

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA FORMAÇÃO  
DA MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO EM RATOS.**

**Viviane Bogdanov Rodrigues**

Porto Alegre, março de 2006.

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE GERIATRIA E GERONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GERONTOLOGIA BIOMÉDICA

**ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA DOPAMINÉRGICO NA FORMAÇÃO  
DA MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO EM RATOS.**

**Viviane Bogdanov Rodrigues**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Gerontologia Biomédica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Gerontologia Biomédica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nadja Schröder

**Comissão Examinadora:**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elke Bromberg

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mônica Ryff Moreira Roca Vianna

Porto Alegre, março de 2006.

*Dedicando nossa vida ao estudo, empenhando-nos em trabalhar sem descanso, não sentimos a aproximação sub-reptícia da velhice. Envelhecemos insensivelmente, sem ter consciência disso, e, em vez de sermos brutalmente atacados pela idade, é aos poucos que nos extinguimos.*

**Cícero**

## **A**GRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a meus pais, Nelson e Olga, que tanto me apoiaram, me incentivaram e acreditaram no meu potencial. Auxiliaram-me nos primeiros passos de minha vida, ensinando-me a dar valor às pequenas coisas. Agradeço de coração ao suporte financeiro nesta caminhada, sem ele talvez hoje eu não estivesse aqui. Sei que seus próprios desejos foram deixados de lado em prol de minha educação e por isso serei eternamente grata a vocês dois, que eu amo tanto. OBRIGADO!

Não posso deixar de citar minha família como um todo. Por mais que pareça “maluca” às vezes, nela estão as pessoas que realmente me fazem ser o que sou. À minha irmã, vovó Hilda e parentes, agradeço pelo convívio saudável e amizades.

Ao meu querido namorado Ramon Macedo que esteve ao meu lado durante todo esse tempo, me incentivando e auxiliando nos dias em que tudo parecia dar errado; e agüentando meu jeito difícil de ser nos dias de mau-humor. Só nós dois sabemos o que passamos, e por isso te agradeço de coração meu amor. TE AMO MUITO!

Aos grandes amigos, e outros nem tão grandes, agradeço a amizade. Agradeço às saídas para jantar, às tentativas de incentivo, ao apoio dado durante todo este tempo. Sem vocês acho que este caminho seria muito mais difícil!

Agradeço a minha orientadora Dr<sup>a</sup> Nadja Shcröder pelo carinho e atenção. Por estar sempre presente, me auxiliando e incentivando mesmo quando eu imaginava que nada mais daria certo. Sou grata pelos ensinamentos, pelo exemplo profissional e pessoal e pela sua Santa paciência comigo. Nadja de coração...MUITO OBRIGADA!

Sou grata aos colegas de laboratório que, mesmo eu estando um pouco distante, nunca me abandonaram. Todos vocês, sem exceção, foram peças fundamentais na execução deste trabalho; e todos sabemos que se eu não tivesse o apoio de cada um de vocês, este trabalho jamais poderia ter sido concluído. Agradeço de coração e peço desculpas por algumas atitudes.

A todos os professores, funcionários e colegas da PUCRS, sou grata por cada gesto de carinho, cada palavra amiga, ao apoio de cada um de vocês. Agradeço aos ensinamentos profissionais e pessoais que muitos de vocês me passaram. Carrego hoje um pedacinho de cada pessoa que passou na minha vida, e, a cada dia que passa, faço uso destes ensinamentos para tentar ser uma pessoa melhor.

A todos vocês que de alguma maneira fazem ou fizeram parte de minha vida gostaria de lhes dizer MUITO OBRIGADA.

## RESUMO

Sabe-se que o Sistema Dopaminérgico está envolvido na formação e consolidação de diversos tipos de memórias, no entanto pouco se sabe a respeito de sua participação na formação da memória de reconhecimento. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi investigar a participação de receptores dopaminérgicos sobre a consolidação na tarefa de reconhecimento do objeto novo em ratos. No primeiro grupo de experimentos, ratos Wistar adultos foram tratados com dois agonistas dopaminérgicos (SKF 38393, um agonista de receptores da família D<sub>1</sub>; e Quimpirol, um agonista dos receptores da família D<sub>2</sub>) nas doses de 1 mg/Kg e 5 mg/kg administradas via intraperitoneal, após a sessão de treino da tarefa do reconhecimento de objeto novo. Os ratos tratados com Quimpirol (em ambas as doses) e SKF 38393 (na menor dose), não apresentaram nenhuma diferença significativa em relação ao grupo controle. No entanto, ratos que receberam a maior dose do SKF 38393 (5 mg/Kg), apresentaram uma melhora na retenção da memória de longa duração (24 horas), nesta tarefa. Com o objetivo de investigar se aconteceria o mesmo efeito, caso os ratos fossem testados 72 horas após a sessão de treino, utilizou-se mais uma vez o agonista D<sub>1</sub>, e novamente observou-se uma melhora na retenção da memória de longa duração. No segundo experimento, os ratos foram submetidos ao tratamento com dois antagonistas dopaminérgicos (SCH

23390, um antagonista dos receptores da família D<sub>1</sub>; e o Raclopride, um antagonista dos receptores da família D<sub>2</sub>) em diferentes doses, concomitantemente com a Apomorfina, que é um agonista misto (D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>), na dose de 0,05 mg/Kg. O uso do SCH 23390 sozinho, com o veículo ou juntamente com a Apomorfina, não evidenciou nenhuma alteração na memória. O mesmo é observado quando se administra o Raclopride combinado ao veículo. No entanto, os ratos que receberam o antagonista Raclopride (na dose de 0,5 mg/Kg), concomitantemente com a Apomorfina, demonstraram uma melhora na retenção da memória de longa duração. A análise conjunta dos resultados demonstra o envolvimento do sistema dopaminérgico na formação e consolidação da memória de reconhecimento, que não era amplamente estudada; e que este efeito se dá, principalmente, pelos receptores dopaminérgicos da família D<sub>1</sub>. Este trabalho poderá servir como base para estudos futuros sobre envelhecimento; já que foi demonstrado que o sistema estudado faz parte da formação da memória de reconhecimento, que está substancialmente afetada nesta fase da vida. Por conseguinte, através dos resultados apontados, poderão ser desenvolvidas novas estratégias terapêuticas para o controle de doenças neurodegenerativas, assim como testes de novas drogas com possível ação neuroprotetora.

**Palavras chave:** sistema dopaminérgico – memória de reconhecimento – neurodegeneração – envelhecimento – ratos – receptores dopaminérgicos

## **ABSTRACT**

It is widely known that the Dopaminergic System plays a relevant role in memory formation and consolidation, however little is known about its role in recognition memory. Thus, the purpose of the present study was to evaluate the effect of dopamine receptors manipulation on memory consolidation of the novel-object recognition task in rats. In the first group of experiments, Wistar adult rats were given either D<sub>1</sub> or D<sub>2</sub> dopaminergic agonists (SKF 38393 and Quimpirol, 1mg/Kg and 5mg/Kg), immediately after training on the novel-object recognition task. Rats that received Quimpirol, at both doses, and SKF 38393 (lowest dose) showed no significant differences when compared with the control group. However, rats that received the highest dose of SKF 38393 (5 mg/Kg), showed an improvement in the retention of long-term memory, in the task. When rats were tested 72 hours after training, the same effect was observed. In the second group of experiments, rats were submitted to the treatment with two dopaminergic antagonists (SCH 23390, a D<sub>1</sub> antagonist; and Raclopride, a D<sub>2</sub> antagonist) in different doses, concomitantly with Apomorphine, that is a mixed agonist (D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub>), in the dose of 0,05 mg/Kg. The use of SCH 23390 alone, with vehicle or in combination with Apomorphine, showed no effect on memory. The same is observed when Raclopride was used with vehicle. However, rats that received the antagonist Raclopride (dose of 0,5 mg/Kg),

concomitantly with Apomorphine, showed an improvement in the retention of long-term memory. These results, taken together, demonstrate the involvement of dopaminergic system in recognition memory consolidation, and that this effect occurs mainly through D<sub>1</sub> receptors subtype. This research will be able to serve as base for future studies of aging; since it demonstrated that the studied system plays an important role in recognition memory, which is substantially affected in this life phase. Therefore, through the present results, new therapeutical strategies could be developed for the control of neurodegenerative diseases, as well as tests of new drugs with potential neuroprotective action.

**Key-words:** dopaminergic system – recognition memory – neurodegeneration – aging – rats – dopaminergic receptors

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	01
<b>1 Referencial Teórico</b> .....	03
1.1 Teorias sobre o envelhecimento.....	03
1.2 Memória .....	05
1.3 Dopamina, Sistema Dopaminérgico e Memória.....	08
1.4 Memória e Envelhecimento.....	11
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Objetivo Geral .....	16
2.2 Objetivos Específicos .....	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	18
3.1 Animais.....	18
3.2 Tratamentos.....	19
3.2.1 Experimento 1.....	19
3.2.2 Experimento 2.....	19

<b>3.3 Tarefas Comportamentais</b> .....	20
3.3.1 Tarefa de reconhecimento do Objeto .....	20
<b>3.4 Análise Estatística</b> .....	21
<b>4 RESULTADOS</b> .....	22
4.1 Experimento n°1.....	22
4.2 Experimento n°2.....	26
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	29
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

## INTRODUÇÃO

O envelhecimento da população é considerado, hoje em dia, um fenômeno mundial. Observamos um crescimento elevado da população idosa em relação aos outros grupos etários, juntamente com um aumento da expectativa de vida.

No Brasil, como resultado das mudanças nas taxas de mortalidade e de fertilidade nas últimas décadas, além da melhoria nas condições de saneamento e infra-estrutura e avanços da medicina e tecnologia; estima-se que a população acima de 65 anos irá crescer de 2,7%, em 1960, para aproximadamente 14% até 2050, um aumento três vezes mais rápido do que o observado nos países desenvolvidos. O envelhecimento populacional em nível mundial ocasionou uma maior incidência de doenças relacionadas ao envelhecimento, destacando-se, entre elas, as patologias neurodegenerativas comuns em idosos. Este fenômeno também tem sido observado no Brasil (Chaimowicz et al, 2000).

Um progressivo declínio nas funções cognitivas e motoras parece ser um fenômeno inevitável durante o envelhecimento em humanos. Muitos indivíduos idosos perdem, inclusive, sua independência por causa da deterioração de várias funções cognitivas e motoras.

Observa-se, freqüentemente, durante o envelhecimento uma variedade de déficits de memória (Bach et al., 1999). McEntee e Crook, 1990 reportam que o chamado envelhecimento fisiológico está associado com um declínio nas habilidades cognitivas, especialmente memória. Essas funções cognitivas são influenciadas diferentemente com o avanço da idade.

Dentro deste contexto, estudar os mecanismos envolvidos na formação dos diferentes tipos de memória torna-se muito importante, uma vez que ainda não foram totalmente elucidados.

# **1 REFERENCIAL TEÓRICO**

## **1.1 Teorias sobre o Envelhecimento**

Apesar do envelhecimento ser um fenômeno comum a todos os humanos e as pesquisas estarem avançando de forma exponencial neste ramo da ciência, ainda persistem muitos pontos obscuros quanto à dinâmica e natureza deste processo. Ainda não existe nem mesmo um conceito sobre o envelhecimento que seja consensual.

O fato é que o envelhecimento é a consequência de inúmeros processos e por isso sua explicação é considerada complexa. Muitas controvérsias surgem no momento de estabelecer os indicadores capazes de identificar e mensurar as variáveis envolvidas nos processos de envelhecimento. Por este motivo existem diversas teorias que levam em consideração diferentes aspectos que estariam associados ao desencadeamento das alterações relacionadas com o envelhecimento.

Dada a complexidade do tema, diversos modos de classificar e organizar as teorias do envelhecimento são propostos. Hart e Turturro, 1983; sugeriram a adoção de uma escala crescente de abrangência: partindo das teorias de base celular, teorias baseadas em órgãos e sistemas, teorias populacionais, até as teorias

integrativas. Hayflick, 1996; optou por uma escala mais restrita, baseada nos eventos que geraram as mudanças relacionadas ao envelhecimento, caracterizados por eventos geneticamente programados ou aleatórios. Finch, 1990; divide as teorias sobre envelhecimento em dois grandes grupos, as evolutivas e as não-evolutivas. As evolutivas justificariam o papel do envelhecimento através dos grupos filogenéticos, e as não-evolutivas se concentrariam nos mecanismos celulares, fisiológicos e ambientais que atuam sobre este processo. Arking, 1998; sugeriu o emprego de uma classificação dual que considera a origem da mudança relacionada ao envelhecimento (estocástica ou sistêmica) e o nível onde esse efeito é exercido (intracelular ou extracelular). Assim sendo, uma teoria poderia ser simultaneamente intracelular e estocástica, ou extracelular e sistêmica.

Com tantas teorias fica claro que existem várias formas de abordagem sobre o fenômeno do envelhecimento. Talvez todas essas teorias contenham a explicação de uma pequena parte deste complexo processo, mas muitas pesquisas ainda serão necessárias para se chegar a um consenso sobre os conceitos básicos que definiriam o processo do envelhecimento.

Atualmente tem-se falado muito e muitas pesquisas tem sido desenvolvidas com base na teoria do dano oxidativo. Esta teoria relata que a longevidade seria inversamente proporcional à extensão do dano oxidativo e diretamente proporcional às defesas antioxidantes. Postula que todas as deficiências fisiológicas características de mudanças relacionadas com a idade, ou a maioria delas, podem ser atribuídas aos danos intracelulares provocados pelos radicais livres (Yu e Yang, 1996).

Os neurônios dopaminérgicos da substância negra são extremamente vulneráveis ao dano oxidativo. Isso se dá pela produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) durante o metabolismo da dopamina. A oxidação não-enzimática da dopamina leva à formação de EROs, tais como o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Tanto a síntese da dopamina pela tirosina hidroxilase, como o catabolismo dela pela monoamino oxidase (MAO), podem levar a produção de  $H_2O_2$ .

Um grande conjunto de evidências, obtidas a partir de estudos com modelos experimentais e com seres humanos, mostram que as EROs interrompem a homeostasia corporal e são responsáveis pelo acúmulo de disfunções em nível molecular e celular. É sugerido que elas tenham envolvimento com a patogênese de mais de 60 tipos de doenças, dentre as quais podemos citar as doenças neurodegenerativas, que são exemplos de extrema importância no processo de envelhecimento (Arking, 1998).

As Espécies Reativas de Oxigênio podem danificar lipídios, peroxidando ácidos graxos insaturados da membrana plasmática, alterando assim sua fluidez; podem gerar ligações cruzadas de proteínas e inativação enzimática; podem, ainda, causar danos ao DNA, incluindo o rompimento da dupla hélice e, por fim, levar à morte celular (Jellinger, 1999).

O maior índice de envelhecimento no cérebro humano é observado nos neurônios dopaminérgicos da via nigro-estriatal. Ocorre um decréscimo dos níveis basais de dopamina extracelular (Gerhardt e Maloney, 1999). No núcleo caudado, por exemplo, esses níveis decaem em uma taxa de aproximadamente 13% a cada década de vida a partir dos 45 anos.

## 1.2 Memória

A memória pode ser considerada a mais importante função cognitiva do homem. É a incrível habilidade que temos de armazenar informações e conhecimentos sobre nós mesmos e o mundo que nos cerca. A memória é a base para desenvolvermos a linguagem, para reconhecermos as pessoas e objetos, para sabermos quem somos e termos a consciência da continuidade das nossas vidas. Sem ela, a cada dia, ou mesmo a cada momento, estaríamos começando uma nova vida (Yassuda, 2002).

Existem diferentes maneiras de classificar as memórias de acordo com sua função, como o tempo que elas duram e com o seu conteúdo.

Em relação à função, existe um tipo de memória muito breve que serve para manter durante alguns segundos, no máximo minutos, a informação que está sendo processada no momento, a memória de trabalho. É determinada gerenciadora pelo fato de que no momento de receber algum estímulo, deve determinar se é novo ou não e se é útil ao organismo ou não, entre outras coisas. Este tipo de memória não deixa traços e não produz arquivos, mas é crucial tanto no momento da aquisição quanto no momento da evocação de todas memórias. A memória de trabalho é processada pelos neurônios do córtex pré-frontal, estes neurônios interagem, trocam informações com outros através do córtex entorrinal (Izquierdo, 2002).

As memórias também podem ser classificadas quanto ao tempo de duração. A memória de curta duração (STM, do inglês short-term memory) é aquela que dura desde segundos ou minutos até poucas horas. No entanto a memória de longa duração (LTM, do inglês long-term memory) pode ser evocada por dias, meses e

anos após ser consolidada, nas primeiras horas após a sua aquisição é suscetível a interferências de diversos fatores. Durante muito tempo discutiu-se se a STM é somente uma fase inicial da memória como um todo ou se a STM e a LTM envolvem processos paralelos e até certo ponto independentes. Depois de muitos estudos chegou-se a conclusão de que a STM requer as mesmas estruturas nervosas que a LTM, mas envolve mecanismos próprios e distintos (Izquierdo, 2002).

De acordo com o conteúdo, as memórias podem ser classificadas como declarativas ou procedurais. As memórias que registram fatos, eventos ou conhecimentos são as declarativas, pois nós, seres humanos, conseguimos declarar que existimos e podemos relatar como as adquirimos. Entre essas memórias, as que são referentes a eventos que assistimos ou participamos são chamadas episódicas, e as de conhecimentos gerais, semânticas. As memórias de procedimentos ou procedurais são relacionadas com capacidades ou habilidades motoras ou sensoriais. Esses dois tipos de memória (declarativas e procedurais) podem ser, ainda, divididas em implícitas e explícitas. As memórias adquiridas sem a plena consciência do sujeito são denominadas implícitas. Enquanto que as memórias adquiridas com plena intervenção da consciência, explícitas. As memórias declarativas têm como estrutura central para sua formação o hipocampo, sendo que várias regiões como a pré-frontal, a entorrinal e a parietal também participam do processo. As memórias implícitas envolvem o núcleo caudado e o cerebelo, e em alguns casos as regiões comuns às declarativas (Izquierdo, 2002).

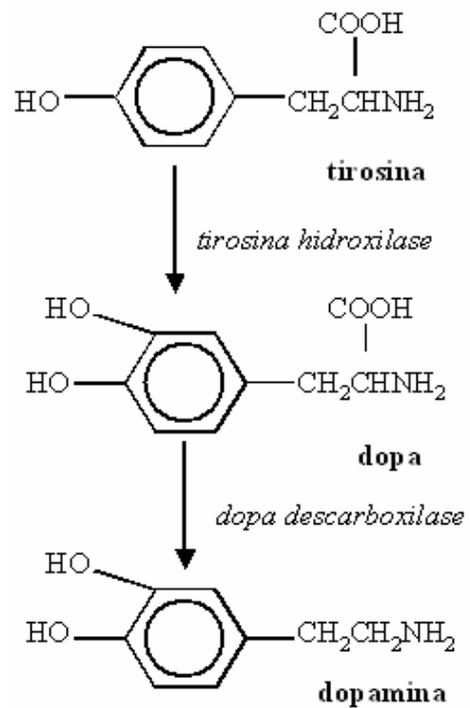
Um dos exemplos mais profundamente estudados da memória declarativa é a memória de reconhecimento (neutra, ou seja, não causadora de estresse nos animais), a capacidade de julgar um item recentemente encontrado como familiar. A

capacidade da memória de reconhecimento tem sido também muito bem documentada em camundongos, ratos e macacos, assim como em humanos.

A memória de reconhecimento em seres humanos consiste de dois componentes: um episódico, que diz respeito à habilidade de lembrar do episódio (situação) no qual um objeto foi introduzido (objeto novo); e um componente familiar, que se relaciona com a habilidade de reconhecer um objeto como já conhecido (ou familiar), mas sem a necessidade da lembrança do próprio episódio.

### **1.3 Dopamina, Sistema Dopaminérgico e Memória.**

A dopamina (DA) é um neurotransmissor classificado como catecolamina por possuir em seu esqueleto químico, a estrutura catecol. A síntese da dopamina ocorre em neurônios catecolaminérgicos que apresentam a enzima tirosina hidroxilase (TH), responsável pela conversão de tirosina em dopa (L-diidroxifenilalanina). A conversão de tirosina em dopa tem papel limitante na síntese de catecolaminas, ou seja, se ocorrer diminuição na liberação de catecolaminas pelo axônio terminal (causando um aumento da sua quantidade no citosol), haverá a inibição da TH e, conseqüentemente, redução da produção de catecolaminas. O contrário também é verdade, quando há grande liberação de catecolaminas, o aumento dos níveis de  $Ca^{2+}$  intracelular aumenta a atividade da TH, para suprir essa demanda. A dopa é convertida em dopamina pela dopa descarboxilase, dependendo da quantidade de dopa disponível. Para a conversão de dopa à dopamina, também é necessária a presença da enzima piridoxal fosfato (Figura 1).



**Figura 1.** A síntese da dopamina a partir da tirosina.

Mais da metade do teor de catecolaminas no SNC é representado por DA. Este neurotransmissor é encontrado em grande quantidade nos gânglios basais, especialmente no núcleo caudado, no *accumbens*, no tubérculo olfatório, no núcleo central da amígdala, na eminência mediana e em áreas restritas do córtex frontal.

As ações da dopamina são mediadas por receptores protéicos que compartilham alguns aspectos estruturais, como a atuação através de proteínas G (proteínas ligadas a nucleotídeos da guanina). Os cinco receptores de DA até agora identificados (D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> e D<sub>5</sub>) podem ser separados em dois grupos, com base em suas propriedades farmacológicas e estruturais. As proteínas D<sub>1</sub> e D<sub>5</sub> apresentam terminação carboxila intracelular longa e são membros da classe D<sub>1</sub>. Os receptores da classe D<sub>2</sub> incluem D<sub>2</sub> (D<sub>2s</sub>, D<sub>2l</sub>), D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> e são classificados como membros dessa classe por terem uma grande alça intracelular.

De acordo com o ilustrado na tabela 1, sabe-se que os receptores do tipo D<sub>1</sub> concentram-se no caudado-putame e no corno (“corn”) do *nucleus accumbens*. Os receptores D<sub>5</sub> predominam no hipocampo e hipotálamo (estruturas límbicas). Os D<sub>2</sub> são encontrados no caudado-putame, no corno (“corn”) do *nucleus accumbens* e no

bulbo olfativo. Os receptores D<sub>3</sub> estão em menor número e localizam-se em áreas corticais e subcorticais inervadas pelo grupo A10 (área tegmental ventral do prosencéfalo). Já os receptores D<sub>4</sub> encontram-se no córtex frontal, mesencéfalo, amígdala e bulbo, no estriado estão em número reduzido (Revisado em Ceresér e Vianna, 2004).

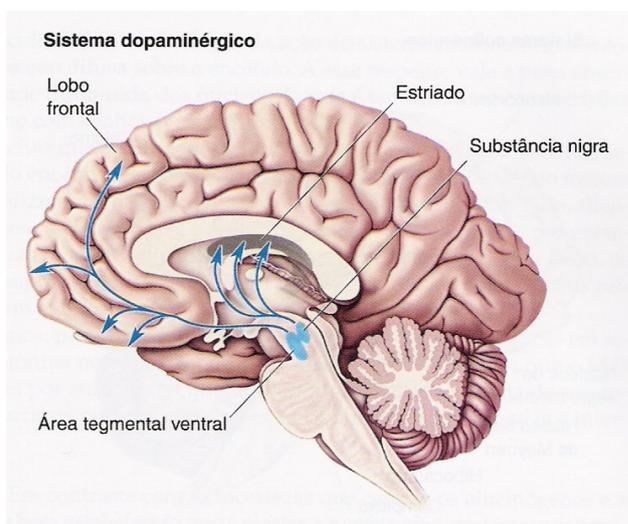
**Tabela 1.** Diferenças entre os subtipos de receptores dopaminérgicos.

	<b>D<sub>1</sub></b>	<b>D<sub>2S/2L</sub></b>	<b>D<sub>3</sub></b>	<b>D<sub>4</sub></b>	<b>D<sub>5</sub></b>
<b>Efeito intracelular</b>	↑AMPc; ↑IP <sub>3</sub>	↓AMPc; ↑K <sup>+</sup> ; ↓Ca <sup>2+</sup>	?	?	↑AMPc; ↑IP <sub>3</sub>
<b>Localização</b>	Caudado-putame; nucleus acumbens (cornu)	Caudado-putame; nucleus acumbens (cornu); bulbo olfativo	Área tegmentar ventral do prosencéfalo	Córtex frontal; amígdala; bulbo e mesencéfalo	Hipocampo; hipotálamo

\*Adaptada de Ceresér e Vianna, 2004.

No sistema dopaminérgico, dois grupos de células têm as características de sistemas modulatórios difusos (Figura 2). As células da substância negra projetam axônios ao estriado (núcleo caudado e putame), onde de algum modo, facilitam a iniciação dos movimentos voluntários. Próximo à substância negra, encontramos outro sistema dopaminérgico modulatório, na área tegmental ventral. Os axônios desses neurônios inervam uma região do telencéfalo que inclui o córtex frontal e partes do sistema límbico. Esta projeção dopaminérgica é chamada de sistema mesocorticolímbico dopaminérgico. Existem evidências de que este sistema está envolvido num sistema de recompensa que, de alguma maneira, atribui valor ou

reforça certos comportamentos adaptativos. Acredita-se que a recompensa pela ativação deste sistema possa ser uma sensação de prazer. (Bear et al, 2002)



**Figura 2.** Os sistemas modulatórios difusos dopaminérgicos partem da substância negra e da área tegmental ventral.

A dopamina é um neurotransmissor que exerce papel modulatório no aprendizado e memória (Simon et al, 1986; Packard e White, 1989; Yamamuro et al, 1994). Muitas evidências sugerem que ela age no hipocampo e está envolvida na modulação da neurotransmissão hipocampal. O hipocampo é uma região cerebral envolvida no aprendizado e memória, e é particularmente sensível ao envelhecimento (Amenta et al., 2001). Pevic, 1999; correlaciona a origem da inteligência humana ao desenvolvimento do sistema dopaminérgico devido ao seu papel na cognição e, particularmente, nas funções executivas e memória de trabalho. Segundo relatos, a indução da atenção ao novo em mamíferos requer o envolvimento da dopamina estriatal (Apicella et al 1991; Williams et al, 1993).

## 1.4 Memória e envelhecimento

Após muitos estudos com testes de memória foi verificado que em geral, os jovens apresentam melhor desempenho que as pessoas mais velhas, em relação a memória episódica (Yassuda, 2002). Isto leva a crer, que durante o envelhecimento, mesmo na ausência de patologias graves, ocorre um declínio significativo da memória.

Este impacto negativo não acontece uniformemente, alguns aspectos da memória são mais afetados do que outros, e mesmo com os declínios de memória apresentados pelos idosos, a maior parte deles mantêm habilidades cognitivas suficientes para continuarem independentes até idades avançadas (Yassuda, 2002).

Também devemos ressaltar que existe uma grande variabilidade entre os indivíduos, e isso se reflete na intensidade dos efeitos do envelhecimento da memória, por exemplo. De acordo com a literatura, fatores como composição genética, nível educacional, nível socioeconômico, estilo de vida, acuidade visual e auditiva, relações sociais, entre outros; podem determinar a magnitude dos efeitos do envelhecimento sobre a memória.

É incrível como alguns tipos de memórias permanecem mais resistentes ao envelhecimento. Por exemplo, a memória semântica (informações lingüísticas). Na literatura gerontológica e cognitiva, é aceito o resultado de que esta habilidade é pouco afetada com o avanço da idade. No entanto, a memória episódica (eventos recentes) parece bastante sensível ao envelhecimento (Yassuda, 2002).

O idoso apresenta diferenças morfológicas marcantes no seu cérebro em relação a sujeitos mais novos, seu peso e volume são menores, algumas áreas

cerebrais perdem/retraem células (o córtex frontal, por exemplo, pode perder até 40% das células), a maior parte dos neurônios perdidos não pode ser reposta, mas a plasticidade neural é capaz de reorganizar circuitos de modo que a função possa ser mantida (Arking, 1998). Mas nem todas as alterações sofridas pelo sistema nervoso podem ser traduzidas em nível funcional. Isto é particularmente relevante quando falamos de memória, que está afetada com o envelhecimento mesmo na ausência de patologias. Atualmente tem-se dado atenção especial e estudado o que está realmente alterado funcionalmente neste sistema.

Diversas alterações nos sistemas de neurotransmissores ocorrem com o envelhecimento, no entanto, as repercussões destas na fisiologia cerebral não estão bem estabelecidas.

As mudanças na função cerebral, durante o envelhecimento, envolvem vários sistemas neurotransmissores incluindo o dopaminérgico (Amenta et al., 1991; Barili et al., 1998). Este sistema tem um importante papel na resposta comportamental à novidade (Kabai et al, 2004; Bardo et al. 1996; Rebec et al. 1997; Dulawa et al, 1999; Saigusa et al. 1999).

O envelhecimento é acompanhado por um declínio das funções controladas por este sistema (Luo e Roth, 2000). Podemos citar o decréscimo dos níveis basais de dopamina extracelular (Gerhardt e Maloney, 1999) e um decréscimo de liberação evocada de dopamina (Gerhardt et al., 1995; Hebert e Gerhardt, 1998; Gerhardt e Maloney, 1999; Gerhardt et al., 2002). A redução de dopamina de áreas cerebrais causa não apenas distúrbios motores, mas também prejuízos cognitivos e de memória em tarefas relacionadas à atividade do hipocampo (Rinne et al., 1989). Reduções relacionadas à idade, na dopamina ou atividade do receptor de dopamina

no estriado, córtex frontal e hipocampo têm sido também, envolvidas na incapacidade de aprendizado e déficits cognitivos observados em roedores velhos e humanos idosos (Lee et al., 1994; Volkow et al., 1998; Backman et al., 2000; Kaasinen e Rinne, 2002), além de déficits associados na memória de trabalho tanto em humanos quanto em primatas não-humanos (Castner e Goldman-Rakic, 2004).

Estudos sugerem que o declínio cognitivo também poderia estar relacionado à deficiência de receptores tipo D1 (Castner e Goldman-Rakic, 2004), ou à redução no transportador de Dopamina (DAT) em animais e no homem (Alard e Marcussom, 1989; Emborg et al., 1998; Volkow et al., 1998; Hebert et al., 1999; Ma et al., 1999; Mozley et al., 1999; Salvatore et al., 2003; Hemby et al., 2003; Erixon-Lindroth et al., 2005) ou, ainda à uma alteração em seu funcionamento (Salvatore et al., 2003; Hemby et al., 2003).

Os efeitos do envelhecimento, nos transportadores de dopamina do sistema nervoso central, não parecem ser lineares. Muitos efeitos parecem ocorrer durante a jovem vida adulta, antes das pessoas alcançarem os 40 anos de idade. Os achados sugerem que o ciclo da vida adulta é mais bem caracterizado como uma série de fases do que uma continuidade (Mozley et al., 1999). Estudos também têm indicado que alterações no sistema de receptor de dopamina D<sub>2</sub> (D<sub>2</sub>R) têm sido associadas com o declínio das funções cognitivas e motoras associadas à idade em animais como o rato, camundongo e macacos (Severson e Finch, 1980; Vadasz et al., 1992; Morris et al., 1999; Fowler et al., 2002) tanto quanto em humanos (Volkow et al., 1996; Volkow, et al., 1998; Ichise et al., 1998; Kaasinen e Rinne, 2002; Hemby et al., 2003).

No entanto, ensaios clínicos com seres humanos são extremamente complexos e limitados, desta forma a comunidade científica vem utilizando modelos

animais nas pesquisas sobre os mecanismos de envelhecimento, relações com as doenças e influência de fatores externos sobre os mesmos.

Atualmente, sabe-se que o processo de envelhecimento dos neurônios dopaminérgicos nigro-estriatais em roedores e humanos é bastante semelhante, o que os torna um modelo adequado para o estudo de patologias que envolvam a neurodegeneração desta área (Knoll, 1998).

De acordo com inúmeros trabalhos ficou evidenciado que o sistema dopaminérgico está envolvido em diversos tipos de memória (Bardo et al, 1996; Rebec et al, 1997; Saigusa et al, 1999; Kabai et al, 2004). No entanto, não existem muitos estudos envolvendo a memória de reconhecimento (classificada como explícita ou declarativa), que é muito afetada com o envelhecimento. Esta memória, que nos possibilita reconhecer pessoas e objetos, está afetada em diversas síndromes amnésicas associadas à idade avançada. No entanto pouco se sabe sobre as vias bioquímicas que modulam a memória de reconhecimento. Desta maneira, como o sistema dopaminérgico é afetado com o avanço da idade e esta memória também, é extremamente importante avaliar se este sistema faz parte da formação da memória de reconhecimento.

A tarefa de reconhecimento do objeto novo baseia-se na tendência espontânea dos roedores de explorarem um objeto novo. Tem sido proposto que essa tarefa apresenta analogia com testes de memória de reconhecimento que são amplamente utilizados em seres humanos para caracterizar síndromes amnésicas, pois fornecem um índice acurado do grau de severidade geral de prejuízos de memória declarativa (Reed e Squire, 1997; Dix e Aggleton, 1999).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O presente estudo teve como objetivo geral estudar o papel do Sistema Dopaminérgico no estabelecimento da memória da tarefa de reconhecimento de objetos em ratos.

## **2.2 Objetivos Específicos**

Avaliar a participação dos receptores dopaminérgicos da família D<sub>1</sub> na consolidação da memória de reconhecimento em ratos.

Avaliar a participação dos receptores dopaminérgicos da família D<sub>2</sub> na consolidação da memória de reconhecimento em ratos

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo foi realizado visando utilizar o menor número possível de animais e evitando causar qualquer tipo de desconforto desnecessário aos mesmos. Desse modo, procurou-se seguir a literatura sobre as tarefas comportamentais previamente padronizadas no que diz respeito ao estabelecimento do número de animais a serem utilizados por grupo (Tang et al, 1999). Todos os procedimentos foram realizados seguindo diretrizes para utilização de animais em experimentos científicos (Raimundo, 2000). *Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS, em 06 de Junho de 2005, com Ofício de número 471/05-CEP.*

#### **3.1 Animais**

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos, que foram obtidos da Fundação Estadual de Pesquisa e Produção em Saúde, Porto Alegre, Brasil e foram mantidos em grupos de 3 a 5 ratos por caixa (caixas de moradia) em ambiente climatizado com ciclos claro/escuro de 12 horas. Recebendo ração comercial e água

*ad libitum*, de acordo com as orientações do Manual para Técnicos de Bioterismo (De Lucca, 1996).

### **3.2 Tratamentos**

Os grupos experimentais foram compostos de 8 a 10 ratos cada, uma vez que, este demonstrou ser um tamanho confiável de amostra para o tipo de tarefa comportamental a ser realizada.

Foram realizados dois grupos de experimentos abaixo descritos.

#### **3.2.1 Experimento 1**

No experimento 1 foram utilizados os agonistas dopaminérgicos SKF 38393 (agonista dos receptores da família D<sub>1</sub>) e Quimpirol (agonista dos receptores da família D<sub>2</sub>), ambos nas doses de 1 mg/Kg e 5 mg/Kg de peso corporal. As drogas foram diluídas em DMSO 5% e administradas sistêmicamente por via intraperitoneal (i.p), imediatamente após a sessão de treino. As doses das drogas utilizadas foram baseadas em dados previamente obtidos em nosso laboratório, e de acordo com a literatura (Motles et al, 1995; Izquierdo et al, 2000; Passetti et al, 2003).

#### **3.2.2 Experimento 2**

No segundo experimento utilizamos os antagonistas dopaminérgicos SCH 23390 (antagonista dos receptores da família D<sub>1</sub>) e Raclopride (antagonista dos receptores da família D<sub>2</sub>), nas doses de 0,1 mg/Kg e 0,05 mg/Kg (SCH 23390) e 0,5 mg/Kg e 0,1 mg/Kg (Raclopride) de peso corporal. A Apomorfina, que é um agonista misto, ou seja, atua tanto sobre os receptores da família D<sub>1</sub> quanto sobre os

receptores da família D<sub>2</sub>, foi utilizada concomitantemente na dose de 0,05 mg/Kg de peso corporal. Estas drogas também foram diluídas em DMSO 5% e administradas sistemicamente por via intraperitoneal (i.p). No entanto, o tempo de administração delas foi diferente em relação ao experimento 1. Os antagonistas foram administrados 15 minutos antes da sessão de treino e a apomorfina imediatamente após a sessão de treino. As doses das drogas utilizadas foram baseadas em dados previamente obtidos em nosso laboratório, e de acordo com a literatura (Wise et al, 1994; Sederholm et al, 2002; Duarte et al, 2003; Wooley et al, 2003 ).

### **3.3 Tarefas Comportamentais**

#### **3.3.1 Tarefa de Reconhecimento do Objeto Novo**

No primeiro dia de execução da tarefa, os ratos foram submetidos a uma sessão de habituação ao pesquisador (*handling*), onde cada animal pode se habituar ao pesquisador durante 1 minuto e meio. No dia seguinte, os ratos foram individualmente habituados a uma caixa de campo aberto (caixa de madeira medindo 45 X 40 X 60cm, com a face frontal de vidro) contendo somente serragem durante 5 minutos. No terceiro dia, durante a sessão de treino, dois objetos idênticos foram colocados no campo aberto e o animal pode explorá-lo durante 5 minutos. O tempo gasto pelo animal na exploração de cada objeto foi registrado, utilizando-se 2 cronômetros. Durante a sessão de teste de retenção de memória de longa duração, realizada 24 horas após o treino, o rato foi colocado novamente na mesma caixa, onde um dos objetos já familiares utilizado na sessão de treino foi substituído por um objeto novo. Exclusivamente no experimento 1, foi realizado ainda um teste de

memória de longa duração de 72 horas (após a sessão de treino). Na sessão de teste, o animal pode explorar a caixa por 5 minutos novamente. Um índice de preferência, a razão entre a quantidade de tempo gasto na exploração de qualquer um dos objetos (na sessão de treino) ou o objeto novo (sessão de teste) sobre o tempo total gasto explorando ambos os objetos, foi utilizado como uma medida de memória de reconhecimento (Schröder et al, 2003).

### **3.4 Análise Estatística**

Os resultados comportamentais da tarefa de reconhecimento do objeto novo foram analisados através da análise de variância de Kruskal-Wallis e submetidos ao teste U de Mann-Whitney, quando necessário. As comparações entre as sessões de treino e teste em um mesmo grupo experimental foram feitas utilizando-se o teste de Wilcoxon. Em todos os casos, valores de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significativos (Kirk, 1995).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Experimento n° 1

No primeiro experimento (Figura 3A) demonstra-se o efeito do agonista dopaminérgico do tipo D<sub>1</sub>, SKF 38393, administrado imediatamente após a sessão de treino, em duas diferentes doses (1 mg/Kg e 5 mg/Kg de peso corporal) sobre a memória, através da tarefa do reconhecimento do objeto novo.

Os resultados demonstraram que o SKF 38393 na menor dose (1 mg/Kg) não teve nenhum efeito sobre a memória, não apresentando diferença significativa em relação ao grupo controle (veículo). No entanto, quando se utiliza a dose de 5 mg/Kg, pode-se observar que houve uma melhora na memória, pois o índice de reconhecimento deste grupo na memória de longa duração foi mais alto do que o índice de reconhecimento observado no grupo controle (veículo).

A análise de variância de uma via (ANOVA) mostra que o tempo total de exploração dos objetos durante a sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo não foi diferente estatisticamente entre os grupos experimentais (Tabela 2).

**Tabela 2.** Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo em ratos adultos que foram tratados com o agonista dopaminérgico, SKF 38393, em duas doses diferentes.

<b>Grupo</b>	<b>Tempo Total de Exploração dos Objetos na Sessão de Treino (s)</b>
Veículo (n=9)	38,88±4,0296
SKF 1 mg/Kg (n=7)	36,36±5,1083
SKF 5 mg/Kg (n=9)	42,08±4,4844

**Legenda:** Os dados estão expressos através da Média ± Erro Padrão.

Como foi verificado que na dose de 5 mg/Kg o SKF 38393 melhorou a memória, decidiu-se investigar o que aconteceria se os mesmos ratos fossem testados 72 horas após a sessão de treino. Novamente foi observada uma melhora da memória de longa duração em relação ao grupo controle (Figura 3B), confirmando o resultado anterior.

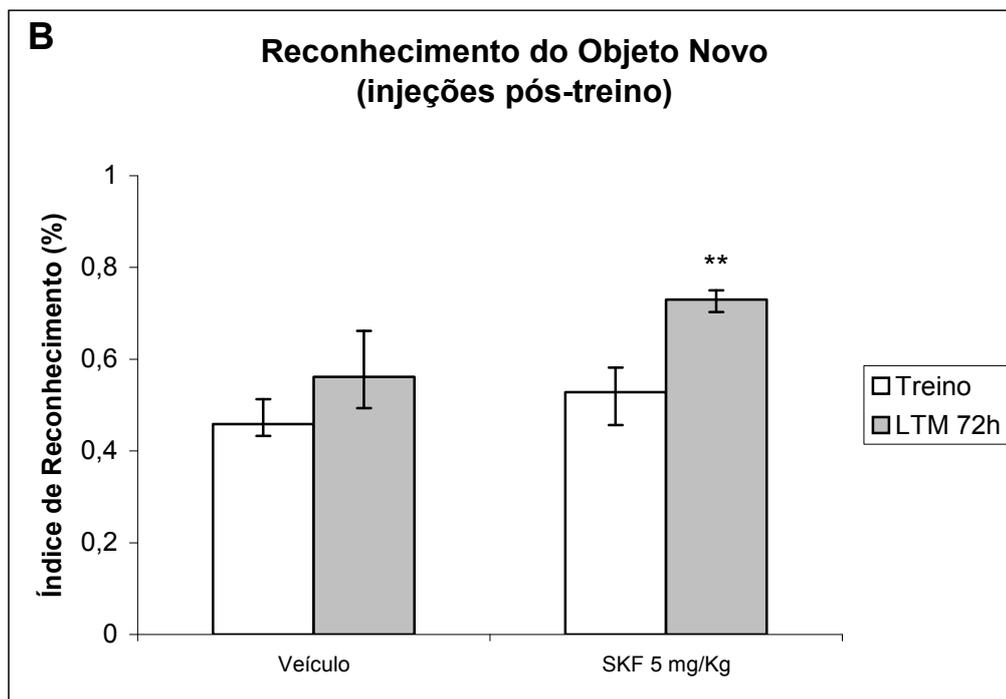
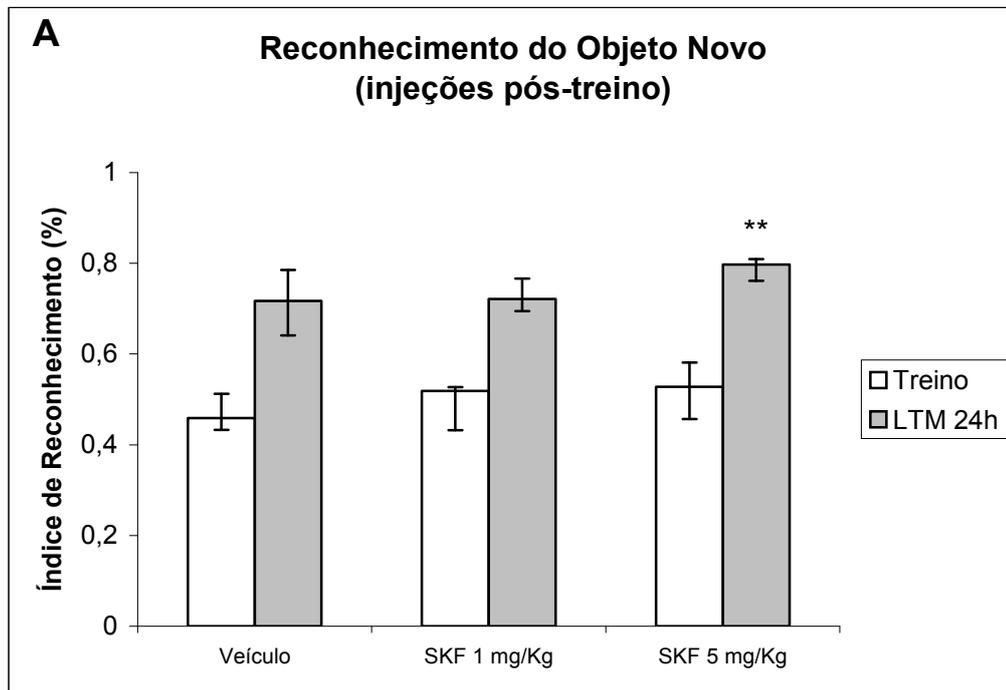
Neste mesmo experimento também se utilizou o agonista dopaminérgico do tipo D<sub>2</sub>, Quimpirol, nas doses de 1 mg/Kg e 5 mg/Kg de peso corporal. De acordo com a Figura 4, não foi observado nenhum efeito na memória de longa duração.

A análise de variância de uma via (ANOVA) mostra que o tempo total de exploração dos objetos durante a sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo não foi diferente estatisticamente entre os grupos experimentais (Tabela 3).

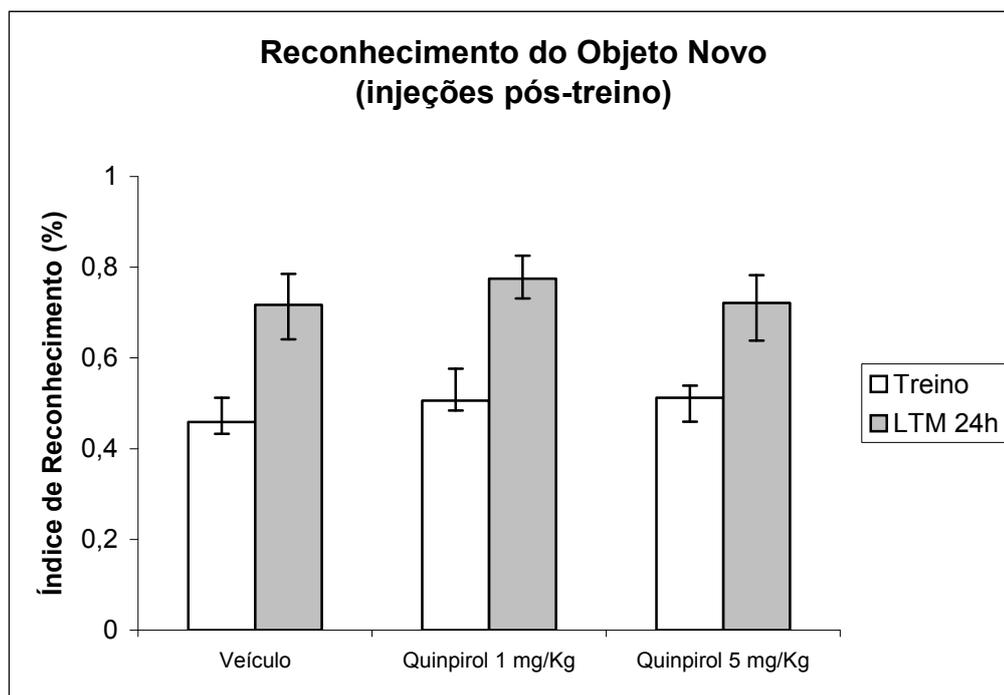
**Tabela 3.** Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo em ratos adultos que foram tratados com o agonista dopaminérgico, Quinpirrol, em duas doses diferentes.

<b>Grupo</b>	<b>Tempo Total de Exploração dos Objetos na Sessão de Treino (s)</b>
Veículo (n=9)	38,88±4,0296
Quinpirrol 1 mg/Kg (n=9)	37,72±3,7805
Quinpirrol 5 mg/Kg (n=9)	27,27±3,6818

**Legenda:** Os dados estão expressos através da Média ± Erro Padrão.



**Figura 3.** Efeito do agonista dopaminérgico do tipo D<sub>1</sub>, SKF 38393, em duas diferentes doses (1 mg/Kg e 5 mg/Kg de peso corporal), sobre a retenção da memória de longa duração (**A** 24 horas e **B** 72 horas após o treino). As diferenças entre os grupos controle e tratados com SKF 38393 estão indicadas através de: \*\* $p < 0,01$ , obtido através do Teste U de Mann-Whitney.



**Figura 4.** Efeito do agonista dopaminérgico do tipo D<sub>2</sub>, Quinpirol, nas doses de 1 mg/Kg e 5 mg/Kg de peso corporal, sobre a retenção da memória de longa duração (24 horas).

## 4.2 Experimento nº 2

Dando continuidade ao estudo, a partir dos resultados obtidos no experimento 1, realizou-se um segundo experimento utilizando os antagonistas dopaminérgicos SCH 23390 (antagonista dos receptores da família D<sub>1</sub>) e Raclopride (antagonista dos receptores da família D<sub>2</sub>); nas doses de 0,1 mg/Kg e 0,05 mg/Kg (SCH 23390) e 0,5 mg/Kg e 0,1 mg/Kg (Raclopride) de peso corporal. A Apomorfina, que é um agonista misto, ou seja, atua tanto sobre os receptores da família D<sub>1</sub> quanto sobre os receptores da família D<sub>2</sub>, foi utilizada concomitantemente na dose de 0,05 mg/Kg de peso corporal. Este experimento foi efetuado para dar mais subsídios para confirmar os resultados já obtidos com o primeiro experimento.

A figura 5A demonstra que quando se utiliza o antagonista SCH 23390, combinado com o veículo, não é observado nenhum efeito sobre a memória de longa duração. Não existe diferença significativa em relação ao grupo controle (veículo). Nem mesmo a combinação entre este antagonista com a Apomorfina (Agonista misto), refletiu em alguma melhoria/prejuízo da memória.

Quando se utiliza o antagonista Raclopride combinado com o veículo, novamente não é observado nenhum efeito sobre a memória de longa duração. Não apresentando diferença significativa em relação ao grupo controle (veículo). No entanto, quando se administra o antagonista Raclopride, na dose de 0,5 mg/Kg de peso corporal, concomitantemente com a Apomorfina, percebe-se uma melhora na memória, com diferença significativa em relação ao grupo controle (veículo). A Apomorfina administrada juntamente com o Raclopride na dose de 0,1 mg/Kg, não demonstra o efeito observado anteriormente (Figura 5B).

A análise de variância de uma via (ANOVA) mostra que o tempo total de exploração dos objetos durante a sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo não foi diferente estatisticamente entre os grupos experimentais (Tabelas 4 e 5).

**Tabela 4.** Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo em ratos adultos que foram tratados com o antagonista dopaminérgico, SCH 23390, em duas doses diferentes, concomitantemente com o agonista não seletivo Apomorfina.

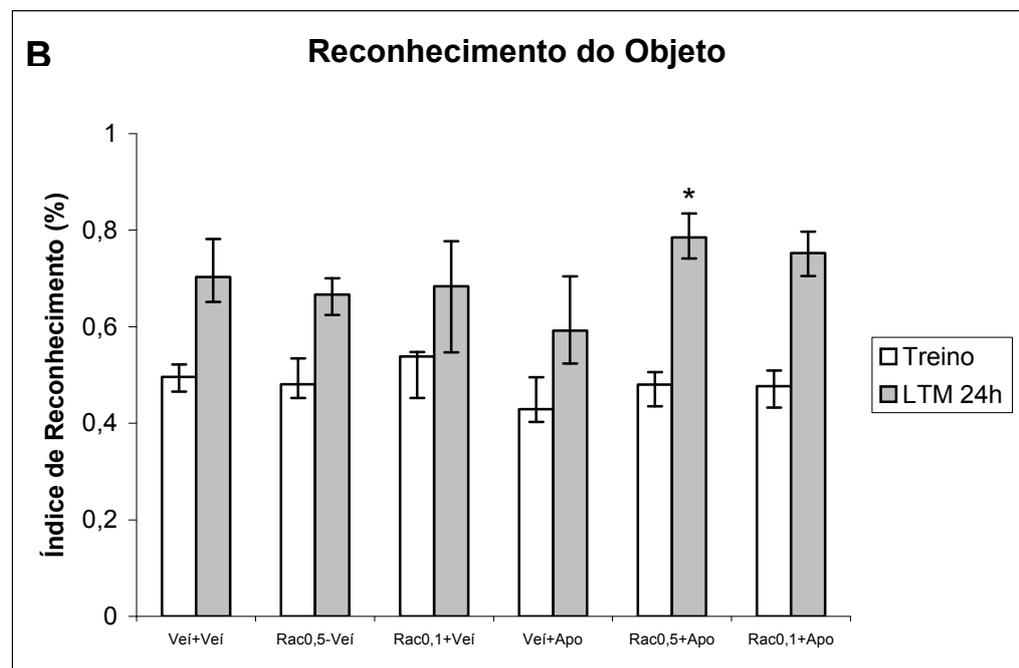
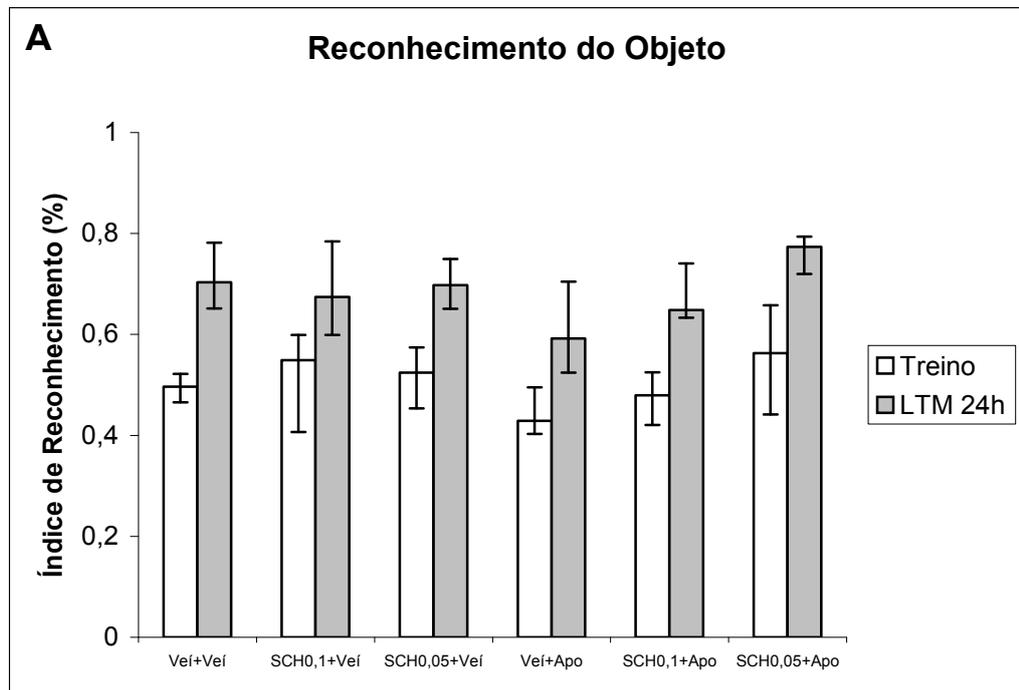
<b>Grupo</b>	<b>Tempo Total de Exploração dos Objetos na Sessão de Treino (s)</b>
Veículo + Veículo (n=10)	25,96±5,0063
SCH 0,1 mg/Kg + Veículo (n=7)	08,42±1,1770
SCH 0,05 mg/Kg + Veículo (n=10)	13,12±2,9564
Veículo + Apomorfina 0,05 mg/Kg (n=10)	10,96±1,9341
SCH 0,1 mg/Kg + Apomorfina 0,05 mg/Kg (n=8)	10,46±2,6510
SCH 0,05 mg/Kg+ Apomorfina 0,05 mg/Kg (n=10)	14,85±1,6894

**Legenda:** Os dados estão expressos através da Média ± Erro Padrão.

**Tabela 5.** Tempo total de exploração de ambos os objetos na sessão de treino na tarefa de reconhecimento do objeto novo em ratos adultos que foram tratados com o antagonista dopaminérgico, Raclopride, em duas doses diferentes, concomitantemente com o agonista não seletivo Apomorfina.

<b>Grupo</b>	<b>Tempo Total de Exploração dos Objetos na Sessão de Treino (s)</b>
Veículo + Veículo (n=10)	25,96±5,0063
Raclopride 0,5 mg/Kg + Veículo (n=9)	13,85±2,7699
Raclopride 0,1 mg/Kg + Veículo (n=10)	20,53±3,5301
Veículo + Apomorfina 0,05 mg/Kg (n=10)	10,96±1,9341
Raclopride 0,5 mg/Kg + Apomorfina 0,05 mg/Kg (n=10)	25,03±5,8063
Raclopride 0,1 mg/Kg + Apomorfina 0,05 mg/Kg (n=10)	39,77±4,1400

**Legenda:** Os dados estão expressos através da Média ± Erro Padrão.



**Figura 5.** Efeito dos antagonistas dopaminérgicos administrados concomitantemente com veículo ou Apomorfina (na dose de 0,05 mg/Kg de peso corporal), sobre a memória de longa duração (24 horas), através da tarefa do reconhecimento do objeto novo. **(A)** Utilizou-se o antagonista SCH 23390 (doses de 0,1 mg/Kg e 0,05 mg/Kg de peso corporal) que é um antagonista do tipo D<sub>1</sub>. **(B)** Foi utilizado o antagonista Raclopride (doses de 0,5 mg/Kg e 0,1 mg/Kg de peso corporal) que é um antagonista do tipo D<sub>2</sub>. A diferença da comparação entre Veí-Veí X Rac 0,5-Apo está indicada através de: \*p<0,05, para o teste U de Mann-Whitney.

## 5 DISCUSSÃO

O principal resultado deste estudo foi a comprovação de que o sistema dopaminérgico participa da formação da memória de reconhecimento. Este efeito se dá pelos receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub>.

Este resultado foi evidenciado no experimento 1 através do uso de um agonista dopaminérgico específico dos receptores do tipo D<sub>1</sub> (SKF 38393), que age diretamente sobre os receptores da família do tipo D<sub>1</sub>, ativando os mesmos. Como se pode observar, ao ser realizado o teste de memória de longa duração através da tarefa de reconhecimento de objeto novo, ocorre uma melhora da memória quando se utiliza este agonista na dose de 5 mg/Kg.

Muitos estudos já demonstraram que o sistema dopaminérgico está substancialmente envolvido na formação e consolidação de diferentes tipos de memória. Este sistema tem propriedades que fazem dele um sistema neurotransmissor especial. As particularidades anatômicas e estruturais permitem a ele ter um papel central na modulação de várias funções cerebrais cognitivas (Hantraye, 1998).

Diversos experimentos utilizando animais, assim como estudos clínicos envolvendo imagem funcional, sugerem fortemente o envolvimento do sistema dopaminérgico na memória de trabalho e funções executivas.

De acordo com a literatura, o hipocampo e o córtex pré-frontal são importantes estruturas cerebrais implicadas em vários tipos de funções cognitivas (Morris et al, 1982; Sutherland et al, 1982; Wishaw e Kolb, 1984; Winocur e Moscovitch, 1990; Squire, 1992; Jarrard, 1993).

Uma infinidade de trabalhos relata que as lesões no sistema dopaminérgico mesohipocampal alteram o aprendizado espacial e a memória de trabalho em roedores e primatas não-humanos (Brozoski et al, 1979; Hagan et al, 1983; Wishaw e Dunnett, 1985; Gasbarri et al, 1996) e essas lesões tem sido correlacionadas com disfunções cognitivas relacionadas à idade em primatas não-humanos (Arnsten, 1993; Murphy et al, 1996) e ratos velhos (Lee et al, 1994).

LaLumiere et al, 2004 utilizou ratos adultos que receberam infusões de um antagonista dopaminérgico do tipo D<sub>1</sub>, SCH 23390, e um antagonista dopaminérgico do tipo D<sub>2</sub>, Sulpiride, intra amígdala basolateral; os resultados apontaram uma forte evidência de que a ativação dopaminérgica dentro da amígdala basolateral está importantemente, se não criticamente, envolvida na regulação da consolidação da memória.

Recentemente têm-se relacionado o *nucleus accumbens* e o estriado a funções cognitivas como aprendizagem e memória (Taghzouti et al, 1985; Annett et al, 1989; Ploeger et al, 1994; Floresco et al, 1996, 1997; Setlow, 1997; Adriani et al, 1998; Setlow e MacGaugh, 1998; Usiello et al, 1998; Sargolini et al, 1999).

É importante ressaltar que o sistema dopaminérgico exerce um papel relevante na resposta comportamental à novidade (Bardo et al, 1996; Rebec et al, 1997; Dulawa et al, 1999; Saigussa et al, 1999), bem como no aprendizado de novas tarefas (Apicela et al, 1991; Willians et al, 1993). Os animais são atraídos e

despertados pela descoberta da novidade (Misslin e Ropartz, 1981a, 1981b; Bardo et al, 1988; Laviola e Adriani, 1998).

Adriani et al, 2000; utilizou ratos jovens que foram testados numa tarefa de campo aberto com objetos, e receberam antagonistas dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> e agonistas dopaminérgicos mistos; os resultados relatam um papel facilitatório da transmissão dopaminérgica na habilidade em codificar e/ou transmitir informação espacial.

Desta maneira, pode-se observar que muitos trabalhos demonstram essa participação do sistema dopaminérgico na formação e consolidação da memória. No entanto, nenhum deles se ocupou em estudar a memória de reconhecimento.

Através dos experimentos realizados neste estudo, comprovou-se que esse envolvimento do sistema dopaminérgico na memória de reconhecimento se dá através dos receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> e não dos receptores do tipo D<sub>2</sub>.

Uma série de estudos tem demonstrado a participação dos receptores dopaminérgicos das famílias D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> nas funções cognitivas (Arnsten et al, 1995; Seamans et al, 1998). A influência específica dos receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> nos “campos da memória” tem sido explorada utilizando-se antagonistas específicos.

Besheer et al, 2001; administrou antagonistas dopaminérgicos e colinérgicos em ratos adultos que foram submetidos a um teste de livre-escolha de objeto novo. Os autores demonstraram que os receptores de dopamina do tipo D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> e D<sub>4</sub> não estão envolvidos na expressão da detecção do objeto novo.

O papel das diferentes classes de receptores é complexo. Estudos em macacos apontam para uma ação preponderante ou até mesmo exclusiva, dos

receptores do tipo D<sub>1</sub>. No entanto, estudos recentes em humanos, mostram um possível envolvimento dos receptores D<sub>2</sub> (Kimberg et al; 1997). Esta pode ser uma questão de diferença na ação relacionada às doses, idade e estado de inervação dopaminérgica prévia do indivíduo.

Muitas pesquisas em animais, utilizando roedores e primatas não-humanos, têm indicado que a função cognitiva ótima do córtex pré-frontal, estrutura importante em várias funções cognitivas, depende de uma escala crítica da ativação dos receptores de dopamina do tipo D<sub>1</sub> (Murphy et al, 1996; Zahrt et al, 1997). Tanto a diminuição (Bubser e Schimidt, 1990; Seamans et al, 1998) quanto o aumento na estimulação desses receptores no córtex pré-frontal, têm demonstrado produzir prejuízo cognitivo.

Ambos os receptores de dopamina do tipo D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub> têm sido implicados em vários processos de aprendizagem e memória (Packard e White, 1989; Ichihara et al, 1992; Bernabeu et al, 1997; Izquierdo et al, 1998; Wilkerson e Levin, 1999). O fato de o receptor de dopamina do tipo D<sub>1</sub> estar expresso mais abundantemente, cerca de vinte vezes mais abundante, (Goldman-Rakic et al, 2000) do que os receptores do tipo D<sub>2</sub> no hipocampo e córtex pré-frontal de primatas não-humanos (Lidow et al, 1991) e roedores (Dubois et al, 1986); sugere um papel mais dominante deste subtipo de receptor na cognição. Enquanto evidências baseadas em manipulações farmacológicas em macacos são consistentes com esta hipótese (Sawaguchi e Goldman-Rakic, 1995; Cai e Arnsten, 1997), estudos em roedores são muito limitados e não estabelecem firmemente este papel.

Um papel para os receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub> na consolidação da memória, tem sido proposto baseado em pesquisas prévias em roedores jovens

testados com esQUIVA passiva (Bernabeu et al, 1997) e ratos velhos testados no labirinto aquático de Morris (Hersi et al, 1995). Nesses estudos, os agonistas dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub> melhoraram a performance na esQUIVA passiva e no labirinto aquático de Morris, enquanto que os antagonistas D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub> prejudicaram a performance na esQUIVA passiva. Vale ressaltar que no hipocampo, a maior parte dos receptores de dopamina são do subtipo D<sub>1</sub>/D<sub>5</sub> (Sokolof e Schwartz, 1995).

Sawaguchi, 2001, sugere que a ativação dos receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> tem um papel facilitatório, no campo da memória, nos neurônios pré-frontais para memória de trabalho visuo-espacial.

O uso de antagonistas de receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> tem demonstrado afetar diferentemente muitos tipos de aprendizagem, como o aprendizado de incentivo (Beninger, 1983; Beninger e Miller, 1998) e memória de curta e longa duração em ratos (Ichihara et al, 1989; Didriksen, 1995; Murphy et al, 1996; Bernabeu et al, 1997; Izquierdo et al, 1998; Wilkerson e Levin, 1999).

Em um trabalho utilizando camundongos sem receptores de dopamina do tipo D<sub>1</sub>, testados em diferentes tipos de tarefas; El-Ghundi et al, 1999; demonstra que a deleção dos receptores de dopamina do tipo D<sub>1</sub> não pode prejudicar a aprendizagem por si só, mas pode modular outros mecanismos, mediando assim a aprendizagem e memória. O autor conclui que o receptor de dopamina do tipo D<sub>1</sub> é parte de uma rede neural que tem um importante papel na mediação de pelo menos um aspecto dos processos cognitivos, chamado aprendizado espacial e memória.

A análise conjunta dos resultados, juntamente com os estudos anteriores, demonstra o envolvimento do sistema dopaminérgico na formação da memória. Entretanto, a relevância deste trabalho está no fato de que se demonstrou que este

sistema também participa da formação e consolidação da memória de reconhecimento, que não era amplamente estudada. Através do uso de agonistas e antagonistas de receptores dopaminérgicos do tipo D<sub>1</sub> e D<sub>2</sub>, ficou evidenciado que este envolvimento se dá pelos receptores do tipo D<sub>1</sub>.

Este trabalho poderá servir como base para estudos futuros sobre envelhecimento; já que foi demonstrado que o sistema estudado faz parte da formação da memória de reconhecimento, que está substancialmente afetada nesta fase da vida. Por conseguinte, através dos resultados apontados, poderão ser desenvolvidas novas estratégias terapêuticas para o controle de doenças neurodegenerativas, assim como testes de novas drogas com possível ação neuroprotetora.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adriani W, Felici A, Sargolini F, Roulet P, Usiello A, Oliverio A, Mele A. N-methyl-D-aspartate and dopamine receptor involvement in the modulation of memory processes. *Exp. Brain Res.* n.123, pp. 52-59, 1998.

Adriani W, Sargolini F, Coccurello R, Oliverio A, Mele A. Role of dopaminergic system in reactivity to spatial and non-spatial changes in mice. *Psychopharmacology.* n.150, pp. 67-76, 2000.

Allard P, Marcusson JO. Age-related loss of dopamine uptake sites labeled with [<sup>3</sup>H]GBR-12935 in human putamen. *Neurobiol. Aging,* n. 10, pp. 661-664, 1989.

Amenta F, Mignini F, Ricci A, Sabbatini M, Tomassoni D, Tayebati S. Age-related changes of dopamine receptors in the rat hippocampus: a light microscope autoradiography study. *Mech. Ageing and Devel.,* n. 122, pp. 2071-2083, 2001.

Annett LE, Mc Gregor A, Robbins TW. The effects of the ibotenic acid lesion of the nucleus accumbens on spatial learning and extinction in the rat. *Behav. Brain Res.* n.31, pp. 321-342, 1989.

Apicella P, Legalet E, Nieoullon A, Trouche E. Neglect of contralateral visual stimuli in monkeys with unilateral striatal dopamine depletion. *Beh. Brain Res.,* n. 46, pp. 187-195, 1991.

Arking R. *Biology of Aging: Observations and Principles.* 2ed. Massachusetts: Sinauer Associates Publishers; 1998.

Arnsten AF. Catecholamine mechanisms in age related cognitive decline. *Neurobiol. Aging*, n.14, pp. 639-641, 1993.

Arnsten AF, Cai JX, Steere JC, Goldman-Rakic PS. Dopamine D<sub>2</sub> receptors mechanisms contribute to age-related cognitive decline: The effects of quinpirole on memory and motor performance in monkeys. *J. Neurosci.* n.15, pp. 3429-3439, 1995.

Bach ME, Barad M, Son H, Zhuo M, Lu YF, Shih R, Mansuy I, Hawkins RD, Kandel ER. Age related defects in spatial memory are correlated with defects in the late phase of hippocampal long-term potentiation *in vitro* and are attenuated by drugs that enhance the camp-signaling pathway. *Procl. Natl. Acad. Sci.*, n. 96, pp. 5280-5285, 1999.

Bäckman L, Ginovart N, Dixon RA, Wahlin A, Halldin C, Farde L. Age-related cognitive deficits mediated by changes in the striatal dopamine system. *Am. J. Psychiatry*, n. 157, pp. 635-637, 2000.

Bardo NT, Neisewander JL, Pierce RC. Novelty-induced place preference behavior in rats: effect of opiate and dopaminergic drugs. *Pharmacol. Biochem. Behav.* n.32, pp. 683-689, 1988.

Bardo MT, Donohew RL, Harrington NG. Psychobiology of novelty seeking and drug seeking behavior. *Behav. Brain Res.*, n. 77, pp. 23-43, 1996.

Barili P, Carolis GD, Zaccheo D, Amenta F. Sensitivity to ageing of the limbic dopaminergic system: a review. *Mech. Ageing Dev.*, n. 106, pp. 57-92, 1998.

Bear MF, Connors BW, Paradiso, MA. *Neurociências: desvendando o sistema nervoso*. 2<sup>a</sup> ed. Artmed, Porto Alegre, 2002.

Beninger RJ. The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Res. Rev.*, n.6, pp. 173-196, 1983.

Beninger RJ, Miller R. Dopamine D<sub>1</sub>-like receptors and reward-related incentive learning. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, n.22, pp. 335-345, 1998.

Bernabeu R, Bevilaqua L, Ardenghi P, Bromberg E, Schimitz P, Bianchin M, Izquierdo I, Medina JH. Involvement of hippocampal cAMP/cAMP-dependent protein kinase signaling pathways in a late memory consolidation phase of aversively motivated learning in rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, n.94, pp. 7041-7046, 1997.

Besheer J, Short KR, Bevins RA. Dopaminergic and cholinergic antagonism in a novel-object detection task with rats. *Behav. Brain Res.* n.126, pp. 211-217, 2001.

Brozoski TJ, Brown RM, Rosvold HE, Goldman-Rakic PS. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in pre-frontal cortex of rhesus monkeys. *Science*, n.205, pp. 929-932, 1979.

*Bubser M, Schmidt WJ. 6-Hydroxydopamine lesion of the rat prefrontal cortex increases locomotor activity, impairs acquisition of delayed alternation tasks, but does not affect uninterrupted tasks in the radial maze. Behav. Brain Res. n.37, pp. 157-168, 1990.*

Cai JX, Arnsten AF. Dose dependent effects of dopamine D<sub>1</sub> receptor agonists A77636 or SKF81297 on spatial working memory in aged monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, n.283, pp. 183-189, 1997.

Castner SA, Goldman-Rakic PS. Enhancement of working memory in aged monkeys by a sensitizing regimen of dopamine D<sub>1</sub> receptor stimulation. *J. Neuroscience*, n. 24, vol. 6, pp. 1446-1450, 2004.

Ceresér KM, Vianna MRMR. Neurotransmissores. In: *Bases Biológicas dos Transtornos Psiquiátricos*. 2.ed. Porto Alegre: Artmed; 2004. p.35-51.

Chaimowicz F, Ferreira TJXM, Miguel DFA. Use of psychoactive drugs and related falls among older people living in a community in Brazil. *Rev. Saúde Públ.*, n. 34, pp. 631-635, 2000.

De Lucca RR, et. al. *Manual para Técnicos de Bioterismo*. São Paulo; FINEP; 1996.

Didriksen M. Effects of antipsychotics on cognitive behavior in rats using the delayed non-match to position paradigm. *Eur. J. Pharmacol.*, n.281, pp. 241-250, 1995.

Dix SL, Aggleton JP. Extending the spontaneous preference test of recognition: Evidence of object-location and object-context recognition. *Behavioral Brain Res.* 1999; 99; p. 191-200.

Dubois A, Savasta M, Curet O, Scatton B. Autoradiographic distribution of D<sub>1</sub> agonist [<sup>3</sup>H]SKF 38393, in the rat brain and spinal cord. Comparison with the distribution of D<sub>2</sub> dopamine receptors. *Neuroscience*, n.1, pp. 125-137, 1986.

Dulawa SC, Grandy DK, Low MJ, Paulus MP, Geyer MA. Dopamine D<sub>4</sub> receptor-knock-out mice exhibit reduced exploration of novel stimuli. *J. Neurosci.*, n. 19, pp. 9550-9556, 1999.

El-Ghundi M, Fletcher PJ, Drago J, Sibley DR, O'Dowd BF, George SR. Spatial learning deficit in dopamine D<sub>1</sub> receptor knockout mice. *Eur. J. Pharmacol.* n.383, pp. 95-106, 1999.

Emborg ME, Ma SY, Mufson EJ, Levey AI, Taylor MD, Brown WD, et al. Age-related declines in nigral neuronal function correlate with motor impairments in rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.*, n. 401, pp. 253-265, 1998.

Erixon-Lindroth N, Farde L, Robins TBW, Sovago J, Hallding C, Backman L. The role of the striatal dopamine transporter in cognitive aging. *Psychiatry Re.*, n. 138, vol. 1, pp. 1-12, 2005.

Finch CE. Longevity, Senescence and Genome. Chicago: University of Chicago Press; 1990.

Floresco SB, Seamans JK, Phillips AG. Differential effects of lidocaine infusions into the ventral CA1/subiculum or the nucleus accumbens on the acquisition and retention of spatial information. *Behav. Brain Res.* n.81, pp. 163-171, 1996.

Fowler SC, Zarcone TJ, Vorontsova E, Chen R. Motor and associative deficits in D2 dopamine receptor knockout mice. *Int. J. Dev. Neurosci.*, n. 20, pp. 309-321, 2002.

Gasbarri A., Sulli A, Innocenzi R, Pacitti C, Brioni JD. Spatial memory impairment induced by lesion of mesohippocampal dopaminergic system in the rat. *Neuroscience.* n.7, pp. 1037-1044, 1996.

Gerhardt GA, Cass WA, Henson M, Zhang Z, Ovadia A, Hoffer BJ, et al. Age-related changes in potassium-evoked overflow of dopamine in the striatum of the rhesus monkeys. *Neurobiol. Aging*, n. 16, pp. 939-46, 1995.

Gerhardt GA, Cass WA, Yi A, Zhang Z, Gash DM. Changes in somatodendritic but not terminal dopamine regulation in aged Rhesus monkeys. *J. Neurochemistry*, n. 80, pp. 168-177, 2002.

Gerhardt GA, Maloney RE. Microdialysis studies of basal levels and stimulus-evoked overflow of dopamine and metabolites in the striatum of young and aged Fischer 344 rats. *Brain Res.*, n. 816, pp. 68-77, 1999.

Goldman-Rakic PS, Muly EC III, Williams GV. D<sub>(1)</sub> receptors in prefrontal cells and circuits. *Brain Res. Rev.* n.31, pp. 295-301, 2000.

Goldman-Rakic PS, Bergson C, Mrzljak L, Williams GV. Dopamine receptors and cognitive function in nonhuman primates. In: Neve KA, Neve RL, editors The dopamine receptors. Totowa, NJ: Humana, pp. 499-522, 1997.

Hagan JJ, Alpert JE, Morris RGM, Iversen SD. The effect of central catecholamine depletion on spatial learning in rats. *Behav. Brain. Res.* n.9, pp. 83-104, 1983.

Hantraye P. Modeling dopamine system dysfunction in experimental animals. *Nucl. Med. Biol.* n.25, pp. 721-728, 1998.

Hart RW, Turturro A. Theories of Aging. In: Rothstein M, editor. *Review of Biological Research in Aging*. New York: Liss AR; 1983, p. 5-18.

Hayflick L. *Como e porque envelhecemos*. Rio de Janeiro: Campus; 1996.

Hebert MA, Gerhardt GA. Age –related changes in the capacity, rate and modulation of dopamine uptake within the striatum and nucleus accumbens of Fischer 344 rats: an in vivo electrochemical study. *J. Pharmacology Esp. Ther.*, n. 288, pp. 879-887, 1999.

Hebert MA, Gerhardt GA. Normal and drug-induced locomotor behavior in aging: comparison to evoked DA release and tissue content in Fischer 344 rats. *Brain Res.*, n. 797, pp. 42-54, 1998.

*Hemby SE, Trojanowski JQ, Ginsberg SD. Neuron-specific age-related decreases in dopamine receptor subtype mRNAs. J. Comp. Neurol., n. 456, pp. 176-183, 2003.*

Hersi AI, Rowe W, Gaudreau P, Quirion R. Dopamine D1 receptor ligands modulate cognitive performance and hippocampal acetylcholine release in memory-impaired aged rats. *Neuroscience.* n.69, pp. 1067-1074, 1995.

Ichihara K, Nabeshima T, Kameyama T. Differential effects of pimozide and SCH 23390 on acquisition of learning in mice. *Eur. J. Pharmacol.* n.164, pp. 189-195, 1989.

Ichihara K, Nabeshima T, Kameyama T. Effects of dopamine receptors agonists on passive avoidance learning in mice: interaction of dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> receptors. *Eur. J. Pharmacol.* n.213, pp. 243-249, 1992.

Ichise M, Ballinger JR, Tanaka F, Moscovitch M, St George-Hyslop PH, Raphael D, et al. Age-related changes in the D2 receptor binding with iodine-123-iodobenzofuran SPECT. *J. Nucl. Med.*, n. 39, pp. 1511-1518, 1998.

Izquierdo I, Medina JH, Izquierdo LA, Barros DM, De Souza MM, Mello e Souza T. Short- and long-term memory are differentially regulated by monoaminergic systems in the rat brain. *Neurobiol. Learn. Mem.* n.69, pp. 219-224, 1998.

Izquierdo I. *Memória*. Porto Alegre: Artes Médicas; 2002.

Jarrard LE. On the role of the hippocampus learning and memory in the rat. *Behav. Neural. Biol.* n.60, pp. 9-26, 1993.

Jellinger KA. The role of iron in neurodegeneration: Prospects for pharmacotherapy of Parkinson's Disease. *Drugs Aging*, n.14(2), pp. 115-140, 1999.

Kaasinen V, Rinne LO. Functional imaging studies of dopamine system and cognition in normal aging and Parkinson's disease. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, n. 26, pp. 785-793, 2002.

Kabai P, Stewart MG, Tarcali J, Csillag A. Inhibiting effect of D1, but not D2 antagonist administered to the striatum on retention of passive avoidance in the chick. *Neurobiol. Learn. Mem.*, n. 81, pp. 155-158, 2004.

Kimberg DY, D'Esposito M, Farah MJ. Effects of bromocriptine on human subjects on working memory capacity. *Neuroreport*. n. 8, pp. 3581-3585, 1997.

Kirk R. *Experimental Design: Procedures for the behavioral Sciences*. Belmont, CA: Books/Cole; 1995.

Knoll J. (-)Deprenyl (Selegiline), a catecholaminergic activity enhancer (CAE) substance acting in the brain. *Pharmacol Toxicol*. n. 82, pp. 57-66, 1998.

LaLumiere RT, Nguyen LT, McGaugh JL. Post-training intrabasolateral amygdala infusions of dopamine modulate consolidation of inhibitory avoidance memory: involvement of noradrenergic and cholinergic systems. *Eur. J. Neurosci*. n.20, pp. 2804-2810, 2004.

Laszy J, Laszlovszky I, Gyertyán I. Dopamine D3 receptor antagonists improve the learning performance in memory-impaired rats. *Psychopharmacology*. n.179, pp. 567-575, 2004.

Laviola G, Adriani W. Evaluation of unconditioned novelty seeking and d-amphetamine conditioned motivation in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* n.59, pp. 1011-1020, 1998.

Lee JM, Ross ER, Gower A, Paris JM, Martensson R, Lorens SA. Spatial learning deficit in the aged rat: neuroanatomical and neurochemical correlates. *Brain Res. Bull*, n. 33, pp. 489-500, 1994.

Lidow MS, Goldman-Rakic PS, Gallager DW, Rakic P. Distribution of dopaminergic receptors in the primates cerebral cortex: quantitative autoradiographic analysis

using [<sup>3</sup>H]raclopride, [<sup>3</sup>H]spiperone and [<sup>3</sup>H]SCH 23390. *Neuroscience*. n.40, pp. 657-671, 1991.

Luo Y, Roth GS. The roles of dopamine oxidative stress and dopamine receptor signaling in aging and age-related neurodegeneration. *Antioxid Redox Signal*, n. 2, vol. 3, pp. 449-460, 2000.

Ma SY, Ciliax BJ, Stebbins G, Jaffar S, Joyce JN, Cochran EJ, et al. Dopamine transporter-immunoreactive neurons decrease with age in the human substantia nigra. *J. Comp. Neurol.*, n. 409, pp. 25-37, 1999.

Marié RM, Defer GL. Working memory and dopamine: Clinical and experimental clues. *Curr. Opin. Neurol.* n.16, Supl.2, pp. S29-S35, 2003

Mc'Entee WJ, Crook TH. Age-associated memory impairment. *Neurology*, n. 40, pp. 526-530, 1990.

Misslin R, Ropartz P. Effects of metamphetamine on novelty-seeking behavior in mice. *Psychopharmacology*. n.75, pp. 39-43, 1981a.

Misslin R, Ropartz P. Response in mice to a novel object. *Behavior*. N.78, pp. 169-177, 1981b.

Morris ED, Cheffer SI, Lane MA, Muzic JRRF, Wong DF, Dannals RF, et al. Loss of D2 receptor binding with age in rhesus monkeys: importance of correction for differences in striatal size. *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, n. 19, pp. 218-229, 1999.

Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP, O'Keefe JO. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*. n.297, pp. 681-683, 1982.

Mosley PD, Acton PD, Barracloagh ED, Plossl K, Gur RC, Alavi A, et al. Effects of age on dopamine transporters in healthy humans. *J. Nucl. Med.*, n. 40, pp. 1812-1817, 1999.

Murphy BL, Arnsten AFT, Goldman-Rakic PS, Roth HR. Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* n.93, pp. 1325-1329, 1996.

Packard MG, White NM. Memory facilitation produced by dopamine agonists: role of receptor subtypes and mnemonic requirements. *Biochem. Behav.*, n. 33, pp. 511-518, 1989.

Ploeger GE, Spuijt BM, Cools AR. Spatial localization in the Morris water maze in rats: acquisition is affected by intra-accumbens injections of dopamine antagonist haloperidol. *Behav. Neurosci.* n.108, pp. 927-934, 1994.

Previc FH. Dopamine and the origins of human intelligence. *Brain Cogn.*, n. 41, pp. 299-350, 1999.

Raimundo MM. Os deveres dos pesquisadores com os animais de experimentação: uma proposta de auto-regulamentação [Dissertação]. Porto Alegre (RS): UFRGS; 2000. Disponível em <http://www.bioetica.ufrgs.br/animdir.htm> Capturado em 17 de janeiro de 2006.

Rebec GV, Christensen JRC, Guerra C, Bardo MT. Regional and temporal differences in real-time dopamine efflux in the nucleus accumbens during free-choice novelty. *Brain Res.*, n. 776, pp. 61-67, 1997.

Reed JM, Squire LR. Impaired recognition memory in patients with lesions limited to the hippocampal formation. *Behavioral Neurosciences*; 1997; 111: 667-675.

Rinne JO, Sako E, Paljarvi L, Molsa PK, Rinne UK. Brain dopamine D2 receptors in senile dementia. *J. Neural. Transm.*, n. 65, pp. 51-62, 1989.

Saigusa T, Tuinstra T, Koshikawa N, Cools AR. High and low responders to novelty: effects of a catecholamine synthesis inhibitor on novelty-induced changes in behavior and release of accumbal dopamine. *Neuroscience*, n. 88, pp. 1153-1163, 1999.

Salvatore MF, Apparsundaram S, Gerhardt GA. Decreased plasma membrane expression of striatal dopamine transporter in aging. *Neurobiol. Ageing*, n. 24, pp. 1147-1154, 2003.

Sargolini F, Roullet P, Oliverio A, Mele A. Effects of lesions to the glutamatergic afferents to the nucleus accumbens in the modulation of reactivity to spatial and non-spatial novelty in mice. *Neuroscience*. n.93, pp. 855-867, 1999.

Sawaguchi T. The effects of dopamine and its antagonists on directional delay-period activity of prefrontal neurons in monkeys during an oculomotor delayed-response task. *Neurosci. Res.* n.41, pp. 115-128, 2001.

Sawaguchi T, Goldman-Rakic PS. D<sub>1</sub> dopamine receptors in prefrontal cortex: involvement in working memory. *Science*. n.251, pp. 947-950, 1991.

Schröder N, O' Dell SJ, Marshall JF. Neurotoxic methamphetamine regimen severely impairs recognition memory in rats. *Synapse*; 2003; 48.

Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG. D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. *J. Neurosci.* n.18, pp. 1613-1621, 1998.

Setlow B. The nucleus accumbens and learning and memory. *J. Neurosci. Res.* n.49, pp. 515-521, 1997.

Setlow B, McGaugh JL. Sulpiride infused into the nucleus accumbens post training impairs memory of spatial water maze training. *Behav. Neurosci.* n.112, pp. 603-610, 1998.

Severson JA, Finch CE. Reduced dopaminergic binding during aging in rodent striatum. *Brain Res.*, n. 199, pp. 147-162, 1980.

Simon H, Taghzouti K, Le Moal M. Deficits in spatial-memory tasks following lesions of septal dopaminergic terminals in the rat. *Behav. Brain Res.*, n. 19, pp. 7-16, 1986.

Sokoloff P, Schwartz JC. Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends Pharmacol. Sci.* n.16, pp. 270-275, 1995.

Squire LR. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys and humans. *Psychol. Rev.* n.99, pp. 195-231, 1992.

Sutherland RJ, Kolb B, Wishaw IQ. Spatial mapping: definitive disruption by the hippocampal or medial frontal cortical damage in the rat. *Neurosci. Lett.* n.31, pp. 271-276, 1982.

Taghzouti K, Louilot A, Herman JP, LeMoal M, Simon H. Alternation behavior, spatial discrimination, and reversal disturbances following 6-hydroxydopamine lesions in the nucleus accumbens of the rat. *Behav. Neural. Biol.* n.44, pp. 354-363, 1985.

Tang YP, Shimizu E, Dube GR, Rampon C, Kerchner GA, Zhuo M, et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*; 1999; 401: 63-69.

Usiello A, Sargolini F, Roullet P, Ammassari-Teule M, Passino E, Oliverio A, Mele A. N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens are involved in detection of spatial novelty in mice. *Psychopharmacology.* n.137, pp. 175-183, 1998.

Vadasz C, Laszlovszky I, De Simone PA, Fleischer, A. Genetic aspects of dopamine receptor binding in the mouse and rat brain: an overview. *J. Neurochem.*, n. 59, pp. 793-808, 1992.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Ding YS, Gur RC, Gatley J, et al. Parallel loss of presynaptic and postsynaptic dopamine markers in normal aging. *Ann. Neurol.*, n. 44, pp. 143-147, 1998.

Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, Macgregor RR, et al. Measuring age-related changes in dopamine D2 receptors with <sup>11</sup>C-raclopride and <sup>18</sup>F methylspiroperidol. *Psychiatr. Res. Neur.*, n. 67, pp. 11-16, 1996.

Williams GV, Rolls ET, Leonard CM, Stern C. Neuronal responses in the ventral striatum of the behaving macaque. *Beh. Brain Res.*, n. 55, pp. 243-252, 1993.

Wishaw IQ, Dunnett SB. Dopamine depletion, simulation or blockade in the rat disrupts spatial navigation and locomotion dependent upon beacon or distal cues. *Behav. Brain Res.* n.18, pp. 11-29, 1985.

Wishaw IQ, Kolb B. Decortication abolishes place but not cue learning in rats. *Behav. Brain Res.* n.11, pp. 123-134, 1984.

Wilkerson A, Levin ED. Ventral hippocampal dopamine D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> systems and spatial working memory in rats. *Neuroscience.* n.89, pp. 743-749, 1999.

Winocur G, Moscovitch M. Hippocampal and prefrontal cortex contributions to learning and memory: Analysis of lesion and aging effects on maze learning in rats. *Behav. Neurosci.* n.104, pp. 544-551, 1990.

Yamamuro Y, Hori K, Iwano H, Nomura M. The relationship between learning performance and dopamine in the prefrontal cortex of the rat. *Neurosci. Lett.*, n. 177, pp. 83-86, 1994.

Yassuda MS. Memória e Envelhecimento Saudável. In: Tratado de Geriatria e Gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. p.914-920.

Yu BP, Yang R. Critical evaluation of the Free Radical Theory of Aging. Ann N Y Sci; 1996; 46(6): 1-11.

Zahrt J, Taylor JR, Mathew RF, Arnsten AF. Supranormal stimulation of dopamine D1 receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. J. Neurosci. n.17, pp. 8528-8535, 1997.