial na memória da administração de cafeína antes do teste não pode ser revertido por seu efeito de melhora na consolidação ou evocação da memória.

1.4. UM EXEMPLO DE TESTE DE MEMÓRIA DE HÁBITO

KNOWLTON (1996) realizou uma pesquisa na qual submeteu pacientes amnésicos devido à doença de Alzheimer, pacientes não dementes com doença de Parkinson e pacientes normais (controle) a um teste de classificação probabilística no qual eles aprendiam qual de dois resultados (chuva ou sol) poderia ocorrer em cada treino, dada a combinação particular das dicas que apareciam.

Em seu trabalho, KNOWLTON (1996) ministra dois testes, um teste de aprendizado de classificação probabilística e um questionário de múltipla escolha. No primeiro, os indivíduos testados aprenderam gradualmente qual dos dois resultados deveria ocorrer em cada treino, dada uma combinação particular de dicas que apareciam. Cada dica era independente e probabilisticamente relacionada com o resultado, e os dois resultados ocorriam com frequências iguais.

A estrutura probabilística do teste aparece para contornar a tendência normal em tentar memorizar uma solução e os indivíduos podem aprender sem estarem conscientes da

informação que estão adquirindo (KNOWLTON, 1996). Informações sobre um único treino não são tão úteis quanto informações resultantes de muitos treinos. Neste sentido, a tarefa forma um tipo de hábito, gradualmente adquirido e que, em animais experimentais, depende do estriado dorsal (KNOWLTON, 1996).

Neste teste de classificação probabilística, quatro dicas (quadrados, triângulos, círculos e losangos) eram mostradas junto com ícones de sol e de chuva numa tela de computador. Em cada treino, uma, duas, ou três dessas dicas eram mostradas lado a lado (em uma das 14 combinações possíveis) e os indivíduos diziam se o resultado seria ou sol ou chuva ao pressionarem a tecla correspondente a um dos dois ícones.

A resposta era imediatamente dada para mostrar se a resposta estava certa ou errada: o ícone apropriado aparecia acima das dicas, um som agudo (correto) ou grave (incorreto) era tocado e uma barra vertical na direita da tela aumentava ou diminuía em uma unidade sinalizando a pontuação do sujeito. Cada dica particular era associada com o resultado “sol” em 75, 57, 43, ou 25% das vezes. Portanto, em 25, 43, 57, ou 75% das vezes estas mesmas dicas eram associadas com o outro resultado, “chuva”. Para cada um dos sujeitos do estudo, as quatro dicas apareciam de forma randômica. Em 50 tentativas, os pacientes com doença de Parkinson não aprenderam a tarefa, demonstrando que o aprendizado de hábito, necessário neste tipo de teste, depende da integridade da via nigro-estriatal, a qual está danificada nestes pacientes. Os sujeitos normais (controle) aprenderam a tarefa sem dificuldade.

A autora concluiu que a via nigro-estriatal, danificada em pacientes com a doença de Parkinson, é essencial para o aprendizado gradual e incremental de associações, o que é característica do aprendizado de hábito. Portanto, o estriado, não é importante apenas para o aprendizado e o comportamento motores, mas também para a obtenção de tendências e disposições não motoras as quais dependem de novas associações. Esta foi a primeira demonstração de que o sistema de aprendizado de hábito estriatal identificado em roedores existe também em humanos. Assim, o prejuízo no desempenho de pacientes com doença de Parkinson no teste de classificação probabilística é paralelo ao déficit no aprendizado de hábito observado em animais experimentais (KNOWLTON, 1996).

1.5. UM EXEMPLO DE TESTE DE HABITUAÇÃO ALIMENTAR

A memória declarativa humana envolve uma organização sistemática da informação que sustenta generalizações e inferências a partir do conhecimento adquirido (DUSEK e EICHENBAUM, 1997). Esse tipo de memória depende da região hipocampal em humanos. Esta teoria pode ser estendida para outros mamíferos que também possuem um rudimento do que chamamos de memória declarativa em humanos, sendo esta caracterizada por uma forma de memória flexível por permitir a dedução de novos conhecimentos por um processo de “fazer inferências”. Assim como em humanos, acredita-se que nos demais animais esta memória depende do hipocampo.

Segundo estes autores, esforços modernos na neurociência cognitiva têm mostrado que as lembranças conscientes, observadas na capacidade de expressão da memória explícita ou “declarativa”, é dependente da região do hipocampo em humanos. Progressos no desenvolvimento de um modelo animal válido de lembranças conscientes é essencial na identificação de seus mecanismos neurais. Esta tarefa não é fácil pois as formas declarativas ou outras formas explícitas de expressão da memória não são diretamente observadas em outros animais, que não têm a linguagem desenvolvida como em humanos. Para eliminar este obstáculo, COHEN e EICHENBAUM (1993) sugeriram estudos em 2 propriedades chave da memória declarativa em animais, especificamente a habilidade para codificar relações entre os itens a serem lembrados e a capacidade para expressar memórias flexíveis através de inferências sobre itens que são apenas indiretamente relacionados.

Evidências a cerca da duração destas capacidades em animais vêm principalmente de estudos de aprendizado espacial (DUSEK e EICHENBAUM, 1997). Estudos pioneiros de TOLMAN (1948) mostraram que os ratos formam mapas cognitivos baseados em relações geométricas entre dicas ambientais e tais representações apóiam a expressão inferencial e flexível na navegação. EICHENBAUM, STEWART e MORRIS (1990) mostraram que ratos dependem da função hipocampal para expressão inferencial de mapas cognitivos para navegação para novos caminhos. A observação de que o aprendizado espacial e a inferência de navegação dependem do hipocampo é consistente com as propriedades relacional e inferencial da memória declarativa mas deixa aberta a questão de se a função hipocampal é limitada à memória espacial ou medeia estas capacidades através de domínios da informação, assim como faz em humanos (DUSEK e EICHENBAUM, 1997).

Para examinar estas questões, DUSEK e EICHENBAUM (1997) utilizaram em ratos um teste de inferência transitiva, usado anteriormente por Piaget para avaliar as capacidades para a organização sistemática do conhecimento e a inferência lógica em crianças. Na adaptação deste teste, os ratos foram treinados para discriminar um conjunto de 4 odores que posteriormente eram apresentados de forma concomitante. Estes odores podiam ser codificados pelos animais tanto de forma única, como na forma de relações entre os dois odores. Eles observaram que os ratos normais aprenderam a tarefa e demonstraram a organização da memória relacional através de inferências transitivas apropriadas sobre itens não apresentados ao mesmo tempo durante o treino. Por exemplo, um rato normal após associar a apresentação dos odores A e B com o pareamento do reforço alimentar com

o odor B e associar os odores B e C com o pareamento do reforço alimentar com o odor C, inferia que ao se deparar com os odores A e C, o alimento estaria associado ao odor C, ou seja, se $B > A$ e $C > B$, então $C > A$. Esta flexibilidade inferencial é uma característica das memórias declarativas em humanos.

O termo “inferência transitiva” significa a habilidade para inferir uma relação sobre itens que não têm sido apresentados ao mesmo tempo, baseado no aprendizado prévio de um conjunto de propriedades coincidentes. Por exemplo, se apresentado com as propriedades “o bastão azul é mais longo que o vermelho” e “o bastão vermelho é mais longo do que o verde”, pode-se inferir que o bastão azul é maior que o verde. Este julgamento inferencial é interpretado como evidência da representação de relações ordenadas.

Segundo DUSEK e EICHENBAUM (1997), mais recentemente, os testes de inferência transitiva têm sido utilizados para determinar a capacidade dos animais de julgamento de representação relacional e inferencial. Os indivíduos são inicialmente treinados em uma série de discriminação de 2 itens chamada propriedades pares ($A > B$, $B > C$, $C > D$, $D > E$), onde cada letra simboliza um elemento de estímulo e “>” descreve a relação (DUSEK e EICHENBAUM, 1997).

Cada uma das discriminações poderia ser aprendida individualmente ou representada como numa ordem hierárquica que inclui todos os 5 itens ($A > B > C > D > E$); para examinar quais das representações é atualmente usada, são dados aos animais testes investigativos derivados de pares de elementos não adjacentes, especificamente $B \times D$ e $A \times E$. Uma escolha entre os elementos não terminais e não adjacentes, como B e D, fornece evidência para a inferência transitiva. Contrariamente, a escolha entre os elementos terminais $A \times E$ por ser guiada por reforços independentes destes elementos, porque as escolhas de A durante as propriedades de treino são sempre recompensadas enquanto as escolhas de E nunca são recompensadas. Conseqüentemente, a combinação dos testes investigativos $B \times D$ e $A \times E$ melhor avaliam as capacidades de se fazer novos julgamentos, devido à expressão inferencial de organização ordenada ou pela recompensa dos elementos individuais, respectivamente.

DUSEK e EICHENBAUM (1997) realizaram um experimento no qual compararam o desempenho de ratos normais no teste de inferência transitiva guiado por odor com ratos que sofreram transecção do fórnix ou remoção do córtex perirrinal e entorrinal adjacentes (PRER), que medeia as conexões hipocampais com o neocórtex.

Neste experimento, DUSEK e EICHENBAUM (1997) forneceram aos ratos potes cheios de areia, os quais foram colocados na base da gaiola. Em um pote colocado em uma extremidade da gaiola foram enterrados pellets de sucrilhos. O animal devia encontrar os pellets em um tempo fixo, caso contrário o pote era retirado. Em seguida, foram apresentados aos ratos 2 potes com areia, sem odor, sendo que em apenas 1 dos potes havia comida. Quando os animais aprenderam isto, o pré-treino continuou com uma tarefa simples de discriminação de odor na qual o estímulo discriminativo era cheiro normal de temperos de cozinha misturada na areia. Em cada uma das 2 sessões de 10 testes, foram apresentados aos indivíduos 2 potes de areia. A comida estava enterrada em apenas um deles. Estes autores usaram este procedimento para estudar se os animais podiam inferir propriedades atribuídas aos diferentes odores, tais como deduzir que se o alimento estava associado ao odor B quando discriminava AB e em C quando discriminada BC então estaria associado a C quando lhe fosse apresentados potes com os odores A e C. Eles demonstraram que esta propriedade inferencial era perdida quando os animais sofriam uma lesão no hipocampo. No presente trabalho, pensamos em adaptar este procedimento para testar se os ratos com lesão na SNc podiam associar diferentes padrões gráficos à presença de alimento em um entre 2 potes com areia.

1.6. O MODELO DO MPTP PARA A DOENÇA DE PARKINSON

O MPTP foi o responsável pelo aparecimento de sinais e sintomas semelhantes aos da doença de Parkinson em humanos que fizeram uso de um análogo sintético de heroína nos Estados Unidos da América (DAVIS, *et al.*, 1979). O efeito tóxico seletivo do MPTP sobre neurônios dopaminérgicos nigroestriatais levou ao desenvolvimento de modelos animais para a doença de Parkinson (HAGAN *et al.*, 1997; BEZARD, *et al.*, 1997).

A administração sistêmica de pequenas quantidades de MPTP em seres humanos e em macacos ocasiona a lesão de neurônios dopaminérgicos nigroestriatais e uma conseqüente síndrome parkinsoniana irreversível (KALARIA *et al.*, 1987), enquanto que a administração intranigral causa alterações nigroestriatais em ratos (HARIK *et al.*, 1987; KALARIA *et al.*, 1987; MIYOSHI, 2001).

O MPTP, quando administrado sistemicamente no rato, não é muito tóxico devido a uma alta atividade da MAO B nas células endoteliais dos capilares cerebrais, as quais

podem constituir uma barreira bioquímica hematoencefálica (HARIK *et al.*, 1987; KALARIA *et al.*, 1987). Mas quando o MPTP é diretamente administrado na SNc destes animais, provoca lesões seletivas dos neurônios dopaminérgicos, ocasionando uma depleção dos níveis de dopamina e de seus metabólitos no estriado (MIYOSHI, 2001; DA CUNHA *et al.*, 2003).

Muitos são os estudos que visam mostrar o déficit de memória associado à doença de Parkinson. Estes trabalhos, no entanto, são realizados, na sua grande maioria, com pacientes humanos devido à falta de modelos animais adequados a este estudo. Assim, buscamos o desenvolvimento de modelos animais que apresentem déficits de memória relacionados à doença de Parkinson a partir da administração da neurotoxina MPTP diretamente na SNc de ratos. Neste presente trabalho os modelos animais de doença de Parkinson devido à lesão da SNc não foram utilizados pois os animais controle não conseguiram realizar os diferentes tipos de teste de discriminação probabilística, o que quer dizer que não haveria diferença no aprendizado destes testes entre os indivíduos lesados e os controle.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um modelo de memória de hábito em ratos e testar se existe deficiência de aprendizado desta tarefa de hábito em animais com lesão da SNc.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

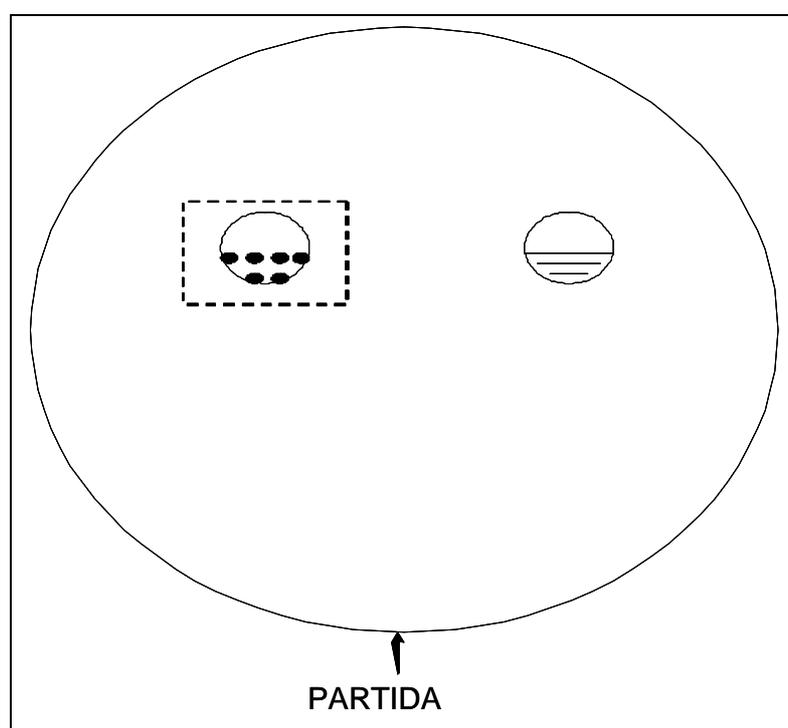
- Desenvolver um modelo animal de hábitos onde ratos aprendem a associar padrões visuais com a probabilidade de encontrar uma plataforma de fuga em um labirinto aquático.
- Desenvolver um modelo animal de hábitos onde ratos associem padrões visuais com a probabilidade de encontrar alimento enterrado em potes de areia.
- Comparar o aprendizado de ratos com lesão na SNc com o aprendizado de ratos controle nestes modelos de hábito.

3. METODOLOGIA

3.1. ANIMAIS

Foram utilizados 10 ratos Wistar machos, pesando entre 280 e 330g no início do experimento. Os animais foram mantidos em gaiolas plexiglass (60 x 25 x 25 cm), em um ambiente com a temperatura controlada de $22 \pm 1^\circ\text{C}$, com ciclo claro-escuro de doze horas (luz das 07h00 às 19h00), com água e comida à vontade. Todos os experimentos ocorreram entre 7 h da manhã 13 h da tarde.

3.2. BUSCANDO UM MODELO DE MEMÓRIA DE HÁBITO EM RATOS – DISCRIMINAÇÃO PROBABILÍSTICA DE DICAS VISUAIS EM UM LABIRINTO AQUÁTICO



O labirinto consistia em uma piscina de cor preta, de formato circular, de 1,68 m de diâmetro e 0,50 m de altura localizada numa sala com temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$). A

água foi mantida a uma temperatura de $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Foram colocados sobre a superfície da água duas dicas visuais que consistiram em bolas de 7 cm de diâmetro com padrões específicos (veja figura ao lado). Abaixo de uma das bolas havia uma plataforma de acrílico transparente (11 x 14 cm) submersa a 2 cm da superfície da água, invisível para o rato e que permitia que o animal escapasse da água. A bola que não estava sobre a plataforma era de isopor e flutuava sobre a água como uma bóia, presa a um peso de chumbo no fundo da piscina por um fio de nylon, não podendo ser montada pelo animal para escapar da água. O animal era liberado da borda da piscina do lado oposto onde estavam as bolas, exatamente no vértice do ângulo entre a posição do rato e das duas bolas. Portanto, em relação ao rato, havia sempre a bola da direita e da esquerda, com padrões visuais opostos. Os padrões das bolas da direita e da esquerda, com ou sem plataforma, variavam de forma randômica cada vez que o animal for colocado na piscina. Havia 4 padrões distintos de bolas que apareciam com as seguintes probabilidades de haver uma plataforma sob elas: branco (75%), listras horizontais (60%), pintas (40%), listras verticais (25%). Portanto, as seguintes probabilidades estavam associadas aos padrões que sinalizavam não haver plataforma sob a bola de isopor: branco (25%), listras horizontais (40%), pintas (60%), listras verticais (75%). A seqüência do aparecimento dos padrões em cada posição (direita/esquerda) foi sorteada de forma aleatória, mas com duas restrições: 1) a cada tentativa o animal devia encontrar sempre dois padrões de bola distintos; 2) Nunca o mesmo padrão apareceria na mesma posição por duas tentativas seguidas.

O animal foi colocado na borda do vértice entre as duas bolas, virado para o centro para nadar até encontrar uma das bolas. Se o animal encontrasse a bola com a plataforma, lhe era permitido montar a plataforma e permanecer nela por 20 s. Em seguida o animal era retirado da piscina e retornava para sua gaiola. Caso isso não acontecesse e o rato encontrasse a bola sem a plataforma, ele era retirado da piscina e colocado num tanque de vidro contendo água por mais 20 s para uma natação forçada, o que representa uma punição para o animal. Em uma variação do teste, os animais foram também testados sem esta punição adicional, ou seja, após não encontrar a bola com a plataforma era permitido ao animal continuar nadando até encontrar a bola com plataforma. Após 30 s, o animal era recolocado na piscina para uma nova tentativa como a anterior. Cada animal realizou este teste num total de 20 tentativas subseqüentes por dia até que apresentasse um percentual de acertos superior a 80% por dois dias consecutivos. A cada tentativa era computado um

acerto se o animal se dirigisse para a bola com o padrão com maior probabilidade de estar associado à plataforma. Neste teste, foram utilizados 2 animais.

Como será apresentado na sessão de resultados, os animais não conseguiram aprender a tarefa descrita acima. Por esta razão testamos o aprendizado dos ratos em uma variação simplificada deste teste onde apenas 2 padrões foram apresentados aos ratos: branco e listras verticais. Os animais foram testados para discriminar os dois padrões com as seguintes probabilidades de encontrar a plataforma associada a eles: 1) branco= 100% e listras verticais = 0%; 2) branco= 70% e listras verticais = 30%. Para a realização deste teste, foram usados 2 animais.

3.3. BUSCANDO UM MODELO DE MEMÓRIA DE HÁBITO EM RATOS – DISCRIMINAÇÃO PROBABILÍSTICA DE DICAS VISUAIS COM REFORÇO ALIMENTAR

O objetivo era desenvolver no animal o hábito de discriminar padrões visuais associados de forma probabilística à presença de alimentos enterrados em potes com areia. Foram utilizados, neste tipo de teste de discriminação probabilística, 3 animais. Cada animal foi mantido isolado em uma gaiola com restrição alimentar. Durante 3 dias cada animal recebeu 60 g de ração e no dia seguinte, pesou-se a ração que não foi consumida no dia anterior para obter-se o valor do alimento ingerido por cada animal. A partir do quarto dia os animais foram mantidos com 85% do seu consumo diário.

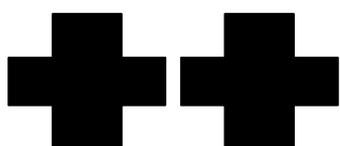
Antes da realização do teste com os diferentes padrões de potes, os animais passaram a receber, além da ração padrão do biotério, pellets de Choco Krisps de chocolate da Kellogg's. Neste piloto, os Choco Krisps foram colocados em um pote de plástico vermelho, sem padrões, dentro da gaiola, com o objetivo de que o animal se acostumassem com este reforço alimentar e com o pote. O animal deveria gastar 10 min para encontrar a ração no pote, caso contrário, deveria ser conduzido até o pote. Após a realização da tarefa, a ração normalmente ingerida pelo animal foi deixada dentro do pote até a manhã seguinte para que o animal se habituasse a encontrar o alimento no pote. Esta etapa teve a duração de uma semana.

Na semana seguinte, colocou-se areia no pote e um Choco Krisps sobre ela, de modo que o animal pudesse facilmente encontrar o alimento. O animal dispunha de 10 min para encontrar o alimento ou então era conduzido até o pote. Após 3 dias, o Choco Krisps foi

parcialmente enterrado na areia, ficando apenas uma parte desta visível ao animal. No dia seguinte, o Choco Krisps estava enterrado superficialmente na areia e nos dias subsequentes foi totalmente enterrado. O objetivo desta etapa foi fazer com que o animal aprendesse a cavar a areia para encontrar o Choco Krisps.

Logo que o animal aprendeu a cavar a areia no pote para ser recompensado com o alimento, deu-se início ao teste da memória de hábito com reforço alimentar.

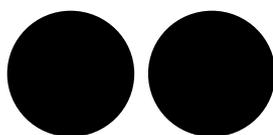
Na gaiola de cada animal foram colocados, toda manhã, durante os testes, 2 potes contendo areia. Cada um destes potes apresentava, externamente, um padrão diferente que estavam associados às seguintes probabilidades de conter o reforço (Choco Krisps): cruces (75%), quadrados (60%), círculos (40%) e triângulos (25%) conforme ilustrado abaixo:



Padrão Cruzes



Padrão Quadrados



Padrão Círculos



Padrão Triângulos

Cada animal realizava 1 teste por dia, cada um com 20 tentativas, onde eram apresentados 2 potes com padrões diferente escolhidos aleatoriamente. Ao animal era permitido cavar em apenas um pote para tentar encontrar o alimento. Tão logo o animal escolhia um pote, o outro era retirado pelo experimentador. Após uma semana cada teste passou a apresentar 40 tentativas e foram usados 3 diferentes animais.

4. RESULTADOS

4.1. DO TESTE DE DISCRIMINAÇÃO DE PADRÕES NO LABIRINTO AQUÁTICO

Primeiro foi testado se os animais podiam discriminar entre dois padrões diferentes: bola com listras verticais e bola branca. Estes padrões foram escolhidos para início dos testes por serem bem distintos um do outro. Os animais foram testados por 3 testes por dia, com 3 blocos de 20 tentativas a cada dia. O mesmo tempo que o animal levou para desempenhar cada bloco de 20 tentativas era dado para o animal descansar entre o final deste bloco e o início do próximo bloco de testes. O padrão bola branca aparecia em 70% das tentativas na plataforma (e 30% na bola de isopor) enquanto que o padrão bola com listras verticais aparecia em 30% das tentativas na plataforma (e 70% na bola de isopor). O animal acertava

a tarefa quando se direcionava para o padrão bola branca, o qual aparecia mais vezes na plataforma e, assim, o animal pode escapar da água (recompensa). Os resultados são mostrados na figura abaixo sugerem que os animais aprenderam a discriminar os padrões pois o índice de acerto aumentou de 30% para 50%.

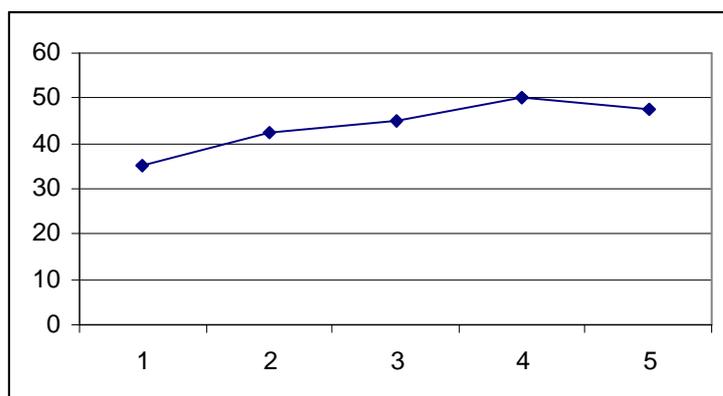


Figura 1: Teste de discriminação de 2 diferentes padrões por ratos em um labirinto aquático. Os resultados expressam o percentual de acertos em escolher o padrão com maior probabilidade de sinalizar a plataforma de fuga em 5 dias de teste com 3 blocos de 20 tentativas por dia.

Como os animais pareciam ter aprendido a tarefa, iniciamos o teste de discriminação probabilística ou aprendizado de hábito com 4 padrões de bola diferentes: branca (75% na plataforma), listras horizontais (60% na plataforma), listras verticais (25% na plataforma) e pintas (40% na plataforma). O resultado deste teste é apresentado na figura abaixo e mostra

que os animais não conseguiram aprender esta tarefa mais complexa pois não houve uma melhora no percentual de resposta que permaneceu no nível do acaso.

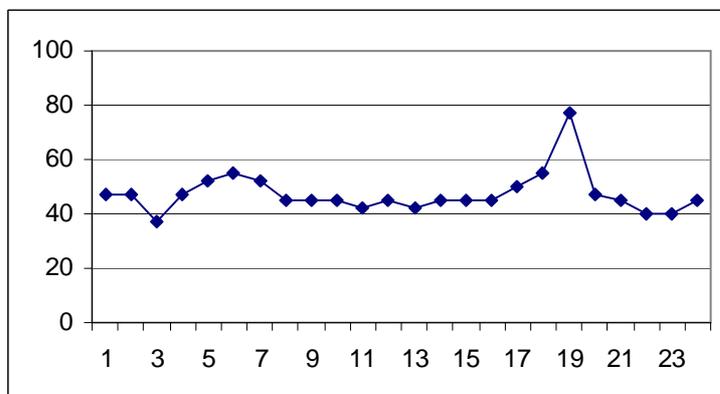


Figura 2: Teste de discriminação probabilística de 4 padrões por ratos em um labirinto aquático. Os resultados expressam o percentual de acertos em escolher o padrão com maior probabilidade de sinalizar a plataforma de fuga em 24 dias de teste com 2 blocos de 20 tentativas por dia.

O resultado acima mostrou que o teste, mesmo feito de forma muito trabalhosa, envolvendo um número grande de treinos por dia e durante muitos dias não era viável para desenvolver um hábito nos animais. Com vários padrões eles não conseguiam fazer uma classificação probabilística dos mesmos.

Mesmo com a realização da punição no tanque de vidro contendo água para uma natação forçada, os animais não conseguiram aprender a tarefa. Portanto, pensamos em adaptar o teste para um procedimento mais simples, descrito a seguir.

4.2. RESULTADOS DO TESTE DE DISCRIMINAÇÃO PROBABILÍSTICA DE DICAS VISUAIS COM REFORÇO ALIMENTAR

Inicialmente os animais foram testados com 20 tentativas para encontrar o reforço associado aos 4 diferentes padrões. Os resultados apresentados abaixo mostram que eles não aprenderam a discriminar entre os padrões.

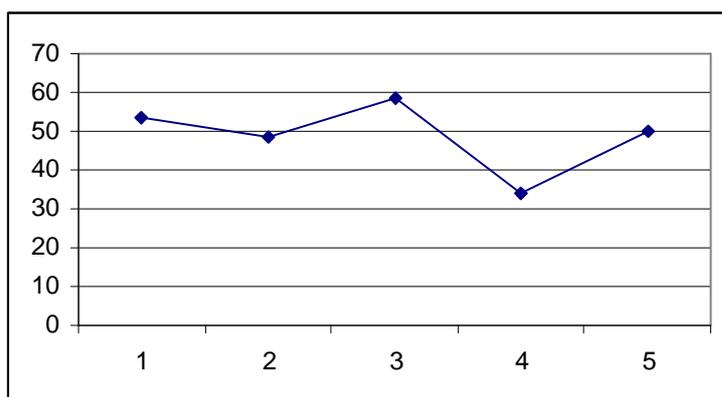


Figura 3: Teste de discriminação probabilística de dicas visuais com reforço alimentar com 4 padrões diferentes. Os resultados expressam o percentual de acertos em escolher o padrão com maior probabilidade de encontrar o reforço alimentar (Choco Krisps) em 5 dias de teste com 1 bloco de 20 tentativas por dia.

O teste foi repetido com outros animais que foram treinados com 40 tentativas por dia para encontrar o reforço alimentar. Os resultados apresentados abaixo mostraram que mesmo após 14 dias com este treinamento excessivo os ratos não aprenderam a tarefa, pois o índice de acerto permaneceu no nível do acaso.

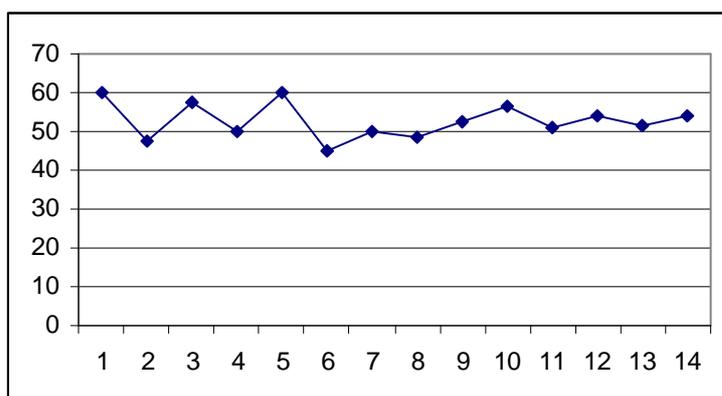


Figura 4: Teste de discriminação probabilística de dicas visuais com reforço alimentar com 4 padrões diferentes. Os resultados expressam o percentual de acertos em escolher o padrão com maior probabilidade de encontrar o reforço alimentar (Choco Krisps) em 14 dias de teste com 1 bloco de 40 tentativas por dia.

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os experimentos realizados mostraram que não foi possível estabelecer um modelo de hábito baseado na discriminação e associação probabilística de padrões visuais a uma plataforma de fuga em um labirinto aquático ou à presença de alimentos enterrados em potes com areia. É provável que isto ocorreu porque discriminar padrões visuais não é uma tarefa etologicamente relevante para os ratos. Estes animais vivem normalmente em locais escuros, têm hábitos noturnos e buscam sempre se esconder dos predadores naturais. Eles não têm visão em cores ela é descrita como pobre, especialmente para animais albinos como os usados no presente estudo. Neste sentido, talvez no futuro se tentasse adaptar este teste para um protocolo usando a discriminação de diferentes odores se pudesse obter o sucesso que não conseguimos com padrões visuais. Esta estratégia foi usada com sucesso por DUSEK e EICHENBAUM (1997) que mostraram que esta espécie animal pode usar estas dicas sensoriais até mesmo para fazer inferências usando um sistema de memória que, acredita-se foi mais desenvolvidos em primatas, a memória declarativa baseada na formação hipocampal.

Os resultados do presente trabalho também poderiam ser explicados se os ratos não puderem formar este tipo de memória de hábito baseada em uma classificação probabilística. Isto, porém, é menos provável, pois este sistema de memória é filogeneticamente mais antigo e já foi demonstrado por outros autores que está presente em ratos (DA CUNHA *et al.*, 2003; LYNCH *et al.*, 1984; GRAYBIEL, 1995 e 1998; PACKARD e McGAUGH, 1992; PACKARD e KNOWLTON, 2002; JOG, *et al.*, 1999). PACKARD E McGAUGH (1994) mostraram que ratos podem associar padrões de listras verticais e horizontais que sinalizavam a presença de uma plataforma de fuga em um labirinto aquático. Estes autores usaram ratos da linhagem Sprague-Dawley que, talvez, apresentem uma acuidade visual melhor que a linhagem Wistar usada no presente trabalho.

De qualquer forma, embora não tenhamos obtido sucesso na tarefa de desenvolver um modelo de hábitos baseado na classificação probabilística em ratos, esta tarefa continua sendo altamente relevante para o avanço dos estudos do sistema de memória que falha na doença de Parkinson.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, G.E.; DE LONG, M.R.; STRICK, P.L. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. **Annual Review of Neurosciences**, v. 9, p. 357-381, 1986.

ALLAIN, H.; BENTUEFERRER, D. Interrogations and solutions concerning Parkinson's disease. **Presse Medicale**, v. 26, p. 909-915, 1997.

ANGELUCCI, M.E.M.; VITAL, M.A.B.F.; CESÁRIO, C.; ZADUSKY, C.R.; ROSALEN, P.L.; DA CUNHA, C. The effect of caffeine in animal models of learning and memory. **European Journal of Pharmacology**, v. 373, p. 135-140, 1999.

BACHEVALIER, J. Ontogenetic development of habit and memory formation in primates. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 608, p. 457-484, 1990.

BANKIEWICZ, K.; SANCHEZ-PERNAUTE, R.; OIWA, Y.; KOHUTNICKA, M.; CUMMINS, A.; EBERLING, J. Pre-clinical models of Parkinson's disease. **Currents Protocols in Neuroscience**, v. 94, p. 1-32, 1999.

BARRIO, J. R.; PAGE, G.; FAUCONNEAU, B.; BARRIER, L.; HUGUET, F. A new in vitro approach for investigating the MPTP effect on DA uptake. **Neurochemistry International**, v. 38, p. 243-248, 1997.

BARTUS, R.T. Four stimulants of the central nervous system: effects on short-term memory in young versus aged monkeys. **J. Am. Geriatr.**, v. 27, p. 289-297, 1979.

BEAL, F. Experimental models of Parkinson's disease. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 2, p. 325-332, 2001.

BEZARD, E.; IMBERT, C.; DELOIRE, X.; BIOULAC, B.; GROSS, C. E. A chronic MPTP model reproducing the slow evolution of Parkinson's disease: evolution of motor symptoms in the monkey. **Brain research**, v. 766, p. 107-112, 1997.

BLUM, D.; TORCH, S.; LAMBENGM, N.; NISSOU, M.; BENABID, A.; SADOUL, R.; VERNA, J. Molecular pathways involved in the neurotoxicity of 6-OHDA, dopamine and MPTP: contribution to apoptotic theory in Parkinson's disease. **Progress in Neurobiology**, 65, p. 135-172, 2001.

CALEV, A. Neuropsychology and ECT: past and future research trends. **Psychopharmacol. Bull.**, v. 30, p. 461-469, 1994.

CESTARI, V.; CASTELLANO, C. Caffeine and cocaine interaction on memory consolidation in mice. **Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.**, v. 331, p. 94-104, 1996.

COHEN, N.J.; EICHENBAUM, H. Memory, amnesia and the hippocampal system. **MIT Press, Cambridge, MA**, 1993.

DA CUNHA, C.; ANGELUCCI, 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. Molec. Neurobiol.**, v. 22, n. 3, 2002.

DA CUNHA, 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.

DAVIS, G. C.; WILLIAMS, A.C.; MARKEY, S. P., EBERT, M. H.; CAINE, E.D.; REICHERT, C. M.; KOPIN, I. J. Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. **Psychiatry Research**, v. 1, p. 249-254, 1979.

DEUMENS, R.; BLOKLAND, A.; PRICKAERTS, J. Modelling Parkinson's Disease in rats: an evaluation of 6-OHDA lesions of the nigrostriatal pathway. **Experimental Neurology**, v. 175, n. 9, 303-317, 2002.

DIVAC, I.; ROSVOLD, H. E.; SZWARACBART, M. K. Behavioral effects of selective ablation of the caudate nucleus. **J. Comp. Physiol. Psychol.**, v. 63, p. 184-190, 1967.

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

DUZEK, J. A.; EICHENBAUM, H. The hippocampus and memory for orderly stimulus relations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 94, p. 7109-7114, 1997.

EICHENBAUM, H; STEWART, C.; MORRIS, R.G.M. **J. Neurosci.**, v.10, p.2531-2542, 1990.

ERIKSON, G.C.; HAGER, L.B.; HOUSEWORTH, C., DUNGAN, J.; PETROS, T.; BECKWITH, B.E. The effects of caffeine on memory for word lists. **Physiol. Behav.**, v. 35, p. 47-51, 1985.

FAGLIONI, P.; BOTTI, C.; SCARPA, M.; FERRARI, V.; SAETTI, M. C. Learning and forgetting processes in Parkinson's disease: a model-based approach to disentangling storage, retention and retrieval contributions. **Neuropsychologia**, v. 35, n. 36, p. 767-779, 1997.

FERRO, M. M. **Avaliação de dois modelos animais de doença de Parkinson: ratos com lesão da substância negra parte compacta induzida por 1-metil-4-fenil, 1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) ou por 6-hidroxidopamina (6-OHDA)**. Curitiba, 2003. 43 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Setor de ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

FISHER, S.; GUILLET, R. Neonatal caffeine alters passive avoidance retention in rats in an age – and gender – related manner. **Brain Res. Dev. Brain Res.**, v. 98, p. 145-149, 1997.

FLEXNER, J. B.; FLEXNER, L. B. Puromycin's suppression of memory in mice as affected by caffeine. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 3, p. 13-17, 1975.

FLOOD, J.F.; BENNETT, E.L.; ORME, A.E.; ROSENZWEIG, M.R.; JARVIK, M.E. Memory: modification of anisomycin-induced amnesia by stimulants and depressants. **Science**, v. 199, p. 324-326, 1978.

FURUSAWA, K. Drug effects on cognitive function in mice determined by the non-matching to sample task using a 4-arm maze. **Jpn. J. Pharmacol.**, v. 56, p. 483-493, 1991.

FUSTER, J. M. Network Memory. **Trends in Neurosciences**, v. 20, n. 10, p. 451-459, 1997.

GERLACH, M.; YODIM, M. B. H.; RIEDERER, P. Pharmacology of selegiline. **Neurology**, v. 47, n. 6, p. S137-S145, 1996.

GEYER, M. A.; MARKOU, A. Animal models of psychiatric disorders. : The fourth generation of progress. **Raven Press**, New York, NY, 1995.

GHORAYEB, I.; FERNAGUT, P. O.; HERVIER, L.; LABATTU, B.; BIOULAC, B.; TISON, F. A single toxin-double lesion rat model of striatonigral degeneration by intrastriatal 1-methyl-4-phenylpyridinium ion injection: a motor behavioural analysis. **Neuroscience**, v. 115, n. 2, p. 533-546, 2002.

GRAYBIEL, A. M. Building action repertoires: memory and learning functions of the basal ganglia. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 5, p. 733-741, 1995.

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

HAGAN, J. J.; MIDDLEMISS, D. N.; SHARPE, P. C.; POSTE, G. H. Parkinson's disease: prospects for improved drug therapy. **Trends in Pharmacological Science**, v. 18, p. 156-163, 1997.

HARIK, S. I.; SCHMIDLEY, J. W.; IACOFANO, L. A.; BLUE, P.; ARORA, P. K.; SAYRE, L. M. On the mechanisms underlying 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, its metabolite and their analogs in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 241, n. 2, p.669-676, 1987.

HELMUTH, L. L.; MAYR, U.; DAUM, I. Sequence learning in Parkinson's disease: a comparison of spatial-attention and number-response sequences. **Neuropsychologia**, v. 38, p. 1443-1451, 2000.

HENDERSON, J. M.; WATSON, S.; HALLIDAY, G. M.; HEINAMANN, T.; GERLACH, M. 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.

HOWELL, L.L.; COFFIN, V.L.; SPEALMAN, R.D. Behavioral and physiological effects of xanthines in nonhuman primates. **Psychopharmacology (Berlin)**, v. 129, p. 1-14, 1997.

HUDZIK, T.J.; WENGER, G.R. Effects of drugs of abuse and cholinergics agents on delayed matching-to-simple responding in the squirrel monkey. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 265, p. 120-127, 1993.

IZQUIERDO, I. Memória. Ed. Artmed. Porto Alegre, 2002.

IZQUIERDO, I. Os labirintos da memória. **Ciência Hoje**, v. 25, n. 148, p.38-43, 1999.

IZQUIERDO, J.A.; COSTAS, S.M.; JUSTEL, E. A.; RABILLER, G. Effect of caffeine on the memory of the mouse. **Psychopharmacology (Berlin)**, v. 61, p. 29-30, 1979.

JACKSON, G. M.; JACKSON, S. R.; HARRISON, J.; HENDERSON, L.; KENNARD, C. Serial reaction time learning and Parkinson's disease: evidence for a procedural learning deficit. **Neuropsychologia**, v. 33, p. 577-593, 1995.

JOG, M. S.; KUBOTA, Y.; CONNOLLY, C. I.; HILLEGART, V.; GARYBIEL, A. M. Building Neural Representations of Habits. **Science**, v. 286, p. 1745-1749, 1999.

KAAKOLA, S.; TERAANIEN, H. Animal models of parkinsonism. **Pharmacology & Toxicology**, v. 67, p. 95-100, 1990.

KALARIA, R. N.; MITCHELL, M. J.; HARIK, S. I. Correlations of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. **Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America**, v. 84, p.3521-3525, 1987.

KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Essentials of Neural Science and Behavior**. Connecticut, USA: ed. Appleton & Lange, p. 651-680, 1995.

KANT, G.J. effects of psychoactive drugs or stress on learning, memory, and performance as assessed using a novel water maze task. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 44, p. 287-295, 1993.

KERMADI, I.; JOSEPH, J. P. Activity in the caudate nucleus of monkey during spatial sequencing. **Journal of Neurophysiology**, v. 74, p. 623-625, 1993.

KNOWLTON, B. J.; JENNIFER, A. M.; SQUIRE, L. R. A Neostriatal Habit Learning System in Humans. **Science**, v. 273 (5280), p. 1399-1402, 1996.

KOLB, B.; WHINSHAW, I. Q. **Neurociência do comportamento**. Ed. Manole, São Paulo-SP, 2002.

LEE, H.; PARK, C.; KIM, Y. increases the vulnerability to oxidative stress rather than directly mediating oxidative damage in human neuroblastoma cells. **Experimental Neurology**, v. 164-171, 2000.

LENT, R. **Cem bilhões de neurônios**. Ed. Atheneu, São Paulo-SP, 2001.

LEVY, R.; FRIEDMAN, H. R.; DAVACHI, L.; GOLDMAN-RAKIC, P. S. Differential activation of the caudate nucleus in primates performing spatial and non-spatial working memory tasks. **Journal of Neuroscience**, v. 17, p. 3870-3882, 1997.

LINDNER, M. D.; CAIN, C. K.; PLONE, M. A.; FRYDEL, B. R.; BLANEY, T. J.; EMERICH, D. F.; HOANE, M. R. Incomplete nigrostriatal dopaminergic cell loss and partial reductions in striatal dopamine produce acinesia, rigidity, tremor and cognitive deficits in middle-aged rats. **Behavioral Brain Research**, v.102, p. 1-16, 1999.

LOKE, W.H. Effects of caffeine on mood and memory. **Physiol. Behav.**, v. 44, p. 367-372, 1988.

LOKE, W.H.; HINRICHS, J.V.; GHONEIM, M.M. Caffeine and diazepam: separate and combined effects on mood, memory, and psychomotor performance. **Psychopharmacology**, v. 87, p. 344-350, 1985.

LYNCH, G.; McGAUGH, J.L.; WEINBERGER, N. M. **Neurobiology of Learning and Memory**. Ed. The Guilford Press, New York, London, 1984.

MARIÉ, R. M.; BARRÉ, L.; DUPUY, B.; VIADER, F.; DEFER, G.; BARON, J. C. Relationships between striatal dopamine denervation and frontal executive tests in Parkinson's disease. **Neuroscience Letters**, v. 260, p. 260-270, 1999.

McDONALD, R. J.; WHITE, N. M. A Triple Dissociations of memory Systems: Hippocampus, Amygdala and Dorsal Striatum. **Behavioral Neuroscience**, v. 107, n. 1, p. 3-22, 1993.

McDONALD, R. J.; WHITE, N. M. Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. **Behavioral and Neural Biology**, v. 61, p. 260-270, 1994.

MENEZES, M. S.; TEIVE, H. A. G. Histórico. In: MENESES, M. S. ; TEIVE, H. A. G. (ed). **Doença de Parkinson: aspectos clínicos e cirúrgicos**. Rio de Janeiro: editora Guanabara Koogan, p. 4-14, 1996.

MIDDLETON, F. A.; STRICK, P. L. Basal and cerebellar loops: motor and cognitive circuits. **Brain Research Reviews**, v. 31, p. 236-250, 2000.

MISHKIN, M.; MALAMUT, B.; BACHEVALIER, J. In: LYNCH, G.; McGAUGH, J. L.; WEINBERGER, N. M. (eds). Memories and habits: two neural systems. **Neurobiology of learning and Memory**, New York, Guilford Press, p. 65-77, 1984a.

MISHKIN, M. PETRI, H. L. Memories and habits: some implications for the analysis of learning and retention. In: SQUIRE, L. R.; BUTTERS, N. (eds). **Neuropsychology of Memory**, New York, Guilford Press, p. 287-296, 1984b.

MISHKIN, M.; APPENZELLER, T. The anatomy of memory. **Sci. Am.**, v. 256, p. 80-89, 1987.

MIYOSHI, E.; WIETZIKOSKI, S.; CAMPLESSEI, M.; SILVEIRA, R.; TAKAHASHI, R. N.; DA CUNHA, 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 lesions. **Brain Research Bulletin**, v. 58, n. 1, p. 41-47, 2002.

MIYOSHI, E. **Estudo dos déficits de memória em um modelo animal de Parkinsonismo**. Curitiba, 2001. 61 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Setor de ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

MOLINENGO, L.; ORSETTI, M.; PASTORELLO, B.; SCORDO, I.; GHI, P. Habituation of exploratory activity in rats: action of N₆ phenylisopropyladenosine, caffeine and their combination. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry**, v. 19, p. 1189-1200, 1995.

PACKARD, M. G.; KNOWLTON, B.J. Learning and Memory Functions of the Basal Ganglia. **Annu. Rev. Neurosci.**, v. 25, p. 563-593, 2002.

PACKARD, M. G.; McGAUGH, J. L. Double Dissociation of Fornix and Caudate Nucleus Lesions on Acquisition of Two Water Maze Tasks: Further Evidence for Multiple Memory Systems. **Behavioral Neuroscience**, v. 106, n. 3, p. 439-446, 1992.

PACKARD, M. G.; McGAUGH, J. L. Quiniprole and d-amphetamine administration posttraining enhances memory on spatial and cued discriminations in a water maze. **Psychobiology**, v. 22, p. 54-60, 1994.

PACKARD, M. G.; TEATHER, L. A. Amygdala modulation of multiple memory systems: hippocampus and caudate-putamen. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 69, p. 163-203, 1998.

PAN, S.Y. Features of memory on novel situation and avoidance response: evidence from comparisons between open-field behavior and step-through task. **Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao**, v. 16, p. 125-129, 1995.

PARÉ, W. The effect of caffeine and seconal on a visual discrimination task. **J. Comp. Physiol.**, v. 54, p. 506-509, 1961.

PARTIOT, A.; VÉRIN, M.; PILLON, B.; TEIXEIRA-FERREIRA, C.; AGID, Y.; DUBOIS, B. Delayed response tasks in basal ganglia lesions in man: further evidence for a striato-frontal cooperation in behavioral adaptation. **Neuropsychologia**, v. 34, p. 709-721, 1996.

PILLON, B.; DEWEER, B.; VIDALHET, M.; BONNET, A. M.; VIDALHET, M.; DUBOIS, B. Is impaired for spatial location in Parkinson's disease domain specific or dependent on 'strategic' processes? **Neurophysiologia**, v. 36, n. 1, p. 1-9, 1998.

POLLINA, D.A; CALEV, A. Amnesia associated with eletroconvulsive therapy-progress in pharmacological prevention and treatment. **CNS Drugs**, v. 7, p. 381-387, 1997.

RAHMANN, H. Influence of caffeine on memory and behavior in golden hamsters. **Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere**, v. 276, p. 384-397, 1963.

RIEDEL, W.J.; JOLLES, J. Cognition enhancers in aged-related cognitive decline. **Drugs Aging**, v. 8, p. 245-274, 1996.

RIEDEL, W.J., HOGERVORST, E.; LÉBOUX, R.; VERHEY, F.; VAN PRAAG, H.; JOLLES, J. Caffeine attenuates scopolamine-induced memory impairments in humans. **Psychopharmacology (Berlin)**, v. 122, p. 158-168, 1995.

RODRÍGUEZ, M.; BARROSO-CHINEA, P.; ABDALA, P.; OBESO, J.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, T. Dopamine cell degeneration induced by intraventricular administration of 6-hydroxidopamine in rat: similarities with cell loss in Parkinson's Disease. **Experimental Neurology**, v. 169, p. 165-175, 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.

ROUSSINOV, K.S.; YONKOV, D.L. Cholinergic mechanisms in the learning and memory facilitating effect of caffeine. **Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.**, v. 2, p. 61-68, 1976.

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

SANSONE, M.; BATTAGLIA, M.; CASTELLANO, C. Effect of caffeine and nicotine on avoidance learning in mice: lack of interaction. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 46, p. 765-767, 1994.

SMITH, A.; MABEN, A.; BROCKMAN, P. Effects of evening meals and caffeine on cognitive performance, mood and cardiovascular functioning. **Appetite**, v. 22, p.57-65, 1994.

SQUIRE, L. R.; KNOWLTON, B.; MUSEN, G. The structure and organization of memory. **Annu. Rev. Psychol.**, v. 44, p. 453-495, 1993.

STEBBINS, G. T.; GABRIELI, J. D. E.; MASCIARI, F.; MONTI, L.; GOETZ, C. G. Delayed recognition memory in Parkinson's disease: a role for working memory? **Neuropsychologia**, v. 37, p. 503-510, 1999.

STOOF, J. C.; WINOGRODZKA, A.; VAN MUISWINKEL, F. L.; WOLTERS, E. C.; VOORN, P.; GROENEWEGEN, H. J.; BOOIJ, J.; DRUKARCH, B. Leads for the development of neuroprotective treatment in Parkinson's disease and brain imaging methods for estimating treatment efficacy. **European Journal of Pharmacology**, v. 375, p. 75-86, 1999.

TERRY, W.S.; PHIFER, B. Caffeine and memory performance on the AVLT. **J. Clin. Psychol.**, v. 42, p. 860-863, 1986.

TOLMAN, E.C. **Psychol. Rev.**, v. 55, p. 189-208, 1948.

VALZELLI, L.; BAIGUERRA, G.; GIRAUD, O. Difference in learning and retention by Albino Swiss mice: Part III. Effect of some brain stimulants. **Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.**, v. 8, p. 337-341, 1986.

WEBSTER, M. J.; BACHEVALIER, J.; UNGERLEIDER, L. G. Subcortical connections of inferior temporal areas TE and TEO in macaque monkeys. **J. Comp. Neurol.**, v. 335, p. 73-91, 1993.

WISE, S. P. The role of the basal ganglia in procedural memory. **Seminars in THE NEUROSCIENCES**, v. 8, p. 39-46, 1996.

YONKOV, D.L.; ROUSSINOV, K.S. Influence of eserine on the learning and memory facilitating effect of central stimulants. **Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.**, v. 9, p. 11-17, 1983.

ZIGMOND, M. J.; BLOOM, F. E.; LANDIS, S. C.; ROBERTS, J. L.; SQUIRE, L. R. **Fundamental Neuroscience**. Ed. Academic Press, London, UK, p. 1411-1486, 1999.