
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE

**EFEITO DE DISTINTOS ANTIDEPRESSIVOS SOBRE A
MEMÓRIA ESPACIAL DE RATOS EM UMA TAREFA NO
LABIRINTO RADIAL DE OITO BRAÇOS**

Dissertação de Mestrado

Leticia Rodrigues

Porto Alegre, 2003.

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

**EFEITO DE DISTINTOS ANTIDEPRESSIVOS SOBRE A
MEMÓRIA ESPACIAL DE RATOS EM UMA TAREFA NO
LABIRINTO RADIAL DE OITO BRAÇOS**

Leticia Rodrigues

Orientador:

prof. Dr. IVÁN ANTONIO IZQUIERDO

Co-Orientadora:

profª Drª LIA REJANE MÜLLER BEVILAQUA

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Neurociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito básico para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Porto Alegre, 2003.

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

ao mestre Iván Izquierdo - meu ídolo, pelo privilégio infinito do seu convívio, sabedoria e generosidade;

à Lia - que chegou aqui para me "dar uma luz" - e logo vai realmente dar a luz a uma bela garotinha...

ao Pedro - a rocha sobre a qual eu me apoio...nome da minha vida...

ao Martín - exemplo, ao qual só vou realmente agradecer quando for uma pessoa - e uma pesquisadora - ainda melhor...

a minha família - a estes eu dedico toda a minha existência...

aos colegas do Centro de Memória - Tati (minha parceira), Ju (minha companheira), Damn (querido), Lídia (tigra), Pati Pereira, Luti, Mônica, Grace, Adri, Janine, Elsa (cada um, um pouco orientador), Cibi (e sua paz), Eleonora (e ao nosso David Bowie), Duda, bolsistas Cris, Bruno, Humberto, Tiago, Vivi, Bia, Mário, Eduardo e Ramón, todos trabalhando muito pelo desenvolvimento do nosso laboratório;

à Ms. Renata Guedes - a pioneira que desbravou ao meu lado os novos caminhos pós-Santa Maria, dividiu comigo vários momentos bons e difíceis, me suportou (pois eu sou difícil), a qual não sei como agradecer...

à Etiene Fabbrin - Tina, alguém de verdade!

aos meus colegas das Neurociências

à profª Matilde Achaval Elena - realmente uma mãe...

ao PPG em Neurociências - pela oportunidade dada a esta fisioterapeuta de se dedicar à ciência básica;

a todos - todos os professores, secretarias (Neurociências e Bioquímica), funcionários do ratário, instituições de fomento à pesquisa (especialmente a CAPES), trabalhadores "braçais" e "intelectuais" do Brasil, enfim , os responsáveis pela existência e manutenção das universidades públicas.

"Eu diria que a morte não vem com a velhice e sim com o esquecimento"

Jorge Luis Borges

SUMÁRIO

Resumo _____	ix
Abstract _____	x
Índice de Figuras _____	xi
1. Introdução _____	14
1.1 Estruturas Cerebrais Envolvidas nas Memórias.....	16
1.1.1 Hipocampo.....	18
1.1.2 Complexo Estriatal.....	21
1.1.3 Córtex Pré-frontal	21
1.2 Processamento da Memória e o Aprendizado no Labirinto Radial de Oito Braços.....	24
1.3 Antidepressivos	26
1.3.1 Bupropiona.....	26
1.3.2 Sertralina.....	28
2. Objetivos _____	29
3. Material e Métodos _____	30
3.1 Animais	30
3.2 Administração das Drogas.....	31
3.3 Aparato.....	32
3.4 Protocolo.....	33

3.5 Análise Estatística.....	37
4. Resultados	38
4.1 Curva de Aprendizado Piloto.....	38
4.2 Efeito da Bupropiona na dose de 60 mg/kg.....	39
4.2.1 Total de Erros.....	39
4.2.2 Erros de Memória de Trabalho.....	40
4.2.3 Erros de Referência.....	41
4.2.4 Curva de Aprendizado.....	42
4.2.5 Latências.....	43
4.3 Efeito da Bupropiona na dose de 20 mg/kg.....	44
4.3.1 Total de Erros.....	44
4.3.2 Erros de Memória de Trabalho.....	45
4.3.3 Erros de Referência.....	46
4.3.4 Curva de Aprendizado.....	47
4.3.5 Latências.....	48
4.4 Efeito da Sertralina na dose de 10 mg/kg.....	49
4.4.1 Total de Erros.....	49
4.4.2 Erros de Memória de Trabalho.....	50
4.4.3 Erros de Referência.....	51
4.4.4 Curva de Aprendizado.....	52
4.4.5 Latências.....	53
4.5 Efeito da Sertralina na dose de 3,3 mg/kg.....	54
4.5.1 Total de Erros.....	54

4.5.2 Erros de Memória de Trabalho.....	55
4.5.3 Erros de Referência.....	56
4.5.4 Curva de Aprendizado.....	57
4.5.5.Latências.....	58
5. Discussão _____	59
5.1. Bupropiona	59
5.2. Sertralina	61
5.3. Considerações Gerais.....	64
6. Conclusão _____	65
Bibliografia _____	66

RESUMO

A transmissão dopaminérgica no córtex pré-frontal, com suas aferências modulatórias noradrenérgicas e serotoninérgicas, é essencial para a formação da memória de trabalho. Uma tarefa muito utilizada para avaliar tal tipo de memória é o labirinto radial de oito braços. Com base nesta afirmação, estudamos a influência de 2 antidepressivos: bupropiona, um inibidor seletivo da recaptção de dopamina e, em menor grau, norepinefrina; e sertralina, inibidor específico da recaptção de serotonina, sobre o aprendizado de uma tarefa *multi-trial* de orientação visoespacial.

Ratos Wistar fêmeas foram manipulados, habituados, mantidos sob restrição alimentar (85% do peso inicial) e então submetidos a quinze dias de treinamento na versão adaptada *win-shift* no labirinto, até atingirem um critério de desempenho (1 ou 0 erro em dois dias consecutivos). Seis horas antes de cada sessão de treino, foi administrado bupropiona (20 ou 60 mg/kg, p.o), sertralina (3,3 ou 10 mg/kg, p.o) ou solução salina.

A bupropiona, em ambas as doses, melhorou o desempenho dos animais tratados, já que estes atingiram o critério antes dos animais controle, tratados com salina. A sertralina, por sua vez, prejudicou o aprendizado na maior dose e não teve efeito na menor.

Desta forma, podemos inferir que a bupropiona, provavelmente por meio do aumento da disponibilidade de dopamina na fenda sináptica, facilita a aquisição da tarefa *win-shift* no labirinto radial de oito braços. Já a sertralina, com resultante aumento da serotonina sináptica, prejudica ou é indiferente ao aprendizado na tarefa.

ABSTRACT

Dopaminergic transmission in the prefrontal cortex as well as its noradrenergic and serotonergic afferent modulation is critical for working memory formation. A widely used task to investigate this memory type is the eight arm radial maze. Thus, we tested the influence of 2 antidepressants: bupropion, a selective dopamine (DA) and norepinephrine re-uptake inhibitor and sertraline, a selective serotonin (5-HT) re-uptake inhibitor on a multi-trial learning task of visoespatial orientation.

Female Wistar rats were handled, habituated to the apparatus and kept under food restriction until a 15% weight reduction was attained. For the following 15 days, the animals were trained in a win-shift adapted task in the eight arm radial maze until they reached the criterion performance (1 or 0 error for 2 consecutive days). Six hours before training bupropion (20 or 60 mg/kg, p.o), sertraline (3.3 or 10 mg/kg, p.o) or saline were administered.

The animals treated with bupropion (20 or 60 mg/kg) reached criterion before control rats, indicating that this drug improves spatial learning. Conversely, when used at 10 mg/kg, sertraline actually impaired radial maze learning. At 3,3mg/kg, this drug had no effect on the maze performance.

We can infer from these data that bupropion, 20 or 60 mg/kg, enhances memory for the win-shift task maybe through synaptic dopamine increase, whereas higher synaptic concentrations of serotonin due to sertraline administration hinders or have no influence on memory acquisition.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Corte coronal do cérebro, mostrando os núcleos da base.....	17
Figura 2	Conexões hipocampais.....	19
Figura 3	Aferências dopaminérgicas para o córtex pré-frontal e outras estruturas.....	22
Figura 4	Aferências serotoninérgicas e noradrenérgicas.....	23
Figura 5	Células de lugar I.....	25
Figura 6	Células de lugar II.....	25
Figura 7	Labirinto radial de oito braços.....	32
Figura 8	Dicas espaciais.....	33
Figura 9	Protocolo <i>win-shift</i>	34
Figura 10	Orifício onde se encontra o <i>pellet</i> de ração.....	36
Figura 11	Curva de aprendizado piloto.....	38
Figura 12	Total de erros com bupropiona 60 mg/kg.....	39
Figura 13	Erros de memória de trabalho com bupropiona 60 mg/kg.....	40
Figura 14	Erros de referência com bupropiona 60 mg/kg.....	41
Figura 15	Curva de aprendizado com bupropiona 60 mg/kg.....	42
Figura 16	Latência com bupropiona 60 mg/kg.....	43
Figura 17	Total de erros com bupropiona 20 mg/kg.....	44
Figura 18	Erros de memória de trabalho com bupropiona 20 mg/kg.....	45
Figura 19	Erros de referência com bupropiona 20 mg/kg.....	46

Figura 20	Curva de aprendizado com bupropiona 20 mg/kg.....	47
Figura 21	Latência com bupropiona 20 mg/kg.....	48
Figura 22	Total de erros com sertralina 10 mg/kg.....	49
Figura 23	Erros de memória de trabalho com sertralina 10 mg/kg.....	50
Figura 24	Erros de referência com sertralina 10 mg/kg.....	51
Figura 25	Curva de aprendizado com sertralina 10 mg/kg.....	52
Figura 26	Latência com sertralina 10 mg/kg.....	53
Figura 27	Total de erros com sertralina 3.3 mg/kg.....	54
Figura 28	Erros de memória de trabalho com sertralina 3.3 mg/kg.....	55
Figura 29	Erros de referência com sertralina 3.3 mg/kg.....	56
Figura 30	Curva de aprendizado com sertralina 3.3 mg/kg.....	57
Figura 31	Latência com sertralina 3.3 mg/kg.....	58
Figura 32	Conexões envolvidas no aprendizado da tarefa <i>win-shift</i> no labirinto radial de oito braços.....	60

ABREVIATURAS

5-HT: 5-hidroxitriptamina, serotonina

ATV: área tegmental ventral

CPF: córtex pré-frontal

DA: dopamina

EC: estímulo condicionado

EI: estímulo incondicionado

E-E: associação estímulo-estímulo

E-R: associação estímulo-resposta

GABA: ácido gama-amino butírico

h: hora

i.p.: intraperitoneal

min: minuto

MT: memória de trabalho

MR: memória de referência

NMDA: n-metil-d-aspartato

p.o.: *per oralis*, via oral

s: segundos

SEM: erro padrão da média

1. INTRODUÇÃO

A memória, como faculdade do cérebro, pode ser brevemente definida como a conservação e a evocação das informações adquiridas pela experiência (IZQUIERDO, 1992, 2002). De um modo geral, é a capacidade de adquirir (o mesmo que aprender), consolidar, armazenar e evocar (o mesmo que lembrar) tais informações (MCGAUGH, 2000). Do ponto de vista filosófico, é o que nos faz ser quem somos, nos faz únicos, nos dá identidade. Tivemos um passado, projetamos assim um futuro e, para isso, vivemos o presente (IZQUIERDO, 1992).

Existem tantos tipos possíveis de memória quanto existem possibilidades de experiências. Todas resultam da nossa percepção, a qual se processa em termos celulares por meio da transmissão e modificação sináptica (em menor ou maior grau), para que possam ocorrer todos os processos mnemônicos, assim como as demais funções cerebrais.

Por meio da experiência, sabemos que as memórias podem ser de curta e longa duração. Não lembramos hoje tudo o que fizemos em um dia comum como ontem; mas somos capazes de lembrar, durante toda a vida, com todos os detalhes, de um dia muito especial, tenha sido ele bom ou ruim. O que dá o caráter de importância ao que experimentamos, nossa vivência ou as circunstâncias (medo, sono, depressão), funciona como um filtro aos estímulos que captamos e também proporciona, do ponto de vista neuro-humoral, a liberação de um sem-número de substâncias (hormônios, neurotransmissores, etc.) que irão modular (atenuar ou fortalecer) nosso aprendizado. As memórias de curta e longa duração são dependentes de eventos moleculares distintos, como demonstrado por IZQUIERDO *et al.* (1998a, 1999)

Além da duração, podemos classificar as memórias segundo várias de suas características (a função, o conteúdo, o modo como aprendemos, onde ela é processada, etc.), características estas que se misturam e se combinam em todos estes chamados "tipos" de memória. Seria exaustivo, ou até mesmo puramente filológico, abordar de forma aprofundada tal questão. É relevante para compreensão deste trabalho que enfatizemos os tipos de memória que compreendem o aprendizado da tarefa de orientação espacial que utilizamos, bem como as estruturas cerebrais envolvidas neste processo e os respectivos sistemas neuroquímicos modulatórios.

Após esta revisão, serão explicitados os itens que implicam na realização e avaliação dos experimentos no labirinto radial de oito braços sob a influência dos antidepressivos escolhidos: a bupropiona e a sertralina. É importante salientar que, com relação à memória espacial, existem poucos dados sobre experimentos testando a influência da ação de medicamentos antidepressivos na literatura. Neste sentido, este estudo ocupa uma posição de extrema importância por serem tais antidepressivos seletivos e influentes sobre os sistemas modulatórios envolvidos nos tipos de memória estudados. Além disso, são correntemente utilizados na clínica médica por ser a depressão um mal de incidência bastante pronunciada no nosso meio (BAUER *et al.*, 2002).

1.1 Estruturas Cerebrais Envolvidas nas Memórias

As memórias são organizadas em sistemas cerebrais múltiplos que diferem conforme o tipo de memória que medeiam (PACKARD *et al.*, 1994; PACKARD e TEATHER, 1997).

O sistema do lobo temporal medial, e dentro deste o hipocampo, medeia as memórias adquiridas rapidamente. Tais memórias são conhecidas como **memórias declarativas** (SQUIRE, 1992), também chamadas explícitas, pois podem ser expressas por meio de comportamentos ou palavras.

O sistema de memória cortico-estriatal (incluindo o núcleo caudato dorsolateral e o sistema nigro-estriatal) necessita de várias sessões (experiências repetidas) para o aprendizado (SAGE e KNOWTON, 2000). São memórias de caráter não-cognitivo ou procedural, chamadas **memórias de procedimentos**, também conhecidas como aprendizado de hábitos (MISHKIN *et al.*, 1984) ou memórias implícitas. Não podem ser definidas em palavras por quem as vive, pois resultam em uma atividade motora semi-automática (como digitar ou andar de bicicleta). Seus circuitos responsáveis envolvem, além do núcleo caudato, o cerebelo (IZQUIERDO, 2002).

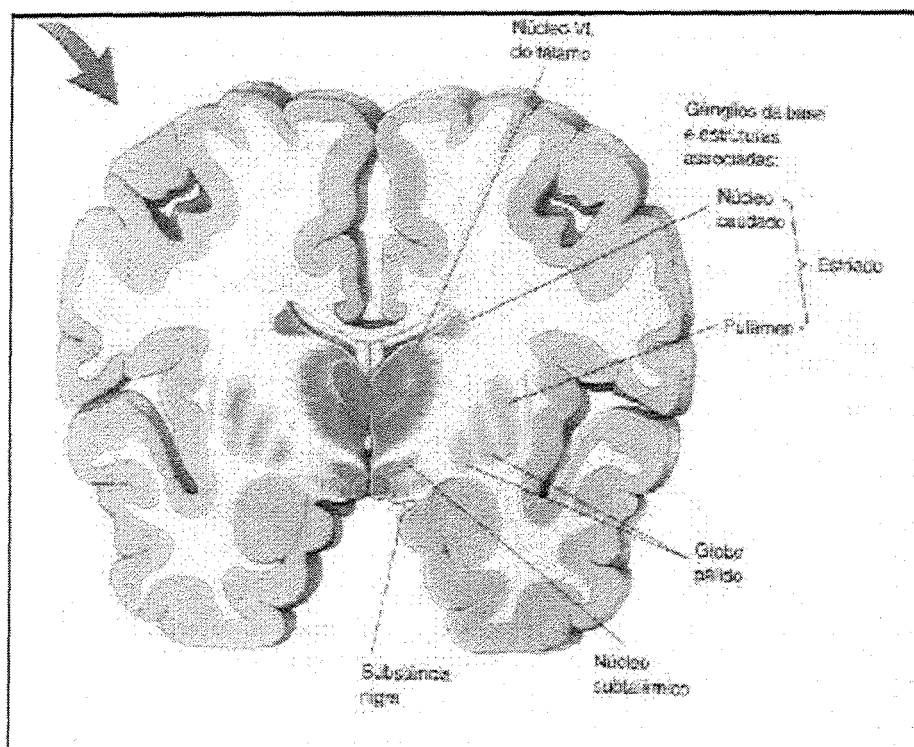


FIGURA 1: Corte coronal do cérebro mostrando os núcleos da base, entre estes, o estriado (núcleos caudado e putâmen). Extraído e adaptado de BEAR *et al.*, 2002).

Foi proposto que o sistema caudato dorsolateral (FIGURA 1) seja responsável pelo aprendizado de associações estímulo-resposta (E-R), enquanto que o sistema de memórias do lobo temporal medial medeia a aquisição de associações estímulo-estímulo (E-E) (MCDONALD e WHITE, 1993; MISHKIN *et al.*, 1984; O'KEEFE e NADEL, 1978; PACKARD *et al.*, 1989; WHITE, 1997).

Do ponto de vista neuroanatômico, existem conexões importantes entre o córtex e o sistema neoestriado. Um simples estímulo condicionado (EC)¹ processado pelo

¹O russo Pavlov, no início do século XX, consolidou por meio de seus estudos comportamentais o que hoje conhecemos por "condicionamento clássico". Este consiste na alteração de uma resposta a um estímulo inicialmente indiferente (como um som ou um odor) por meio do pareamento sucessivo com um fator (EI) significativo (um choque, o alimento), resultando em uma resposta condicionada (salivação, medo). Uma vez associados ambos estímulos, aquele que era inicialmente indiferente passa a ser denominado estímulo condicionado, já que a execução de nova resposta (resposta condicionada) passa a ser desencadeada por ele.

córtex pode evocar uma resposta motora automática mediada pelo *striatum* após o pareamento de vários EC com um estímulo incondicionado (EI) (WHITE, 1997). Por outro lado, as muitas aferências e eferências corticais de sistema caudato dorsolateral permitem a formação de representações mnemônicas mais complexas (SAGE e KNOWTON, 2000).

A **memória de trabalho (MT)**, também chamada memória imediata (GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 1990) ou operacional, é um conjunto de processos cognitivos distintos e interrelacionados que armazena, por um breve período, informações de aprendizado por única tentativa (*trial-unique*) e processos chamados funções executivas, pelas quais a informação é manipulada para facilitar a transformação da memória em ação (BADDELEY e DELLA SALA, 1996; FLORESCO e PHILLIPS, 2001; FUSTER, 1997). Em outras palavras, a MT faz a ligação dos elementos sucessivos de cada experiência. Sem ela, não se pode dar conexão aos fatos e assim formar memórias mais duradouras. Usamos a MT, por exemplo, quando estamos lendo e guardamos na memória a primeira palavra de uma frase para dar sentido a quinta e pouco tempo depois já não a sabemos com precisão, guardando somente o sentido geral do texto. Desta maneira, a MT não deixa traços ou modificações sinápticas duradouras (IZQUIERDO, 2002).

1.1.1 Hipocampo

Déficits de memória em um paciente com lesão no sistema límbico foram registrados já em 1898 (LATHE, 2001). Em 1957, o histórico paciente H.M., submetido

a uma hipocampectomia bilateral devido à epilepsia severa, perdeu totalmente a capacidade de recordar eventos recentes, mantendo intactas apenas a memória de trabalho imediata e as memórias de eventos distantes, bem como as de habilidades (SCOVILLE e MILNER, 1957). Achados semelhantes foram registrados na mesma época em outros pacientes (STEPIEN e SIERPINSKI, 1964). A perda de memória associada à doença de Alzheimer também reflete uma disfunção precoce da formação hipocampal (CARLESIMO e OSCAR-BERMAN, 1992). Estes e outros dados demonstraram, antes mesmo dos correlatos moleculares, que o hipocampo de primatas desempenha um papel central nos processos de memória declarativa ou episódica necessários para o aprendizado e lembrança de eventos (SQUIRE, 1992; EICHENBAUM, 1992).

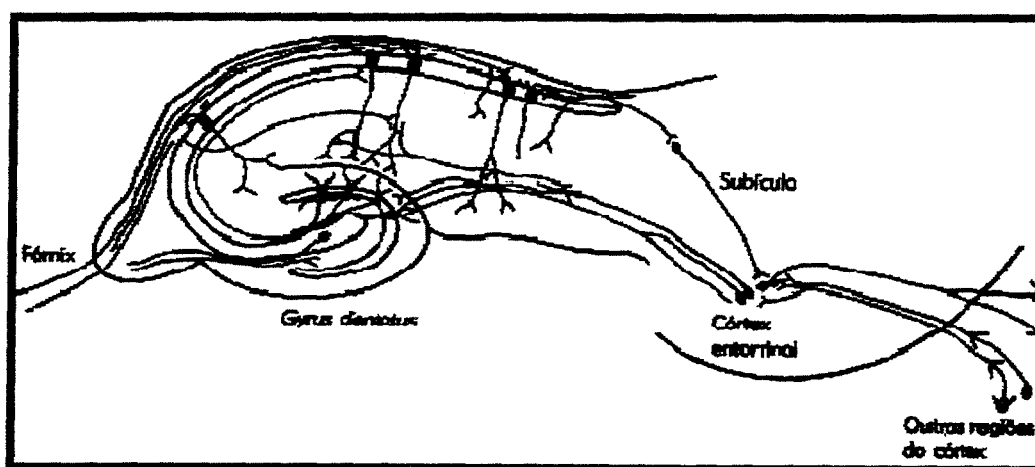


FIGURA 2: Conexões Hipocâmpais. Adaptado de IZQUIERDO (2002)

O hipocampo é uma estrutura de extrema importância para o aprendizado de novas informações, particularmente em tarefas que demandam percepção ou reconhecimento espacial, tais como o aprendizado no labirinto radial de oito braços, ou

aprendizado contextual (O'KEEFE e NADEL, 1978; MORRIS *et al.*, 1990; EICHENBAUM, 1992; IZQUIERDO e McGAUGH, 2000). Muitas evidências sugerem que o hipocampo seja necessário para a aquisição da memória espacial aloccêntrica (MOSEY *et al.*, 1995), ou seja, aquela que utiliza sinais provenientes de alguma distância, por exemplo, nas paredes da sala em que se encontra o aparelho em que o animal é treinado (MORRIS *et al.*, 1990).

Quanto a algumas conexões e sistemas modulatórios, o hipocampo recebe projeções dopaminérgicas da área tegmental ventral (ATV), da substância nigra (SN) e do campo retrobulbar (GASBARRI *et al.*, 1994), as quais estão envolvidas no aprendizado por discriminação visual, que é nitidamente contextual (GRECKSCH e MATTHIES, 1981). Existem duas vias para o sistema serotoninérgico no hipocampo ventral, ambas recebendo projeções dos núcleos dorsal e medial da rafe (AZMITIA e SEGAL, 1978).

A tarefa específica no labirinto radial aplicada neste estudo usou o protocolo *win-shift*, ou seja, cada vez que o animal acerta um determinado lugar do aparelho se vê obrigado, na seguinte exposição ao mesmo, a se dirigir a outro lugar do aparelho: toda vez que “ganha” (*win*), deve mudar (*shift*). Estudos mostram que lesões no sistema hipocampal prejudicam seletivamente a aquisição de tal tarefa (PACKARD *et al.*, 1989; MCDONALD e WHITE, 1993), demonstrando que este aprendizado é dependente dessa estrutura.

O processo de memória é apenas uma de uma longa lista de diversas funções atribuídas ao hipocampo. Este contribui igualmente para a atenção e estados emocionais, incluindo o estresse. Desordens associadas ao hipocampo incluem não apenas déficits de memória, mas também ansiedade, depressão, epilepsia e

esquizofrenia. Além disso, o hipocampo contribui para o comportamento adaptativo e reprodutivo, dentre estes o cuidado maternal (LATHE, 2001).

1.1.2 Complexo Estriatal

O *striatum* compreende os núcleos caudado e putâmen (FIGURA 1) e é uma estrutura que desempenha um papel crítico para a memória de respostas egocêntricas, um tipo de memória dependente de *feedback* vestibular e proprioceptivo (ADAMS *et al.*, 2001), tal como o aprendizado no labirinto em "Y". Lesões no *striatum* dorsal prejudicam a aquisição do aprendizado em uma tarefa de discriminação visual (*win-stay*) no labirinto radial de oito braços (PACKARD *et al.*, 1989; MCDONALD e WHITE, 1993). Outros estudos demonstram que lesões estriatais em ratos prejudicam a memória de curta duração em uma tarefa motora particular ao labirinto: lembrar-se da direção (direita ou esquerda) para a qual virou-se recentemente e reter o padrão de resposta aprendido (como virar sempre para o braço proximal) (COLOMBO *et al.*, 1989; KESNER *et al.*, 1993).

1.1.3 Córtex Pré-frontal

O córtex pré-frontal (CPF) participa de forma marcante no processamento da memória de trabalho (GOLDMAN-RAKIC, 1996), especialmente a região anterolateral (IZQUIERDO *et al.*, 1998b). Tal estrutura recebe aferências dopaminérgicas da ATV

(GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 1992) cujas células sofrem modulação de diversos sistemas de neurotransmissores, tais como o sistema glutamatérgico NMDA e noradrenérgico (MURPHY *et al.*, 1996) (FIGURA 3). A norepinefrina mesolímbica também exerce influência sobre a informação que é enviada pelo subículo ventral do hipocampo e da amígdala basolateral para o núcleo acumbens (COOLS *et al.*, 1991) (FIGURA 4).

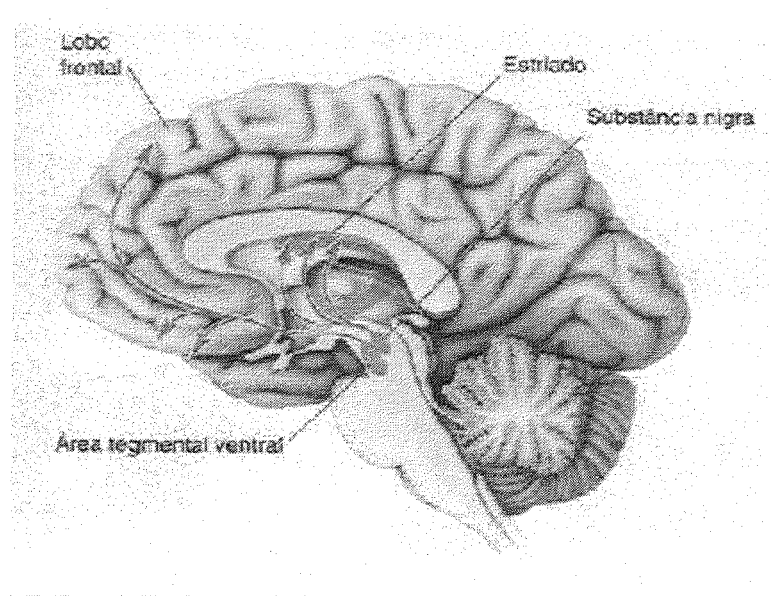


FIGURA 3: Aferências dopaminérgicas para o córtex pré-frontal e outras estruturas. Adaptado de BEAR *et al.*, 2002.

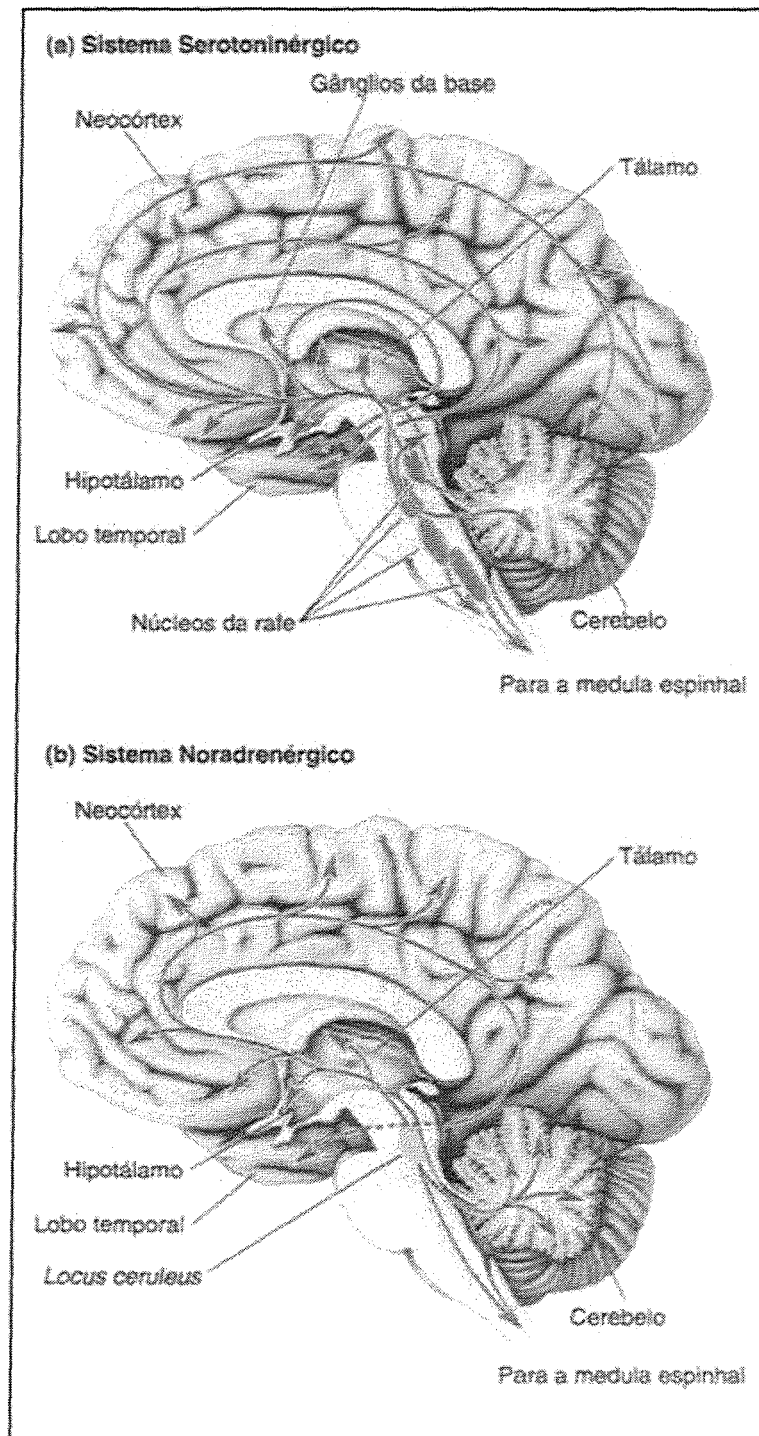


FIGURA 4: Aferências serotoninérgicas e noradrenérgicas. Extraído de BEAR *et al.*, 2002.

A transmissão dopaminérgica mesocortical tem papel fundamental nos processos cognitivos mediados pelo CPF, como demonstrado em experimentos em primatas (BROZOSKI *et al.*, 1979) e em ratos (BUBSER e SCHMIDT, 1990) cujos terminais dopaminérgicos do CPF foram destruídos. Tal procedimento resultou em um déficit na performance dos animais em tarefas com pequenos intervalos (10 a 60s). Uma série de estudos demonstra a participação importante do CPF e da transmissão dopaminérgica na formação da memória de trabalho (AGGLETON *et al.*, 1995; DESIMONE, 1995). Conforme GOLDMAN-RAKIC (1990), a relação entre memória e a concentração de dopamina no córtex pré-frontal segue um padrão de curva em “U” invertido, ou seja, a memória é prejudicada quando as concentrações aumentam ou diminuem em relação ao valor ótimo.

1.2 Processamento da Memória e o Labirinto Radial de Oito Braços

A idéia de que os ratos formariam um “mapa cognitivo” do meio que os cerca, baseado em dicas visuais estáveis distribuídas neste meio (dicas viso-espaciais aloentrícas) dominou o pensamento a respeito da navegação espacial por mais de meio século, a partir das observações de TOLMAN (1948). Achados eletrofisiológicos do grupo de O'KEEFE e NADEL (1978), O'KEEFE e CONWAY (1980) e O'KEEFE (1983) revelaram a existência de substratos neuronais para o aprendizado visuo-espacial, identificando as chamadas **células de lugar** (*place cells*) hipocámpais, as quais disparam seletivamente quando o rato, ou o indivíduo, se encontra em diferentes locais do ambiente de teste.

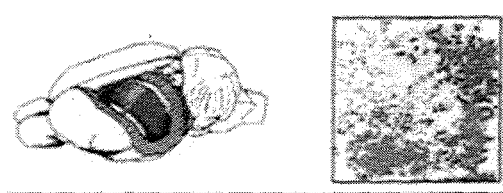


FIGURA 5. Células de Lugar. À esquerda hipocampo do rato (azul) e disparo de 4 células de lugar (cores) à direita. Adaptado de O'Keefe (1983).

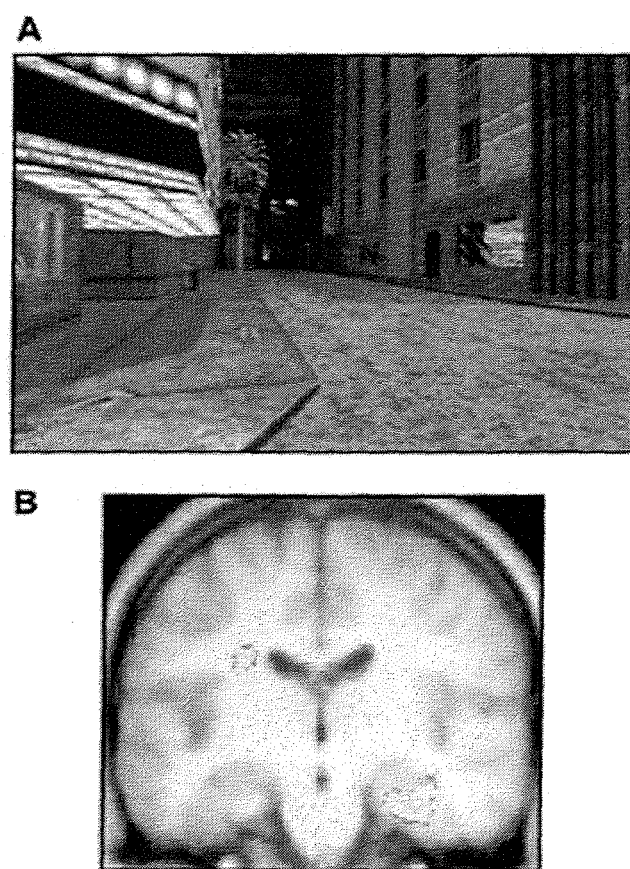


FIGURA 6: Células de Lugar II
A - cidade virtual onde são realizados testes de orientação espacial. B -tomografia por emissão de pósitrons, mostrando a ativação das áreas hipocampais e do núcleo caudato (cauda esquerda), registrada nos voluntários durante o teste. Retirado de MAGUIRE *et al.*, 1998.

O aprendizado no labirinto radial é uma tarefa interessante, pois não é aversiva e trabalha a capacidade do animal encontrar alimento e recordar-se o meio pelo qual o fez, o que é essencial para sua sobrevivência (FLORESCO *et al.*, 1997).

Estudos demonstram que a tarefa no labirinto radial, protocolo *win-shift*, é seguida por uma ativação de toda a formação hipocampal por um período de três horas (córtex entorrinal, giro denteado, regiões CA3, CA1 e subículo) no primeiro dia de treino e de uma hora nos dias 4 e 9, ativando as regiões de eferência (CA3, CA1 e subículo), o que indica que o hipocampo é importante nos primeiros estágios do aprendizado (BOMTEMPI *et al.*, 1996). Tal tarefa requer memória espacial condicional e configural (PACKARD e WHITE, 1991).

A região ventral do hipocampo (CA1/subículo) e a região pré-límbica do córtex pré-frontal são parte de um circuito neural por intermédio do qual a informação espacial é adquirida antes do intervalo (ver protocolo) e subseqüentemente utilizada para localizar a comida no labirinto (FLORESCO *et al.*, 1997). Registros eletrofisiológicos de neurônios do córtex pré-frontal de primatas (GOLDMAN-RAKIC, 1990 e 1995) e de ratos (BATUEV *et al.*, 1990) mostram o disparo sustentado de tais neurônios ao longo do curto período de intervalo da tarefa aplicada neste estudo.

1.3 Antidepressivos

1.3.1 Bupropiona:

A bupropiona é um eficiente antidepressivo, sintetizado a partir da modificação da estrutura da dietilpropiona (DONG e BLIER, 2001). Atualmente, tem sido muito

utilizado por pacientes em tratamento para abandonar o hábito de fumar (HURT *et al.*, 1997).

Seu mecanismo de ação consiste em inibir seletivamente a recaptação de dopamina e norepinefrina nos terminais dopaminérgicos e noradrenérgicos (FLINT, 1998; SONAWALLA e FAVA, 2001).

Embora o mecanismo de ação mais comumente atribuído à bupropiona seja a inibição da recaptação de dopamina, seus efeitos são diversos e complexos. Existem diferenças nos mecanismos de ação *in vivo* e *in vitro*, além de diferenças no metabolismo da bupropiona em diferentes espécies (HORST e PRESKORN, 1998). Como a maioria dos antidepressivos, a bupropiona tem uma meia-vida de eliminação mais curta em ratos que em humanos (PERUMAL *et al.*, 1986).

Um amplo espectro de estudos demonstrou que a bupropiona inibe principalmente a recaptação de dopamina e, em menor grau, a recaptação de norepinefrina (ASCHER *et al.*, 1995; FERRIS *et al.*, 1983; COOPER *et al.*, 1994; LI *et al.*, 2002). Um estudo com injeção aguda i.p. de bupropiona em três doses demonstrou que este agente não afeta a concentração de 5-HT extracelular nas áreas cerebrais testadas: hipotálamo, CPF e núcleo acumbens. No entanto, doses de 7,5, 15 e 30 mg/kg administradas de forma subcutânea, durante dois dias, apresentaram efeitos importantes sobre a atividade noradrenérgica, não alteraram a atividade dos neurônios dopaminérgicos da ATV e, pela primeira vez, foram relatados efeitos sobre a atividade serotoninérgica (DONG e BLIER, 2001).

1.3.2 Sertralina:

A sertralina é um inibidor específico da recaptção de serotonina (5-HT) (FLINT, 1998; SONAWALLA e FAVA, 2001).

Estudos demonstram, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*), que os níveis de dopamina estriatal aumentam após o tratamento com sertralina 5mg/Kg i.p durante oito dias, em ratos, quando comparados ao grupo controle salina (DESLANDES *et al.*, 2002).

Sabe-se que a serotonina modula a atividade dos neurônios dopaminérgicos, bem como a liberação de dopamina (DESLANDES *et al.*, 2002). Foi demonstrado que a infusão local de 5-HT aumenta a concentração de dopamina extracelular no núcleo acumbens (PARSONS e JUSTICE, 1993). Por outro lado, este controle ainda não é claro, pois diferentes subtipos de receptores 5-HT influenciam de formam distinta a liberação de dopamina e também norepinefrina em diferentes regiões encefálicas (IYER e BRADBERRY, 1996; MATSUMOTO *et al.*, 1999).

2. Objetivos

Com base em estudos recentes que demonstraram que a bupropiona (20 ou 60 mg/kg, p.o.) e a sertralina (3.3 ou 10 mg/kg, p.o.) facilitam a evocação da memória na esquiva inibitória em ratos (BARROS *et al.*, 2002) e todos os relatos demonstrando a importância dos sistemas de neurotransmissores afetados pelas drogas em questão sobre os mecanismos de aprendizado na tarefa estudada, este trabalho se propõe a:

a) investigar o efeito da bupropiona sobre o aprendizado da tarefa *win-shift* no labirinto radial de oito braços;

b) investigar o efeito da sertralina sobre o aprendizado da tarefa *win-shift* no labirinto radial de oito braços.

3. Material e Métodos

3.1 Animais:

Foram utilizados ratos Wistar fêmeas, de 2,5 a 3,5 meses de idade, com peso médio de 200g, provenientes do biotério do Departamento de Bioquímica. Estes foram mantidos em caixas moradia em grupos de 5 animais por caixa, alimentados com ração e água *ad libitum* até o início do regime alimentar, em que receberam 1/5 da ração habitual. O regime alimentar foi mantido durante os 15 dias de experimento. Os ratos foram mantidos em ambiente climatizado, com temperatura de 23°C e ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram divididos em 9 grupos:

- grupo de animais piloto;
- animais que receberam bupropiona, 60 mg/kg;
- animais controle para o grupo bupropiona, 60 mg/kg, que receberam salina;
- animais que receberam bupropionaa, 20 mg/kg;
- animais controle para o grupo bupropiona, 20 mg/kg, que receberam salina;
- animais que receberam sertralina, 10 mg/kg;
- animais controle para o grupo sertralina, 10 mg/kg , que receberam salina;
- animais que receberam sertralina, 3,3 mg/kg;

- animais controle para o grupo sertralina, 3,3 mg/kg, que receberam salina.

3.2 Administração das drogas

A bupropiona (cloridrato de bupropiona) foi obtida da *GlaxoWellcome* com o nome comercial Zyban® e preparada com solução salina. Foi administrada, segundo BARROS *et al.* (2002), via oral (por gavagem), 6h antes de cada exposição ao labirinto (concentração plasmática máxima), durante os quinze dias de experimento, em duas doses terapêuticas: 20 e 60 mg/kg.

A sertralina (cloridrato de sertralina, adquirido como medicamento genérico Eurofarma) foi administrada segundo BARROS *et al.* (2002), via oral (por gavagem), por 15 dias, porém 3h antes da exposição ao labirinto (concentração plasmática máxima), em doses terapêuticas de 3,3 e 10 mg/kg.

Optou-se pela administração via oral com o intuito de validar a correlação clínica.

3.3 Aparato:

Desenvolvido e utilizado primeiramente por OLTON e SAMUELSON (1976), o labirinto, confeccionado todo em madeira, consistiu em oito braços de 78 cm de comprimento, 8 cm de largura e 1 cm de altura (paredes) que se estendiam radialmente a partir de uma plataforma central circular de 28 cm de diâmetro. O mesmo estava elevado a uma altura de 70 cm do solo e encontra-se em uma sala onde estavam dispostas dicas espaciais diversas (figuras geométricas em preto e branco, a porta e o experimentador) (FIGURA 7 e 8). Para o protocolo escolhido, dispunha-se de portas removíveis, as quais impedem a passagem do animal da plataforma central para os braços do labirinto.

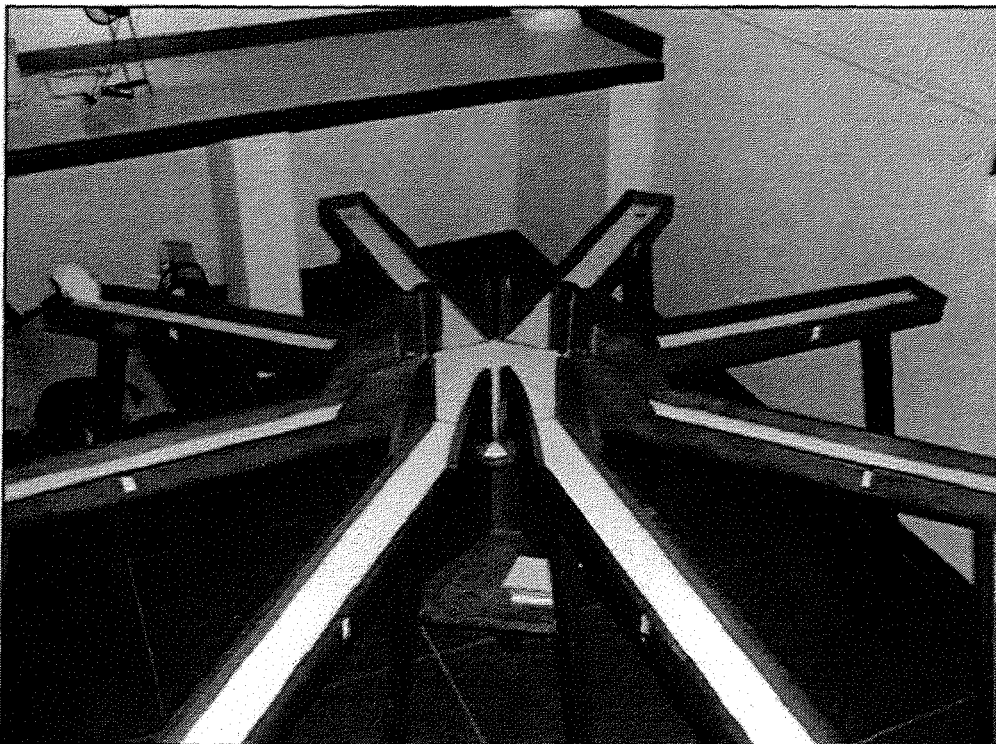


FIGURA 7: Labirinto radial de oito braços.

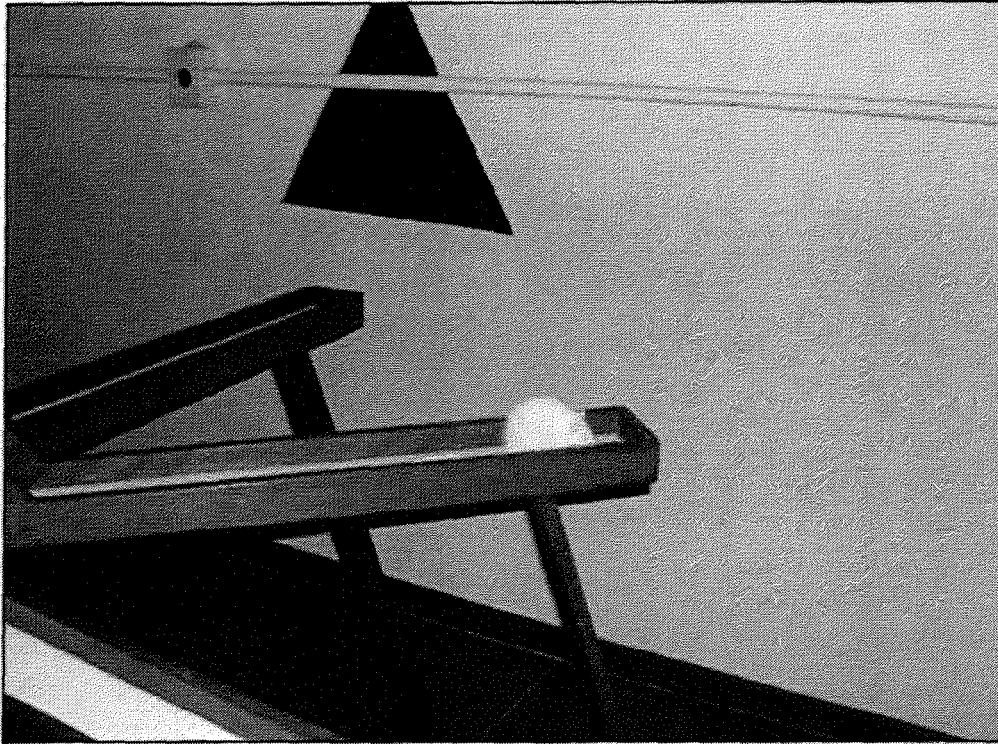


FIGURA 8: Dicas espaciais.

3.4 Protocolo da tarefa de orientação espacial ganha-muda com intervalo (*Delayed Spatial Win-Shift task*):

Este protocolo foi adaptado a partir de PACKARD e WHITE (1991) e WILLIAMS e MCGAUGH (1994). Consistiu de duas fases separadas por um intervalo (*delayed* = retardo ou intervalo).

Primeiramente, os animais foram manipulados diariamente para se habituarem ao experimentador, enquanto sua alimentação foi restringida até que atinjam 85% do peso inicial. O peso foi controlado diariamente, respeitando-se o desenvolvimento do animal ao longo dos dias de exposição à tarefa, de modo que a restrição foi mantida, porém houve um pequeno ganho de peso no final dos 15 dias.

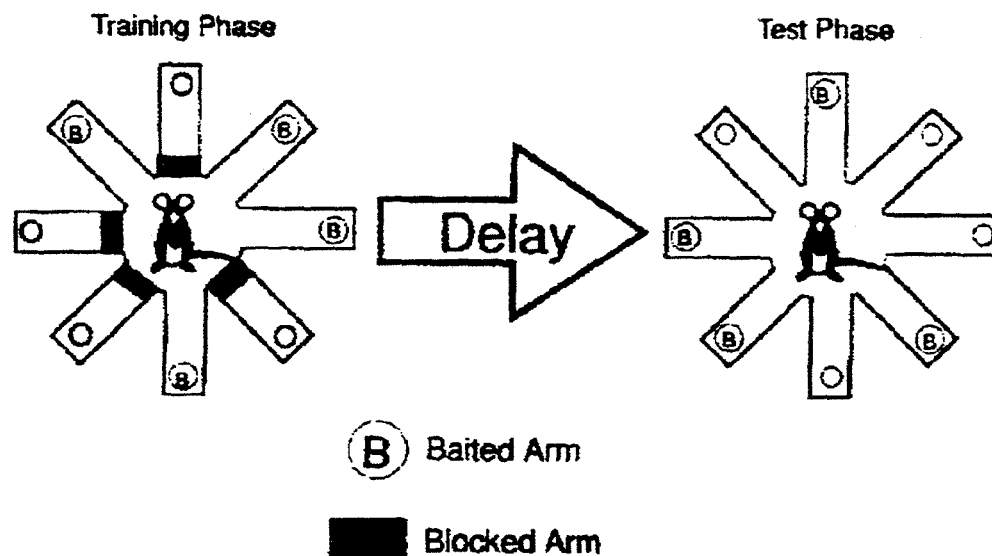


FIGURA 9: Protocolo *win-shift*.
Training Phase = Fase de Treino
Test Phase = Fase de Teste
Delay = intervalo
Baited arms = braço com comida
Blocked arm = braço bloqueado
 Retirada de FLORESCO *et al.* (1997)

Somente então foi iniciada a exposição ao labirinto radial para adaptação gradativa: um dia de habituação coletiva, para minimizar o estresse da novidade (dois ou três animais colocados juntos), com o alimento (*pellet* de ração de aproximadamente 100 mg) distribuído aleatoriamente no labirinto; um dia de habituação individual, também com ração aleatória. Por último, cada animal foi colocado no labirinto para explorá-lo livremente por dez minutos ou até que visitasse todos os oito braços onde estava devidamente colocada a ração (em um pequeno orifício no final de cada braço) (FIGURA 10). Em todas as etapas, os animais permaneceram no labirinto durante dez minutos ou até que encontrassem todos os *pellets* de ração.

Neste momento, iniciou-se a tarefa propriamente dita, em que quatro dos oito braços foram bloqueados pelas portas removíveis em uma primeira etapa (**Fase de Treino**). Após encontrar a comida colocada no final dos quatro braços abertos, o animal foi retirado do labirinto e colocado na mesma caixa onde foi transportado para a sala de comportamento (caixa individual). Permanecerá na mesma durante o tempo necessário para a abertura das portas previamente bloqueadas (**intervalo**). Após este período, o animal foi recolocado no labirinto. Nesta etapa (**Fase de Teste**), os oito braços estavam disponíveis e o animal deveria, então, entrar naqueles que anteriormente estavam bloqueados. O animal permaneceu no labirinto até visitar os quatro braços ainda não visitados ou durante um período de 5 minutos. Nesta fase, foram registrados a latência total para o animal encontrar a comida nos braços, o número e a seqüência dos braços explorados (FIGURA 9).

As entradas nos braços visitados na Fase de Treino permitiram a medida de erros de longa duração ou de memória de referência (MR), também considerados erros *across-fase* (FLORESCO *et al.*, 1997). As re-entradas nos braços abertos durante a Fase de Teste (erros *within-fase*) permitiram a medida de erros de curta duração ou de memória de trabalho (MT) (HODGES, 1996). Assim, foi possível distinguir os erros totais, os erros de MT e os erros de MR.

Como a MT envolve informações que estão presentes apenas durante um curto período de tempo, estava representada no labirinto pela regra de que cada braço só deveria ser visitado uma vez em cada fase. Os erros de MT foram contados, então, quando um braço já visitado foi revisitado na mesma fase (KESEBERG e SCHMIDT, 1993). Já a MR compreende informações que permanecem constantes por um período

de tempo maior, o que significou no labirinto que o animal não devia visitar os braços visitados na fase anterior, os quais não foram mais recompensados.

Sobrepostas às informações espaciais, associativas, táteis, olfatórias, entre outras, as estratégias adotadas individualmente por cada animal, como, por exemplo, a seqüência de entradas nos braços do labirinto (HODGES, 1996), são um fator importante no aprendizado de tal tarefa.

Para definição do protocolo, foi realizado um experimento piloto que demonstrou que os animais só obtinham um aprendizado satisfatório, ou seja, atingiam um critério de desempenho de um ou nenhum erros ao longo de dois dias consecutivos, após 15 dias de treinamento (FIGURA 11).

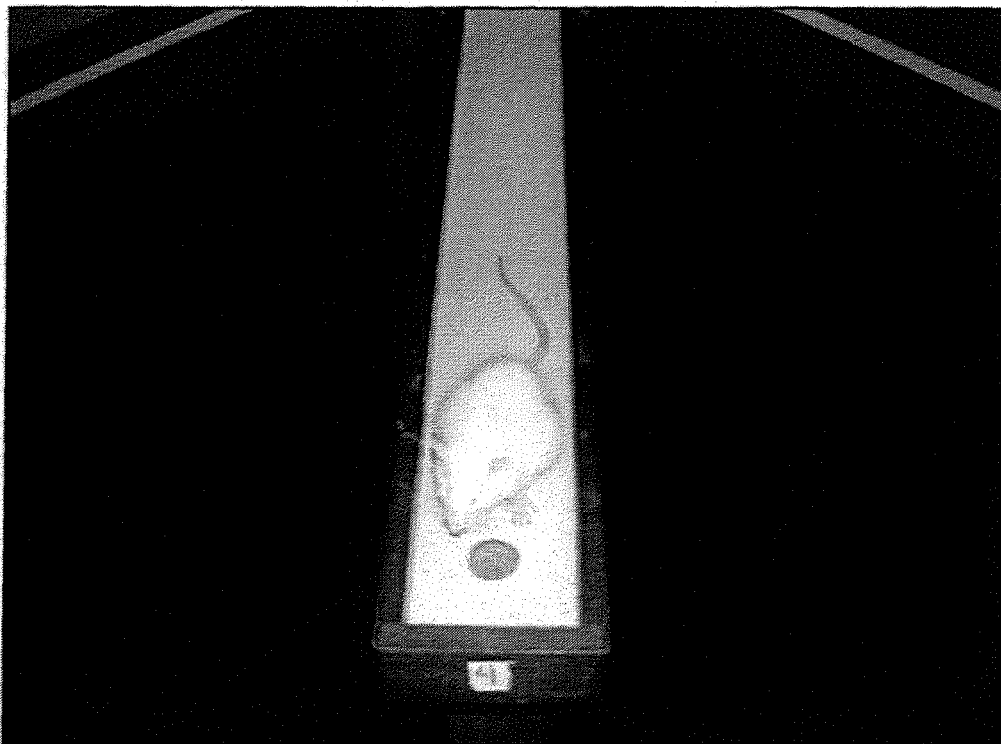


FIGURA 10: Orifício onde se encontra o *pellet* de ração.

3.5 Análise Estatística

Para os analisar os erros (totais, de MT e de memória de referência), foi realizada análise estatística paramétrica, por meio do teste "t" de Student. Já para a latência, por ser uma variável com limite estabelecido (teto de 5 min para os animais percorrerem o labirinto), foi realizada análise estatística não-paramétrica de Kruskal-Wallis e Teste de Comparação Múltipla de Dunn.

Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM) na análise paramétrica e como mediana e intervalos interquartis na análise não-paramétrica.

4. Resultados

4.1 Curva de Aprendizado Piloto

A curva de aprendizado representa os erros totais dos animais ao longo dos dias individualmente. Os animais utilizados como piloto, ou seja, para definir o protocolo, tiveram um aprendizado regular ao longo de quinze dias, atingindo o critério de performance de nenhum ou um erro (total de erros) durante 2 dias consecutivos (FLORESCO e PHILLIPS, 2001). Assim, foi estabelecido o parâmetro de quinze dias para realização dos testes com as drogas.

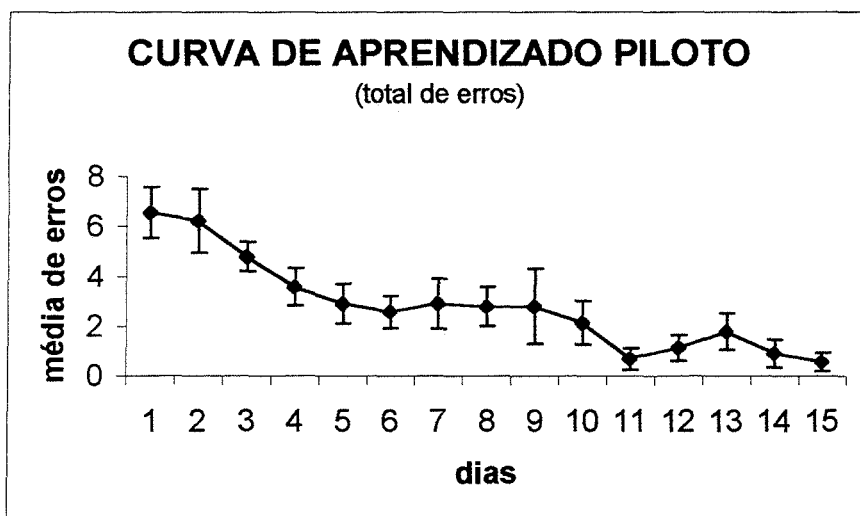


FIGURA 11: Média do total de erros (entradas nos braços já visitados) dos animais ao longo de 15 dias de treinamento até a obtenção do critério de desempenho (1 ou 0 erro durante 2 dias consecutivos). $n = 9$. Os dados estão expressos como média \pm SEM.

4.2 Efeito da Bupropiona na dose de 60mg/kg

4.2.1 Total de Erros:

O gráfico (FIGURA 12) mostra que os animais que receberam a dose diária de bupropiona na dose de 60 mg/kg de peso corporal atingiram o critério de desempenho antes dos animais que receberam solução salina. Isto pode ser visto nos dias 9 e 10, em que a diferença entre os grupos é estatisticamente significativa.

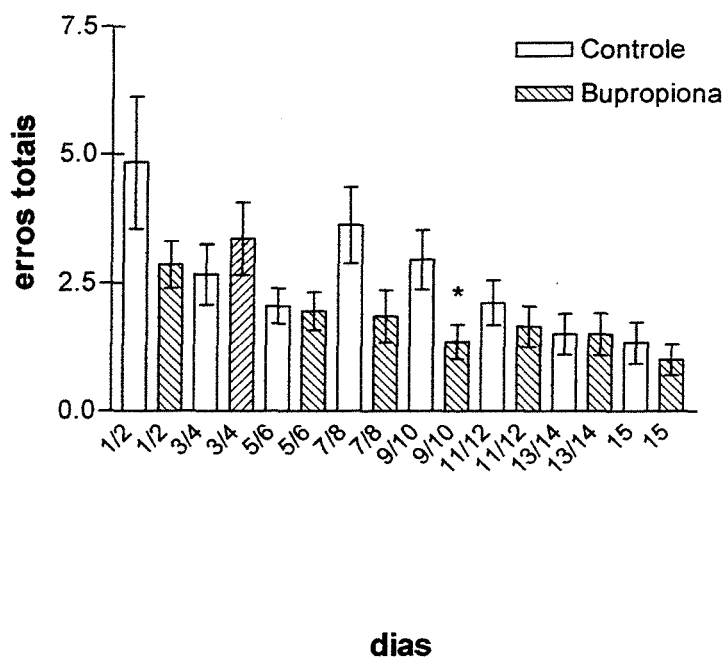


FIGURA 12: Efeito da administração da bupropiona na dose de 60 mg/kg sobre o total de entradas erradas no decorrer de 15 dias, agrupados de 2 em 2 dias até o 14º dia. Os dados estão expressos como média ± SEM.

* $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student.
n = 9 (salina); n = 10 (bupropiona)

4.2.2 Erros de Memória de Trabalho

Com relação à MT, apesar dos erros serem poucos de uma forma geral, houve diferença significativa entre o grupo tratado e o grupo controle nos dias 9 e 10 de treinamento, como mostra a FIGURA 13.

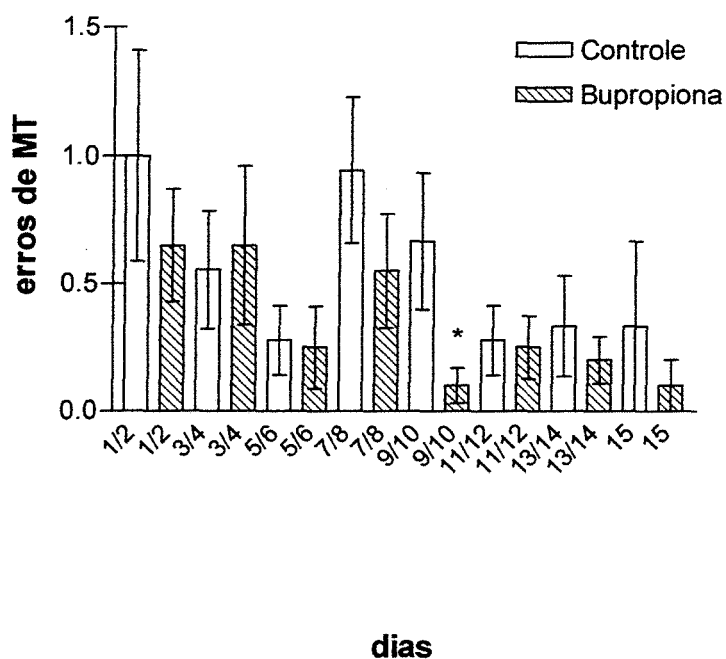


FIGURA 13: Efeito do bupropion na dose de 60 mg/kg sobre os erros de memória de trabalho. Os dados estão expressos como média±SEM.

* $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student.
n = 9 (salina); n = 10 (bupropiona)

4.2.3 Erros de Referência

O resultado da medida da MR mostra diferença significativa entre os dias 7 e 10, mostrando que os animais tratados aprendem a se orientar no labirinto antes dos animais controle.

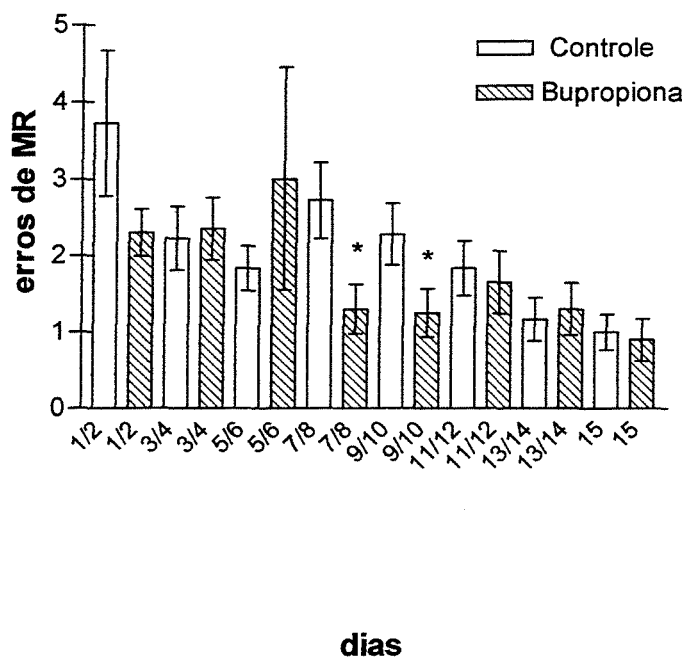


FIGURA 14: Efeito da bupropiona na dose de 60 mg/kg sobre os erros de referência. Os dados estão expressos como média \pm SEM.

* $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student.

n = 9 (salina); n = 10 (bupropiona)

4.2.4 Curva de Aprendizado

A figura abaixo mostra claramente um declínio da linha que representa o aprendizado dos animais do grupo tratado em relação ao grupo salina entre os dias 7 e 12, significando que a bupropiona facilitou o desempenho destes animais na tarefa. Após o 12º dia, todos os ratos atingiram o critério de desempenho. O gráfico em linhas tem como objetivo ilustrar a curva de aprendizado dos animais, já que a análise estatística foi realizada e expressa por meio dos gráficos de barras (FIGURAS 12, 13, e 14).

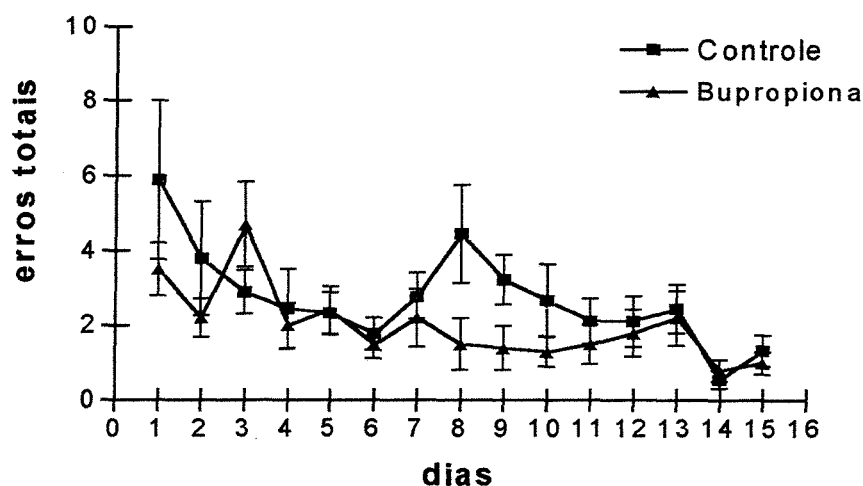


FIGURA 15: Média do total de entradas erradas dos dois grupos ao longo dos 15 dias de treinamento sob o efeito da administração diária de bupropiona 60 mg/Kg ou salina, p.o. Os dados estão expressos como média \pm SEM.

4.2.5 Latências

O gráfico mostra as curvas que representam o tempo gasto pelos animais para completarem a Fase de Teste, ou seja, encontrar os quatro *pellets* de ração no final dos braços abertos após o intervalo ou, caso isso não tenha ocorrido, no decorrer de cinco minutos. Fica claro que, no início do treinamento, ambos os grupos permanecem mais tempo no labirinto até encontrarem a comida, e este tempo vai diminuindo gradativamente até alcançar uma média de menos de um minuto.

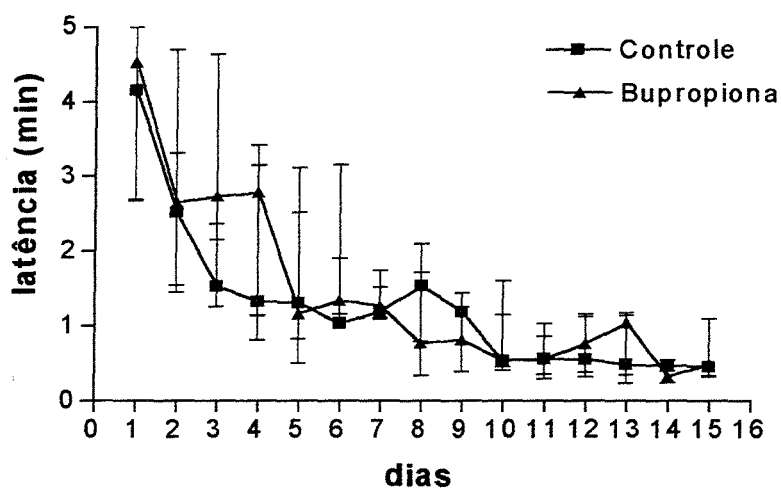


FIGURA 16: Tempo gasto para realizar a fase de teste com máximo de cinco minutos. Os dados estão expressos como mediana e intervalos interquartis.

4.3 Efeito do bupropion 20mg/Kg

4.3.1 Total de Erros:

A bupropiona na dose de 20 mg/kg, p.o., teve influência significativa sobre o desempenho dos animais já no 3º e 4º dias de treinamento. Os dados demonstram visivelmente que os ratos tratados atingem o critério antes dos animais que receberam solução salina.

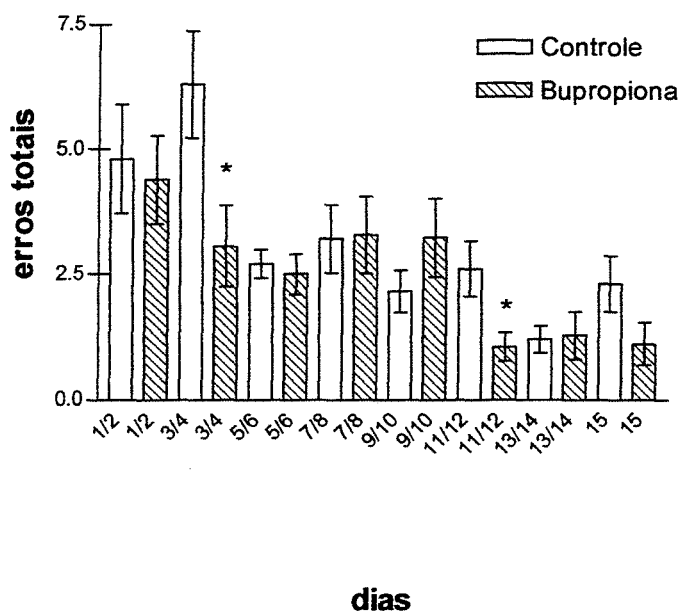


FIGURA 17: Efeito da bupropiona na dose de 20 mg/kg sobre o total de escolhas erradas no decorrer de 15 dias, agrupados de 2 em 2 até o 14º dia.

Os dados estão expressos como média±SEM.

* $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student.

n = 10 (salina); n = 9 (bupropiona)

4.3.2 Erros de Memória de Trabalho:

Ambos os grupos apresentaram poucos erros de MT, não havendo diferença significativa entre os grupos em nenhum dia do treinamento.

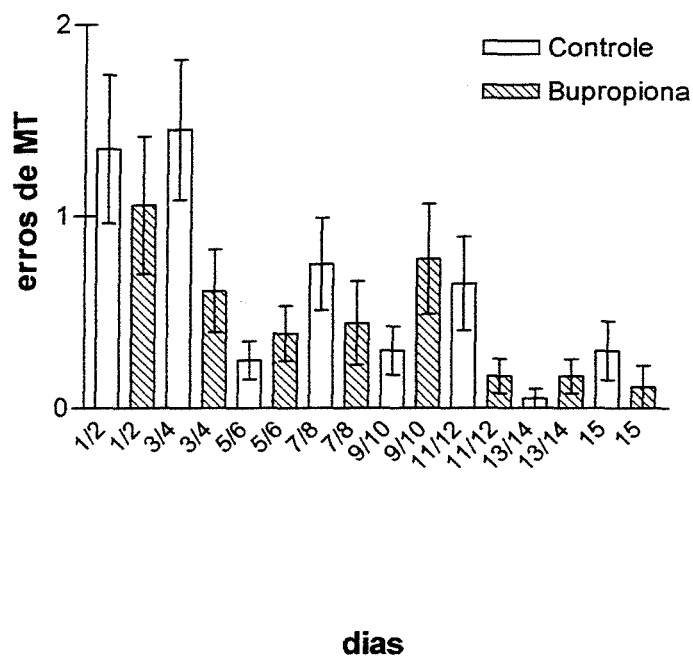


FIGURA 18: Efeito da bupropiona na dose de 20 mg/kg sobre os erros de memória de trabalho. Os dados estão expressos como média \pm SEM. n = 10 (salina); n = 9 (bupropiona)

4.3.3 Erros de Referência

O gráfico abaixo demonstra que o efeito da droga neste grupo de animais ficou restrito aos erros de referência, apresentando diferença significativa nos dias 3/4 e 11/12, assim como observado na FIGURA 17.

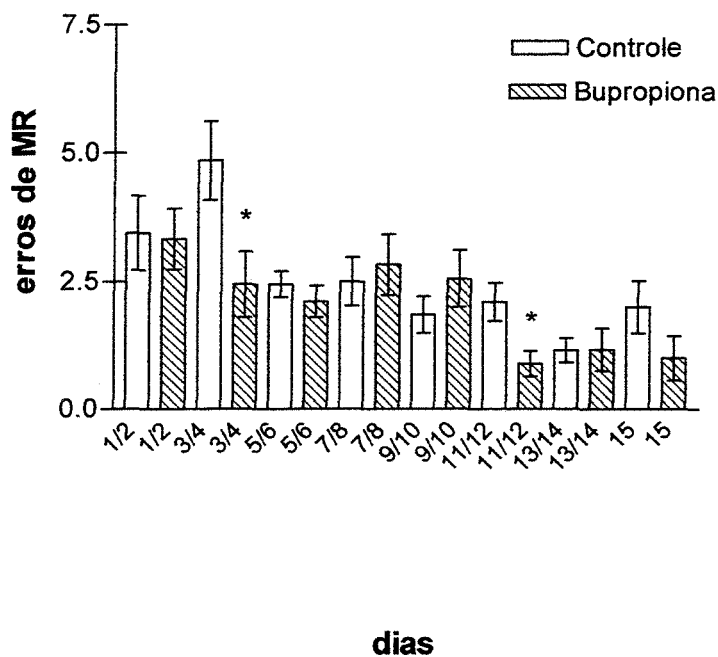


FIGURA 19: Efeito da bupropiona na dose de 20 mg/kg sobre os erros de referência. Os dados estão expressos como média ± SEM. * $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student. n = 10 (salina); n = 9 (bupropiona)

4.3.4 Curva de Aprendizado

Nesse gráfico, pode-se observar o acentuamento dos erros dos animais controle, representado pela distância entre as duas curvas entre os dias 4 e 6. Há um equilíbrio entre os grupos no intervalo entre os dias 7 e 10, um declínio significativo dos erros dos animais tratados nos dias 11/12, e, após, ambos os grupos atingem o critério. Este gráfico é ilustrativo. A análise estatística está expressa nos gráficos de barras.

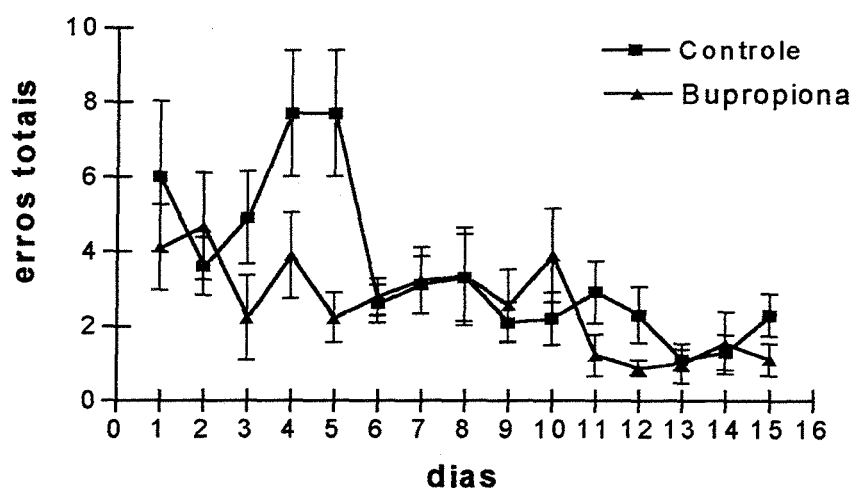


FIGURA 20: Média do total de entradas erradas dos dois grupos ao longo dos 15 dias de treinamento sob o efeito da administração diária de bupropiona 20 mg/kg, p.o. Os dados estão dispostos como média±SEM.

4.3.5 Latências

Pode-se observar o mesmo decaimento do tempo de desempenho ao longo dos dias com a administração da bupropiona na dose de 20 mg/kg. Há maior variação entre os grupos, porém sem diferenças significativas.

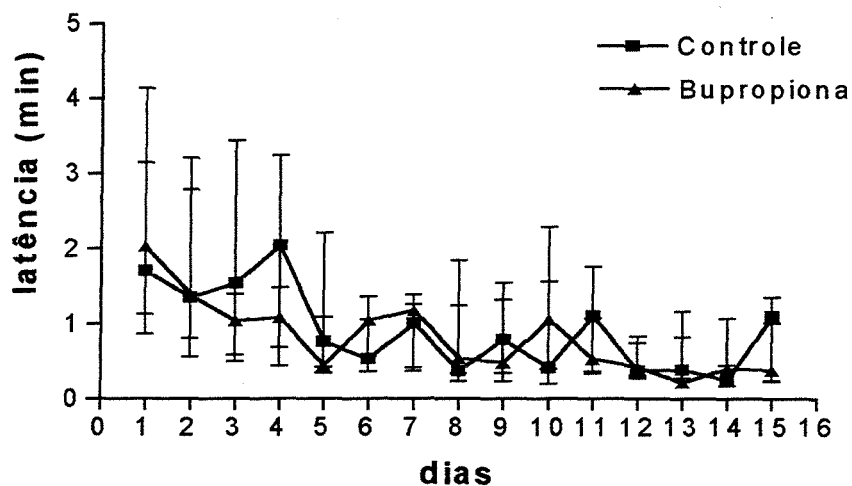


FIGURA 21: Tempo gasto para realizar a fase de teste com máximo de cinco minutos. Os dados estão expressos como mediana e intervalos interquartis.

4.4 Efeito da Sertralina na dose de 10 mg/Kg

4.4.1 Total de Erros:

A sertralina em maior dosagem apresentou um efeito oposto ao obtido com a administração de bupropiona: prejudicou o desempenho dos animais tratados significativamente nos dias 3 e 4 de treinamento. Após este estágio, ambas as performances se assemelharam até o final do experimento, com acentuados erros padrão entre os animais nos dois grupos.

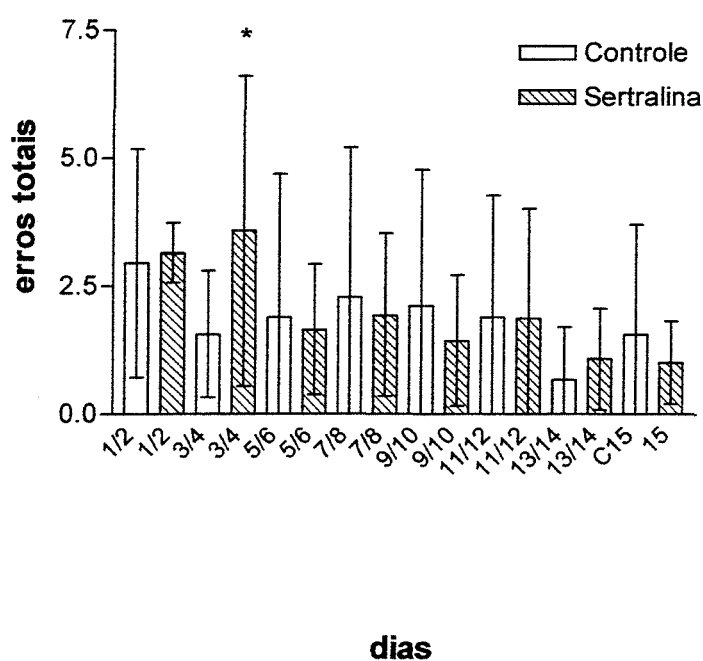


FIGURA 22: Efeito da sertralina na dose de 10 mg/kg sobre o total de escolhas erradas no decorrer de 15 dias, agrupados de 2 em 2 até o 14º dia. Os dados estão expressos como média±SEM.

* $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student.

n = 9 (salina); n = 7 (sertralina)

4.4.2 Erros de Memória de Trabalho

Os animais que receberam sertralina na dose de 10 mg/kg apresentaram significativamente mais erros de memória de trabalho que os animais controle (salina), nos dias em que apresentaram mais escolhas erradas de uma forma geral (dias 3 e 4).

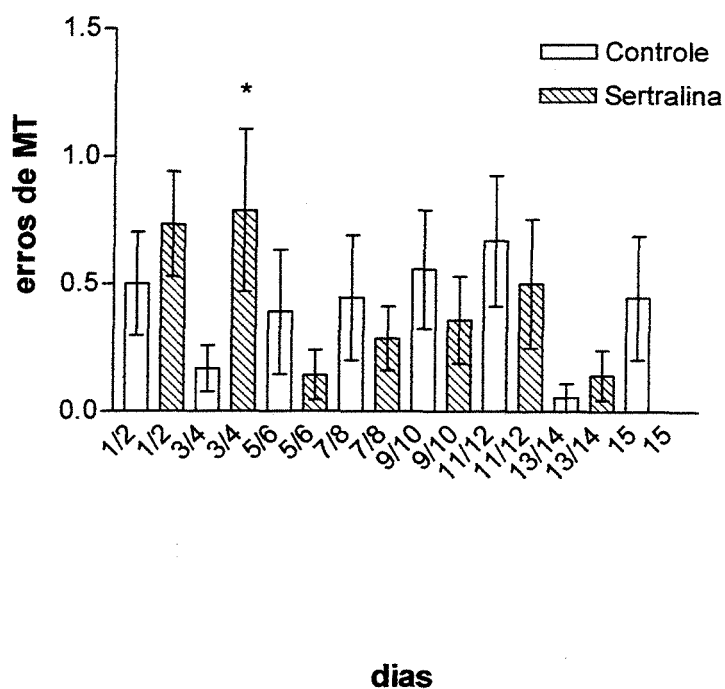


FIGURA 23: Efeito da sertralina na dose de 10 mg/kg sobre os erros de memória de trabalho. Os dados estão expressos como média \pm SEM.
* $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student.
n = 9 (salina); n = 7 (sertralina)

4.4.3 Erros de Referência:

O efeito deletério da sertralina pode ser visto com relação à memória de referência também nos dias 3 e 4.

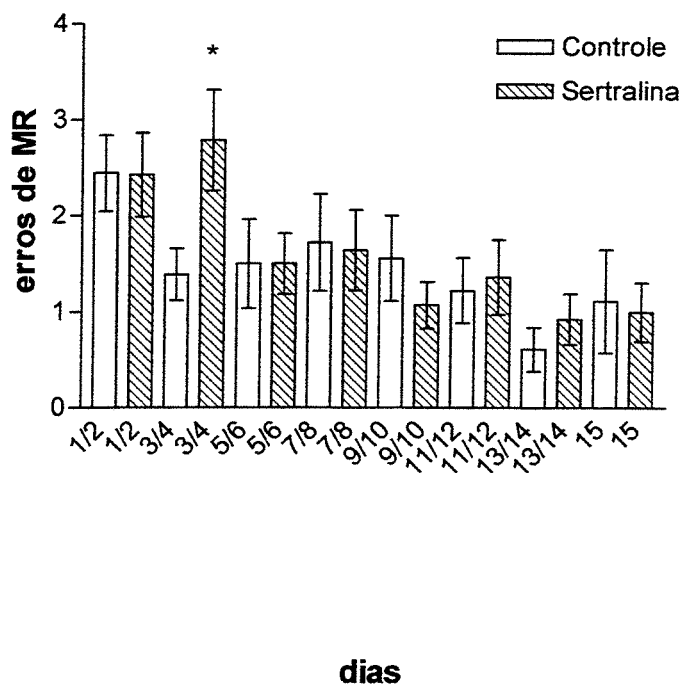


FIGURA 24: Efeito da sertralina na dose de 10mg/kg sobre os erros de referência. Os dados estão expressos como média \pm SEM. * $P < 0,05$, diferença significativa em relação ao grupo controle no teste t de Student. $n = 9$ (salina); $n = 7$ (sertralina)

4.4.4 Curva de Aprendizado

Com o gráfico em linhas, podemos observar melhor a discrepância entre os dois grupos, salientando o fato de que os ratos que receberam sertralina tiveram pronunciadamente mais erros em relação aos que receberam salina entre os dias 1 e 6. Nota-se que a oscilação na média de erros foi comum aos dois grupos, porém todos os ratos atingiram o critério de desempenho.

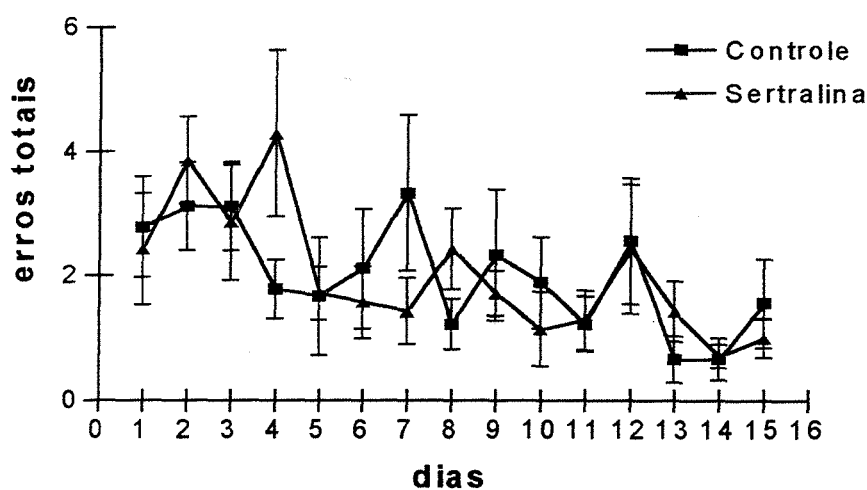


FIGURA 25: Média de erros dos 2 grupos ao longo dos 15 dias de treinamento com sertralina na dose de 10 mg/kg (sert) ou salina (sal), p.o..

Os dados estão representados como média±SEM.

4.4.5 Latências

Com relação ao tempo, o comportamento dos animais se assemelha de uma forma geral, sem diferenças significativas entre os grupos, mostrando que a droga não interfere com a latência para desempenhar a tarefa.

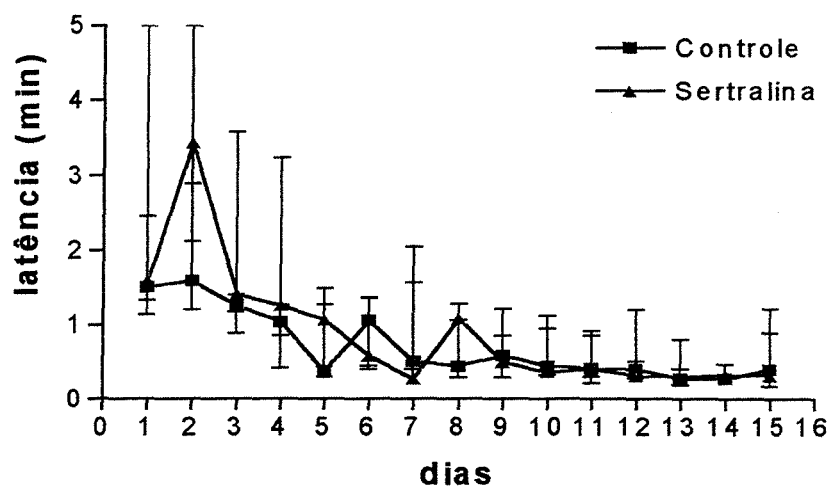


FIGURA 26: Tempo gasto para realizar a fase de teste, com máximo de cinco minutos. Os dados estão expressos como mediana e intervalos interquartis.

4.5 Efeito da Sertralina na dose de 3,3 mg/Kg

4.5.1 Total de Erros

Houve uma tendência inicial dos animais que receberam sertralina na dose de 3,3 mg/kg errarem mais que os animais controle, porém não houve diferença significativa entre os grupos.

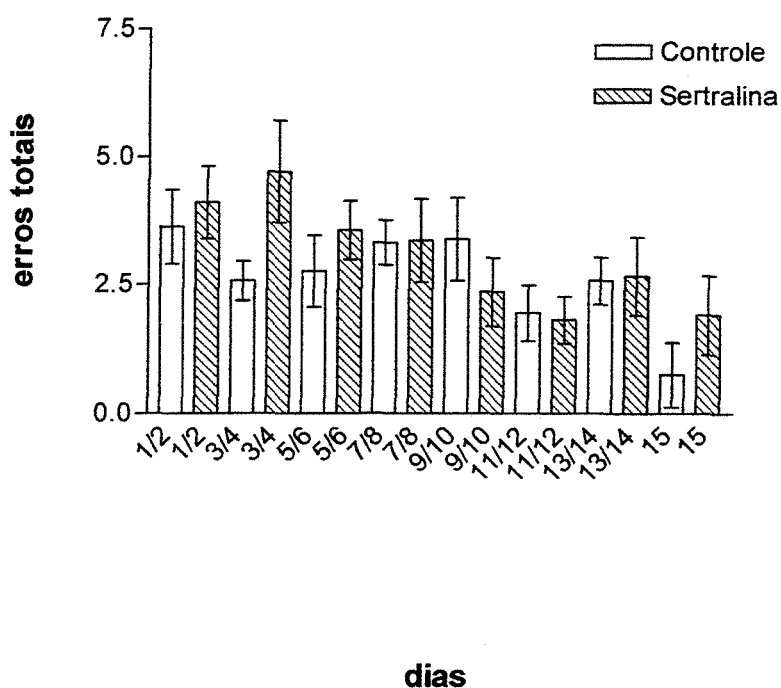


FIGURA 27: Efeito da sertralina na dose de 3,3 mg/kg sobre o total de escolhas erradas no decorrer de 15 dias, agrupados de 2 em 2 até o 14º dia. Os dados estão expressos como média ± SEM. n = 8 (salina); n = 10 (sertralina)

4.5.2 Erros de Memória de Trabalho

No geral, a média de erros de memória de trabalho foi pequena em ambos os grupos.

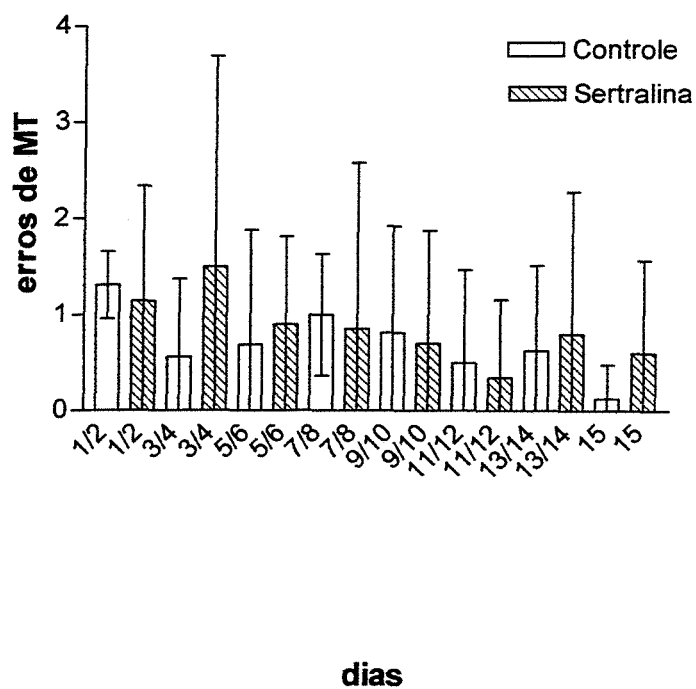


FIGURA 28: Efeito da sertralina na dose de 3,3 mg/Kg sobre os erros de memória de trabalho. Os dados estão expressos como média \pm SEM. n = 8 (salina); n = 10 (sertralina)

4.5.3 Erros de Referência

Não houve diferença entre os ratos controle e tratados, indicando que a sertralina não tem efeito sobre o aprendizado desta tarefa no labirinto radial de oito braços.

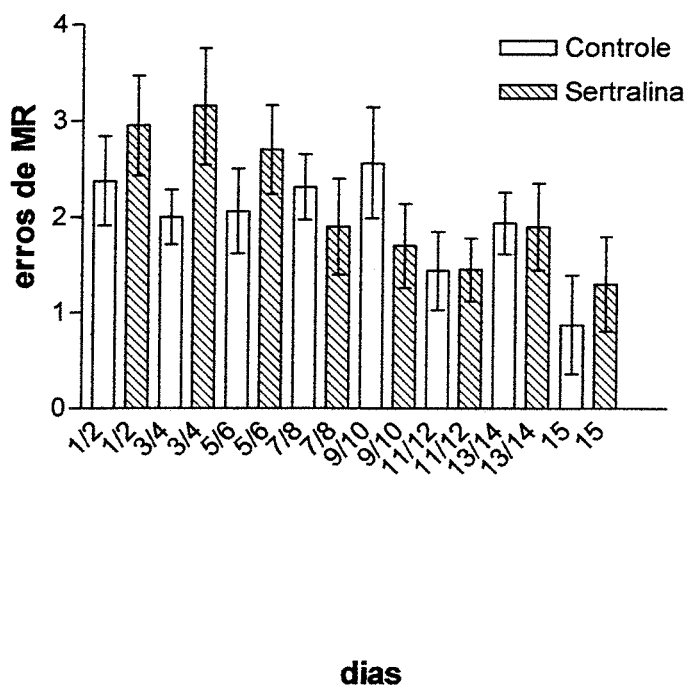


FIGURA 29: Efeito da sertralina na dose de 3,3 mg/kg sobre os erros de referência. Os dados estão expressos como média±SEM. n = 8 (salina); n = 10 (sertralina)

4.5.4 Curva de Aprendizado

Ambos os grupos de animais apresentaram um aprendizado irregular, porém sem diferenças significativas entre os grupos.

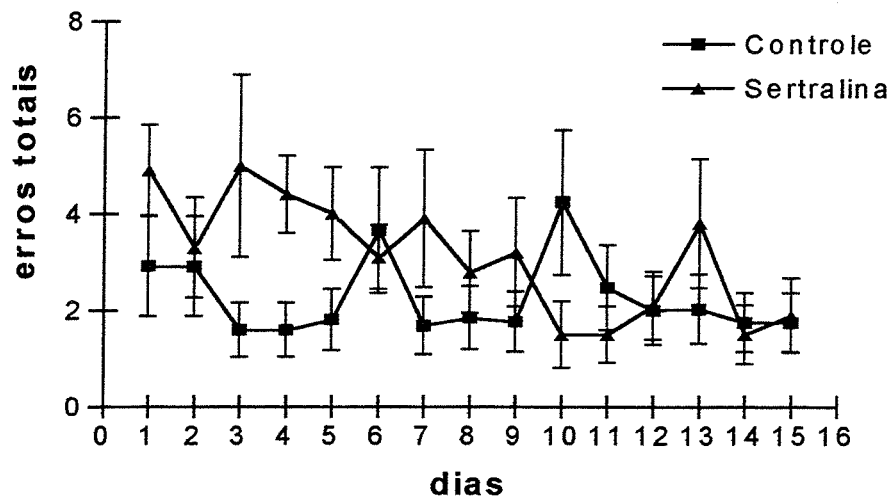


FIGURA 30: Média de erros dos 2 grupos ao longo dos 15 dias de treinamento com sertralina na dose de 3,3 mg/kg ou salina, p.o. Os dados estão expressos como média \pm SEM.

4.5.5 Latências

Não houve diferenças significativas entre as latências de ambos os grupos em nenhum dia, mostrando que, inicialmente, todos os animais tardaram mais para encontrar os quatro *pellets* na Fase de Teste. Na medida que foram aprendendo, este tempo se reduziu e, ao final do treinamento, foi praticamente o mesmo entre os grupos, como se passou com todos os animais observados.

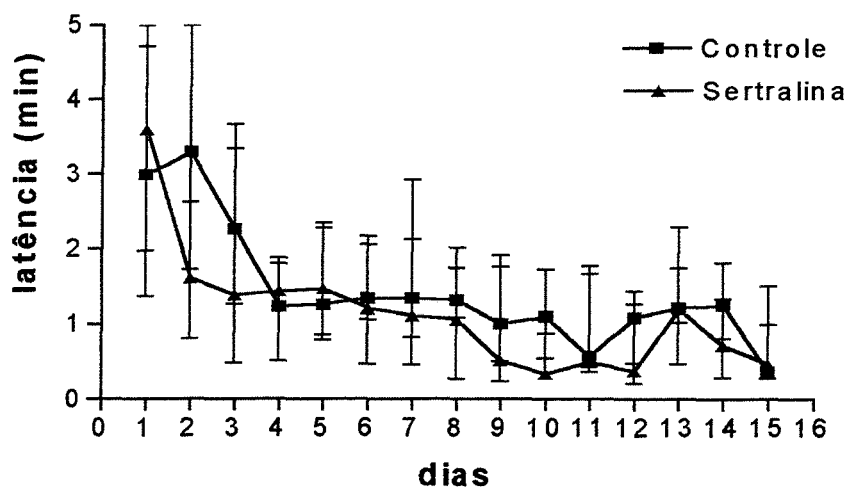


FIGURA 31: Tempo gasto para realizar a fase de teste, com máximo de cinco minutos. Os dados estão expressos como mediana e intervalos interquartis.

5. Discussão

5.1 Bupropiona

Após a revisão bibliográfica acerca das estruturas e dos sistemas modulatórios envolvidos no aprendizado da tarefa utilizada neste estudo, principalmente no que diz respeito à memória de trabalho e à participação do córtex pré-frontal no processamento da mesma, era esperado que a bupropiona, por meio do aumento da disponibilidade de dopamina na fenda sináptica, tivesse tido o efeito facilitatório demonstrado nos resultados.

Existem trabalhos que demonstram que a evocação da memória na tarefa *win-shift* no labirinto radial, durante a fase de teste, é dependente de um circuito neural que liga o hipocampo e o núcleo talâmico médio-dorsal à região pré-límbica do CPF (FIGURA 32) (FLORESCO *et al.*, 1997, 1999) e também dos receptores dopaminérgicos tipo D₁ presentes nesta estrutura (SEAMANS *et al.*, 1998). A região pré-límbica tem papel importante no aprendizado da tarefa com intervalo e não participa na tarefa tipo *win-stay* (SEAMANS *et al.*, 1995). Tarefas com intervalo confundem o rato, induzindo-o a buscar a comida em cada braço de forma respectiva, sugerindo, assim, que a região pré-límbica do córtex pré-frontal esteja envolvida no planejamento de respostas motoras estratégicas para assegurar a eficácia na busca pela comida (do inglês "*foraging behavior*") (KESNER, 1989; SEAMANS *et al.*, 1995).

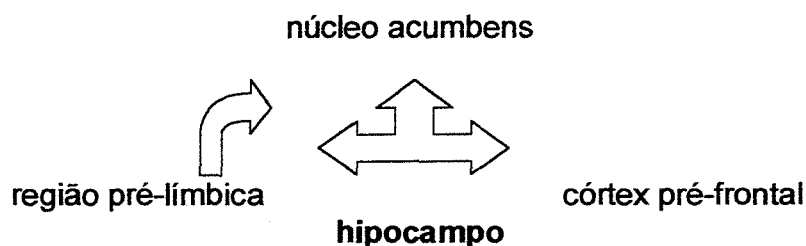


FIGURA 32: Conexões envolvidas no aprendizado da tarefa *win-shift* no labirinto radial de oito braços.

Como as células da ATV, as quais enviam prolongamentos para o CPF (GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 1992), sofrem modulação do sistema noradrenérgico (MURPHY *et al.*, 1996), tal sistema também pode estar envolvido na melhora da performance dos animais no labirinto por ser a bupropiona também um inibidor da recaptação de norepinefrina, mesmo que em menor grau.

Quanto à bupropiona na dose de 20 mg/kg apresentar efeito mais pronunciado e precoce (3º e 4º dias), pode ser explicado pela relação entre a capacidade de memória e a concentração de dopamina no córtex pré-frontal seguir um padrão de curva em “U” invertido (GOLDMAN-RAKIC, 1990) e a disponibilidade de dopamina mais próxima ao valor ótimo ter sido consequência do medicamento em menor dosagem.

Com relação ao tempo dispendido pelos animais ao completarem a Fase de Teste (latência), os tempos foram, em média, semelhantes. Tal achado demonstra que as drogas utilizadas não têm efeito sobre a locomoção, como anteriormente demonstrado por BARROS *et al.* (2002), em que os resultados da Exposição ao Campo Aberto, tarefa que mede atividade locomora, não mostraram diferenças entre os animais tratados e salina.

5.2 Sertralina

Os resultados mostraram que a sertralina, com seu efeito inibidor da recaptação de 5-HT dos terminais serotoninérgicos, não foi efetiva na dose de 3,3 mg/kg e até mesmo prejudicou, quando administrada na dose de 10 mg/kg, o desempenho dos animais na tarefa aplicada.

Segundo SANTUCCI *et al.* (1996), o papel da serotonina no aprendizado e memória, apesar das crescentes evidências no sentido de esclarecer seu mecanismo de ação, não está ainda bem caracterizado.

Existem terminais serotoninérgicos, dopaminérgicos e noradrenérgicos, bem como receptores 5-HT_{1A}, dopaminérgicos D₁ e β -noradrenérgicos em hipocampo, amígdala e neocórtex, incluindo os córtices entorrinal e parietal (SIEGEL *et al.*, 1994; BENINGER *et al.*, 1996).

Estudos recentes em esquiva inibitória demonstraram que os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} são necessários para evocação da memória nesta tarefa, o que foi comprovado por meio da infusão do antagonista destes receptores, NAM-190, na região CA1 do hipocampo, 24h antes do teste de retenção na esquiva (BARROS *et al.*, 2001). Além disso, outros experimentos confirmam a modulação serotoninérgica da evocação da memória na esquiva inibitória no hipocampo (BEVILAQUA *et al.*, 1997), na amígdala e nos córtices entorrinal e parietal (ARDENGHI *et al.*, 1997).

É muito importante considerar a natureza do processo cognitivo e as características das tarefas estudadas. Assim, por exemplo, a administração pré-teste de p-cloroanfetamina, a qual também aumenta a disponibilidade sináptica de serotonina,

prejudicou a evocação em uma tarefa de esquivas ativa, o que não aconteceu quando o instrumento comportamental utilizado foi a esquivas inibitória (ÖGREN, 1986)

Do mesmo modo, o fato de a sertralina ter melhorado a memória dos ratos na esquivas inibitória sob as mesmas condições de administração não pode ser usado como parâmetro, pois o treino na esquivas inibitória é um aprendizado de única tentativa, que envolve outros circuitos neurais e outros sistemas modulatórios.

Poderia-se esperar que a sertralina tivesse um efeito indireto no sentido de melhorar a memória de trabalho durante a tarefa, já que a serotonina modula a atividade dos neurônios dopaminérgicos, estimulando nestes a liberação de dopamina (PARSONS e JUSTICE, 1993). Porém, no intervalo entre a administração e o teste, o que ocorre é a inibição da recaptção da serotonina e a ação direta desta, o que parece não ter efeito, no caso da dose menor (3,3 mg/kg), ou até mesmo prejudicar, como ocorreu com a maior dose (10 mg/kg).

Estudos utilizando a fluoxetina, também um antidepressivo inibidor da recaptção de 5-HT, mostram que a performance de ratos, após tratamento crônico ou agudo com a droga, é melhorada em uma tarefa de labirinto radial semelhante à aplicada neste estudo, resultando em menor número de erros de referência (NOWAKOWSKA et al., 2000).

Por outro lado, resultados de SANTUCCI *et al.* (1996), utilizando a p-cloroanfetamina (2,5 mg/kg), demonstraram que esta afetou a evocação de uma tarefa no labirinto radial de oito braços denominada "bem aprendida" e motivada pela sede, resultando em maior número de erros de MR e de MT. Guardadas as peculiaridades de cada estudo, tal resultado assemelha-se com o obtido com a sertralina em maior dose.

O que deve ser novamente ressaltado é que, apesar das drogas terem mecanismos de ação semelhantes e as tarefas serem de memória espacial, as diferenças entre as mesmas, mesmo mínimas, associadas ao mecanismo de ação das diferentes drogas, bem como à via e ao tempo de administração, não permitem traçar um paralelo entre os experimentos.

Testes realizados em humanos vêm clarificar um pouco os resultados obtidos com a sertralina. Estudos comportamentais demonstram que a serotonina exerce inibição tônica sobre o efeito facilitatório da DA em uma série de comportamentos, tais como hiperlocomoção, comportamento exploratório induzido por 5-HT, auto-estimulação intracranial e respostas a dicas de incentivo (NAKAHARA *et al.*, 1989; SPOONT, 1992; HOWELL *et al.*, 1997). Com relação à memória espacial, um mesmo processo facilitado pela bromocriptina (agonista DA) foi prejudicado pela fenfluramina (agonista 5-HT) no mesmo grupo de indivíduos saudáveis (LUCIANA *et al.*, 1998).

Algo que pode sustentar tal fato é a existência da sobreposição de receptores DA e 5-HT distribuídos pelo sistema límbico e regiões do córtex cerebral e modulação das vias ascendentes dopaminérgicas A10 pela serotonina (GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 1990; HAGAN *et al.*, 1993; WANG *et al.*, 1996).

Por fim, LUCIANA *et al.* (2001) salientam que o papel da serotonina na memória de trabalho não foi ainda sistematicamente estudado, apesar de existirem achados em animais que reforçam a idéia de que concentrações elevadas de serotonina prejudicam processos cognitivos específicos, incluindo nestes a MT, enquanto baixas concentrações melhoram (QUARTERMAIN *et al.*, 1993; COLE *et al.*, 1994; FONTANA *et al.*, 1995).

5.3 Considerações Gerais

Os experimentos comportamentais realizados neste estudo foram experimentos duradouros, em que cada conjunto de animais, tratados e respectivos controles, foram manipulados durante aproximadamente vinte dias, acompanhando-se, desta maneira, todas as variações do ciclo estral, por se tratarem de fêmeas. Além disso, diversos autores não encontraram diferenças sexuais nos desempenhos de machos e fêmeas no labirinto radial (JURASKA *et al.*, 1984; VAN HARREN *et al.*, 1987; KOLB e CIOE, 1996).

Ao final dos quinze dias de exposição, todos os ratos atingiram o critério de desempenho, apesar das variações individuais tomarem os desvios muitas vezes acentuados, mostrando que o protocolo aqui utilizado funciona e é um ótimo instrumento para medir a memória do aprendizado espacial.

Quanto aos desvios, deve-se considerar, também, que o comportamento é afetado por muitos outros processos além do aprendizado e memória. Dentre estes estão a motivação, a motricidade, a atenção, as sensações e o estado geral de cada animal (CAHILL *et al.*, 2001).

Por fim, este trabalho sugere que sejam aprofundados os estudos com relação à memória espacial e o sistema serotoninérgico, bem como o vislumbre de uma possível aplicação em seres humanos, por ser o bem destes a finalidade das pesquisas realizadas pela ciência básica.

6. Conclusão

Por fim, o que se pode concluir a partir dos resultados deste trabalho cabe resumidamente nas seguintes afirmativas:

- o antidepressivo bupropiona, administrado diariamente nas doses de 20 mg/kg e 60 mg/Kg, p.o, seis horas antes da tarefa adaptada do protocolo *win-shift* no labirinto radial de oito braços, melhora o desempenho dos animais, visto que os mesmos erram menos e aprendem mais rápido que os animais controle, tratados com salina;

- o antidepressivo sertralina administrado na dose de 10 mg/kg, p.o, três horas antes da mesma tarefa, piora o desempenho dos animais tratados em relação aos controles, e, na dose de 3,3 mg/kg, p.o, não tem efeito sobre tal aprendizado, pois não houve diferenças entre tratados e controles.

BIBLIOGRAFIA

Adams, S., Kesner, R.P., Ragozzino, M.E. (2001). Role of the medial and lateral caudate-putamen in mediating an auditory conditional response association. **Neurobiol Learn Mem.** 76(1):106-116.

Aggleton, J. P., Neave, N., Nagle, S and Sahgal, A. (1995) A comparison of the effects of medial prefrontal, cingulate cortex, and cingulum bundle lesion on tests of spatial memory: Evidence of a double dissociation between frontal and cingulum bundle contributions. **J Neurosci.** 15, 7270-7281.

Ardenghi, P., Barros, D., Izquierdo, L.A., Bevilaqua, L., Schroder, N., Quevedo, J., Rodrigues, C., Madruga, M., Medina, J.H., Izquierdo, I. (1997) Late and prolonged post-training memory modulation in entorhinal and parietal cortex by drugs acting on the cAMP/protein kinase A signalling pathway. **Behav Pharmacol.** 8:745-751.

Ascher, J.A., Cole, J.O., Colin, J.N., Feighner, J.P., Ferris, R.M., Fibiger, H.C., Golden, R.N., Martin, P., Potter, W.Z., Richelson, E., *et al.* (1995) Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. **J Clin Psychiatry.** 56:395-401.

Azmitia, E.C., Segal, M. (1978). An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. **J Comp Neurol.** 179:641-667.

Baddeley, A., Della Sala, S. (1996) Working memory and executive control. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.** 351:1397-1403

Barros, D.M., Mello e Souza, T., De David, T., Choi, H., Aguzzoli, A., Madche, C., Ardenghi, P., Medina, J.H., Izquierdo, I. (2001) Simultaneous modulation of retrieval by dopaminergic D(1), beta-noradrenergic, serotonergic-1A and cholinergic muscarinic receptors in cortical structures of the rat. **Behav Brain Res.** 124:1-7.

Barros, D.M., Izquierdo, L. A., Medina, J. H. and Izquierdo, I. (2002). Bupropion and sertraline enhance retrieval of recent and remote long-term memory in rats. **Behav Pharmacol.** 13:215-220.

Batuev, A. S., Kurina, N. P., Shutov, A. P. (1990). Unit activity of the medial wall of the frontal cortex during delayed performance in rats. **Behav Brain Res** 41:95-102.

Bauer, M., Whybrow, P.C., Angst, J., Versiani, M., Moller, H.J. (2002) World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) Guidelines for Biological Treatment of Unipolar Depressive Disorders, Part 1: Acute and continuation treatment of major depressive disorder. **World J Biol Psychiatry.** 3:5-43.

Bear, M.F., Connors, B.W., Paradiso, M.A. (2002). **Neurociências: Desvendando o Sistema Nervoso**, 2ed., Porto Alegre: Artmed. 855pp.

-
- Beninger, R.J., Palomo, T., Archer, T. (1996) **Dopamine Disease States**,. Complutense: Madrid. 668 pp.
- Bevilaqua, L., Ardenghi, P., Schroder, N., Bromberg, E., Schmitz, P.K., Schaeffer, E., Quevedo, J., Bianchin, M., Walz, R., Medina, J.H., Izquierdo, I. (1997) Drugs acting upon the cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A signalling pathway modulate memory consolidation when given late after training into rat hippocampus but not amygdala. **Behav Pharmacol.** 8:331-8.
- Bontempi, B., Jaffard, R. and Destrade, C. (1996) Differential temporal evolution of post-training changes in regional brain glucose metabolism induced by repeated spatial discrimination training in mice: visualization of the memory consolidation process? **Eur J Neurosci.** 8:2348-60.
- Brozoski, T.J., Brown, R.M., Rosvold, H.E., Goldman, P.S. (1979). Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. **Science** 205:929-932.
- Bubser, M., Schmidt, W.J. (1990). 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.** 37:157-168.

- Cahill, L., McGaugh, J.L., Weinberger, N.M. (2001) The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember. **Trends Neurosci.** 24:578-581.
- Carlesimo, G.A., Oscar-Berman, M. (1992) Memory deficits in Alzheimer's patients: a comprehensive review. **Neuropsychol Rev.** 3:119-169.
- Cole, B.J., Jones, G.H., Turner, J.D. (1994) 5-HT_{1A} receptor agonists improve the performance of normal and scopolamine-impaired rats in an operant delayed matching to position task. **Psychopharmacology** 116:135-142.
- Colombo PJ, Davis HP, Volpe BT. (1989) Allocentric spatial and tactile memory impairments in rats with dorsal caudate lesions are affected by preoperative behavioral training. **Behav Neurosci.** 103:1242-1250.
- Cools, A. R., Van den Bos, R., Ploeger, G., Ellenbroek, B. A. (1991). Gating function of noradrenaline in the ventral striatum: Its role in behavioural responses to environmental and pharmacological challenges. In P. Willner & J. Scheel-Kruger (Eds.) **The mesolimbic dopamine system: From motivation to action** Chichester, England: Wiley, pp. 141–173.
- Cooper, B.R., Wang, C.M., Cox, R.F., Norton, R., Shea, V., Ferris, R.M. (1994) Evidence that the acute behavioral and electrophysiological effects of bupropion (Wellbutrin) are mediated by a noradrenergic mechanism. **Neuropsychopharmacology.** 11:133-41.

Desimone, R. (1995). Neuropsychology. Is dopamine a missing link? **Nature** 376, 549-550.

Deslandes, P.N., Pache, D.M., Buckland, P., Sewell, R.D. (2002). Morphine, cocaine and antidepressant induced motivational activity and midbrain dopaminergic neurotransmission. **Eur J Pharmacol.** 453:223-229.

Dong, J. and Blier, P. (2001) Modification of norepinephrine and serotonin, but not dopamine, neuron firing by sustained bupropion treatment. **Psychopharmacology** 55:52-57.

Eichenbaum, H., Otto, T. (1992) The Hippocampus – what does it do? **Behav. Neural Biol.**, 57:2-36.

Ferris, R.M., Cooper, B.R., Maxwell, R.A. (1983) Studies of bupropion's mechanism of antidepressant activity. **J Clin Psychiatry.** 44:74-78.

Flint, A. J. (1998) Choosing appropriate antidepressant therapy in the elderly. A risk-benefit assessment of available agents. **Drugs Aging.** 13:269-280

Floresco, S. B., Seamans, J. K. and Phillips, A. G. (1997) Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. **J Neurosci.** 17:1880-1890.

Floresco, S.B., Braaksma, D.N., Phillips, A.G. (1999) Thalamic-cortical-striatal circuitry subserves working memory during delayed responding on a radial arm maze. **J Neurosci.** 19:11061-11071.

Floresco, S.B., Phillips, A.G. (2001) Delay-dependent modulation of memory retrieval by infusion of a dopamine D1 agonist into the rat medial prefrontal cortex. **Behav Neurosci.** 115:934-939.

Fontana, D.J., Daniels, S.E., Henderson, C., Eglen, R.M., Wong, E.H. (1995) Ondansetron improves cognitive performance in the Morris water maze spatial navigation task. **Psychopharmacology** 120:409-417.

Fuster, J.M. (1997) Network memory. **Trends Neurosci.** 20:451-459.

Gasbarri, A., Packard, M.G., Campana, E., Pacitti, C. (1994). Anterograde and retrograde tracing of projections from the ventral tegmental area to the hippocampal formation in the rat. **Brain Res Bull.** 33:445-452.

Goldman-Rakic, P. S. (1990) Cellular and circuit bases of working memory in the prefrontal cortex of nonhuman primates. **Progress in Neurobiology** 85, 325-335.

Goldman-Rakic, P.S., Lidow, M.S., Gallager, D.W. (1990) Overlap of dopaminergic, adrenergic, and serotonergic receptors and complementarity of their subtypes in primate prefrontal cortex. **J Neurosci.** 10:2125-2138.

Goldman-Rakic, P.S., Lidow M.S., Smiley J.F., Williams M.S. (1992). The anatomy of dopamine in monkey and human prefrontal cortex. **J Neural Transm Suppl.** 36:163-177.

Goldman-Rakic, P.S. (1995) Cellular basis of working memory. **Neuron** 14:477-485.

Goldman-Rakic, P.S. (1996). Regional and cellular fractionation of working memory. **Proc Natl Acad Sci USA** 93:13473-13480.

Grecksch, G., Matthies, H. (1981). Differential effects of intrahippocampally or systemically applied picrotoxin on memory consolidation in rats. **Pharmacol Biochem Behav.** 14:613-616.

Hagan, R.M., Kilpatrick, G.J., Tyers, M.B. (1993) Interactions between 5-HT₃ receptors and cerebral dopamine function: implications for the treatment of schizophrenia and psychoactive substance abuse. **Psychopharmacology** 112:68-75.

Hodges, H. (1996) Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. **Brain Res Cogn Brain Res** 3:167-181.

Horst, W.D., Preskorn, S.H. (1998). Mechanisms of action and clinical characteristics of three atypical antidepressants: venlafaxine, nefazodone, bupropion. **J Affect Disord** 51:237-254.

Howell, L.L., Czoty, P.W., Byrd, L.D. (1997) Pharmacological interactions between serotonin and dopamine on behavior in the squirrel monkey. **Psychopharmacology** 131:40-8.

Hurt, R.D, Sachs, D.P, Glover, E.D, Offord, K.P, Johnston, J.A., Dale, L.C., Khayrallah, M.A., Schroeder, D.R., Glover, P.N., Sullivan, C.R., Croghan, I.T, Sullivan, P.M. (1997) A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. **N Engl J Med.** 337:1195-1202

Izquierdo, I. (1992) **Qué es la Memoria.** Ciencia Hoy: Buenos Aires.88p.

Izquierdo, I., Barros, D.M., Mello e Souza, T., de Souza, M.M., Izquierdo, L.A., Medina, J.H. (1998a) Mechanisms for memory types differ. **Nature** 393: 635-636.

Izquierdo, I., Izquierdo, L.A., Barros, D.M., Mello e Souza, T., de Souza, M.M., Quevedo, J., Rodrigues, C., Sant'Anna, M.K., Madruga, M., Medina, J.H. (1998b). Differential involvement of cortical receptor mechanisms in working, short-term and long-term memory. **Behav Pharmacol** 9:421-427.

Izquierdo, I., Medina, J.H., Vianna, M.R.M., Izquierdo, L.A., Barros, D.M. (1999) Separated mechanisms for short- and long-term memory. **Behav Brain Res** 103:1-19.

Izquierdo, I., McGaugh, J.L (2000). Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. **Behav Pharmacol.** 11:517-534.

Izquierdo, I. (2002) **Memória**. Artmed: Porto Alegre. 95p.

Iyer, R.N., Bradberry, C.W. (1996). Serotonin-mediated increase in prefrontal cortex dopamine release: pharmacological characterization. **J Pharmacol Exp Ther.** 277:40-47.

Juraska, J.M., Henderson, C., Muller, J. (1984) Differential rearing experience, gender, and radial maze performance. **Dev Psychobiol.** 117:209-15.

Keseberg, U. and Schmidt, W. T. (1993). Tetrahydroaminoacridine attenuates dizocilpine-induced behavioural changes. **Behav Brain Res.** 53:113-118;

Kesner, R.P. (1989) Retrospective and prospective coding of information: role of the medial prefrontal cortex. **Exp Brain Res.** 74:163-167.

Kesner, R.P., Bolland, B.L., Dakis, M. (1993) Memory for spatial locations, motor responses, and objects: triple dissociation among the hippocampus, caudate nucleus, and extrastriate visual cortex. **Exp Brain Res.** 93:462-470.

Kolb, B., Cioe, J. (1996) Sex-related differences in cortical function after medial frontal lesions in rats. **Behav Neurosci.** 110:1271-1281.

Lathe, R. (2001) Hormones and the hippocampus. **J Endocrinol** 169:205-231.

Li, S.X., Perry, K.W., Wong, D.T. (2002) Influence of fluoxetine on the ability of bupropion to modulate extracellular dopamine and norepinephrine concentrations in three mesocorticolimbic areas of rats. **Neuropharmacology**. 42:181-190.

Luciana, M., Collins, P.F., Depue, R.A. (1998) Opposing roles for dopamine and serotonin in the modulation of human spatial working memory functions. **Cereb Cortex**. 8:218-226.

Luciana, M., Burgund, E.D., Berman, M., Hanson, K.L. (2001) Effects of tryptophan loading on verbal, spatial and affective working memory functions in healthy adults. **J Psychopharmacol**. 15:219-230.

Maguire, E.A., Burgess, N., Donnett, J.G., Frackowiak, R.S., Frith, C.D., O'Keefe, J. (1998) Knowing where and getting there: a human navigation network. **Science**. 280:921-924.

Matsumoto, M., Togashi, H., Mori, K., Ueno, K., Miyamoto, A., Yoshioka, M. (1999) Characterization of endogenous serotonin-mediated regulation of dopamine release in the rat prefrontal cortex. **Eur J Pharmacol**. 383:39-48.

McDonald, R. J. and White, N. M. (1993) A triple dissociation of memories systems: Hippocampus, amygdala, and dorsal striatum. **Behav. Neurosci**. 107: 3-22.

McGaugh, J.L. (200) Memory--a century of consolidation. **Science**. 287:248-251.

Mishkin, M., Malamut, B. and Bachevalier, J. (1984) Memories and habits: Two neural systems. In: G. Lynch, J. L. McGaugh and N. Weinberger (Eds.) **Neurobiology of learning and memory**, New York: Guilford Press (pp.65-77).

Morris, R.G., Schenk, F., Tweedie, F., Jarrard, L.E. (1990) Ibotenate Lesions of Hippocampus and/or Subiculum: Dissociating Components of Allocentric Spatial Learning. **Eur J Neurosci**. 2:1016-1028.

Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., Morris, R.G. (1995) Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. **Proc Natl Acad Sci USA**. 92:9697-9701.

Murphy, B.L., Arnsten, A.F., Jentsch, J.D., Roth, R.H. (1996) Dopamine and spatial working memory in rats and monkeys: pharmacological reversal of stress-induced impairment. **J Neurosci**. 16:7768-7775.

Nakahara, D., Ozaki, N., Miura, Y., Miura, H., Nagatsu, T. (1989) Increased dopamine and serotonin metabolism in rat nucleus accumbens produced by intracranial self-stimulation of medial forebrain bundle as measured by in vivo microdialysis. **Brain Res**. 495:178-181.

-
- Nowakowska, E., Kus, K., Chodera, A., Rybakowski, J.(2000) Behavioural effects of fluoxetine and tianeptine, two antidepressants with opposite action mechanisms, in rats. **Arzneimittelforschung**. 50:5-10.
- Ogren, S.O. (1986) Analysis of the avoidance learning deficit induced by the serotonin releasing compound p-chloroamphetamine. **Brain Res Bull**. 16:645-660.
- O'Keefe, J. and Nadel, L. (1978) Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. **Exp Brain Res**. 31:573-590.
- O'Keefe, J. and Conway, D. H.(1980). On the trail of the hippocampal engram. **Physiol. Psychol**. 8: 229-238.
- O'Keefe, J. (1983) Spatial memory within and without hippocampal system. In:W. Seifert (Ed.) **Neurobiology of the hippocampus**. Academy Press, London, UK. pp 375-403.
- Olton, D. S., & Samuelson, R. J. (1976). Remembrances of places past: Spatial memory in the rat. **J Exp Psychol Anim Behav Process** 2:97-116.
- Packard, M. G., Hirsh R., White, N. M. (1989) Differential effects of fornix and caudate nucleus lesions on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. **J Neurosci**. 9: 1465-72.

- Packard, M. G., White, N. M. (1991) Dissociation of hippocampus and caudate nucleus memory systems by posttraining intracerebral injection of dopamine. **Behav Neurosci.** 105: 295-306.
- Packard, M.G., Cahill, L., McGaugh, J.L. (1994) Amygdala modulation of hippocampal-dependent and caudate nucleus-dependent memory processes. **Proc Natl Acad Sci U S A** 91:8477-81.
- Packard, M.G., Teather, L.A. (1997) Double dissociation of hippocampal and dorsal-striatal memory systems by posttraining intracerebral injections of 2-amino-5-phosphonopentanoic acid. **Behav Neurosci.** 111:543-551.
- Parsons, L.H., Justice, J.B. Jr. (1993) Perfusate serotonin increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by in vivo microdialysis. **Brain Res.** 606:195-9.
- Perumal, A.S., Smith, T.M., Suckow, R.F., Cooper, T.B. (1986) Down regulation of beta-receptors by bupropion and its major metabolite in mouse brain. **Neuropharmacology.** 25:1323-6.
- Quartermain, D., Clemente, J., Shemer, A. (1993) 5-HT_{1A} agonists disrupt memory of fear conditioning in mice. **Biol Psychiatry.** 33(4):247-254.
- Sage, J. R. and Knowton, B. J. (2000) Effects of US Devaluation on Win-Stay and Win-shift Radial Maze Performance in rats. **Behav. Neurosci.** 114: 295-306.

Santucci, A.C., Knott, P.J., Haroutunian, V. R. (1996) Excessive serotonin release, not depletion, leads to memory impairments in rats. **Eur J Pharmacol.** 295:7-17.

Seamans, J.K., Floresco, S.B., Phillips, A.G. (1995) Functional differences between the prelimbic and anterior cingulate regions of the rat prefrontal cortex. **Behav Neurosci.** 109:1063-103.

Seamans, J.K., Floresco, S.B., Phillips, A.G. (1998) D1 receptor modulation of hippocampal-prefrontal cortical circuits integrating spatial memory with executive functions in the rat. **J Neurosci.** 18:1613-21.

Scoville, W. M. and Milner, B. (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. **J Neurol Neurosurg Psychiatry** 21:11-21.

Siegel, G.J., Agranoff, B.W., Albers, R.W., Molinoff, P.B. (1994) **Basic Neurochemistry.** 5ed. Raven Press: New York. 1080p.

Sonawalla, S. B. and Fava, M.(2001) Severe depression: is there a best approach? **CNS Drugs.** 15:765-776.

Spoont, M.R. (1992) Modulatory role of serotonin in neural information processing: implications for human psychopathology. **Psychol Bull.** 112:330-350.

Squire, L. R. (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. **Psychol Rev.** 99:195-231.

Stepien, L. and Sierpinski, S. (1964) Impairment of recent memory after temporal lesions in man. **Neuropsychologia**, 2:291-303.

Tolman, E. C. (1948) Cognitive maps in rats and men. **Psychol. Rev.** 55:189-208.

van Haaren, F., Wouters, M., van de Poll, N.E. (1987) Absence of behavioral differences between male and female rats in different radial-maze procedures. **Physiol Behav.** 39:409-12.

White, N.M. (1997) Mnemonic functions of the basal ganglia. **Curr. Opin. Neurobiol.** 7: 164-169.

Wang, R.Y., Ashby, C.R. Jr, Zhang, Y. (1996) Modulation of the A10 dopamine system: electrophysiological studies of the role of 5-HT₃-like receptors. **Behav Brain Res.** 73:7-10.

Williams, C. L. and McGaugh, J. L. (1994) Enhancement of memory processing in an inhibitory avoidance and radial maze task by post-training infusion of bombesin into the nucleus tractus solitarius. **Brain Res.** 654:251-6.