

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
POS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

LAURA MILENA NITOLA PULIDO

**ESTUDO DOS EFEITOS DA ATIVAÇÃO E INIBIÇÃO DE RECEPTORES D1
NO NÚCLEO ACCUMBENS NA EXPLORAÇÃO DO CAMPO ABERTO EM
RATOS**

CURITIBA

2014

LAURA MILENA NITOLA PULIDO

**ESTUDO DOS EFEITOS DA ATIVAÇÃO E INIBIÇÃO DE RECEPTORES D1
NO NÚCLEO ACCUMBENS NA EXPLORAÇÃO DO CAMPO ABERTO EM
RATOS**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Farmacologia, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná,

Orientador: Prof. Dr. Cláudio da Cunha

CURITIBA

2014

PARECER

A Comissão Examinadora da Dissertação de Mestrado intitulada "ESTUDO DOS EFEITOS DA ATIVAÇÃO E INIBIÇÃO DE RECEPTORES D1 NO NÚCLEO ACCUMBENS NA EXPLORAÇÃO DO CAMPO ABERTO EM RATOS", de autoria da pós-graduanda **LAURA MILENA NÍTOLO PULIDO**, sob orientação do Prof. Dr. Cláudio da Cunha e composta pelos professores Prof. Dr. Cláudio da Cunha (Presidente - Farmacologia - UFPR); Prof. Dr. Romulo Antônio Fuentes Flores (Instituto Internacional de Neurociências de Natal - Edmond e Lily Safra) e Prof. Dr. Roberto Andreatini (Farmacologia – UFPR), reuniu-se e, de acordo com o Regimento Interno do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, a pós-graduanda foi APROVADA. Para a devida publicação o trabalho deverá sofrer as modificações sugeridas, que serão conferidas por seu orientador. Em Curitiba, 06 de junho de 2014.



Prof. Dr. Cláudio da Cunha (Presidente - Farmacologia - UFPR)



Prof. Dr. Romulo Antônio Fuentes Flores (Instituto Internacional de Neurociências de Natal - Edmond e Lily Safra)



Prof. Dr. Roberto Andreatini (Farmacologia – UFPR)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à minha família, à todos, pois o seu amor me dá força cada dia. Agradeço especialmente à minha avó pelos seus ensinamentos e seus cuidados. À minha madrinha a quem eu devo tudo o que sou agora. À minha mãe pelo apoio incondicional: obrigada por ser essa pessoa com quem posso contar sempre e por vivenciar cada minuto da minha vida do meu lado, é por você que eu nunca me sinto sozinha. Agradeço aos meus irmãos Felipe e Jose porque eles são os meus melhores e mais velhos amigos, e também Nicolás, Mariana e Lucía porque são a luz e a alegria da minha vida: amo vocês.

Agradeço infinitamente ao professor Claudio, pela valiosa oportunidade de ser a sua aluna e por todos os seus ensinamentos, porque do seu lado o amor pelo meu trabalho cresce e se fortalece constantemente. Obrigada também pelo seu apoio nos momentos de dificuldade. Agradeço também à sua esposa e filhos pelo apoio pessoal e pelo carinho.

Agradecimentos infinitos aos meus colegas e amigos do departamento, especialmente: Amanda, Suelen, Jéssica, Etieli, Danielle, Samuel, Bernardo e Alex porque, muito mais do que colegas, vocês são meus irmãos. Obrigada por todo o apoio técnico e pessoal, pela amizade, por compartilharem esta jornada comigo; porque nós trabalhamos juntos, comemoramos as vitórias, sofremos as batalhas juntos, e no meio disso tudo também rimos e choramos.

Agradeço ao Alex, Maria Jimena, Santiago e Alejandra, por serem a minha família em Curitiba. Obrigada por me adotarem, a minha vida em Curitiba não seria tão feliz sem vocês. Eu os amo muito.

Agradeço também a toda equipe de trabalho do Instituto Internacional de Neurociências – Edmond e Lily Safra, de Natal e as pessoas próximas à eles: a amizade de vocês é uma das melhores lembranças da minha vida em Natal, obrigada pelo carinho e acolhida. Agradecimentos especiais ao Dr. Rómulo Fuentes e ao Dr. Edgar Morya, porque muito mais do que chefes, foram mestres e amigos: foi um grande prazer trabalhar e aprender ao lado de vocês, espero continuar crescendo como cientista nas suas mãos por muito tempo.

À equipe do Laboratório de Neurociências y Comportamento, da Universidade dos Andes, de Bogotá, principalmente ao diretor Prof. Dr. Fernando Cárdenas: obrigada por semear em mim o amor por este caminho que, embora às vezes seja difícil, é também maravilhoso e cheio de satisfações.

Obrigada também a Laura Leon, Marly, Johanna, Andrés Vega e Rodrigo, que estiveram comigo nos meus primeiros passos, e continuam do meu lado, como colegas e como caríssimos amigos. Agradeço os seus conselhos acadêmicos e pessoais, os momentos compartilhados, as lembranças infinitas e o grande carinho.

Ao pessoal do departamento de Farmacologia. Aos professores pelos ensinamentos e orientação. Aos funcionários por toda a ajuda concedida aos alunos.

Aos membros da Banca, por aceitarem avaliar o meu trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

*Si para recobrar lo recobrado
debí perder primero lo perdido,
si para conseguir lo conseguido
tuve que soportar lo soportado,*

*Si para estar ahora enamorado
fue menester haber estado herido,
tengo por bien sufrido lo sufrido,
tengo por bien llorado lo llorado.*

*Porque después de todo he comprobado
que no se goza bien de lo gozado
sino después de haberlo padecido.*

*Porque después de todo he comprendido
que lo que el árbol tiene de florido
vive de lo que tiene sepultado.*

Francisco Luis Bernádez

RESUMO

O núcleo accumbens (NAc) é parte do corpo estriado, a maior estação de aferências dos “núcleos da base”. Os neurônios estriatais de projeção dividem-se em duas populações: a via direta que facilita o movimento e a via indireta que inibe o movimento. A primeira população de neurônios expressa receptores dopaminérgicos D1, enquanto a segunda expressa receptores D2; assim, a dopamina ativa os neurônios da via direta e inibe os neurônios da via indireta; sendo seu papel pró-movimento. Além disso, o NAc recebe aferências da formação hipocampal, uma região envolvida na memória espacial; e, ainda, existem evidências mostrando que o NAc tem importância em tarefas de navegação espacial. O objetivo deste trabalho foi testar a presença de neurônios place to go no NAc: células que codificam um lugar específico do ambiente e, quando ativadas, conduzem a uma aproximação para este local. Assim, treinaram-se ratos para procurar pellets no campo aberto, e avaliou-se o comportamento de exploração durante seis dias nos quais administrou-se, antes de cada teste, um agonista (SKF81297) ou um antagonista (SCH23390) de receptores D1 no NAc. O tempo gasto na região do labirinto menos explorada diminuiu em decorrência da administração de SKF81297. Este resultado demonstra que é possível modificar as preferências de exploração do animal ao ativar receptores D1 no NAc. Isto corrobora a sugestão da presença de neurônios place-to-go no NAc., e o envolvimento dos núcleos da base em funções cognitivas, como a memória espacial.

▪

ABSTRACT

The nucleus accumbens (NAc) is part of the striatum, the main input station of the basal ganglia. Striatal projection neurons are divided in two populations: the direct pathway which enables movement and the indirect pathway that inhibits movement. The first population expresses D1 dopamine receptors, while the second population expresses D2 receptors; thus, dopamine facilitates the activation of the direct pathway and the inhibition of the indirect pathway, which confers a pro-movement role to it. In addition, NAc receives afferences from the hippocampal formation, a region involved in spatial memory; and there are evidences showing a participation of NAc in spatial navigation. The aim of this study was to test the presence of “place to go” neurons in the NAc: cells that encode a specific place in the environment and, when activated, promote an approach to that place. To this aim, rats were trained to seek pellets in an open field, and their exploratory behavior was assessed for six days. During this time, were infused a D1 agonist SKF81297 or a D1 antagonist SCH23390 intra-NAc. It was observed a decrease in the time spent in the less explored region of the arena when the rats received SKF81297. This result shows that it is possible to change the animals’ exploration preferences by stimulating D1 receptors in the NAc, which suggests the presence of place to go cells and the involvement of the basal ganglia circuit in cognitive functions as spatial memory.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Neuroanatomia dos núcleos da base.....	13
FIGURA 2 – Aferências glutamatérgicas do estriado.....	19

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- DLS – Estriado Dorsolateral (do Inglês, *dorsolateral striatum*)
- DMS – Estriado Dorsomedial (do Inglês, *dorsomedial striatum*)
- DS – Estriado Dorsal (do Inglês, *dorsal striatum*)
- FSI – Inter-neurônios de disparo rápido (do Inglês, *fast spiking interneurons*)
- LSI – Inter-neurônios de baixo umbral de disparo (do Inglês, *low-threshold spiking interneurons*)
- LTD – Depressão em Longo Prazo (do Inglês, *long term depression*)
- LTP – Potenciação em Longo Prazo (do Inglês, *long term potentiation*)
- MD – Tálamo Medio Dorsal
- MSNs – Neurônios Espinhosos Médios (do Inglês, *médium spiny neurons*)
- NAc – Núcleo Accumbens
- nNOS – Óxido Nítrico Sintetase (do Inglês, *neuronal nitric oxide synthase*)
- SNc – Substância Negra pars reticulata
- SNr – Substância Negra pars compacta
- STN – Núcleo Subtalâmico (do Inglês, *subthalamic nucleus*)
- TAN – Neurônios Tonicamente Ativos (do Inglês, *tonically active neurons*)
- VP – Pálido Ventral (do Inglês, *ventral pallidum*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1 O Corpo Estriado.....	14
1.1.1 Inter-neurônios Estriatais.....	16
1.1.2 Neurônios Espinhosos Médios: Via Direta e Indireta.....	17
1.1.3 Aferências Glutamatérgicas.....	19
1.1.4 Modulação Dopaminérgica Estriatal.....	20
1.2 Envolvimento Estriatal em Tarefas de Navegação Espacial.....	21
2. OBJETIVO GERAL.....	24
2.1 Objetivos Específicos.....	24
3. ARTIGO CIENTÍFICO.....	25
4. DISCUSSÃO GERAL.....	44
5. CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

APRESENTAÇÃO

Esta dissertação apresenta os resultados em forma de artigo científico. Nele são descritos os itens: Material e Métodos, Resultados, Discussão e Referências. Estes itens representam a íntegra deste trabalho.

No item 4, Discussão Geral, são apresentados comentários gerais a respeito dos resultados obtidos no artigo e No item 5, Conclusões, são apresentadas as conclusões gerais da dissertação. As Referências referem-se às citações que aparecem na Introdução e na Discussão Geral da dissertação.

1 INTRODUÇÃO

Os Núcleos da Base (Figura 1) são um conjunto de núcleos localizados na região basal do prosencéfalo, envolvidos no controle do movimento e na escolha de ações (Humphries, Stewart e Gurney, 2006; Kim *et al.*, 2007; Nicola, 2007; Stephenson-Jones *et al.*, 2011; Da Cunha, Gomez-A e Blaha, 2012; Berthet e Lansner, 2014). Fazem parte dos núcleos da base o corpo estriado: o globo pálido interno (ou núcleo entopeduncular em roedores), o globo pálido externo e o pálido ventral (Parent e Hazrati, 1995; Lanciego, Luquin e Obeso, 2012). Adicionalmente, existem núcleos que são considerados como parte do circuito por causa da sua estreita relação funcional; estas estruturas são o núcleo subtalâmico (STN) e a substância negra pars reticulata (SNr) e pars compacta (SNc) (Lanciego, Luquin e Obeso, 2012). Em virtude das suas conexões anatômicas, o estriado e o núcleo subtalâmico são considerados núcleos de entrada, enquanto que o globo pálido interno e a SNr são considerados núcleos de saída (Lanciego, Luquin e Obeso, 2012).

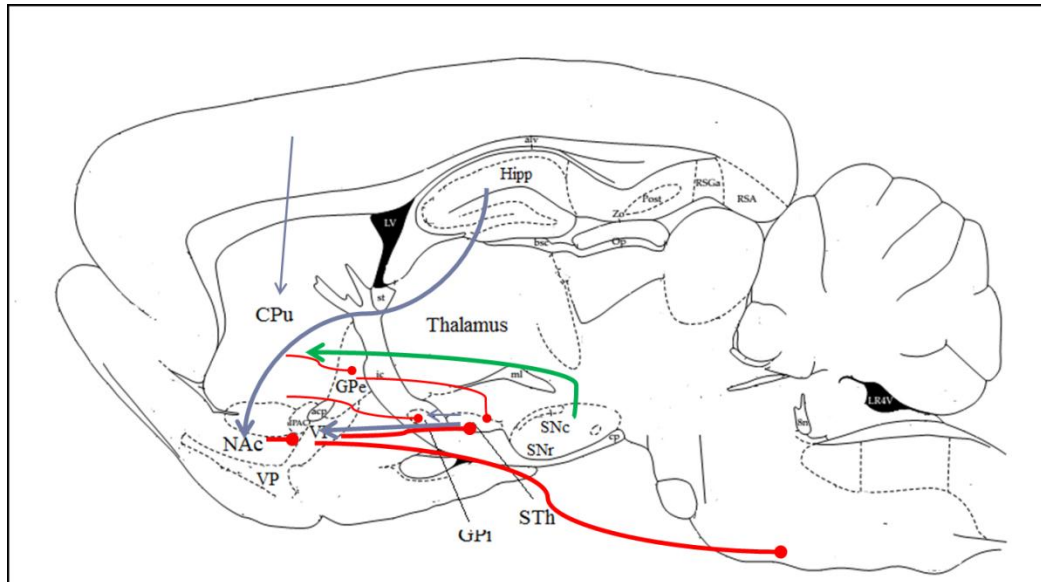


FIGURA 1 – Neuroanatomia dos núcleos da base: corte sagital do cérebro de ratos. As setas representam as conexões mais importantes do circuito. As setas azuis representam conexões glutamatergicas, destacando a projeção do hipocampo para o núcleo accumbens, do córtex para todo o corpo estriado, e as projeções do núcleo subtalâmico para o globo pálido interno e para o pálido ventral. As setas vermelhas representam as conexões GABAérgicas, ressaltando as projeções entre o núcleo accumbens e o pálido ventral, entre o estriado dorsal e o globo pálido interno e externo, entre o pálido ventral e os núcleos motores do tronco encefálico, e entre o globo pálido externo e o núcleo subtalâmico. A seta verde representa a projeção dopaminérgica desde os núcleos dopaminérgicos do mesencéfalo, para o estriado.

FONTE: Paxinos & Watson (1998)

Historicamente, a função atribuída a este circuito é o controle do movimento; isto devido ao papel que têm na fisiopatologia das doenças de Parkinson e Huntington, conhecidas pelos déficits motores (Blandini *et al.*, 2000; Parkinson, 2002; Sterling *et al.*, 2013). Além disso, com base em observações clínicas e pré-clínicas nas quais pacientes ou animais com lesão no lóbulo temporal - especificamente no hipocampo - apresentam complicações nas memórias episódica e espacial, mas tem preservado o aprendizado motor, foi proposto que existem diferentes sistemas de memória com diferentes substratos neurobiológicos (Scoville e Milner, 1957; Squire, 2004). Desta forma, o circuito dos núcleos da base foi relacionado com a memória de procedimentos, principalmente com a capacidade de apresentar respostas motoras apresentadas de forma automática (inconsciente ou implícita) à estímulos que sinalizam uma consequência reforçadora, enquanto que o lóbulo temporal foi relacionado com memória episódica e localização espacial (Squire, 2004)

Nas últimas décadas os grandes esforços para elucidar os mecanismos neurobiológicos da doença de Parkinson forneceram fortes evidências apoiando a ideia do envolvimento dos gânglios da base no controle motor e na memória de procedimentos. Os estudos clínicos também mostraram que, além das deficiências motoras, os pacientes com Parkinson apresentam problemas cognitivos (Mattila *et al.*, 2000; Rinne *et al.*, 2000; Macdonald *et al.*, 2011; Jokinen *et al.*, 2013). De forma paralela, os estudos com modelos animais mostram um envolvimento deste circuito com o aprendizado associativo e a tomada de decisões (Corbit, Muir e Balleine, 2001; Yin, Knowlton e Balleine, 2004; 2005; Yin *et al.*, 2005; Da Cunha, Gomez-A e Blaha, 2012; Leung e Balleine, 2013; Hart, Leung e Balleine, 2014). De forma particular, existem algumas observações que indicam um envolvimento dos núcleos da base em tarefas de navegação espacial. Tal é o tópico abordado durante este trabalho.

1.1 O Corpo estriado

O corpo estriado é a estação de entrada mais importante dos núcleos da base. Ele é composto por duas regiões, uma dorsal e uma ventral (Voorn *et al.*,

2004). O estriado dorsal (DS), em primatas, está dividido pela cápsula interna entre núcleo caudado e putamen. Em roedores a divisão anatômica não é tão clara, porém este pode ser dividido em estriado dorsomedial (DMS) e estriado dorsolateral (DLS) com base nas suas conexões anatômicas (McGeorge e Faull, 1989; Voorn *et al.*, 2004); além disso, existem evidências de que o DMS e o DLS têm funções diferentes em processos comportamentais (Yin e Knowlton, 2004; Moussa *et al.*, 2011; Pauli *et al.*, 2012). Por sua vez, o estriado ventral encontra-se localizado antero-ventral ao estriado dorsal, e inclui alguns neurônios do bulbo olfatório e o núcleo accumbens (NAc) (Nicola, 2007; Humphries e Prescott, 2010); o segundo é dividido em duas sub-regiões, o *core* que é um grupo de neurônios que rodeia a comissura anterior, e o *shell* que esta localizado ventral e medial ao *core*.

Embora a proximidade anatômica entre as duas regiões estriatais, o papel comportamental atribuído tradicionalmente ao NAc difere daquele atribuído ao DS: o estudo sobre o NAc foi historicamente focado no papel dos processos de recompensa e motivação (McBride, Murphy e Ikemoto, 1999; Cardinal *et al.*, 2002; Kelley, 2004), entanto o DS foi relacionado à função motora devido ao seu papel em doenças como Parkinson e Huntington (Blandini *et al.*, 2000; Parkinson, 2002; Sterling *et al.*, 2013). Contudo, estudos demonstram que o DS possui também uma representação da recompensa que é utilizada para influenciar o comportamento motor (Schultz, 2000; Horvitz, 2002; Hikosaka, Nakamura e Nakahara, 2006) e que tanto NAc como DS estão envolvidos também em processos de aprendizado aversivo (Bromberg-Martin, Matsumoto e Hikosaka, 2010; Diaconescu *et al.*, 2010; Boschen *et al.*, 2011; Darvas, Fadok e Palmiter, 2011; Wietzikoski *et al.*, 2012; Dombrowski *et al.*, 2013; Wendler *et al.*, 2014). Estas descobertas permitiram ampliar a visão do papel do estriado dorsal e ventral no comportamento, como estruturas envolvidas na seleção de ações próprias ao contexto, com base na experiência (Humphries, Stewart e Gurney, 2006; Kim *et al.*, 2007; Nicola, 2007; Stephenson-Jones *et al.*, 2011; Da Cunha, Gomez-A e Blaha, 2012; Berthet e Lansner, 2014).

O corpo estriado possui diversas populações de neurônios divididas, de forma geral, em inter-neurônios e neurônios de projeção. A interação entre os diferentes tipos de neurônios, assim como a integração das aferências que eles recebem, permite ao estriado filtrar os sinais relevantes do “ruído” e cumprir a função na escolha da ação apropriada.

1.1.1 Inter-neurônios Estriatais

Os inter-neurônios estriatais compõem entre 5-10% da população e podem ser de dois tipos: inter-neurônios colinérgicos e GABAérgicos. Este segundo grupo, ainda pode ser dividido em 3 subtipos de acordo com a expressão diferencial de algumas proteínas e peptídeos: neurônios positivos para parvalbumina, óxido nítrico sintetase neuronal (nNOS) e calretinina (Fino e Venance, 2010; 2011). O nosso estudo pretende focar na atividade dos neurônios de projeção do estriado, contudo é relevante mencionar os tipos de inter-neurônios que fazem parte do microcircuito estriatal, porquanto eles modulam a atividade dos neurônios de projeção.

O primeiro tipo de inter-neurônios, os colinérgicos, são conhecidos como neurônios gigantes (*Giant Aspinous Neurons*) devido ao tamanho do seu soma (~50µm). Estes neurônios apresentam atividade tônica, potencial de ação de longa duração e baixa frequência de disparo; por este motivo são conhecidos como neurônios tonicamente ativos (TAN) (Fino e Venance, 2011). Esta atividade tônica é suspensa temporariamente frente a apresentação de estímulos relacionados com recompensa (Apicella, 2002; Kimura, Yamada e Matsumoto, 2003; Yamada, Matsumoto e Kimura, 2004; Apicella, 2007; Schmitzer-Torbert e Redish, 2008; Goldberg e Reynolds, 2011). Os TAN modulam a atividade dos neurônios de projeção mediante receptores muscarínicos M1 e M4, no caso dos neurônios da via direta (ver item 1.1.2) e mediante receptores M1 no caso da via indireta (Yan, Flores-Hernandez e Surmeier, 2001). O efeito, nos dois casos, é de aumento da atividade neuronal, decorrente da ativação do receptor M1 (Lin *et al.*, 2004; Perez-Rosello *et al.*, 2005; Pakhotin e Bracci, 2007). Adicionalmente, estes neurônios ativam inter-neurônios GABAérgicos positivos para parvalbumina, mediante receptores

nicotínicos (Koós e Tepper, 2002); e também modulam a atividade dos inter-neurônios GABAérgicos positivos para nNOS mediante receptores M1 e M2 (Bernard *et al.*, 1998).

Do segundo tipo, os inter-neurônios GABAérgicos, os dois primeiros subtipos são melhor conhecidos, enquanto que os neurônios positivos para calretinina ainda precisam ser estudados de forma mais extensa (Fino e Venance, 2011). Os neurônios positivos para parvalbumina são caracterizados pela sua curta duração do potencial de ação e a sua alta frequência de disparo, motivo pelo qual eles são conhecidos como inter-neurônios de disparo rápido (FSI)(Fino e Venance, 2011). Os neurônios positivos para nNOS expressam, também, neuropeptídeo Y e somatostatina; estes neurônios possuem um limiar de disparo baixo, motivo pelo qual são conhecidos como inter-neurônios de baixo limiar de disparo (LSI) (Fino e Venance, 2011). Os inter-neurônios GABAérgicos estriatais exercem controle sobre os neurônios de projeção mediante receptores GABA_A, podendo retardar ou inclusive prevenir o disparo deles (Fino e Venance, 2011).

1.1.2 Neurônios Espinhosos Médios: Via Direta e Indireta

Aproximadamente 90% dos neurônios estriatais são neurônios de projeção GABAérgicos, nomeados neurônios espinhosos médios (MSNs), já que possuem uma árvore dendrítica extensa com uma grande quantidade de espinhos. Uma propriedade importante destes neurônios é o fato de eles oscilarem em dois estados conhecidos como *down state* e *up state* (Wilson e Kawaguchi, 1996). Estes neurônios possuem um potencial de membrana bastante hiperpolarizado, de -80mV e um nível de atividade espontânea baixo; o período em que o neurônio encontra-se neste potencial de membrana é conhecido como *down state* (Calabresi, Misgeld e Dodt, 1987; Nisenbaum, Xu e Wilson, 1994; Nisenbaum e Wilson, 1995). O *up state*, por sua vez, acontece quando vários terminais glutamatérgicos coincidem em disparar e liberar neurotransmissor; esta coincidência de *inputs* excitatórios, levará o neurônio para um estado de despolarização, e unicamente durante este estado poderá ocorrer o disparo (Wilson e Kawaguchi, 1996; Reyes *et al.*, 1998; Day *et al.*,

2008). Desta forma de atividade eles são conhecidos como neurônios fascicamente ativos (PAN).

Os MSNs do estriado dorsal podem ser divididos em duas populações segundo as suas propriedades eletrofisiológicas, neuroquímicas e projeções (Bertran-Gonzalez *et al.*, 2010). A primeira população é formada por neurônios que projetam diretamente aos núcleos de saída do circuito (a SNr e o globo pálido interno), por este motivo é conhecida como "via direta" ou "via striato-nigral"; estes neurônios produzem substância P e dinorfina e expressam primordialmente receptores D1 (Bertran-Gonzalez *et al.*, 2010). Por sua vez, os neurônios da segunda população sintetizam endorfinas, expressam principalmente receptores D2, e projetam para o globo pálido externo, motivo pelo qual eles são conhecidos como neurônios "striato-palidais" ou neurônios da "via indireta" (Bertran-Gonzalez *et al.*, 2010).

O modelo clássico de funcionamento dos gânglios basais propõe que as vias direta e indireta têm papéis opostos na modulação do movimento. De acordo com este modelo, a via direta exerce uma modulação positiva no movimento, enquanto que a via indireta modula negativamente (Ena, De Kerchove D'extraerde e Schiffmann, 2011). Estes postulados são baseados na conectividade, na atividade de repouso e na bioquímica dos neurônios de circuitos basais (Ena, De Kerchove D'extraerde e Schiffmann, 2011). Estudos com manipulação direta dos neurônios de cada via, por exemplo, por ablação, inibição ou ativação, tem confirmado o papel de cada população de MSNs tanto no movimento, como nos processos de recompensa (Durieux *et al.*, 2009; Hikida *et al.*, 2010; Kravitz *et al.*, 2010).

No caso do estriado ventral, particularmente do NAc, observa-se também uma segregação (parcial) entre neurônios que expressam preferencialmente receptores D1 e D2 (Robertson e Jian, 1995). Porém, ao contrário da região dorsal, o estriado ventral projeta para núcleos fora do circuito dos Núcleos da Base, o que dificulta a delimitação conceitual de vias análogas às vias direta e indireta do estriado dorsal (Nicola, 2007; Humphries e Prescott, 2010). Com isso, são de particular interesse duas características do

padrão de conexões que o NAc tem com o pálido ventral (VP): i) o NAc projeta para o VP que, por sua vez, projeta para o núcleo médio dorsal (MD) do tálamo e para núcleos motores do tronco encefálico; ii) o VP tem conexões recíprocas com o STN (Nicola, 2007). Desta forma, segundo Nicola (2007), o primeiro arranjo de conexões é semelhante ao apresentado pela via direta do estriado dorsal, enquanto que o segundo assemelha-se à via indireta. Com base nestas observações, Nicola (2007) propõe que o NAc influi também no comportamento através de duas vias, cuja saída é o VP: a primeira via seria NAc→VP→MD e a segunda via seria NAc→VP→STN→VP→MD. Estas duas vias poderiam, então, ser consideradas equivalentes às vias direta e indireta do estriado dorsal.

1.1.3 Aferências Glutamatérgicas

A principal aferência do estriado é o córtex cerebral (Voorn *et al.*, 2004). O estriado recebe informação, virtualmente, de todas as regiões do córtex. As sinapses cortico-estriatais atingem as espinhas dendríticas e apresentam certo nível de organização em cada região estriatal, como pode ser observado na Figura 2. O DLS recebe projeções de regiões sensoriomotoras, enquanto que o DMS recebe projeções, principalmente do córtex prefrontal (Voorn *et al.*, 2004). O NAc, da mesma forma que o DMS, recebe projeções do córtex prefrontal (Voorn *et al.*, 2004; Humphries e Prescott, 2010). A seguinte aferência glutamatérgica, segundo a sua relevância, provém do tálamo, principalmente dos núcleos da linha média, núcleos intralaminares e núcleos motores da região ventral (Voorn *et al.*, 2004). Estas sinapses atingem principalmente o *shaft* dos dendritos, porém, projeções do núcleo centromediano atingem também os espinhos. Por fim, o estriado recebe também algumas aferências de regiões límbicas incluindo a amígdala e o hipocampo. As projeções amigdalinas atingem todo o estriado, porém encontram-se concentradas na região ventro-medial, sendo escassas as aferências ao DLS (Voorn *et al.*, 2004). As aferências da formação hipocampal atingem exclusivamente o NAc, principalmente o *shell*, porém atingem também a região mais medial do *core* (Groenewegen *et al.*, 1987; Van Groen e Wyss, 1990; Witter, Ostendorf e Groenewegen, 1990). O alto grau de convergência de *inputs* no estriado,

principalmente nas regiões DMS e ventral (aonde chegam projeções corticais, talâmicas e límbicas) resulta numa capacidade alta para processar de forma flexível os objetivos de acordo às necessidades do organismo e aos efeitos da recompensa, em contextos espaciais.

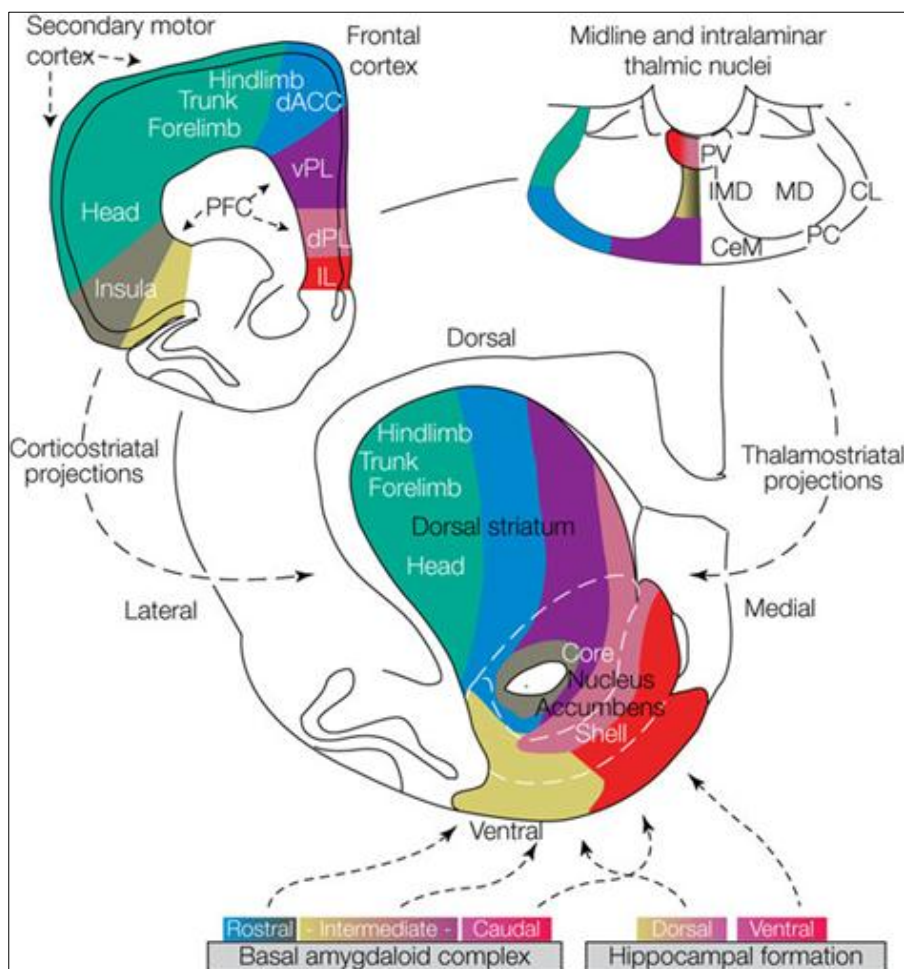


FIGURA 2 – Aferências glutamatergicas do estriado: representação esquemática do estriado de ratos. As cores indicam qual estrutura cerebral da origem às projeções, O verde representa o cortex motor, o azul representa o cíngulo anterior (região do cortex prefrontal), o roxo e o rosa representam o cortex prelimbico (região do cortex prefrontal) e o vermelho o cortex infralimbico (região do cortex prefrontal). Estão mapeadas com as mesmas cores as projeções desde os núcleos intralaminares e desde regiões límbicas (hipocampo e amígdala).

FONTE: Voorn, *et al.* (2004)

1.1.4 Modulação Dopaminérgica Estriatal

Além das aferências glutamatergicas, o estriado recebe uma modulação dopaminérgica proveniente da SNc e da área tegmentar ventral (VTA). Existe um amplo interesse por esta modulação, uma vez ela que é considerada um aspecto chave na fisiologia estriatal e no papel do estriado no comportamento.

Acredita-se que ela está relacionada com processos de recompensa, saliência motivacional, alerta (Bromberg-Martin, Matsumoto e Hikosaka, 2010) e com o aprendizado associativo (Dayan e Balleine, 2002; Yin, Ostlund e Balleine, 2008; Da Cunha *et al.*, 2009; Shiflett e Balleine, 2011). Adicionalmente, alterações nesta modulação são associadas com a fisiopatologia de várias doenças como o Parkinson (Blandini *et al.*, 2000; Rinne *et al.*, 2000; Da Cunha *et al.*, 2002; Wichmann e DeLong, 2011), Esquizofrenia (Brunelin, Fecteau e Suaud-Chagny, 2013; Laruelle, 2014), Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (Prince, 2008; Del Campo *et al.*, 2011) e com o abuso de drogas (Kenny, Voren e Johnson, 2013; Villalba e Smith, 2013; O'tousa e Grahame, 2014).

A dopamina exerce a sua modulação no estriado através de cinco classes de receptores acoplados à proteína G, que podem ser divididos em duas famílias: os receptores Tipo D1 -D1 e D5- que estão acoplados a proteína G_s e G_{off} e estimulam adenilato ciclase; os receptores Tipo D2 -D2, D3 e D4-, que estão acoplados a proteína G_o e G_i , que inibem adenilato ciclase (Neve, Seamans e Trantham-Davidson, 2004). Todas as classes de receptores se encontram expressas nos MSNs, porém os receptores D1 e D2 existem em maior abundância em duas populações distintas (como explicado no item 1.1.2). Portanto, a dopamina exerce modulação diferencial nos MSNs de cada via. Na via direta, a ativação de receptores D1 produz um aumento na excitabilidade neuronal e uma facilitação da potenciação em longo prazo (LTP) (Robertson, Vincent e Fibiger, 1992; Robertson e Jian, 1995; Surmeier *et al.*, 2007; Surmeier, Plotkin e Shen, 2009). Por sua vez, na via indireta, a ativação de receptores D2 diminui a excitabilidade neuronal e contribui com a depressão em longo prazo (LTD)(Hernández-Echeagaray *et al.*, 2004; Surmeier, Plotkin e Shen, 2009). Assim, sendo positiva a modulação que a dopamina faz nos neurônios da via direta e inibitória na via indireta, o papel da Dopamina seria pró-movimento e recompensa.

1.2 Envolvimento Estriatal em Tarefas de Navegação Espacial

O envolvimento do estriado em tarefas de navegação espacial foi sugerido após de que Annett e colaboradores (1989) observarem que lesões

no NAc prejudicam a aquisição da memória espacial no labirinto aquático de Morris (Annett, McGregor e Robbins, 1989). Nesta tarefa uma plataforma é escondida num piscina circular de 1 metro de diâmetro, onde ratos são treinados para procurar esta plataforma utilizando pistas visuais como referência. O labirinto de Morris é amplamente utilizado em estudos de memória espacial onde o desempenho nesta tarefa depende do hipocampo (Nunn *et al.*, 1994; D'hooge e De Deyn, 2001; Clark, Broadbent e Squire, 2005a; b; Broadbent, Squire e Clark, 2006; Clark, Broadbent e Squire, 2007; Miyoshi *et al.*, 2012). Annett e colaboradores (1989) observaram que os animais com lesão no NAc demoravam mais para aprender a tarefa que os animais controle, porém eles conseguiam aprender. Uma possível interpretação destes resultados é que os animais tinham dificuldade em trasladar a sua memória sobre a localização do labirinto em ação.

Após do estudo de Annett acumularam-se varias linhas de evidência que vinculam o estriado com a navegação espacial. Numa destas linhas, vários estudos demostram que manipulações farmacológicas no NAc, em particular bloqueio de receptores glutamatérgicos (Sargolini *et al.*, 2003; Ferretti *et al.*, 2007), dopaminérgicos (Coccarello *et al.*, 2000; Mele *et al.*, 2004), ou ambos (Coccarello, Oliverio e Mele, 2012), interfere com o processamento da informação espacial. De forma paralela, registros eletrofisiológicos permitiram observar uma correlação entre a atividade dos neurônios estriatais e o comportamento de navegação espacial. Por fim, estudos da circuitaria cerebral encontraram que existe uma projeção de regiões da formação hipocampal (o Subículo e o CA1) para o NAc. Assim, foi proposto que a informação espacial armazenada no hipocampo é transferida para o NAC. Este integra esta informação com a informação motivacional proveniente da inervação dopaminérgica e com a informação dos objetivos de cada tarefa proveniente do córtex prefrontal, escolhendo a ação apropriada com base nesta integração (Redish e Touretzky, 1997; Mizumori, Puryear e Martig, 2009; Humphries e Prescott, 2010).

Recentemente o nosso grupo de pesquisa propôs um modelo que explica o processamento de informação feito pelo estriado para cumprir a sua

função de escolha de ações: o Mosaico dos Espelhos Quebrados (Da Cunha *et al.*, 2009). Um dos postulados deste modelo fornece uma explicação para o processamento da informação espacial. Segundo este postulado, a escolha da ação apropriada, feita pelo NAc, incluiria qual é o local do ambiente que o animal deve se aproximar (ou qual local deve esquivar) e esta escolha seria feita mediante a ativação (ou inibição) de neurônios *place-to-go*: neurônios estriatais, provavelmente da via direta, que codificam para uma locação específica do ambiente; e quando ativados, promoverão o comportamento de aproximação para este local. Se esta explicação é correta, seria possível modular as preferências de exploração do animal ao manipular a atividade destes neurônios.

O objetivo deste trabalho foi testar esta predição.

2 OBJETIVO GERAL

Investigar a presença de neurônios “*place to go*” no NAc de ratos mediante a avaliação do efeito da ativação e da inibição dos receptores Dopaminérgicos D1 do Estriado de ratos Wistar sobre o comportamento de exploração no campo aberto.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da infusão do antagonista de receptores dopaminérgicos D1 SCH23390 numa região no Núcleo Accumbens sobre tempo gasto e o número de entradas em 19 quadrantes do campo aberto em ratos Wistar.
- Avaliar o efeito da infusão do agonista de receptores dopaminérgicos D1 SKF81297 numa região no Núcleo Accumbens sobre tempo gasto e o número de entradas em 19 quadrantes do campo aberto em ratos Wistar.
- Avaliar o efeito da infusão do antagonista de receptores dopaminérgicos D1 SCH23390 numa região no Núcleo Accumbens sobre a locomoção em ratos Wistar.
- Avaliar o efeito da infusão do agonista de receptores dopaminérgicos D1 SKF81297 numa região no Núcleo Accumbens sobre a locomoção em ratos Wistar.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Existem várias linhas de pesquisa com evidências de que há um envolvimento do núcleo accumbens (NAc) na navegação espacial. O NAc recebe uma projeção da formação hipocampal, região relacionada com o mapeamento da memória espacial. Além disso, manipulações no NAc prejudicam o desempenho em tarefas espaciais e, ainda, a ativação do neurônios do NAc está relacionada com o comportamento de exploração. Neste trabalho foi testada a hipótese de que neurônios do NAc que expressam receptores dopaminérgicos D1, funcionarem como células *place-to-go*, ou seja, células que ao se ativarem, conduzem uma aproximação a locais específicos do ambiente. Para corroborar este cenário, treinaram-se ratos para procurar pellets em um campo aberto e, após o treino, avaliou-se o comportamento exploratório por seis dias. Durante este período de avaliação foram administrados intra-NAc um agonista (SKF81297) e um antagonista (SCH23390) de receptores D1. Após a avaliação de desempenho dos animais sob ação tanto do agonista SKF81297, como do antagonista SCH23990, constatou-se uma diminuição significativa no tempo gasto na região menos explorada nos treinos nos animais sob efeito de SKF81297. Este resultado nos sugere que há a possibilidade de existir neurônios *place-to-go* na região do NAc.

**Microinfusion of a D1 dopamine receptor agonist into the rat nucleus accumbens
alters place-to-go preference**

Trabalho submetido
para publicação na
revista Behavioural
Brain Research, 2014.

Microinfusion of a D1 dopamine receptor agonist into the rat nucleus accumbens alters place-to-go preference

Laura Milena Nitola Pulido ^a, Suelen Boschen de Souza ^a, Jessica Gaspar ^a, Samuel Gabriel dos Santos^a, Roberto Andreatini ^a, Claudio da Cunha ^{a*}

**^aLaboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central,
Departamento de Farmacologia, UFPR, C.P. 19.031, 81.531-980 Curitiba PR,
Brazil**

***Corresponding Author. Tel: +55 41 3361 1717**

E-mail address:dacunha@pq.cnpq.br (C. Da Cunha).

Keywords: basal ganglia, action-selection, ventral striatum, spatial navigation

Abstract

Several lines of evidence indicate a role for the nucleus accumbens (NAc) in spatial navigation. The NAc is targeted by the dorsal hippocampus region which is involved in mapping spatial information. In addition, lesion and pharmacological manipulations of the NAc impair performance in spatial tasks, and NAc cells show place-related activity. In the present study we tested the hypothesis that NAc cells expressing D1 dopamine receptors function as “place-to-go cells” by triggering approach behavior to a specific place in the environment. This hypothesis was tested by microinfusing the D1 agonist SKF81297 or the D1 antagonist SCH23990 into the NAc of adult male Wistar rats and looking for changes in exploration preferences while the animals foraged in an open field for sucrose pellets. The open field was imaginarily divided into 19 areas of the same size and place preferences were judged by scoring the number of entries and time spent in each area. Though place preference varied considerably among animals, a significant decrease in the time spent in the less explored region was observed after SKF81297 treatment. This result is coherent with the prediction that activation of D1 receptors in NAc increases the time the animals explore the place fields of place-to-go cells thus decreasing the time spent in areas they used to explore less. This finding supports the view that the basal ganglia are involved not only in body parts action-selection but also in selection of places to go.

1. Introduction

Spatial navigation is traditionally related with hippocampal activity. Based on the presence of the so called place-cells (neurons in the hippocampus that increase their firing when the animal enters a particular place), it has been proposed that a cognitive map is represented in hippocampal neurons [1-4]. While there is strong evidence to support this hypothesis, there are also some indications that brain regions outside the hippocampus are involved in spatial navigation [4, 5]. In this regard, the nucleus accumbens (NAc) is of special interest since it receives afferents from the CA1 and subiculum [6-8] which target mainly the NAc shell, although some neurons also project to a small portion of the NAc core [6-8]. In addition, the NAc receives a dopaminergic projection from the ventral tegmental area (VTA) which is known to carry information about motivational value and salience [9]. Furthermore, the NAc projects to mesencephalic areas related to locomotor functions [10]. These connections put the NAc in a strategic position to select places to go based on expected outcomes [5].

The NAc, composed of core (surrounding the anterior commissure) and shell (medial and ventral to the core) subregions, is part of the ventral striatum. The striatum is the main input station of the basal ganglia which are a set of subcortical nuclei that play a role in action selection [11-14]. Nearly 90% of the striatal neurons are GABAergic projection neurons named medium spiny neurons (MSNs) [15]. They compose two populations that make direct and indirect projections to output stations of the basal ganglia: the substantia nigra pars reticulata (SNr), the internal part of the globus pallidum (GPi), the entopeduncular nucleus, and the ventral pallidum (VP) [15]. In the dorsal striatum, MSNs of the direct pathway express predominantly D1 dopamine receptors and project directly to the SNr/GPi, while MSNs of the indirect pathway express predominantly D2 receptors and send indirect projections to the SNr/GPi through the external part of the globus pallidus (GPe). The MSNs of the direct pathway are in position to select actions encoded in the motor cortex, while MSNs of the indirect pathway can inhibit concurrent (improper) actions [15]. D1 stimulation increases excitability of MSNs in the direct pathway that are in the up-state (almost depolarized), but increases hyperpolarization of MSNs in the down state; this improves action-selection accuracy [16]. On the other hand, D2 stimulation decreases excitability of MSNs in the indirect pathway [16, 17] and reduces inhibition in concurrent actions.

In the NAc D1 and D2 receptors are mostly segregated in two populations of MSNs [18] and both send direct [18] and indirect [19] projections to the basal ganglia output stations. Therefore, it is likely that MSNs of the NAc that express D1 receptors play key roles in selecting places to go by acting on brainstem locomotor nuclei under the control of the ventral pallidum (VP). This view is supported by a growing body of evidence suggesting that the NAc plays a key role in spatial navigation. First, hippocampal projections to the striatum are directed almost exclusively to the NAc, mostly to the medial shell, although a small portion of the core is also targeted [6-8]. Second, several studies showed place-related activity of MSNs in the NAc [20-23]. This suggests that the hippocampus provides spatial information to the NAc which might use it to choose places to go. Third, rats with lesions in the NAc show navigation deficits in a T-maze task and in the Morris water maze [24]. Fourth, spatial memory learning requires CREB expression in the NAc [25] and is impaired by blockade of glutamate receptors in the NAc [26, 27]. Finally, activation or blockade of dopamine receptors in the NAc causes hyper- or hippo-locomotion, respectively [28-33].

Here we propose that NAc MSNs expressing D1 receptors act as “place-to-go cells”, as proposed in the Mosaic of Broken Mirrors Model [34]. According to this model, activation of MSNs encoding a specific place leads to approaching this place; conversely, the inactivation leads to avoiding this place. This model predicts that manipulation of D1 receptors in restricted areas of the rat NAc alters preference for specific places thus altering the rat exploration pattern. Exploration of an open field by rats was assessed by measuring the time spent and the number of entries on 19 places (regions) of the open field. Activation of different populations of place-to-go cells was expected to modify exploration preferences for specific place in a random manner. Therefore, we could not expect that all animals receiving the same D1 drug would change their preference for exploring the same areas. If the hypothesis is true, all we can expect to observe is place preference changes when D1 agonists or antagonists are infused into the NAc. Testing this prediction is the aim of the present study.

2. Methods

2.1. Subjects

Twenty adult male Wistar rats weighing 200-250 g at the start of the experiments were used. The animals were kept in plexiglass cages (60 X 25 X 25 cm),

four animals per cage, with water ad libitum, under a 12/12 h light/dark cycle and at a constant temperature of 22°C±2°C. All experiments were carried out during the light phase. During four days before the beginning of the experiments, the animals were handled for 3 min and were put under a food-restriction regime to reach 85-90% of their ad-libitum weight. Efforts were made to minimize animals distress, and all procedures were approved by the Universidade Federal do Paraná Animal Care Committee (protocol 773) and were consistent with Brazilian (Law n. 11.794, 8 October 2008) and international laws (EC Council Directive, 24 November 1986; 86/609/EEC) for animal care and research.

2.2. Drugs

The following drugs were used in this study: SKF81297(2,3,4,5-tetrahydro-6-chloro-7,8-dihydroxy-phenyl-1H-3-benzazepine; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) and SCH23390 (R(+)-7-chloro-8-hydroxy-3-methyl-1-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-3-benzazepine hydrochloride; Tocris Bioscience, USA) were dissolved in artificial cerebrospinal fluid (aCSF: 8.66 g NaCl, 0.205 mg KCl, 0.176 g CaCl₂ 2.H₂O, and 0.173 g MgCl₂ 6H₂O in 1 l water, pH 7.4). The doses -0.4 µg for each drug- were chosen based on previous experiments from our group [35]. Drugs were administered in a 0.1 µl volume.

2.3. Experimental design

The animals were randomly divided in 2 groups named “treated” and “pseudo-treated”; ten animals per group. They were kept under food restriction from 3 days before the experiment start until 1 day before surgery and from 2 days before the testing sessions started until the end of the experiment. We used the following schedule: days 1-3 – food restriction; day 4 – habituation to the open field; days 5-8 – foraging training sessions; day 9 – rest and end of the food restriction regimen; day 10 – surgery; days 11-15 rest; day 16 food restriction resumes; days 19-27 – foraging test sessions. On days 19-27 animals of the treated group received intra-NAc infusions of aCSF, 0.4 µg SKF 81297, or 0.4 µg SCH 23390 immediately before test sessions. The order in which the drugs were administered changed among animals in a Latin square fashion: during the 6 testing days each animal received one infusion per day of one of the drugs. Overall they received 2 infusions of each of the drugs in random and balanced manner.

Animals of the pseudo-treated group received one infusion of aCSF each day before the test, 6 infusions in total.

2.4. Surgery

Animals received penicillin G-procaine (20,000 U in 0.1 ml, i.m.), atropine sulfate (0.4 mg/kg, i.p.), and were anesthetized with 3 ml/kg equitesin (1% sodium thiopental; 4.25% chloral hydrate; 2.3% magnesium sulfate; 42.8% propylene glycol; 3.7% ethanol; in water). Hereupon, they were placed in the stereotaxic frame and a stainless-steel, 15 mm long, 21 ga., cannula, aiming 2 mm above the NAc was unilaterally implanted according to the following coordinates: AP +2mm from bregma; ML \pm 1.2 mm from midline; DV -5.0 mm from the skull [36]. In each group, half of the animals had the cannula implanted in the left hemisphere and the other half in the right hemisphere. The cannula was fixed with a stainless-steel screw and polyacrylic cement. Animals were allowed to recover from anesthesia in a temperature controlled room before returning to homecages.

2.5. Behavioral procedures

Foraging training and test sessions were carried out in a 35 cm high, 1 m diameter circular arena with a black rubber floor with 76 holes (Fig. 1). The holes were 0.5 cm deep and equidistantly disposed in 5 concentric circles where sucrose pellets could be hidden. The maze floor was divided into 19 equal regions. Each region had 4 holes. The areas were defined by a 20 cm diameter imaginary inner circle and another outer 60 cm diameter circle. The first region was the smallest circle in the center of the maze. The next 6 regions were in the annular area between the inner and the outer circles. The last 12 regions were in the area between the outer circle and the wall of the maze.

Training: Rats were given a habituation session and, in the next 4 days, they were given a daily training session with 4 consecutive trials. In the habituation session rats were individually allowed to explore the empty (no pellet) maze for 5 min. In each trial they were allowed to look for 20 sucrose pellets that were placed in the maze holes: 2 in the central circle, and 1 each in the remaining 18 regions. Therefore 1 out of 4 holes of each region was pseudorandomly baited. Thus, each hole had 25% probability to be baited and every region was baited in at least one hole.

Testing: Test sessions were similar to training sessions except that the animals were given only one trial per session per day. Prior to each session, rats from the treated group received a unilateral intra-NAc infusion of 0.4 μ g SKF-81297, 0.4 μ g SCH-23390 or aCSF. The drugs were dissolved in 0.1 μ L aCSF and infused for 30 s with a microinfusion pump (Insight Instruments, Ribeirao Preto, Brazil) connected to a 30-ga needle by polyethylene tubing. The needle extended 2 mm beyond the tip of the cannula. Across all test sessions each animal received one of these treatments twice. The order of the drug infusion varied for each animal in a Latin square manner. In order to evaluate whether some areas were more or less explored by chance (independent of the drug treatment) a control experiment was carried out with pseudo-treated animals which received aCSF before all the 6 test sessions. Animal's behavior was videotaped and analysed with ANY-MAZE software (Soelting, Wood Dale, IL, USA). The following exploration indexes were scored: number of entries and time spent in each of the 19 areas of the maze, travelled distance, and mean speed.

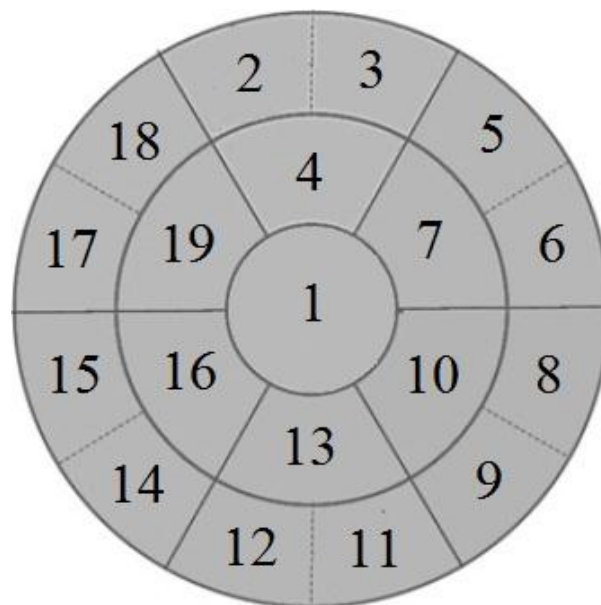


Fig. 1. Scheme of the open field floor showing the 19 areas in which exploratory scores were measured. The central area was baited with 2 sucrose pellets and the other 18 areas with 1 pellet.

2.5. Histology

At the end of the behavioral procedures, animals were deeply anesthetized with ketamine/xylazin (140/10 mg/kg) and were transcardially perfused with saline (0,9%)

followed by 4% paraformaldehyde (PA). Brains were removed, fixed in PA solution for 24 h, and post-fixed for 4 days in 20% of sucrose (dissolved in PA solution). Brain slices of 40 μm were cut in a cryostat (Leica CM1850, Nussloch, Germany) and processed for 2.5 % thionine staining. Only animals with appropriate placements in the NAc were included in the analysis.

2.6. Statistical analysis

Results were analyzed using STATISTICA 7.0 software. Data of the two days in which animals received the same drug were grouped by treatment (aCSF, SKF81297 or SCH23990). Based on the percentage of entries and time spent in each area, the highest and lowest explored areas were chosen according to the following criteria: (i) the highest explored areas were those presenting scores higher than the mean score for all areas plus one standard deviation (SD) on the two days in which the same drug treatment was given but not in the other 4 days; (ii) when more than one area achieved this criterion the one with the highest score was chosen; (iii) similar criteria were applied to choose the less explored area, i.e., the one with the lowest score among those with scores lower than the mean minus SD. Data of the pseudo-treated animals (rats that received aCSF in all 6 sessions) were grouped as if they had received the same drug treatment as the experimental groups; therefore, data from 3 groups of pseudo-treated rats were analysed: pseudo-aCSF, pseudo-SKF81297 and pseudo-SCH23990. This analysis in the pseudo-treated group was done to rule out that strong differences in exploration preferences may happen by chance.

Kolmogorov–Smirnov test showed that only two exploration scores presented normal distribution: percentage of entries in the highest explored region ($p = 0.08$) and time spent in the lowest explored region ($p = 0.08$); therefore, data of the treated group when under SKF81297 or SCH23990 were compared with data of the treated group when under aCSF using Mann-Whitney test. The same comparisons were made within the pseudo-treated group in order to rule out that strong differences in the exploration could happen by chance.

Only speed data presented normal distribution: travelled distance ($p = 0.03$, Kolmogorov-Smirnov test); and speed ($p = 0.13$). Thus, data of each group were compared by session (independent of the treatment) and analyzed by Friedman test. In addition, a comparison between treatments (aCSF, SKF81297 or SCH23990;

independent of the day) was carried out with Kruskal-Wallis ANOVA. *Post hoc* comparisons among sessions were analyzed with Wilcoxon Matched Paired test.

Differences were considered significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Histology

Five animals from the treated group and 6 animals from the pseudo-treated group showed infusion points in the medial region of the NAc shell and in the NAc core (Fig. 2). Only data of these animals were included in the analysis.

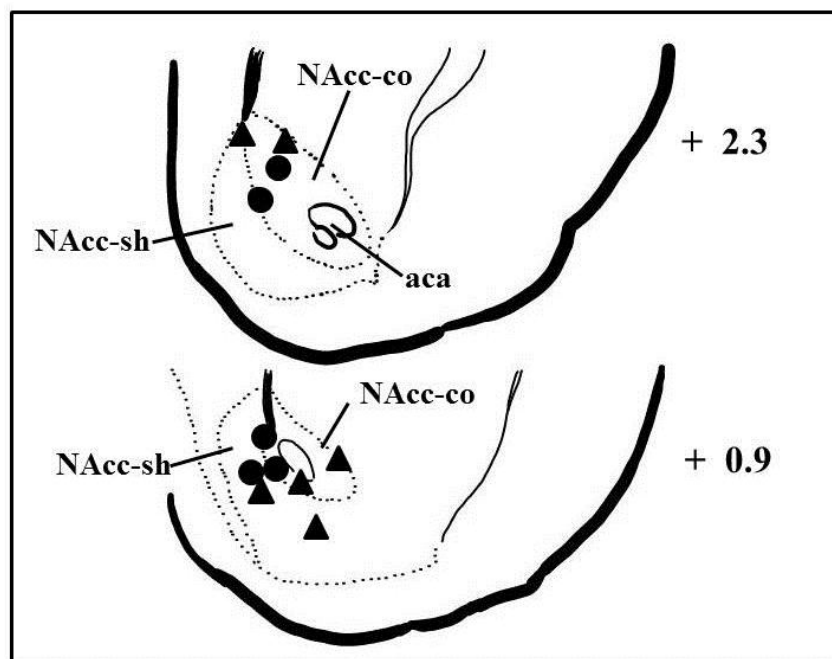


Fig. 2. Schematic coronal sections showing the locations of the infusion points in the nucleus accumbens. Infusion sites are represented as if all were only in one hemisphere. Circles represent infusion points for the 5 animals in the treated group included in the analysis. Triangles represent infusion points for the 6 animals in the pseudo-treated group included in the analysis. On the right of each section, the approximate distance (mm) to bregma is indicated according to the Atlas of Paxinos & Watson. Aca, anterior commissure; NAcc-co, nucleus accumbens core; NAcc-sh, nucleus accumbens shell.

3.2. Effects of D1 receptor modulation in open field exploration

Two representative tracks of rats exploring the open field are shown in Fig. 3. In these examples, it is possible to see that all areas of the maze were explored probably because the rats could not predict where the sucrose pellets were. However, some areas were more or less explored. The particular location of these areas varied in a random manner when rats were under pseudo-treatment (receiving only aCSF) but suggest that they visit and avoid certain areas more after they were infused with one of the D1 drugs in the NAc.

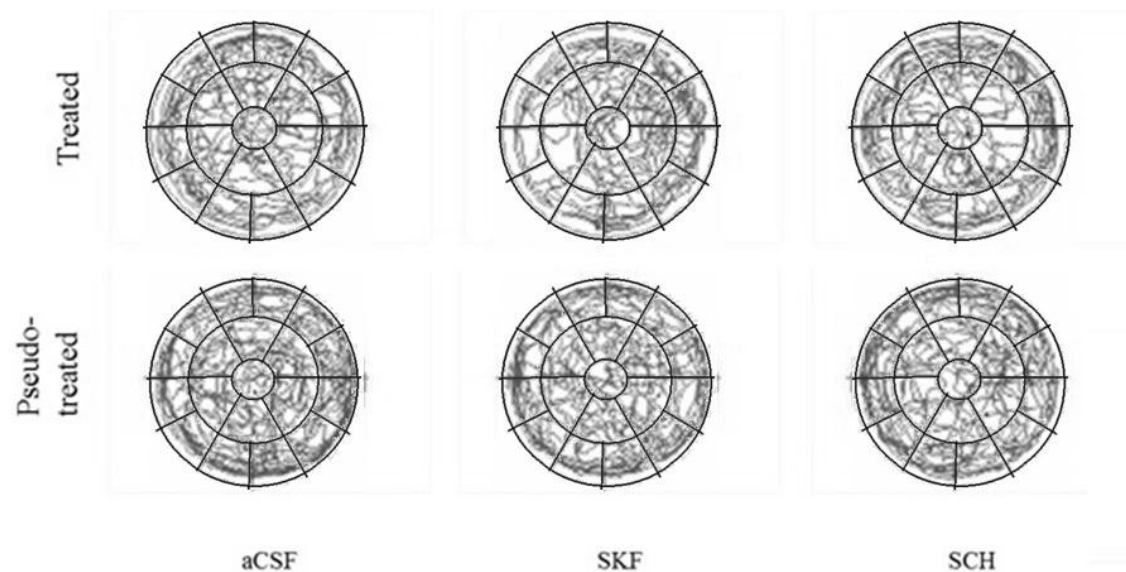


Fig. 3. Representative track plots of an animal while exploring the open field under drug treatment (infusion of aCSF, artificial cerebrospinal fluid; SKF, SKF81297; SCH, SCH23990 into the NAc) and pseudo-treatment (infusion of aCSF in the same order). Tracks from two days in which the animal received the same drug are overlapped.

Exploratory scores of the most and less explored areas after infusion of aCSF, SKF81297 or SCH23990 are shown in Fig. 4. Mann-Whitney U tests showed a significant reduction in the time spent in the less explored area by comparing scores of the days rats received SKF81297 ($p < 0.05$), but not SCH23990 ($p = 0.91$), with the days they received aCSF. No significant difference was observed for all the other comparisons between aCSF and drug scores which include: time spent in the most explored areas (SCH, $p = 0.17$; SKF, $p = 0.75$), percentage of entries in less (SCH, $p = 0.17$; SKF $p = 0.34$) and most (SCH, $p = 0.11$; SKF, $p = 0.94$) explored areas.

In order to evaluate whether alterations in these scores could happen by chance or are due to the order in which aCSF or the other drugs were administered, the same analysis was applied to data of pseudo-treated group (rats that received only aCSF on the 6 testing days). No significant difference within this group was observed. This includes comparisons between: aCSF and pseudo SKF81297 for time spent in the less ($p = 0.80$) and most ($p = 0.63$) explored areas and percentage of entries in less ($p = 0.74$) and most ($p = 0.10$) explored areas; aCSF and pseudo-SCH23990 for time spent in the less ($p = 0.93$) and most ($p = 0.74$) explored areas, and percentage of entries in less ($p = 0.19$) and most ($p = 0.054$) explored areas.

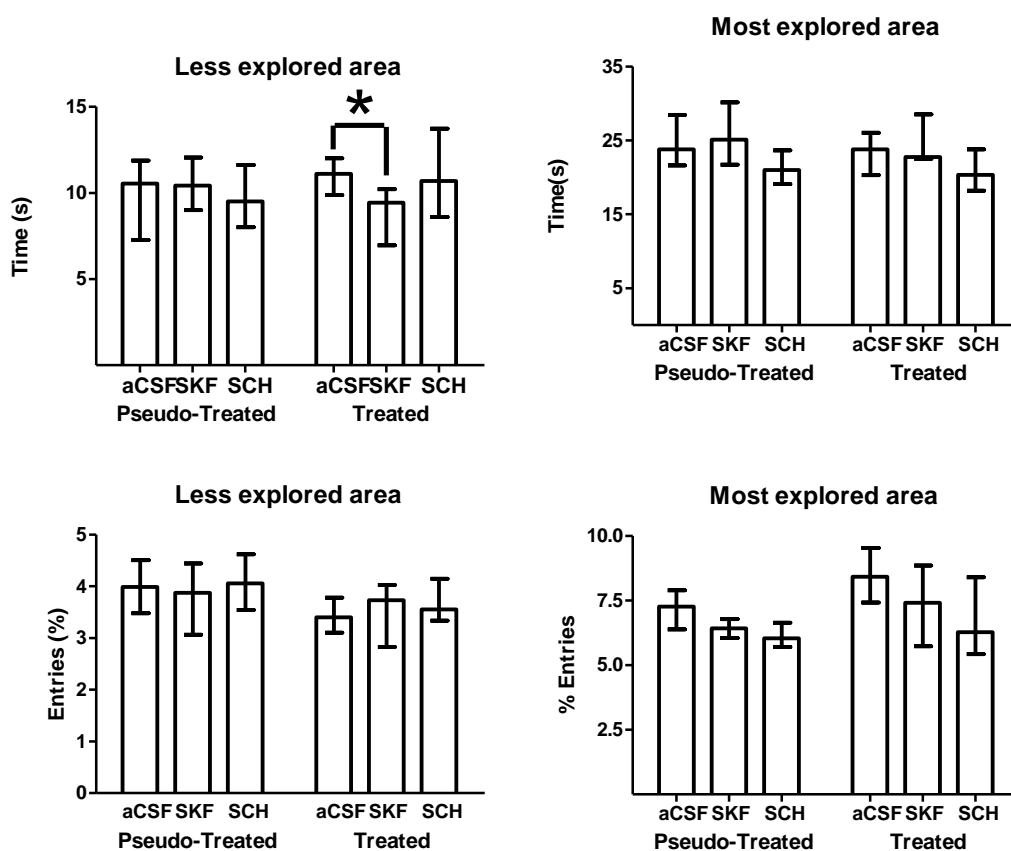


Fig. 4. Effect of modulation of D1 receptors in the Nucleus Accumbens on patterns of exploration of an open field. Treated group N=5; Pseudo-treated group N=6. Bars express median and whiskers express interquartile range time spent and percentage of entries in the most and less explored area. * $p < 0.05$ compared to the aCSF group, Mann-Whitney U test. aCSF, artificial cerebrospinal fluid; SKF, SKF81297; SCH, SCH23990.

3.3. Lack of effect of D1 receptor modulation on motor behavior and foraging skill

As presented in Fig. 5, pseudo-treated, but not treated, rats showed significant increases across the sessions in speed and travelled distance. Friedman test showed differences within pseudo treated group for travelled distance [$\chi^2(5)=12.57$, $p<0.05$] and speed [$\chi^2(5)=13.31$, $p<0.05$], but failed to show differences within treated group for travelled distance [$\chi^2(5)=4.65$, $p = 0.45$] and speed [$\chi^2(5)=6.42$, $p = 0.26$]. Wilcoxon test showed differences in pseudo-treated animals' data between sessions 1 and 3, 4, 5 and 6 for travelled distance (all cases $p<0.05$) and for speed (all cases $p<0.05$).

As shown in Fig. 6, comparisons between treatments (independent of the day) failed to show significant effects of treatments on travelled distance [$H_{2,N=36}=0.95$, $p = 0.61$, Kruskal-Wallis ANOVA] and speed [$H_{2,N=36}=0.52$, $p = 0.76$] scores.

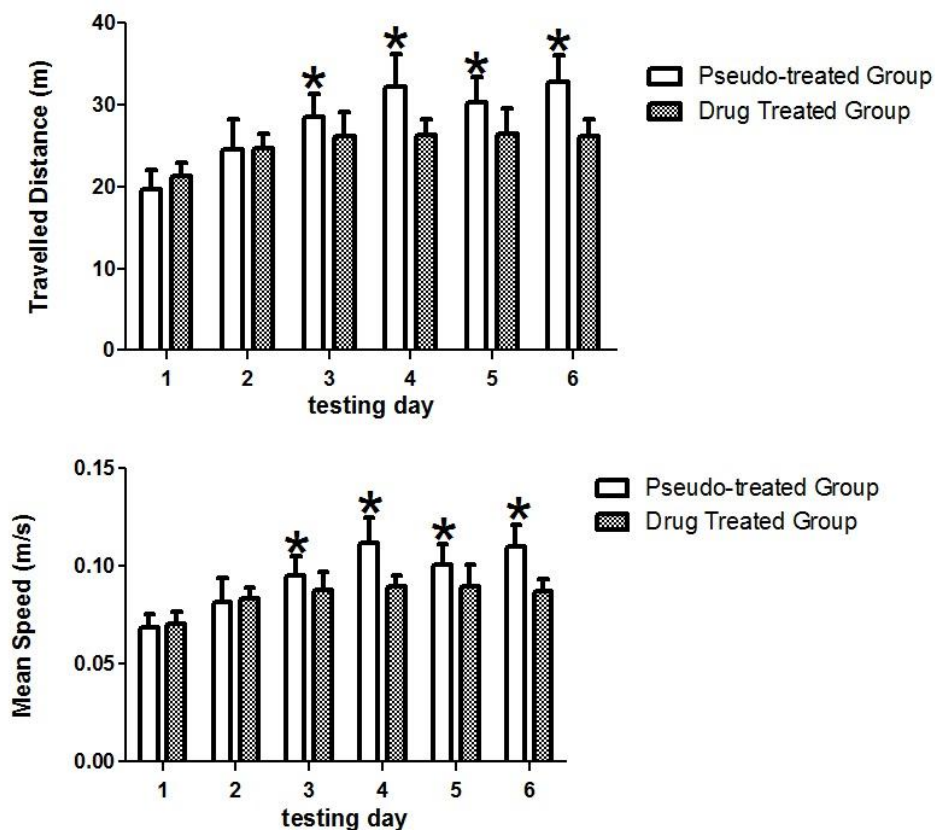


Fig. 5. Locomotion across the sessions. Treated group N=5; Pseudo-treated group N=6. Data expressed as mean \pm SEM . * $p<0.05$ compared to first day in pseudo-treated group. Friedman test.

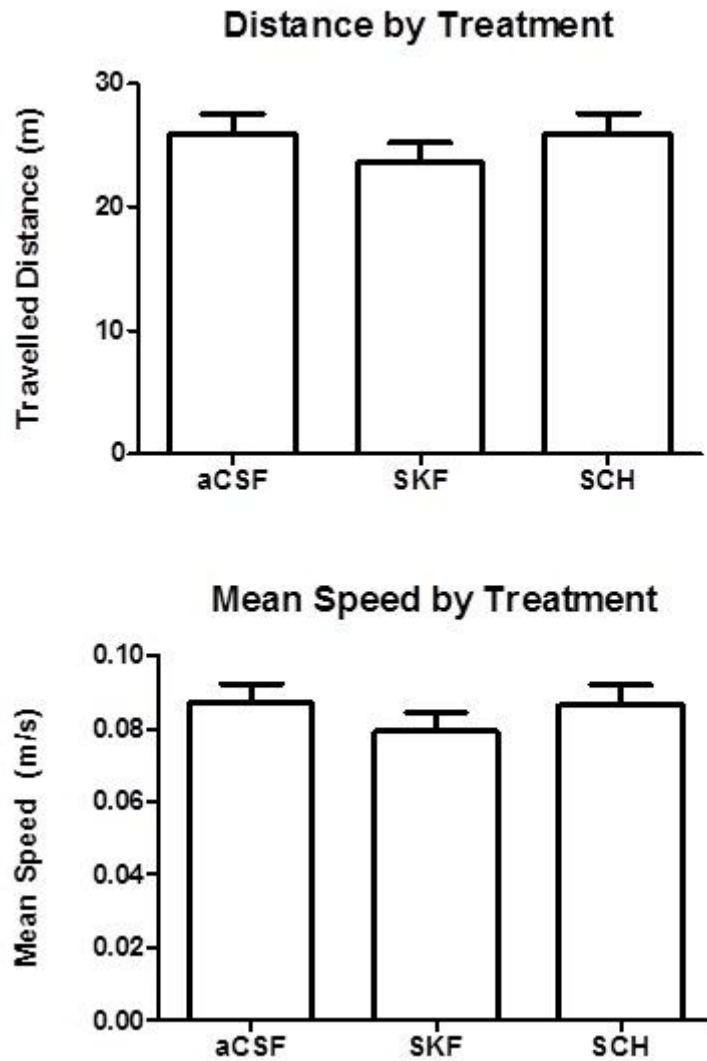


Fig. 6. Locomotion data of the treated group compared by treatment. Treated group N=5. No significant effects were found with Kruskal-Wallis ANOVA.

4. Discussion

This study was carried out as an attempt to test the hypothesis that there are place-to-go cells in the striatum, i.e. MSNs that trigger approach behavior directed to specific places. This hypothesis is one of the postulates of the Mosaic of Broken Mirror Model [34]. We tried to activate/deactivate a restricted portion of place-to-go cells by infusing into the NAc D1 receptor agonist or antagonist dissolved in the minimum possible volume. We expected this to happen because D1 receptors are known to facilitate depolarization of MSNs in the up state (Surmeier et al., 2007); supposedly the

cells that are about to depolarize to choose which place to go. We expected to find such place-to-go neurons in the NAc because this is the striatal site where place-related cells were recorded [20-23] and that receive most dense projections from the hippocampal formation [10] from which spatial information might be uploaded [5].

In agreement with our prediction, we observed a significant decrease in the time spent in the less explored area after infusion of SKF81297 into the NAc. This result suggests that activation of D1 receptor in a subpopulation of NAc MSNs decreased preference for exploring a particular area. This is not exactly what is expected based on the place-to-go cells hypothesis which predicts a higher preference for a particular place due to activation of a particular place-to-go cell. However, the time spent in the most explored area and percentage of entries in the most and least explored areas did not change after SKF81297 was infused into the NAc. In addition, compared to the controls, SCH23990 caused no significant effect in any preference score. It might have happened because even the lowest possible volume of drug solution infused activated a large restricted number of place-to-go cells. Thus, while causing higher exploration of several areas, D1 agonist activation decreased even more exploration of the less explored area. If this were the case, significant increase in exploration of a particular place was not detected because the animal divided its time exploring several places, which caused only discrete increases in preference for each higher explored place. On the other hand, while decreasing preference for several places, the D1 antagonist would have less impact on the preference for each of them. In this case, the spared time is distributed among exploration of the remaining places which causes low impact on the less explored area.

Future experiments might better test the place-to-go cells hypothesis by using techniques with better spatial resolution to stimulate MSNs in the striatum. Electrical stimulation and optogenetics are promising tools. Another important issue to be addressed in future studies is the high variability in the exploration pattern observed in the animals under all conditions, including drug pseudo-treatment. Animals spontaneously avoided or explored some areas of the maze more thus making comparisons between treatments difficult. In addition, the maze division made by us for the analysis does not necessarily reflect the way that the animals encode the open field space. An option for future studies is using the place fields of the NAc place-related cells to delimitate the areas of the maze.

In agreement with our results, in favor of the hypothesis that there are place-to-go cells in the NAc, other studies reported impairment of spatial navigation after ventral striatal lesion [24] or modulation of glutamatergic receptors in the NAc [26, 27]. The studies by Coccorello and co-workers also support the view that neurons of the NAc are critical for spatial navigation. They showed that the infusion of the D1 antagonist SCH23990 into mice NAc decreased the preference to explore an object found in a new location in an open field [37]. Contrary to the effect observed after infusion of a D2 receptor antagonist into the NAc, the dose of the D1 antagonist that effected preference to explore a specific place did not affect unspecific locomotor activity. In addition, they found that, in accordance with the modulatory effect of D1 receptors over corticostriatal synapses, D1 and NMDA antagonists presented addictive effects over the preference to explore a known object in a different location [38].

In summary, in addition to evidence presented by previous studies, the effect of SKF81297 on the time spent in the less explored area of the open field suggests that place-to-go cells might exist in the NAc. Future experiments are needed to test whether activation of a more restricted number of MSNs in the NAc can really trigger going to specific places. Follow up studies are needed using stimulation techniques with a better spatial resolution as well as a finer delineation of the maze regions to be analyzed.

Acknowledgements: The authors are grateful for the technical assistance by Gisele Oliveira, computational assistance by Dr. Solaiman Shokur, English revision by Alice Burns, and financial support from CNPq, Fundação Araucária, and CAPES.

References

- [1] O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Res.* 1971;34:171-5.
- [2] Ekstrom AD, Kahana MJ, Caplan JB, Fields TA, Isham EA, Newman EL, et al. Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature.* 2003;425:184-8.
- [3] Barry C, Burgess N. Neural Mechanisms of Self-Location. *Curr Biol.* 2014;24:R330-R9.
- [4] Stuchlik A, Kubik S, Vlcek K, Vales K. Spatial navigation: implications for animal models, drug development and human studies. *Physiol Res.* 2014;63 Suppl 1:S237-49.
- [5] Redish AD, Touretzky DS. Cognitive maps beyond the hippocampus. *Hippocampus.* 1997;7:15-35.
- [6] Groenewegen HJ, Vermeulen-Van der Zee E, te Kortschot A, Witter MP. Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience.* 1987;23:103-20.

- [7] van Groen T, Wyss JM. Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections. *J Comp Neurol*. 1990;302:515-28.
- [8] Witter MP, Ostendorf RH, Groenewegen HJ. Heterogeneity in the Dorsal Subiculum of the Rat. Distinct Neuronal Zones Project to Different Cortical and Subcortical Targets. *Eur J Neurosci*. 1990;2:718-25.
- [9] Bromberg-Martin ES, Matsumoto M, Hikosaka O. Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*. 2010;68:815-34.
- [10] Voorn P, Vanderschuren LJ, Groenewegen HJ, Robbins TW, Pennartz CM. Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends Neurosci*. 2004;27:468-74.
- [11] Stephenson-Jones M, Samuelsson E, Ericsson J, Robertson B, Grillner S. Evolutionary conservation of the basal ganglia as a common vertebrate mechanism for action selection. *Curr Biol*. 2011;21:1081-91.
- [12] Berthet P, Lansner A. Optogenetic stimulation in a computational model of the basal ganglia biases action selection and reward prediction error. *PLoS One*. 2014;9:e90578.
- [13] Kim YB, Huh N, Lee H, Baeg EH, Lee D, Jung MW. Encoding of action history in the rat ventral striatum. *J Neurophysiol*. 2007;98:3548-56.
- [14] Humphries MD, Stewart RD, Gurney KN. A physiologically plausible model of action selection and oscillatory activity in the basal ganglia. *J Neurosci*. 2006;26:12921-42.
- [15] Bertran-Gonzalez J, Hervé D, Girault JA, Valjent E. What is the Degree of Segregation between Striatonigral and Striatopallidal Projections? *Front Neuroanat*. 2010;4.
- [16] Surmeier DJ, Ding J, Day M, Wang Z, Shen W. D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends Neurosci*. 2007;30:228-35.
- [17] Hernández-Echeagaray E, Starling AJ, Cepeda C, Levine MS. Modulation of AMPA currents by D2 dopamine receptors in striatal medium-sized spiny neurons: are dendrites necessary? *Eur J Neurosci*. 2004;19:2455-63.
- [18] Robertson GS, Jian M. D1 and D2 dopamine receptors differentially increase Fos-like immunoreactivity in accumbal projections to the ventral pallidum and midbrain. *Neuroscience*. 1995;64:1019-34.
- [19] Nicola SM. The nucleus accumbens as part of a basal ganglia action selection circuit. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007;191:521-50.
- [20] Lavoie AM, Mizumori SJ. Spatial, movement- and reward-sensitive discharge by medial ventral striatum neurons of rats. *Brain Res*. 1994;638:157-68.
- [21] Shibata R, Mulder AB, Trullier O, Wiener SI. Position sensitivity in phasically discharging nucleus accumbens neurons of rats alternating between tasks requiring complementary types of spatial cues. *Neuroscience*. 2001;108:391-411.
- [22] Mizumori SJ, Yeshenko O, Gill KM, Davis DM. Parallel processing across neural systems: implications for a multiple memory system hypothesis. *Neurobiol Learn Mem*. 2004;82:278-98.
- [23] Taha SA, Nicola SM, Fields HL. Cue-evoked encoding of movement planning and execution in the rat nucleus accumbens. *J Physiol*. 2007;584:801-18.
- [24] Annett LE, McGregor A, Robbins TW. The effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on spatial learning and extinction in the rat. *Behav Brain Res*. 1989;31:231-42.
- [25] Ferretti V, Roullet P, Sargolini F, Rinaldi A, Perri V, Del Fabbro M, et al. Ventral striatal plasticity and spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:7945-50.

- [26] Ferretti V, Sargolini F, Oliverio A, Mele A, Roullet P. Effects of intra-accumbens NMDA and AMPA receptor antagonists on short-term spatial learning in the Morris water maze task. *Behav Brain Res.* 2007;179:43-9.
- [27] Sargolini F, Florian C, Oliverio A, Mele A, Roullet P. Differential involvement of NMDA and AMPA receptors within the nucleus accumbens in consolidation of information necessary for place navigation and guidance strategy of mice. *Learn Mem.* 2003;10:285-92.
- [28] Beninger RJ. The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Res.* 1983;287:173-96.
- [29] Dreher JK, Jackson DM. Role of D1 and D2 dopamine receptors in mediating locomotor activity elicited from the nucleus accumbens of rats. *Brain Res.* 1989;487:267-77.
- [30] Plaznik A, Stefanski R, Kostowski W. Interaction between accumbens D1 and D2 receptors regulating rat locomotor activity. *Psychopharmacology (Berl).* 1989;99:558-62.
- [31] Meyer ME. Effects of intraaccumbens dopamine agonist SK&F38393 and antagonist SCH23390 on locomotor activities in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1993;45:843-7.
- [32] Meyer ME, Van Hartesveldt C, Potter TJ. Locomotor activity following intra-accumbens microinjections of dopamine D1 agonist SK&F 38393 in rats. *Synapse.* 1993;13:310-4.
- [33] Wu M, Brudzynski SM, Mogenson GJ. Differential effects of quinpirole in the nucleus accumbens depending on the initial level of locomotor activity. *Brain Res Bull.* 1993;32:395-8.
- [34] Da Cunha C, Wietzikoski EC, Dombrowski P, Bortolanza M, Santos LM, Boschen SL, et al. Learning processing in the basal ganglia: a mosaic of broken mirrors. *Behav Brain Res.* 2009;199:157-70.
- [35] Wietzikoski EC, Boschen SL, Miyoshi E, Bortolanza M, Dos Santos LM, Frank M, et al. Roles of D1-like dopamine receptors in the nucleus accumbens and dorsolateral striatum in conditioned avoidance responses. *Psychopharmacology (Berl).* 2012;219:159-69.
- [36] Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates.* 6th ed. New York: Academic Press; 2007.
- [37] Coccorello R, Adriani W, Oliverio A, Mele A. Effect of intra-accumbens dopamine receptor agents on reactivity to spatial and non-spatial changes in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 2000;152:189-99.
- [38] Coccorello R, Oliverio A, Mele A. Dopamine-glutamate interplay in the ventral striatum modulates spatial learning in a receptor subtype-dependent manner. *Neuropsychopharmacology.* 2012;37:1122-33.

4 DISCUSSÃO GERAL

Os nossos resultados demonstram que é possível modular as preferências de exploração dos animais ao ativar receptores D1 no NAc, uma vez que foi observada uma diminuição do tempo gasto na região de menor exploração decorrente da administração do agonista dopaminérgico. Esta mudança na exploração não é devida a mudanças na locomoção já que não houve efeitos dos fármacos no comportamento motor. No entanto, não foram observados efeitos decorrentes da administração do antagonista. Esses resultados estão em concordância com uma noção crescente na literatura que atribui ao estriado um papel em tarefas de navegação espacial. Na Tabela 1 é possível apreciar um resumo dos resultados obtidos neste trabalho.

Tabela 1. Resumo dos resultados de preferência de exploração.

	TEMPO		% ENTRADAS	
	Região Mais Explorada	Região Menos Explorada	Região Mais Explorada	Região Menos Explorada
SKF 81297 (Agonista D1)	-	↓	-	-
SCH23990 (Antagonista D1)	-	-	-	-

Tradicionalmente, a memória e a navegação espacial foram consideradas como uma função da formação hipocampal e de regiões neocorticais associadas, como o cortex piriforme, o perirhinal, e o retrosplenial (Stuchlik *et al.*, 2014). Esta relação foi estabelecida com o descobrimento das *place cells* no hipocampo, neurônios que são ativados quando o animal entra numa locação específica do ambiente (O'keefe e Nadel, 1978). Após destas observações iniciais, uma extensa pesquisa foi feita em torno da relação da formação hipocampal e estruturas relacionadas com a navegação espacial. Esses esforços permitiram reconhecer outros tipos de neurônios com atividade espacial, incluindo neurônios *head direction cells*, no subículo, no cortex retrosplenial e no tálamo (Taube, Muller e Ranck, 1990), *grid cells* no cortex

entorhinal medial anterior (Fyhn *et al.*, 2004; Hafting *et al.*, 2005), e neurônios que correlacionam com lugar, direção da cabeça e velocidade no cortex retrospleinal (Cho e Sharp, 2001).

A ideia de um possível envolvimento estriatal na navegação espacial surge a partir da demonstração de que lesões no núcleo accumbens prejudicam o desempenho no labirinto de Morris, uma tarefa bastante popular no estudo da memória espacial (Annett, Mcgregor e Robbins, 1989), e depois da confirmação de que existem projeções de estruturas da formação hipocampal (subículo e CA1) para o NAc (Groenewegen *et al.*, 1987; Van Groen e Wyss, 1990; Witter, Ostendorf e Groenewegen, 1990). De forma complementar, estudos dos efeitos de manipulações farmacológicas no NAc sobre a navegação espacial continuaram apoiando esta noção (Coccorello *et al.*, 2000; Sargolini *et al.*, 2003; Mele *et al.*, 2004; Ferretti *et al.*, 2007; Coccorello, Oliverio e Mele, 2012). Deste modo, uma proposta feita por alguns pesquisadores considera que a formação hipocampal armazena a informação espacial do ambiente, e passa esta informação ao estriado – particularmente ao NAc-; por sua vez, o NAc associa a informação espacial com a informação motivacional e, com base nesta integração, escolhe a ação apropriada, segundo o objetivo de uma tarefa específica.(Mizumori, Puryear e Martig, 2009).

A nossa proposta oferece um mecanismo que explica como o NAc poderia realizar esta função. Nós postulamos que parte dos MSNs estriatais - provavelmente do NAc e que expressam preferencialmente receptores D1 - funcionam como células *place-to-go*. Ou seja, estes neurônios representam uma locação específica do ambiente e a sua ativação terá como consequência a aproximação para esse local. Desta forma, nós esperávamos que ativando ou inibindo estes neurônios pudéssemos observar mudanças na exploração do campo aberto dos animais. Os resultados obtidos concordam com a predição anterior porquanto mudanças na exploração foram observadas após a administração do agonista de receptores D1 – houve uma diminuição do tempo gasto na área de menor exploração; porém, estas mudanças foram na direção

oposta do esperado, porquanto a predição sugeria que a aplicação de um agonista D1 ativaria os MSN, aumentando a exploração de um local específico.

O ativação de receptores D1 no NAc aumenta a excitabilidade neuronal quando o neurônio encontra-se despolarizado *-up state-*, ao fosforilar canais de cálcio e aumentar as correntes excitatórias evocadas pela estimulação de receptores NMDA (Surmeier *et al.*, 2007). Adicionalmente, aumento da expressão de proteína c-Fos no NAc –um conhecido marcador de atividade neuronal- foi registrado após da administração local de um agonista D1 (Robertson, Vincent e Fibiger, 1992; Robertson e Jian, 1995). Por outro lado, antagonistas de receptores D1 diminui a excitabilidade dos neurônios estriatais (West e Grace, 2002). Assim, ao administrar SKF 81297, nós esperávamos favorecer a ativação dos neurônios estriatais da via direta já despolarizados. Nós administramos essas drogas no NAc no menor volume possível com o intuito de atingir uma população restrita desses neurônios. Se a nossa proposta é correta, ou seja, se MSNs do NAc funcionam como células *place-to-go*, seria de esperar que, ao ativar os receptores D1 desses neurônios, houvesse um aumento na exploração dos locais codificados por eles. Esperávamos, portanto, um aumento na exploração de áreas isoladas do campo aberto. Porém, o efeito observado foi o oposto: diminuição na exploração de áreas restritas do campo aberto.

Uma explicação possível para a discrepância entre o resultado esperado e o obtido pode se encontrar na administração mesma dos fármacos. O volume escolhido foi o mínimo possível; porém, este volume pode estar atingindo um número ainda grande de neurônios no NAc, facilitando assim a ativação de células *place-to-go* que promovem a exploração de muitas áreas do campo aberto. O efeito comportamental de isto seria um aumento moderado da exploração em varias regiões do labirinto, e uma diminuição mais acentuada na exploração das áreas codificadas por um número ainda maior de MSNs. Pode ser que aumento da exploração de certas áreas não tenha sido detectado na análise estatística porque ele estivesse “diluído” entre todas as regiões ativas. Por outro lado, da mesma forma que SKF81297, o SCH233390 poderia se espalhar e atingir vários neurônios, diminuindo a atividade de um grande

número de células *place-to-go*. O efeito sobre o comportamento seria uma diminuição moderada da exploração de várias regiões do labirinto, que não seria detectada nas análises porque também estaria também “diluída” entre todas as regiões codificadas por esses neurônios. É importante salientar que essa interpretação é em parte especulativa e que precisa, portanto, ser confirmada com técnicas de estimulação de um número mais restrito de neurônios, tais como por exemplo, optogenética ou micro-estimulação elétrica.

Os nossos resultados estão de acordo com prévios estudos que mostram que ao modular os receptores D1 no NAc é possível modificar as preferências de exploração dos animais. De interesse particular são uma série de estudos feitos por Coccarello e colaboradores que demonstra a relevância desses receptores no processamento de informação espacial (Coccarello *et al.*, 2000; Mele *et al.*, 2004; Coccarello, Oliverio e Mele, 2012). Nos primeiros estudos, Coccarello e colaboradores avaliaram o comportamento de ratos numa arena circular de 1 metro de diâmetro, que continha 5 objetos. Após uma primeira exposição ao aparelho, um dos objetos era trocado de lugar, e então os efeitos comportamentais de antagonistas dopaminérgicos foram avaliados. Nesse estudo foi observado nos animais controle um aumento na exploração do objeto que mudou de lugar, efeito que foi prevenido nos animais que receberam os antagonistas dopaminérgicos. Assim, Coccarello e colaboradores concluíram que a ativação dos receptores dopaminérgicos no núcleo accumbens é necessária para detectar mudanças espaciais (Coccarello *et al.*, 2000; Mele *et al.*, 2004) e o receptor D1 parece cumprir um papel mais seletivo nesta função (Coccarello *et al.*, 2000). Nossa interpretação é que a ativação de receptores D1 é necessária não para a percepção de que um objeto mudou de lugar, mas para desencadear o comportamento de se aproximar desse objeto. Estudos consecutivos confirmaram estes achados, e demonstraram que existe uma cooperação entre receptores D1 e NMDA nesta tarefa (Coccarello, Oliverio e Mele, 2012). Assim, embora os resultados de Coccarello e colaboradores, assim como os nossos, não forneçam provas conclusivas da presença de *place-to-go* cells no NAc, eles estão apontado para um papel do funcionamento dos receptores D1 na navegação espacial, o que é coerente com a existência de células *place-to-go* que expressam receptores D1 no NAc.

Outro ponto a ser discutido se refere à escolha das regiões do labirinto a serem analisadas. Uma avaliação qualitativa do traçado de exploração dos animais no campo aberto (ver figura 3 do artigo científico) mostra regiões do labirinto menos exploradas. Porém estas regiões não estão restritas aos quadrantes do campo aberto que definimos a priori. Assim, é possível que uma definição diferente das áreas para análise resulte em uma maior sensibilidade em detectar essas áreas. Neste respeito, existem evidências que mostram que a atividade dos neurônios do NAc codificam locações específicas, e que esta codificação está relacionada com o comportamento motor e com a recompensa (Lavoie e Mizumori, 1994; German e Fields, 2007). Esses estudos mostram que é possível identificar *place fields* no estriado que parecem ser tão fidedignos quanto os do hipocampo, porém maiores (Mizumori, Puryear e Martig, 2009). Então, uma opção seria definir as áreas a serem analisadas com base em registros da *place fields* dos neurônios do NAc enquanto os animais exploram o campo aberto.

5 CONCLUSÕES

Os dados obtidos sugerem um envolvimento dos receptores D1 do núcleo accumbens na navegação espacial. Um corolário dessa conclusão é que os neurônios da via direta no NAc desempenham um papel na seleção do local a ser explorado. Todavia, embora nossos dados sejam coerentes com a hipótese de que existem células *place-to-go* no núcleo accumbens, eles estão longe de ser uma evidência forte dessa hipótese. Estudos subsequentes, com técnicas estimulação de MSN de maior resolução espacial e temporal e também com métodos mais adequados de análise do padrão do comportamento exploratório evocado por essas estimulações no NAc deverão ser realizados com o objetivo de testar esta hipótese de forma mais crítica.

REFERENCIAS

ANNETT, L. E.; MCGREGOR, A.; ROBBINS, T. W. The effects of ibotenic acid lesions of the nucleus accumbens on spatial learning and extinction in the rat. **Behav Brain Res**, v. 31, n. 3, p. 231-42, Jan 1989.

APICELLA, P. Tonicly active neurons in the primate striatum and their role in the processing of information about motivationally relevant events. **Eur J Neurosci**, v. 16, n. 11, p. 2017-26, Dec 2002.

_____. Leading tonically active neurons of the striatum from reward detection to context recognition. **Trends Neurosci**, v. 30, n. 6, p. 299-306, Jun 2007.

BERNARD, V. et al. Subcellular redistribution of m2 muscarinic acetylcholine receptors in striatal interneurons in vivo after acute cholinergic stimulation. **J Neurosci**, v. 18, n. 23, p. 10207-18, Dec 1998.

BERTHET, P.; LANSNER, A. Optogenetic stimulation in a computational model of the basal ganglia biases action selection and reward prediction error. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e90578, 2014.

BERTRAN-GONZALEZ, J. et al. What is the Degree of Segregation between Striatonigral and Striatopallidal Projections? **Front Neuroanat**, v. 4, 2010.

BLANDINI, F. et al. Functional changes of the basal ganglia circuitry in Parkinson's disease. **Prog Neurobiol**, v. 62, n. 1, p. 63-88, Sep 2000.

BOSCHEN, S. L. et al. The role of nucleus accumbens and dorsolateral striatal D2 receptors in active avoidance conditioning. **Neurobiol Learn Mem**, v. 96, n. 2, p. 254-62, Sep 2011.

BROADBENT, N. J.; SQUIRE, L. R.; CLARK, R. E. Reversible hippocampal lesions disrupt water maze performance during both recent and remote memory tests. **Learn Mem**, v. 13, n. 2, p. 187-91, 2006 Mar-Apr 2006.

BROMBERG-MARTIN, E. S.; MATSUMOTO, M.; HIKOSAKA, O. Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. **Neuron**, v. 68, n. 5, p. 815-34, Dec 2010.

BRUNELIN, J.; FECTEAU, S.; SUAUD-CHAGNY, M. F. Abnormal striatal dopamine transmission in schizophrenia. **Curr Med Chem**, v. 20, n. 3, p. 397-404, 2013.

CALABRESI, P.; MISGELD, U.; DODT, H. U. Intrinsic membrane properties of neostriatal neurons can account for their low level of spontaneous activity. **Neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 293-303, Jan 1987.

CARDINAL, R. N. et al. Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 26, n. 3, p. 321-52, May 2002.

CHO, J.; SHARP, P. E. Head direction, place, and movement correlates for cells in the rat retrosplenial cortex. **Behav Neurosci**, v. 115, n. 1, p. 3-25, Feb 2001.

CLARK, R. E.; BROADBENT, N. J.; SQUIRE, L. R. Hippocampus and remote spatial memory in rats. **Hippocampus**, v. 15, n. 2, p. 260-72, 2005a.

_____. Impaired remote spatial memory after hippocampal lesions despite extensive training beginning early in life. **Hippocampus**, v. 15, n. 3, p. 340-6, 2005b.

_____. The hippocampus and spatial memory: findings with a novel modification of the water maze. **J Neurosci**, v. 27, n. 25, p. 6647-54, Jun 2007.

COCCURELLO, R. et al. Effect of intra-accumbens dopamine receptor agents on reactivity to spatial and non-spatial changes in mice. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 152, n. 2, p. 189-99, Oct 2000.

COCCURELLO, R.; OLIVERIO, A.; MELE, A. Dopamine-glutamate interplay in the ventral striatum modulates spatial learning in a receptor subtype-dependent manner. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, n. 5, p. 1122-33, Apr 2012.

CORBET, L. H.; MUIR, J. L.; BALLEINE, B. W. The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. **J Neurosci**, v. 21, n. 9, p. 3251-60, May 2001.

D'HOOGE, R.; DE DEYN, P. P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 36, n. 1, p. 60-90, Aug 2001.

DA CUNHA, C. et al. 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, n. 3, p. 227-37, Jun 2002.

DA CUNHA, C.; GOMEZ-A, A.; BLAHA, C. D. The role of the basal ganglia in motivated behavior. **Rev Neurosci**, v. 23, n. 5-6, p. 747-67, 2012.

DA CUNHA, C. et al. Learning processing in the basal ganglia: a mosaic of broken mirrors. **Behav Brain Res**, v. 199, n. 1, p. 157-70, Apr 2009.

DARVAS, M.; FADOK, J. P.; PALMITER, R. D. Requirement of dopamine signaling in the amygdala and striatum for learning and maintenance of a conditioned avoidance response. **Learn Mem**, v. 18, n. 3, p. 136-43, Mar 2011.

DAY, M. et al. Differential excitability and modulation of striatal medium spiny neuron dendrites. **J Neurosci**, v. 28, n. 45, p. 11603-14, Nov 2008.

DAYAN, P.; BALLEINE, B. W. Reward, motivation, and reinforcement learning. **Neuron**, v. 36, n. 2, p. 285-98, Oct 2002.

DEL CAMPO, N. et al. The roles of dopamine and noradrenaline in the pathophysiology and treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. **Biol Psychiatry**, v. 69, n. 12, p. e145-57, Jun 2011.

DIACONESCU, A. O. et al. Dopamine-induced changes in neural network patterns supporting aversive conditioning. **Brain Res**, v. 1313, p. 143-61, Feb 2010.

DOMBROWSKI, P. A. et al. Evidence that conditioned avoidance responses are reinforced by positive prediction errors signaled by tonic striatal dopamine. **Behav Brain Res**, v. 241, p. 112-9, Mar 2013.

DURIEUX, P. F. et al. D2R striatopallidal neurons inhibit both locomotor and drug reward processes. **Nat Neurosci**, v. 12, n. 4, p. 393-5, Apr 2009.

ENA, S.; DE KERCHOVE D'EXAERDE, A.; SCHIFFMANN, S. N. Unraveling the differential functions and regulation of striatal neuron sub-populations in motor control, reward, and motivational processes. **Front Behav Neurosci**, v. 5, p. 47, 2011.

FERRETTI, V. et al. Effects of intra-accumbens NMDA and AMPA receptor antagonists on short-term spatial learning in the Morris water maze task. **Behav Brain Res**, v. 179, n. 1, p. 43-9, Apr 2007.

FINO, E.; VENANCE, L. Spike-timing dependent plasticity in the striatum. **Front Synaptic Neurosci**, v. 2, p. 6, 2010.

_____. Spike-timing dependent plasticity in striatal interneurons. **Neuropharmacology**, v. 60, n. 5, p. 780-8, Apr 2011.

FYHN, M. et al. Spatial representation in the entorhinal cortex. **Science**, v. 305, n. 5688, p. 1258-64, Aug 2004.

GERMAN, P. W.; FIELDS, H. L. Rat nucleus accumbens neurons persistently encode locations associated with morphine reward. **J Neurophysiol**, v. 97, n. 3, p. 2094-106, Mar 2007.

GOLDBERG, J. A.; REYNOLDS, J. N. Spontaneous firing and evoked pauses in the tonically active cholinergic interneurons of the striatum. **Neuroscience**, v. 198, p. 27-43, Dec 2011.

GROENEWEGEN, H. J. et al. Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. **Neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 103-20, Oct 1987.

HAFTING, T. et al. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. **Nature**, v. 436, n. 7052, p. 801-6, Aug 2005.

HART, G.; LEUNG, B. K.; BALLEINE, B. W. Dorsal and ventral streams: the distinct role of striatal subregions in the acquisition and performance of goal-directed actions. **Neurobiol Learn Mem**, v. 108, p. 104-18, Feb 2014.

HERNÁNDEZ-ECHEAGARAY, E. et al. Modulation of AMPA currents by D2 dopamine receptors in striatal medium-sized spiny neurons: are dendrites necessary? **Eur J Neurosci**, v. 19, n. 9, p. 2455-63, May 2004.

HIKIDA, T. et al. Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior. **Neuron**, v. 66, n. 6, p. 896-907, Jun 2010.

HIKOSAKA, O.; NAKAMURA, K.; NAKAHARA, H. Basal ganglia orient eyes to reward. **J Neurophysiol**, v. 95, n. 2, p. 567-84, Feb 2006.

HORVITZ, J. C. Dopamine gating of glutamatergic sensorimotor and incentive motivational input signals to the striatum. **Behav Brain Res**, v. 137, n. 1-2, p. 65-74, Dec 2002.

HUMPHRIES, M. D.; PRESCOTT, T. J. The ventral basal ganglia, a selection mechanism at the crossroads of space, strategy, and reward. **Prog Neurobiol**, v. 90, n. 4, p. 385-417, Apr 2010.

HUMPHRIES, M. D.; STEWART, R. D.; GURNEY, K. N. A physiologically plausible model of action selection and oscillatory activity in the basal ganglia. **J Neurosci**, v. 26, n. 50, p. 12921-42, Dec 2006.

JOKINEN, P. et al. Cognitive slowing in Parkinson's disease is related to frontostriatal dopaminergic dysfunction. **J Neurol Sci**, v. 329, n. 1-2, p. 23-8, Jun 2013.

KELLEY, A. E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 27, n. 8, p. 765-76, Jan 2004.

KENNY, P. J.; VOREN, G.; JOHNSON, P. M. Dopamine D2 receptors and striatopallidal transmission in addiction and obesity. **Curr Opin Neurobiol**, v. 23, n. 4, p. 535-8, Aug 2013.

KIM, Y. B. et al. Encoding of action history in the rat ventral striatum. **J Neurophysiol**, v. 98, n. 6, p. 3548-56, Dec 2007.

KIMURA, M.; YAMADA, H.; MATSUMOTO, N. Tonically active neurons in the striatum encode motivational contexts of action. **Brain Dev**, v. 25 Suppl 1, p. S20-3, Dec 2003.

KOÓŠ, T.; TEPPER, J. M. Dual cholinergic control of fast-spiking interneurons in the neostriatum. **J Neurosci**, v. 22, n. 2, p. 529-35, Jan 2002.

KRAVITZ, A. V. et al. Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. **Nature**, v. 466, n. 7306, p. 622-6, Jul 2010.

LANCIEGO, J. L.; LUQUIN, N.; OBESO, J. A. Functional neuroanatomy of the basal ganglia. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 2, n. 12, p. a009621, Dec 2012.

LARUELLE, M. Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions. **Curr Opin Pharmacol**, v. 14, p. 97-102, Feb 2014.

LAVOIE, A. M.; MIZUMORI, S. J. Spatial, movement- and reward-sensitive discharge by medial ventral striatum neurons of rats. **Brain Res**, v. 638, n. 1-2, p. 157-68, Feb 1994.

LEUNG, B. K.; BALLEINE, B. W. The ventral striato-pallidal pathway mediates the effect of predictive learning on choice between goal-directed actions. **J Neurosci**, v. 33, n. 34, p. 13848-60, Aug 2013.

LIN, J. Y. et al. Effects of muscarinic acetylcholine receptor activation on membrane currents and intracellular messengers in medium spiny neurones of the rat striatum. **Eur J Neurosci**, v. 20, n. 5, p. 1219-30, Sep 2004.

MACDONALD, P. A. et al. The effect of dopamine therapy on ventral and dorsal striatum-mediated cognition in Parkinson's disease: support from functional MRI. **Brain**, v. 134, n. Pt 5, p. 1447-63, May 2011.

MATTILA, P. M. et al. Alpha-synuclein-immunoreactive cortical Lewy bodies are associated with cognitive impairment in Parkinson's disease. **Acta Neuropathol**, v. 100, n. 3, p. 285-90, Sep 2000.

MCBRIDE, W. J.; MURPHY, J. M.; IKEMOTO, S. Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies. **Behav Brain Res**, v. 101, n. 2, p. 129-52, Jun 1999.

MCGEORGE, A. J.; FAULL, R. L. The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. **Neuroscience**, v. 29, n. 3, p. 503-37, 1989.

MELE, A. et al. Nucleus accumbens dopamine receptors in the consolidation of spatial memory. **Behav Pharmacol**, v. 15, n. 5-6, p. 423-31, Sep 2004.

MIYOSHI, E. et al. Both the dorsal hippocampus and the dorsolateral striatum are needed for rat navigation in the Morris water maze. **Behav Brain Res**, v. 226, n. 1, p. 171-8, Jan 2012.

MIZUMORI, S. J.; PURYEAR, C. B.; MARTIG, A. K. Basal ganglia contributions to adaptive navigation. **Behav Brain Res**, v. 199, n. 1, p. 32-42, Apr 2009.

MOUSSA, R. et al. Contributions of dorsal striatal subregions to spatial alternation behavior. **Learn Mem**, v. 18, n. 7, p. 444-51, Jul 2011.

NEVE, K. A.; SEAMANS, J. K.; TRANTHAM-DAVIDSON, H. Dopamine receptor signaling. **J Recept Signal Transduct Res**, v. 24, n. 3, p. 165-205, Aug 2004.

NICOLA, S. M. The nucleus accumbens as part of a basal ganglia action selection circuit. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 191, n. 3, p. 521-50, Apr 2007.

NISENBAUM, E. S.; WILSON, C. J. Potassium currents responsible for inward and outward rectification in rat neostriatal spiny projection neurons. **J Neurosci**, v. 15, n. 6, p. 4449-63, Jun 1995.

NISENBAUM, E. S.; XU, Z. C.; WILSON, C. J. Contribution of a slowly inactivating potassium current to the transition to firing of neostriatal spiny projection neurons. **J Neurophysiol**, v. 71, n. 3, p. 1174-89, Mar 1994.

NUNN, J. A. et al. Global ischaemia: hippocampal pathology and spatial deficits in the water maze. **Behav Brain Res**, v. 62, n. 1, p. 41-54, May 1994.

O'KEEFE, J.; NADEL, L. **The Hippocampus as a Cognitive Map**. London: 1978.

O'TOUSA, D.; GRAHAME, N. Habit formation: Implications for alcoholism research. **Alcohol**, v. 48, n. 4, p. 327-335, Jun 2014.

PAKHOTIN, P.; BRACCI, E. Cholinergic interneurons control the excitatory input to the striatum. **J Neurosci**, v. 27, n. 2, p. 391-400, Jan 2007.

PARENT, A.; HAZRATI, L. N. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. **Brain Res Brain Res Rev**, v. 20, n. 1, p. 91-127, Jan 1995.

PARKINSON, J. An essay on the shaking palsy. 1817. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, v. 14, n. 2, p. 223-36; discussion 222, 2002.

PAULI, W. M. et al. Inhibiting PKM ζ reveals dorsal lateral and dorsal medial striatum store the different memories needed to support adaptive behavior. **Learn Mem**, v. 19, n. 7, p. 307-14, 2012.

- PEREZ-ROSELLO, T. et al. Cholinergic control of firing pattern and neurotransmission in rat neostriatal projection neurons: role of CaV2.1 and CaV2.2 Ca²⁺ channels. **J Neurophysiol**, v. 93, n. 5, p. 2507-19, May 2005.
- PRINCE, J. Catecholamine dysfunction in attention-deficit/hyperactivity disorder: an update. **J Clin Psychopharmacol**, v. 28, n. 3 Suppl 2, p. S39-45, Jun 2008.
- REDISH, A. D.; TOURETZKY, D. S. Cognitive maps beyond the hippocampus. **Hippocampus**, v. 7, n. 1, p. 15-35, 1997.
- REYES, A. et al. Passive properties of neostriatal neurons during potassium conductance blockade. **Exp Brain Res**, v. 120, n. 1, p. 70-84, May 1998.
- RINNE, J. O. et al. Cognitive impairment and the brain dopaminergic system in Parkinson disease: [18F]fluorodopa positron emission tomographic study. **Arch Neurol**, v. 57, n. 4, p. 470-5, Apr 2000.
- ROBERTSON, G. S.; JIAN, M. D1 and D2 dopamine receptors differentially increase Fos-like immunoreactivity in accumbal projections to the ventral pallidum and midbrain. **Neuroscience**, v. 64, n. 4, p. 1019-34, Feb 1995.
- ROBERTSON, G. S.; VINCENT, S. R.; FIBIGER, H. C. D1 and D2 dopamine receptors differentially regulate c-fos expression in striatonigral and striatopallidal neurons. **Neuroscience**, v. 49, n. 2, p. 285-96, Jul 1992.
- SARGOLINI, F. et al. Differential involvement of NMDA and AMPA receptors within the nucleus accumbens in consolidation of information necessary for place navigation and guidance strategy of mice. **Learn Mem**, v. 10, n. 4, p. 285-92, 2003 Jul-Aug 2003.
- SCHMITZER-TORBERT, N. C.; REDISH, A. D. Task-dependent encoding of space and events by striatal neurons is dependent on neural subtype. **Neuroscience**, v. 153, n. 2, p. 349-60, May 2008.
- SCHULTZ, W. Multiple reward signals in the brain. **Nat Rev Neurosci**, v. 1, n. 3, p. 199-207, Dec 2000.
- SCOVILLE, W. B.; MILNER, B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 11-21, Feb 1957.

SHIFLETT, M. W.; BALLEINE, B. W. Contributions of ERK signaling in the striatum to instrumental learning and performance. **Behav Brain Res**, v. 218, n. 1, p. 240-7, Mar 2011.

SQUIRE, L. R. Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. **Neurobiol Learn Mem**, v. 82, n. 3, p. 171-7, Nov 2004.

STEPHENSON-JONES, M. et al. Evolutionary conservation of the basal ganglia as a common vertebrate mechanism for action selection. **Curr Biol**, v. 21, n. 13, p. 1081-91, Jul 2011.

STERLING, N. W. et al. Striatal shape in Parkinson's disease. **Neurobiol Aging**, v. 34, n. 11, p. 2510-6, Nov 2013.

STUHLIK, A. et al. Spatial navigation: implications for animal models, drug development and human studies. **Physiol Res**, v. 63 Suppl 1, p. S237-49, 2014.

SURMEIER, D. J. et al. D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. **Trends Neurosci**, v. 30, n. 5, p. 228-35, May 2007.

SURMEIER, D. J.; PLOTKIN, J.; SHEN, W. Dopamine and synaptic plasticity in dorsal striatal circuits controlling action selection. **Curr Opin Neurobiol**, v. 19, n. 6, p. 621-8, Dec 2009.

TAUBE, J. S.; MULLER, R. U.; RANCK, J. B. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. II. Effects of environmental manipulations. **J Neurosci**, v. 10, n. 2, p. 436-47, Feb 1990.

VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. Extrinsic projections from area CA1 of the rat hippocampus: olfactory, cortical, subcortical, and bilateral hippocampal formation projections. **J Comp Neurol**, v. 302, n. 3, p. 515-28, Dec 1990.

VILLALBA, R. M.; SMITH, Y. Differential striatal spine pathology in Parkinson's disease and cocaine addiction: a key role of dopamine? **Neuroscience**, v. 251, p. 2-20, Oct 2013.

VOORN, P. et al. Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. **Trends Neurosci**, v. 27, n. 8, p. 468-74, Aug 2004.

WENDLER, E. et al. The roles of the nucleus accumbens core, dorsomedial striatum, and dorsolateral striatum in learning: performance and extinction of Pavlovian fear-conditioned responses and instrumental avoidance responses. **Neurobiol Learn Mem**, v. 109, p. 27-36, Mar 2014.

WEST, A. R.; GRACE, A. A. Opposite influences of endogenous dopamine D1 and D2 receptor activation on activity states and electrophysiological properties of striatal neurons: studies combining in vivo intracellular recordings and reverse microdialysis. **J Neurosci**, v. 22, n. 1, p. 294-304, Jan 2002.

WICHMANN, T.; DELONG, M. R. Deep-Brain Stimulation for Basal Ganglia Disorders. **Basal Ganglia**, v. 1, n. 2, p. 65-77, Jul 2011.

WIETZIKOSKI, E. C. et al. Roles of D1-like dopamine receptors in the nucleus accumbens and dorsolateral striatum in conditioned avoidance responses. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 219, n. 1, p. 159-69, Jan 2012.

WILSON, C. J.; KAWAGUCHI, Y. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. **J Neurosci**, v. 16, n. 7, p. 2397-410, Apr 1996.

WITTER, M. P.; OSTENDORF, R. H.; GROENEWEGEN, H. J. Heterogeneity in the Dorsal Subiculum of the Rat. Distinct Neuronal Zones Project to Different Cortical and Subcortical Targets. **Eur J Neurosci**, v. 2, n. 8, p. 718-725, 1990.

YAMADA, H.; MATSUMOTO, N.; KIMURA, M. Tonicly active neurons in the primate caudate nucleus and putamen differentially encode instructed motivational outcomes of action. **J Neurosci**, v. 24, n. 14, p. 3500-10, Apr 2004.

YAN, Z.; FLORES-HERNANDEZ, J.; SURMEIER, D. J. Coordinated expression of muscarinic receptor messenger RNAs in striatal medium spiny neurons. **Neuroscience**, v. 103, n. 4, p. 1017-24, 2001.

YIN, H. H.; KNOWLTON, B. J. Contributions of striatal subregions to place and response learning. **Learn Mem**, v. 11, n. 4, p. 459-63, 2004 Jul-Aug 2004.

YIN, H. H.; KNOWLTON, B. J.; BALLEINE, B. W. Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. **Eur J Neurosci**, v. 19, n. 1, p. 181-9, Jan 2004.

_____. Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. **Eur J Neurosci**, v. 22, n. 2, p. 505-12, Jul 2005.

YIN, H. H.; OSTLUND, S. B.; BALLEINE, B. W. Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks. **Eur J Neurosci**, v. 28, n. 8, p. 1437-48, Oct 2008.

YIN, H. H. et al. The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. **Eur J Neurosci**, v. 22, n. 2, p. 513-23, Jul 2005.