

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

**PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX CINGULADO E DO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL
NA MEMÓRIA DA TAREFA DE ESQUIVA INIBITÓRIA EM RATOS**

TADEU MELLO E SOUZA

ORIENTADOR: PROF. IVÁN IZQUIERDO

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas - Bioquímica do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do título de Doutor em Bioquímica.

Porto Alegre

2001

In Memoriam

Carl Sagan

AGRADECIMENTOS

NO DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

Ao Prof. Iván Izquierdo, que, além de MESTRE é, sobretudo, AMIGO.

Aos AMIGOS do Departamento (ou do CPG), pela honra de conhecê-los. Em especial, à Beti, ao Jorge e ao Rod, por orientações passadas.

A todos que colaboraram de alguma forma com o meu trabalho. Em especial, aos integrantes do Centro de Memória.

À Cléia, do Pós-Graduação, por sempre carregar o árduo piano da burocracia.

ÀS INSTITUIÇÕES...

pela universidade pública e gratuita.

pelo apoio financeiro do CNPq e do PRONEX.

AOS AMIGOS DE TODOS OS CANTOS DO MUNDO,

Meu muito obrigado a VOCÊS.

Em especial, à família Vencato, pela confiança e auxílio nos mais diversos momentos

AO AMOR...

de meus pais (Geraldo e Hedwiges), que sempre acreditaram, que sempre têm saudade, e que sempre comigo estarão presentes

de meu irmão Thiago

da minha querida e linda Inajara. Graças a ti, enfim, tornei-me um girassol.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	5
1.1 Memória, um processo dinâmico	5
1.2 Plasticidade Sináptica, Ontogenia do SNC e Memória	6
1.3 Neuroanatomia Funcional da Memória	7
1.3.1 Sistemas de Memórias ou Memórias de Sistemas?	7
1.3.2 Dinamismo e Polimorfismo do Engrama.....	9
1.3.2.1 No Aprendizado de Procedimento Sequencial (APS).....	9
1.3.2.2 Na Esquiva Inibitória e no Aprendizado Discriminativo de Esquiva (ADE)	12
1.3.2.3 Consolidação: Um Processo Duradouro.....	13
1.4 O Córtex Telencefálico	15
1.4.1 Áreas Corticais: Classificação e Evolução.....	16
1.4.2 Córtex Pré-Frontal.....	18
1.4.3 Córtex Cingulado Posterior.....	19
1.5 Neurofarmacologia da Memória.....	20
2. OBJETIVOS	21
3. O CÓRTEX CINGULADO E A CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DA TAREFA DE ESQUIVA INIBITÓRIA	22
3.1 Atualização.....	33
4. A ÁREA PRÉ-CENTRAL MEDIAL E A CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DA TAREFA DE ESQUIVA INIBITÓRIA	34
4.1 Atualização.....	43
5. PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX CINGULADO ANTERIOR NA EVOCAÇÃO DA MEMÓRIA DA TAREFA DE ESQUIVA INIBITÓRIA	44
6. ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES SEROTONÉRGICOS DO CÓRTEX INSULAR AGRANULAR NA CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA DA TAREFA DE ESQUIVA INIBITÓRIA ..55	
7. DISCUSSÃO	70
7.1 Estão os Nossos Paradigmas Corretos?.....	70
7.1.1 A Topologia do Engrama.....	70
7.1.2 Papel das Estruturas na Memória	73
7.1.3 Considerações Sobre a Medida da Memória através da Evocação	77
8. BIBLIOGRAFIA	80
9. LISTA DE PUBLICAÇÕES NO DOUTORADO	90
9.1 Da Tese	90
9.2 Sobre Cingulado ou Pré-Frontal (Fora da Tese)	90
9.3 Outras	91

1. INTRODUÇÃO

“Nada me lembra mais a igreja de São Raimundo do que o cheiro denso de suor mesclado com solas, cachaça e urina de animais deixados atrás do adro, nos sábados de feira. Os anjos, a pia dos altares, e o grave esvoaçar dos véus das noivas aderiam àquele cheiro híbrido que escalava cinqüenta e dois místicos degraus para se misturar com parábolas, salmos, incenso e à água encardida dos batismos.”

Cândido Rolim, em *“Bacia de Rostos”*

1.1 Memória, um processo dinâmico

Aprendizagem e **memória** são propriedades básicas do Sistema Nervoso Central (SNC). Com elas, desenvolvemos estratégias mais adequadas de acordo com experiências passadas. Ambas estão intimamente interligadas e inexistem sem experiências: “Não há nada no intelecto que não tenha estado previamente nos sentidos” (Aristóteles, há dois mil anos, conforme Marshall, 1988) ou pelo menos que não se tenha desenvolvido com a ajuda dos mesmos (Hume, 1748).

Definimos memória, neste trabalho, basicamente como o armazenamento e a evocação de uma informação aprendida (Izquierdo, 1992). Esta se diferencia de outros tipos de memória, tais como a genética e a extra-somática (pinturas gravadas em cavernas, livros, mensagens gravadas em disquetes etc.), igualmente importantes na evolução humana, mas que, mais do que experiências individuais, refletem nossa experiência ao nível de espécie ou de diferentes culturas, respectivamente.

A formação da memória é um processo dinâmico que pode ser dividido basicamente em três fases: (1) **aquisição** da informação através da experiência, seja ela interna ou externa, (2) **consolidação**, onde o traço mnemônico, ainda instável, é processado para o seu (3) **armazenamento** (McGaugh, 1966 e 2000; Izquierdo, 1989; Quillfeldt,

1994). A abordagem fenomenológica nos faculta estudar este processo, bem como avaliá-lo, através da **evocação** da memória, quando observamos a mudança de comportamento do animal devido ao processo de memorização (Quillfeldt, 1994).

1.2 Plasticidade Sináptica, Ontogenia do SNC e Memória

O SNC é constituído de agrupamentos de neurônios, que por sua vez formam sistemas que se interligam entre si de uma forma organizada, formando vários sistemas de processamento de informação (Edelman e Mountcastle, 1978). A comunicação entre os neurônios é feita através das sinapses, conforme já evidenciado por Ramón y Cajal há aproximadamente um século (Bliss e Collingridge, 1993). Modificações das sinapses de uma forma dependente de sua atividade exercem um papel fundamental na ontogenia dos agrupamentos neuronais e, por sua vez, dos sistemas de processamento que estes formam. Esta é uma forma de relevar os fenômenos epigenéticos na ontogenia do SNC, não restringindo o seu desenvolvimento à imposição dos genes (Changeux, 1991). Da mesma forma, e através da experiência, estas modificações modelam a rede neuronal, mesmo após o seu amadurecimento, de forma a torná-la, a princípio, cada vez mais funcional e adaptativa. A memória seria uma das propriedades que emergiriam da integração destas modificações ao longo da rede (Bliss e Collingridge, 1993; Changeux, 1991; Izquierdo e Medina, 1997; Tsumoto, 1992 e 1993). Uma memória, portanto, tem um traço, que é fisicamente marcado na rede neuronal pelas sinapses e seus neurônios portadores. Este traço foi denominado de *engrama* primeiramente pelo biólogo alemão Richard Semon (Quillfeldt, 1994; Schacter, 1982), termo que utilizaremos.

Um dos primeiros defensores da existência dos fenômenos de plasticidade sináptica dependentes de atividade foi Donald Hebb, em seu livro "*The Organization of Behavior*", em 1949: "Quando uma célula A excita através do seu axônio uma célula B e repetida e persistentemente participa na gênese de um impulso em B, ocorre um processo de crescimento ou uma alteração metabólica em uma ou em ambas as células, de tal modo que é aumentada a eficácia de A em desencadear um impulso em B em relação às outras células que possam fazê-lo". Nesta hipótese, memória e processamento, portanto, estariam intrinsecamente relacionados, desde a origem do traço até a elaboração de novos processamentos e, por conseguinte, de novas respostas comportamentais.

Como as memórias podem durar anos, acredita-se que as alterações sinápticas que lhe sejam o correlato fisiológico também sejam duradouras. Algumas alterações sinápticas dependentes de atividade neuronal não atendem a este requisito, tais como a Potenciação Pós-Tetânica, a Potenciação de Curta Duração (PCD ou, no inglês, STP — “Short-Term Potentiation”) e a Facilitação por Pulso Pareado; porém, como a Potenciação de Longa Duração (PLD ou, no inglês, LTP — “Long-Term Potentiation”) e a Depressão de Longa Duração (DLD ou, no inglês, LTD — “Long-Term Depression”) duram semanas ou meses, tornaram-se fortes candidatas a mediadoras da formação de memórias de longa duração (Bliss e Collingridge, 1993; Izquierdo e Medina, 1997; Tsumoto, 1992 e 1993).

A PLD é classicamente definida como um aumento duradouro (maior que uma hora) nos potenciais excitatórios pós-sinápticos de células individuais ou populações neuronais, induzido por um breve período de estimulação tetânica de alta frequência (Bliss e Collingridge, 1993). A PLD foi descrita primeiramente por Bliss e colaboradores (Bliss e Gardner-Medwin, 1973 e Bliss e Lømo, 1973). Estes trabalhos utilizaram a via perforante que inerva o giro denteado como alvo de tetanizações. Inúmeros trabalhos atualmente relatam a existência da PLD e da DLD em diversas estruturas além do hipocampo, tais como no isocórtex (Artola e Singer, 1987; Crair e Malenka, 1995; Tsumoto, 1992), na amígdala (Chapman *et al.*, 1990; Clugnet e LeDoux, 1990), no núcleo dorsolateral do septo (Zheng e Gallagher, 1992), no núcleo acúmbeo (Kombian e Malenka, 1994) e nos córtices cingulados anterior (Sah e Nicoll, 1991) e posterior (Hedberg e Stanton, 1995). Devemos ressaltar que a PLD não é um fenômeno homogêneo, mas varia em suas propriedades de estrutura a estrutura, ou mesmo de via a via dentro de uma mesma estrutura (exemplos em Bliss e Collingridge, 1993, e Nicoll e Malenka, 1995).

1.3 Neuroanatomia Funcional da Memória

1.3.1 Sistemas de Memórias ou Memórias de Sistemas?

Squire e Zola (1996) classificam as memórias em **sistemas de memórias**, dividindo-as basicamente entre memórias declarativas (ou explícitas) e não-declarativas (ou implícitas). Por esta classificação, a memória declarativa está acessível à consciência e dela necessita, ao contrário da memória não-declarativa. Portanto, esta abordagem releva o papel

exercido pela consciência na memória. Em acréscimo, esta classificação associa cada memória a uma determinada estrutura (por exemplo, hábitos e habilidades com o estriado, “priming” com o neocórtex).

Entretanto, Fuster (1997) defende a noção que a organização cortical da memória se baseia em **memórias de sistemas**. Segundo Fuster, a memória seria apenas uma propriedade emergente advinda do processamento da informação pelos sistemas cerebrais e, portanto, deve ser classificada conforme o processamento de seus conteúdos. Assim, as memórias estariam distribuídas por sistemas corticais e, não, em estruturas específicas, como defendem Squire e Zola (1996). Segundo Fuster (1997), as memórias seriam classificadas em dois tipos básicos: sensória e motora.

As memórias sensoriais têm como conteúdo fatos, eventos, objetos, pessoas, nomes, conceitos. Estas variam em complexidade: das mais simples, como as das sensações elementares, às mais complexas, como as dos conceitos abstratos. Estas últimas, com o tempo, podem se tornar independentes das primeiras através das operações cognitivas (Fuster, 1997). Este é um tema complexo e antigo. Por sinal, Hume (1748) defende a noção de que estas operações cognitivas jamais seriam realizadas sem a prévia existência da experiência sensorial.

À medida que crescem em complexidade, as memórias sensoriais vão requerendo maior número de sistemas de processamento corticais: as mais simples, apenas áreas sensoriais ou parasensoriais, enquanto as representações de nossa memórias pessoais envolveriam largas porções do córtex associativo (Fuster, 1997). Entretanto, estas memórias também requerem, para sua formação, estruturas diencefálicas e o lobo temporal mesial (Fuster, 1997; Izquierdo e Medina, 1997; Squire e Zola, 1996), que é composto pela formação hipocampal (hipocampo, giro denteado, subículo e córtex entorrinal) e pelos córtices perirrinal e parahipocampal (Zilles e Wree, 1995).

As memórias motoras, por sua vez, relacionam-se a atos motores, como o de aprender a dirigir um carro ou andar de bicicleta. As memórias motoras são mediadas pelas estruturas frontais, dentre as quais: em sua forma mais primitiva, o *córtex motor primário*, que representa e processa os atos motores elementares (Fuster, 1997); o **córtex pré-motor**, que codifica atos e programas motores definidos por uma meta, seqüência ou trajetória (Bear *et al.*, 1995; Fuster, 1997); e o **córtex pré-frontal**, considerado o córtex associativo

do lobo frontal, que codifica a representação de ações complexas (conceitos de ações, planos e programas), bem como atua nas operações da memória de trabalho, que viabilizam a realização destas representações (Fuster, 1997).

A maior complexidade de uma informação processada torna confuso o limite entre as memórias sensoriais e as motoras. Sistemas responsáveis pelas memórias sensoriais têm associações motoras, estendendo-se ao lobos frontais, bem como as ações motoras não-elementares podem ser executadas em conjunto com regiões corticais posteriores (Fuster, 1997; Hikosaka *et al.*; 1999). A conectividade entre ambos os sistemas faz-se essencial na memória de trabalho ou quando é necessária uma integração sensório-motora (Fuster, 1997), como veremos logo adiante (em 1.3.2.1).

1.3.2 Dinamismo e Polimorfismo do Engrama

O dinamismo e o polimorfismo do engrama evidenciam-se em diversas abordagens experimentais, indicando que, assim como o processamento da informação, a memória recebe contribuição diferencial, ao longo do tempo, de múltiplas áreas. Analisaremos alguns modelos experimentais que evidenciam estes conceitos.

1.3.2.1 No Aprendizado de Procedimento Seqüencial (APS)

No *aprendizado de procedimento seqüencial* (APS), macacos aperfeiçoam-se, de acordo com uma ordem pré-estabelecida, no ato de tocar duas teclas que são simultaneamente iluminadas dentro de uma matriz 4x4. Cada par simultaneamente apresentado, por sua vez, está contido em uma seqüência ainda maior, de cinco pares, cujo término só é possível se todos os pares são corretamente respondidos. Portanto, o animal tem que apresentar uma boa integração sensório-motora para ter um bom desempenho na referida tarefa (Hikosaka *et al.*, 1999).

Hikosaka e colaboradores (1999) postulam que a memória do APS utiliza dois sistemas, que interagem entre si: o sistema de coordenadas espaciais (SCE), que corresponde ao circuito fechado formado pelo córtex associativo (especialmente o **pré-frontal**) e a porção anterior dos gânglios da base (especialmente o caudato); e o sistema de coordenadas motoras (SCM), que corresponde ao circuito fechado formado pelo córtex pré-motor e motor (especialmente a **área suplementar motora**) e a porção intermediária dos

gânglios da base (especificamente, o putâmen).

No início, o procedimento motor é realizado passo a passo, em seqüências consecutivas de transformações de coordenadas espaciais em coordenadas motoras. Com a repetição em uma ordenação constante, novas conexões se formam dentro de cada sistema de coordenadas (Figura 1). O SCE é mais flexível, amplo e efêmero em sua plasticidade; o SCM, mais lento, restrito e robusto. Assim, as primeiras alterações ocorrem a nível do SCE, onde o engrama fica inicialmente mais representado. Ao longo do tempo, porém, estas alterações desaparecem, enquanto que as alterações no SCM vão surgindo e vingando, por sua maior robustez. O engrama transforma-se, em seu dinamismo. O resultado final seria que, aparentemente, a memória migraria de áreas motoras e pré-motoras corticais para áreas subcorticais, um caminho inverso ao das memórias declarativas (Fuster, 1997; Hikosaka, 1999). Portanto, os primeiros estágios memorizam passos, em separado; os finais, a seqüência como um todo. Em acréscimo, o SCE não especifica o efetor, ao contrário do SCM: uma memória motora em seus primeiros passos é mais facilmente transferível de um membro treinado a um membro não treinado do que nos estágios finais, cuja transferência, muitas vezes, é inviável (Hikosaka, 1999). Por outro lado, o SCE detém a propriedade da analogia e da generalidade (diante de certos limites, pois se trata de memória não-declarativa), ao contrário do SCM. Entretanto, o SCM permite um desempenho mais apurado, preciso e veloz em tarefas repetitivas. Desta forma, a partir de um largo repertório (adquirido, inclusive, pela experiência), ocorre uma gradual seleção da quantidade de informação processada, o que culmina com uma resposta precisa e rápida. Em termos evolutivos, labilidade e generalidade nas fases iniciais e rapidez e eficácia nas fases finais devem conferir maior adaptabilidade ao sistema.

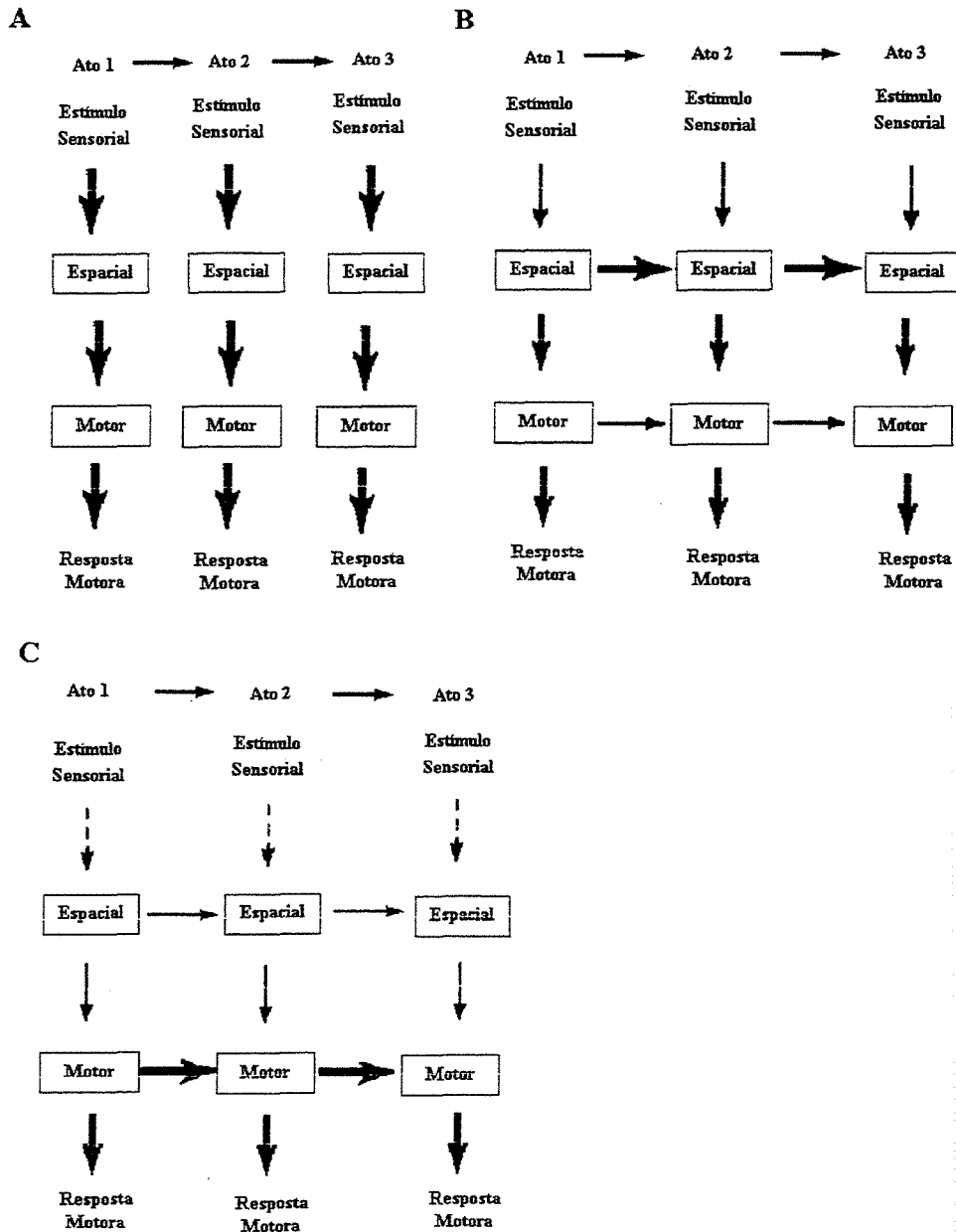


Figura 1 - Alterações hipotéticas do processamento da informação durante o aprendizado de procedimento sequencial. Para maiores detalhes, ver Hikosaka et al., 1999. (A) Representa o estágio anterior à aprendizagem, no qual o sujeito executa três ações (Ato 1-3) passo a passo, procedendo a transformações sensório-motoras a cada ação (conexão vertical). Ao executar as ações continuamente na mesma ordem, (B) e (C), processos sequenciais são formados entre as ações (conexões horizontais) ao nível de cada sistema de coordenadas, espacial (SCE) ou motor (SCM). O tamanho das setas indica, em termos relativos, a intensidade das conexões [ou a “densidade” do engrama]. Adaptado de Hikosaka et al., 1999.

1.3.2.2 Na Esquiva Inibitória e no Aprendizado Discriminativo de Esquiva (ADE)

Lesões bilaterais da formação hipocampal provocam tanto amnésias anterógradas, que impossibilitam a formação de novas memórias, como amnésias retrógradas, que impossibilitam a evocação de antigas memórias. Por sinal, as amnésias retrógradas provocadas por lesões na formação hipocampal estão sempre relacionadas com acontecimentos mais recentes do que as amnésias provocadas por lesões isocorticais, o que gerou a hipótese de que as memórias declarativas migrem da formação hipocampal às regiões isocorticais (Squire, 1992).

No caso da memória da tarefa de **esquiva inibitória**, observou-se que a mesma é sensível a infusões de muscimol, um agonista dos receptores gabaérgicos do tipo A, e de AP5, um antagonista dos receptores NMDA, quando administrados: no hipocampo, imediatamente pós-treino; no córtex entorrinal, de 30 a 180 minutos pós-treino; e no córtex parietal posterior, de 60 a 180 minutos pós-treino (Izquierdo *et al.*, 1997; Zanatta *et al.*, 1997). Além disto, a administração pré-teste de CNQX, um antagonista não específico dos receptores glutamatérgicos do tipo AMPA, é amnésico quando infundido no hipocampo 1 dia após o treino; no córtex entorrinal, de 1 a 31 dias; e no córtex parietal posterior, de 1 a 90 dias (Izquierdo e Medina, 1997; Izquierdo *et al.*, 1997; Roesler *et al.*, 1997). Estes resultados podem sugerir, a princípio, que a memória da esquiva inibitória (tanto pela análise de sua consolidação como a de sua evocação) migra do hipocampo para o córtex entorrinal, e deste para o córtex parietal posterior.

No *aprendizado discriminativo de esquiva* em coelhos (ADE), o animal aprende a se esquivar de um choque através de uma determinada resposta comportamental (no caso, caminhar em uma esteira). Tal choque é pareado e deve ser associado com um entre dois tons sonoros apresentados. Tal aprendizado é feito através de várias apresentações, onde o animal vai continuamente melhorando o desempenho (Gabriel *et al.*, 1988; Vogt e Gabriel, 1993). No circuito mostrado na Figura 2, o núcleo talâmico ântero-dorsal (AD) projeta-se ao córtex cingulado posterior que, por sua vez, tem conexões recíprocas com o núcleo talâmico ântero-ventral (AV) (Shibata, 1993). Durante o ADE, o AD é ativado logo após a novidade, enquanto o AV é ativado em estágios avançados do aprendizado, possivelmente porque AD suprime AV através da área 29c/d do cingulado posterior. Por sinal, esta área

aumenta gradativamente de atividade durante os estágios do aprendizado. Ocorre, portanto, a migração do engrama ao longo dos diferentes componentes do circuito: de AD para AV e área 29 c/d (Gabriel *et al.*, 1988; Vogt e Gabriel, 1993). Após extensivo treinamento, alterações do engrama migram para outra região do cérebro, pois a atividade diferencial neste circuito devida ao treinamento desaparece (Vogt e Gabriel, 1993), assim como lesões combinadas dos núcleos médio-dorsais e anteriores não afetam o desempenho de animais extensivamente treinados (Hart *et al.*, 1997).

1.3.2.3 *Consolidação: Um Processo Duradouro*

O armazenamento definitivo da memória de longa duração não é executado de imediato, mesmo que para tarefas pontuais que exijam apenas uma rápida sessão de treino (v.g., esquivas inibitórias) (McGaugh, 2000). Conforme proposto inicialmente por Müller e Pilzecker em 1900 (ver McGaugh, 2000), o processo de consolidação requer algumas horas, e sua ruptura gera amnésia retrógrada. Conforme postulado por McGaugh (2000), tal característica não se deve a limitações da maquinaria molecular e celular do cérebro, pois as memórias transitórias (memória de trabalho e de curta duração) são quase que imediatamente criadas. Provavelmente, este longo período ocorre pela necessidade adaptativa de modulação da intensidade do traço mnemônico; isto é, durante o processo de consolidação, processos endógenos seriam ativados tornando possível a análise da relevância da informação e, conforme a prioridade de seu conteúdo, seu armazenamento com maior ou menor robustez.

Portanto, devido ao grande dinamismo do engrama, o processo de consolidação seria melhor denominado de *fase de processamento da informação*, pois o termo consolidação implica que o traço já esteja estabelecido e apenas precisa ser estabilizado. Por sinal, Bloch (1970) já defendia esta idéia que, porém, não vingou, pelo menos em termos de nomenclatura.

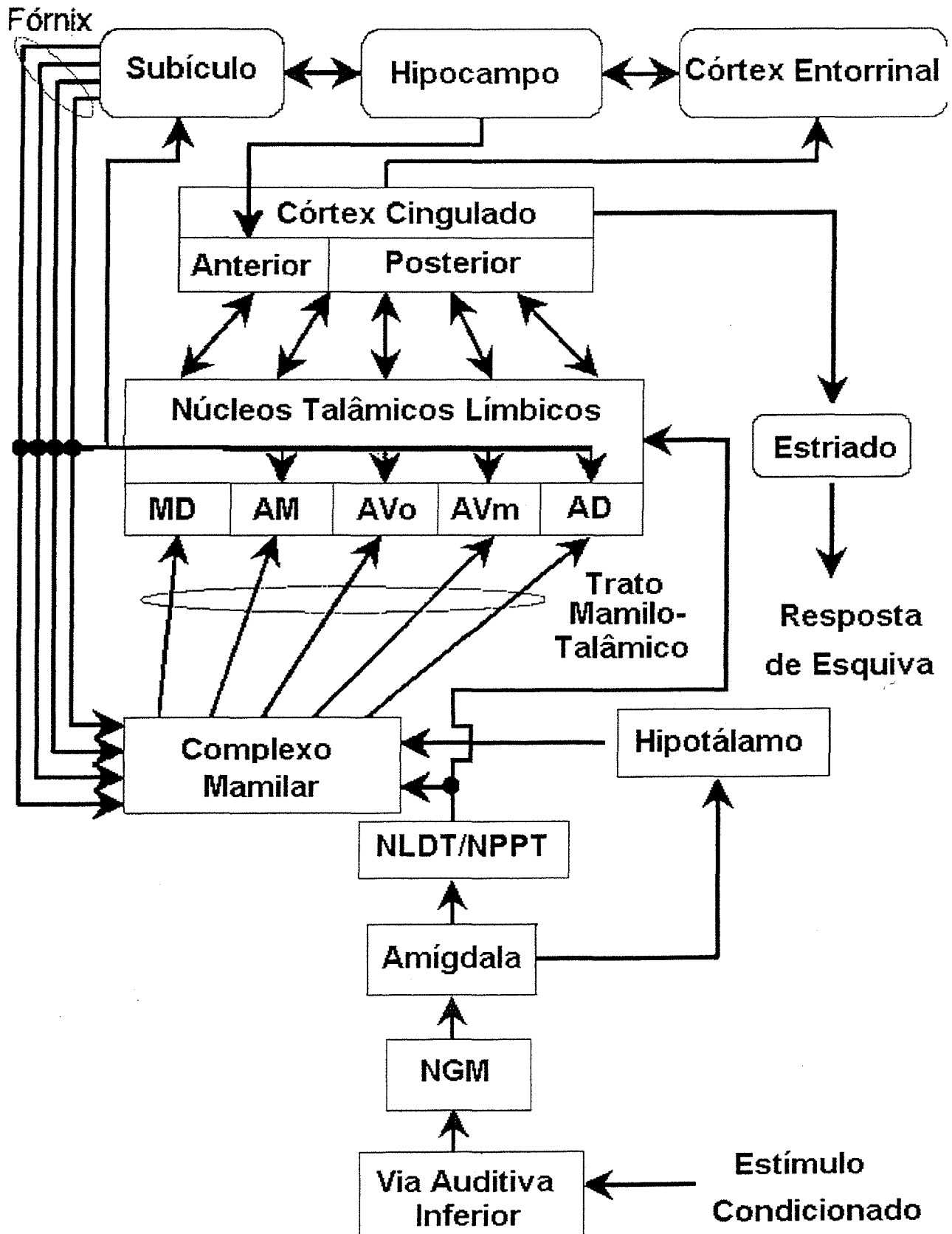


Figura 2 - Diagrama esquemático da circuitaria neuronal e do fluxo de informação ao qual o córtex cingulado está inserido e está envolvido no aprendizado do aprendizado discriminativo de esquia. Adaptado de Kubota e Gabriel, 1995.

1.4 O Córtex Telencefálico

Ao longo do desenvolvimento embrionário dos vertebrados, três vesículas básicas (*rombencéfalo*, *mesencéfalo* e *prosencefalo*) surgem a partir da parte anterior do tubo neural, que formará o encéfalo. Vesículas secundárias surgem, ao pares, a partir do prosencefalo (ou encéfalo anterior): o *diencéfalo* (que dará origem ao tálamo e ao hipotálamo) e o *telencefalo*. O telencefalo é caracterizado por uma substância cinzenta em sua superfície exterior, o **córtex**, e uma substância branca, composta por fibras e preenchida por estruturas subcorticais, tais como os núcleos da base e a amígdala (Bear *et al.*, 1995).

O córtex do telencefalo (ou simplesmente córtex, embora este não seja o único) é formado por diversas camadas de neurônios (no máximo, seis) e tem espessura ínfima em relação à sua superfície. O tamanho do córtex acompanha, em termos alométricos, as dimensões corporais (Finlay e Darlington, 1995). Existe uma grande variação em sua superfície ao longo das diferentes espécies: por exemplo, de 3 a 5 cm² em pequenos insetívoros e roedores, a 1100 cm² em seres humanos (Northcutt e Kaas, 1995). Entretanto, ocorre apenas uma pequena variação em termos de espessura, que apenas dobra entre as espécies de menor e maior dimensão (Rakic, 1995). Tais aspectos são uma consequência de como o córtex é formado em sua ontogenia, bem como é organizado em termos funcionais.

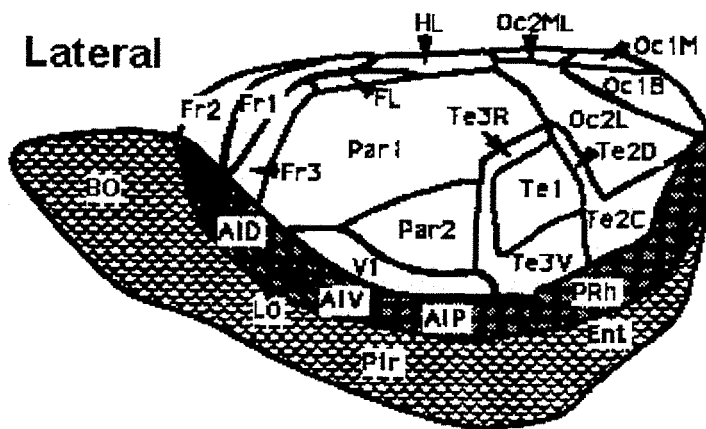
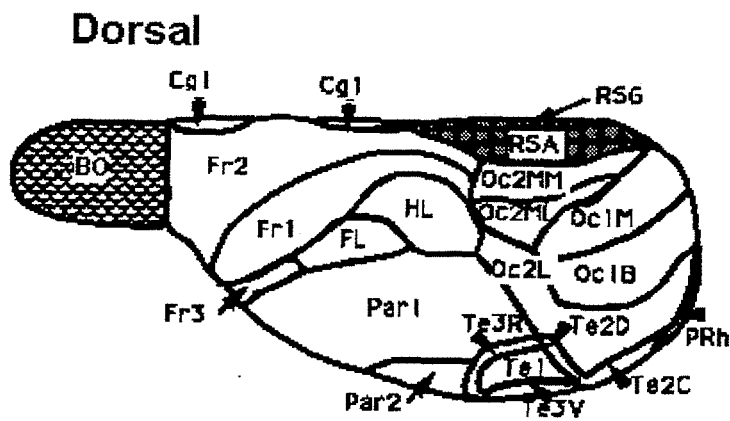
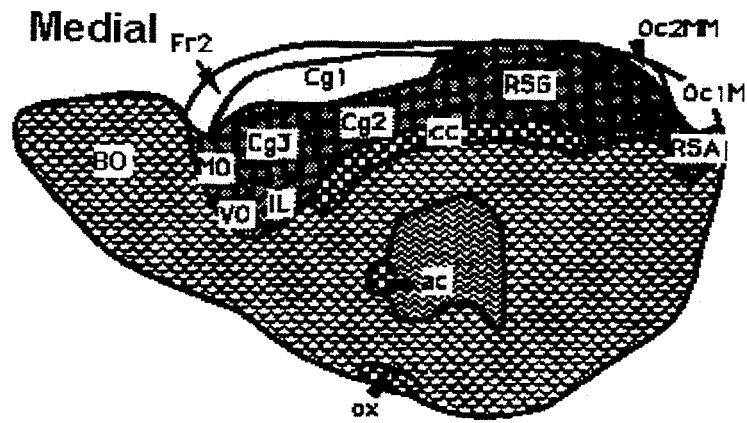
Em termos funcionais, observa-se que o córtex tem uma *organização modular*, onde agrupamentos de neurônios altamente conectados entre si exibem propriedades coletivas e desempenham uma certa função elementar. Estes agrupamentos, dispostos em “colunas”, são compostos por aproximadamente cem neurônios (Rakic, 1988) cujas interações formariam unidades ainda maiores, que por sua vez formariam as **áreas corticais** (Mountcastle, 1978). Ambos, o número de módulos e a área cortical total, estão diretamente relacionados ao número de células que a zona ventricular é capaz de produzir pois a grande maioria dos neurônios de uma coluna tem origem restrita à mesma região da zona ventricular e o número de neurônios por coluna é sempre aproximadamente o mesmo, mesmo que haja variações durante o processo ontogenético (Rakic, 1995). Portanto, o aumento do número de neurônios é acompanhado pelo aumento da superfície cortical, e não por sua espessura, bem como pelo aumento de módulos corticais, que, mais adiante,

poderão vir a formar, inclusive, novas áreas corticais, como abordaremos a seguir.

1.4.1 Áreas Corticais: Classificação e Evolução

Em todos os mamíferos, o córtex pode ser dividido, com base na laminação, em *isocórtex* e *alocórtex*. O isocórtex corresponde à região cortical que apresenta seis camadas pelo menos em algum estágio de sua ontogenia, enquanto o alocórtex apresenta, no máximo, três camadas. Em acréscimo, existe uma zona de transição entre o isocórtex e o alocórtex. Nela, o padrão de laminação varia em um gradiente de proximidade entre o isocórtex e o alocórtex. O giro do cíngulo, em seres humanos, e grande parte da região cingulada, em ratos, estão situados nesta região de transição (Zilles e Wree, 1995) (Figura 3).

Considerando equivocados aspectos evolucionários aceitos no séc. XIX, consagrou-se o termo *neocórtex* para denominar o isocórtex e *paleocórtex* e *arquicórtex* (de implicações funcionais olfatória e límbica, respectivamente) para denominar subdivisões do alocórtex (Northcutt e Kaas, 1995; Preuss e Kaas, 1999). Por sinal, analisando o cérebro de peixes, observa-se que o pálio, região homóloga ao córtex dos mamíferos, é caracterizado por três divisões básicas: lateral, dorsal e medial. Não há nenhuma evidência de que a partir de um paleopálio olfativo tenha emergido um arquipálio ou um neopálio em anfíbios ou répteis (Northcutt e Kaas, 1995) [os termos paleopálio e arquipálio estão aqui empregados de acordo com a referência, embora normalmente o prefixo *arqui* esteja associado a eventos anteriores aos associados ao prefixo *paleo*]. Entretanto, não podemos negligenciar que o isocórtex tem como característica inovativa a presença de seis camadas, inexistente em répteis ou aves. Acredita-se que o pálio dorsal dos répteis tenha originado o isocórtex, embora ainda haja dúvidas sobre uma possível contribuição da crista dorsal ventricular dos répteis, situada logo abaixo do pálio dorsal (Kaas e Reiner, 1999; Northcutt e Kaas, 1995; Preuss e Kaas, 1999). Por sinal, as células precursoras dos gânglios da base, uma estrutura subcortical, geram também a maioria (senão todos) os neurônios inibitórios isocorticais (Anderson *et al.*, 1997).



- Isocórtex**
- Perialocórtex ou Proisocórtex**

Figura 3 - Desenho esquemático do mapa cortical do cérebro do rato adulto em diferentes cortes sagitais. RSG e RSA (siglas do inglês referentes aos córtices retrospleniais granular e agranular, respectivamente) pertencem ao córtex cingulado posterior (ou córtex retrosplenial, em ratos). O Perialocórtex e o Proisocórtex formam a zona de transição entre o isocórtex e o alocórtex. Adaptado de Zilles e Wree, 1995.

A formação hipocampal e o isocórtex no rato têm, respectivamente, 1,2 e 1,5 cm² de superfície externa (Zilles e Wree, 1995), enquanto que em seres humanos, o isocórtex é várias vezes maior (Bear *et al.*, 1995). Esta crescente proeminência estrutural e funcional do isocórtex em relação ao alocórtex ao longo da evolução é possivelmente fruto de diferenças no padrão de neurogênese de ambos os córtices, e não do fato do isocórtex ser uma estrutura sem homólogos, em termos evolutivos. Alometricamente, o expoente de crescimento do isocórtex em relação ao tamanho corporal é maior e, como consequência, detém o potencial de atingir proporcionalmente maior área nos animais maiores. Assim, por apresentar maior suporte físico, deteve maior potencial de realizar as funções recentemente adquiridas no processo evolutivo (Finlay e Darlington, 1995). Entretanto, o processo mais avançado executado pelo cérebro, a consciência, emerge da atividade combinada de inúmeras regiões cerebrais, filogeneticamente recentes ou não. Das regiões corticais responsáveis por amplas associações, podemos citar tanto a **região pré-frontal** e o córtex parietal posterior, situados, no homem, no isocórtex (Gross e Graziano, 1995; Tononi e Edelman, 1998), e o hipocampo (Eichenbaum, 1993), situado no alocórtex.

Mamíferos com maiores cérebros não apenas têm seu isocórtex expandido, mas, também, mais diferenciados em termos anátomo-funcionais, com a adição de novas áreas. Somadas, ambas as características permitem um maior refinamento do processamento da informação, ao extrair-lhe maior número de elementos (Krubitzer *et al.*, 1995; Northcutt e Kaas, 1995). A evolução do córtex pré-frontal (descrito a seguir), é um claro exemplo deste fenômeno (Preuss e Kaas, 1999).

1.4.2 Córtex Pré-Frontal

Conforme apontado por Zilles e Wree (1995), diversos estudos têm mapeado, de forma discrepante, o córtex segundo diversas classificações e nomenclaturas.

De todo o córtex, a região pré-frontal foi a que mais se desenvolveu durante o processo de hominização (Deacon, 1997; Preuss e Kaas, 1999). Ela é diretamente responsável por nossa alta capacidade de planejamento e de verbalização, bem como de socialização (Damásio, 1996). Não é de se surpreender, então, que haja ainda maiores diferenças entre a região pré-frontal humana e a de ratos, cuja distância evolutiva é ainda maior.

Em seres humanos, o córtex pré-frontal é definido como a região do isocórtex que possui conexões recíprocas com o núcleo médio-dorsal do tálamo (Zilles e Wree, 1995). Em ratos, porém, esta definição em termos anatômicos aplica-se a apenas parte do **córtex cingulado anterior** (especificamente, área Cg1, que corresponde à área de Brodmann 24), ao **córtex insular agranular** e a áreas orbitofrontais (Zilles e Wree, 1995). Entretanto, existem regiões corticais no rato que desempenham funções similares às da região pré-frontal de seres humanos e que, por tal motivo, são também incluídas em sua classificação. Estas regiões, por sinal, podem ser, no ponto de vista filogenético, homólogas às áreas do córtex pré-frontal humano ao qual tenham correspondência funcional (Seamans *et al.*, 1995). Como exemplos, temos a **área pré-central medial (Fr2)**, as demais regiões do córtex cingulado anterior, Cg2 e Cg3, e a região infralímbica (Caviness, 1975; Caviness e Frost, 1980; Hicks e Huerta, 1991; Seamans *et al.*, 1995; Van Eden, 1992; Zilles e Wree, 1995).

Fr2 pertence ao isocórtex dos ratos e corresponde, em termos funcionais, às áreas de Brodmann (AB) 6, que pertence ao córtex pré-motor, e 6 a, 8 e 10, que pertencem ao córtex pré-frontal associativo (Caviness, 1975; Caviness e Frost, 1980; Hicks e Huerta, 1991; Van Eden, 1992). Cg3 pertence à zona de transição entre o isocórtex e o allocórtex, é conhecida com região pré-límbica (PrL), corresponde à AB 32 e possivelmente seja a origem filogenética da região dorsolateral dos seres humanos (AB 46), pois desempenha funções similares (Seamans *et al.*, 1995). O córtex insular agranular, por sua vez, corresponde, nos primatas, provavelmente ao córtex orbitofrontal (ou região pré-frontal ventromedial, conforme Damásio, 1996) (Groenewegen, 1988; Leonard, 1969; Preuss, 1995).

1.4.3 Córtex Cingulado Posterior

Além do córtex cingulado anterior, que pertence às regiões frontais do córtex, temos o **córtex cingulado posterior**, com características anátomo-funcionais bem distintas. Em ratos, o córtex cingulado posterior apresenta sempre cinco camadas e possui cinco subdivisões, *29 a, b, c, d, e*, de acordo com o padrão de laminação e aferências (Vogt e Peters, 1981). A área do córtex cingulado posterior humano que pertence ao isocórtex (AB 23) talvez corresponda às subdivisões *29 c* e *29 d* do cingulado posterior dos ratos (Vogt e

Peters, 1981).

A Figura 2 mostra esquematicamente o Circuito de Papez, postulado como o “sistema da emoção” (Papez, 1937), de participação indiscutível nos processos mnemônicos. Esta proposição é, por sinal, ainda hoje por muitos aceita, pois o dano em algumas de suas áreas promove grandes déficits no comportamento emocional e poucas alterações na percepção ou na inteligência (Bear *et al.*, 1995). Conforme se observa nesta figura, as projeções talâmicas ao córtex cingulado diferenciam-se em relação ao eixo ântero-posterior (Kubota e Gabriel, 1995). Este recebe informações sensoriais através dos núcleos anteriores do tálamo (Caviness e Frost, 1980; Hedberg e Stanton, 1995; Horikawa *et al.*, 1988; Vogt *et al.*, 1981) e também é inervado por uma via que parte da formação hipocampal, através do subículo. Por sinal, os neurônios do córtex cingulado posterior podem entrar em ressonância com os neurônios do hipocampo, apresentando ritmo teta sincronizado (Hedberg *et al.*, 1993; Leung e Borst, 1987). Esta via subículo-cingulada apresenta PLD e DLD, e os dendritos de suas sinapses, situadas nas camadas mais profundas do córtex cingulado posterior, estão intimamente associados aos terminais talâmicos (Greengard *et al.*, 1991; Hedberg e Stanton, 1995; Vogt *et al.*, 1981). Acredita-se que a informação que passa por ambas as vias é comparada e filtrada, sendo apenas os sinais coincidentes seriam reforçados e armazenados através da PLD e da DLD da via subículo-cingulada (Hedberg e Stanton, 1995). A posição estratégica do córtex cingulado posterior no circuito de Papez (Figura 2), intermediando a sinalização entre o hipocampo e o isocórtex, deve conferir a esta região grande importância nos processos mnemônicos. Por sinal, o isocórtex como um todo recebe informações do hipocampo apenas por dois locais, o córtex pré-frontal ou o córtex cingulado posterior (Bear *et al.*, 1995).

1.5 Neurofarmacologia da Memória

Nesta Introdução, não nos deteremos nos aspectos da neurofarmacologia da memória da tarefa de esQUIVA inibitória (sistemas de neurotransmissores e neuromoduladores, cascatas enzimáticas *etc.*), pois foram abordados nos artigos desta Tese (Capítulos 3, 4, 5 e 6). Alguns importantes aspectos, porém, já foram abordados em 1.3.2.2.

2. Objetivos

- 1) Verificar a participação do **córtex cingulado** na consolidação da memória da tarefa de esquiva inibitória;
- 2) Verificar a participação da **área pré-central medial** na consolidação da memória da tarefa de esquiva inibitória;
- 3) Verificar a participação do **córtex cingulado anterior** na evocação da memória da tarefa de esquiva inibitória;
- 4) Verificar o envolvimento do **córtex insular agranular** na consolidação da memória da tarefa de esquiva inibitória.

3. O Córtex Cingulado e a Consolidação da Memória da Tarefa de Esquiva Inibitória

3.1 Atualização

Uma versão mais atualizada do Atlas de Paxinos e Watson (4ª edição, de 1998) renomeia Cg3 (região cingulada 3) para córtex pré-límbico (PrL).

4. A Área Pré-Central Medial e a Consolidação da Memória da Tarefa de Esquiva Inibitória

4.1 Atualização

Uma versão mais atualizada do Atlas de Paxinos e Watson (4ª edição, de 1998) diferencia em termos estruturais as duas regiões do **Fr2** aqui estudadas. A parte mais anterior (de + 0,52 a + 0,47 cm do bregma) recebeu a denominação de **área frontal associativa (FrA)**, enquanto a mais posterior recebeu a denominação de **córtex motor secundário (M2)**. Portanto, há concordância mais recente sobre a diferenciação funcional por nós defendida.

5. Participação do Córtex Cingulado Anterior na Evocação da Memória da Tarefa de Esquiva Inibitória

Embora o artigo aqui apresentado mostre a participação de diversas estruturas na evocação da memória de longa duração, destacaremos apenas a participação do córtex cingulado anterior (Cg1 e Cg3), regiões com homologia ao córtex cingulado anterior e ao córtex pré-frontal dorsolateral medial de humanos, respectivamente.

O estudo da participação do córtex cingulado anterior na evocação da tarefa de esquiva inibitória foi motivado pelo trabalho de Seamans *et al.* (1995), que demonstra que esta estrutura participa da evocação da memória do labirinto radial.

6. Envolvimento dos Receptores Serotonérgicos do Córtex Insular Agranular na Consolidação da Memória da Tarefa de Esquiva Inibitória

Este estudo visou iniciar o entendimento da participação do córtex insular agranular na memória da tarefa de esquiva inibitória. Começamos, então, pela análise da participação de seus receptores serotonérgicos 1A, uma vez que esta região é alvo massivo deste sistema neuromodulador (Zilles e Wree, 1995).

Referido artigo foi submetido à revista “Behavioural Pharmacology”.

**Involvement of serotonergic type 1A (5-HT_{1A}) receptor in the Agranular Insular
Cortex in the Consolidation of Memory for Inhibitory Avoidance in Rats**

T. Mello e Souza, C. Rodrigues, M.M. Souza, E. Vinadé, H. Choi, and I. Izquierdo

*Centro de Memória, Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde,
Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Ramiro Barcelos 2600.
90035-003 Porto Alegre, RS, Brazil. Fax: 5551 3165535.*

Correspondence should be addressed to T. Mello e Souza.

E-mail: msouza@vortex.ufrgs.br

Abstract

Adult male Wistar rats were bilaterally implanted with indwelling cannulae in the agranular insular cortex of the prefrontal cortex. After recovery, animals were trained in a step-down inhibitory avoidance task (3.0-s, 0.4-mA foot-shock) and received, right after training, a 0.5- μ l infusion of vehicle (20% DMSO), of the serotonergic type 1A (5-HT_{1A}) receptor agonist DPAT (0.0125, 0.125, or 1.25 μ g), or of the 5-HT_{1A} receptor antagonist NAN (0.125 or 1.250 μ g). Retention testing was carried out 24 h after training. DPAT (1.25 μ g but not 0.0125 or 0.125 μ g) was amnesic ($p < 0.05$). NAN was not effective at any dose ($p > 0.10$). These results show that an overactivation of 5-HT_{1A} receptors in the agranular insular cortex impairs memory consolidation of inhibitory avoidance, in rats, right after training. This suggests that a negative feedback loop between the insular cortex and the raphe nuclei modulates memory consolidation.

Key words: memory, insular cortex, serotonergic receptor

INTRODUCTION

The rat agranular insular cortex (IC) lies deep in the rhinal sulcus and neighbors the dorsally following neocortex in the prefrontal cortex (Zilles and Wree, 1995). This region has been referred to as the visceral cortex because it receives and integrates taste and visceral information from the thalamus in order to mediate visceral and related cognitive reactions (Bermúdez-Rattoni et al., 1995; Cechetto and Saper, 1987; Krushel and Van der Kooy, 1988; Morgan and LeDoux, 1999).

Among others, IC receives visceral information concerned to the effects of stomach-irritating toxins, which is very important to the acquisition of conditioned taste aversion (CTA) (Bermúdez-Rattoni and McGaugh, 1991). In addition, IC receives convergent inputs from the limbic and the primary sensory systems as any other sensory area in the cortex (Krushel and Van der Kooy, 1988). Indeed, IC is involved in memory processes, such as CTA, as mentioned before, aversive classical conditioning (Hankins et al., 1974), water maze spatial learning (Bermúdez-Rattoni et al., 1991), and conditioned fear (Morgan and LeDoux, 1999), as well as inhibitory avoidance (Bermúdez-Rattoni et al., 1991; Santos-Anderson and Routtenberg, 1976). Specifically in the case of (step-through) inhibitory avoidance, it seems that IC is involved in acquisition, consolidation, and retrieval, but not in storage (Bermúdez-Rattoni et al., 1995).

IC sends outputs to the solitary tract (Groenewegen et al., 1990), brain stem, and spinal cord autonomic regions (Groenewegen, 1988). IC has been likened to primate orbital cortex for several reasons: First, both are implicated in emotional processes, such as emotionality (Nonneman et al., 1974) and blood pressure and heart rate control (Hardy and Holmes, 1988; Powell et al., 1985). Second, both mediate the extinction of appetitively motivated bar-press responses (Butter, 1969; Kolb et al., 1974), suggesting that IC mediates response strategies changes in order that animals adapt to new situations. Third, their reciprocal connections with the mediodorsal thalamus and the amygdala are similar (Groenewegen, 1988; Groenewegen et al., 1990; Sarter and Markowitsch, 1984).

Serotonergic type 1A (5-HT_{1A}) receptors are classically characterized by their high affinity for DPAT and for being coupled to protein G, by which they may either inhibit or stimulate adenylyl cyclase activity (Frazer and Hensler, 1994). However, 5-HT_{1A}

receptors that are not coupled to protein G seem to occur in the hippocampus and neocortex (Nénonéné et al., 1994). 5-HT_{1A} receptors are located both pre and postsynaptically. Although presynaptic 5-HT_{1A} receptors control 5-HT neuronal activity, recent evidence indicates an additional role of postsynaptic cortical 5-HT_{1A} receptors as part of a negative feedback loop (De Vry, 1995).

5-HT_{1A} receptor agonists have been clinically used as antidepressant or anxiolytic drugs, and may desensitize behavioral and electrophysiological responses, with antiaggressive, anticataleptic, antiemetic, and possibly anticraving effects (De Vry, 1995; Frazer and Hensler, 1994).

In rats, DPAT impairs consolidation of memory for inhibitory avoidance when infused into the hippocampus 3 to 6 h, but not immediately after training (Bevilaqua et al., 1997), or into the entorhinal cortex immediately or 3 to 6 h after training (Ardenghi et al., 1997). DPAT is amnesic in these cases probably because of its effects in inhibiting adenylyl cyclase activity via protein G (Ardenghi et al., 1997; Bevilaqua et al., 1997; for review, see Izquierdo and Medina, 1997).

Since the involvement of IC via its 5-HT_{1A} receptors in memory consolidation of step-down inhibitory avoidance has not yet been studied, the aim of the present work was to see whether infusion of its agonist, DPAT, and antagonist, NAN may influence retrieval of this memory at 24 h post-training.

METHODS

Subjects

A total of 85 male Wistar rats (age, 60 to 90 days) from our breeding colony was used. Animals were housed five to a cage with food and water *ad libitum*. The animal house was on a 12-h light/dark cycle (lights on at 7:00 AM) at a temperature of 23⁰ C.

Surgery and Behavioral Procedures

Animals were bilaterally implanted under thionembatal anesthesia (30 mg/kg, i.p.) with 27-gauge guide cannulae. After at least 48 h, all animals were trained in a step-down inhibitory avoidance task (Izquierdo *et al.*, 1992; Izquierdo *et al.*, 1997). Animals were placed on a 2.5-cm high by 7.0-cm wide formica platform at the left of a 50 x 25 x 25-cm

apparatus, floor of which was a series of parallel 0.1-cm caliber stainless-steel bars spaced 1.0 cm apart. Latency to step down placing the four paws on the grid was measured. In the training session, immediately upon stepping down, the animals received a 3.0-s, 0.4-mA foot-shock. Animals were tested 24 h after training. Test session was procedurally identical to the training session except that no foot shock was given and the step-down latency was cut off at 180 s; i.e., test session values higher than 180 s were counted as 180 s. Retention test performance was taken as a measure of retention.

Infusion Procedure and Control of Cannulae Placements

At the time of infusion, 30-g cannulae were fit into the guide cannulae (Izquierdo *et al.*, 1992 and 1997). Animals received, right after training, a 0.5- μ l infusion of vehicle (20% DMSO), of the serotonergic type 1A (5-HT_{1A}) receptor agonist (\pm)-2-Dipropylamino-8-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene hydrobromide (8-OH-DPAT, 0.0125, 0.125, or 1.25 μ g), or of the 5-HT_{1A} receptor antagonist 1-(2-Methoxyphenyl)-4-[4-(2-phthalimido)butyl] piperazine hydrobromide (NAN, 0.125 or 1.25 μ g). Infusion site was chosen using coordinates from bregma and dura obtained from the Atlas of Paxinos and Watson (1986), as follows (units in cm): A +0.35, L \pm 0.30, V 0.36 (Fig. 1)

Two to 24 h after the end of the behavioral procedure all animals received an infusion of 0.5 μ l of 4% methylene blue through the infusion cannulae and were killed by decapitation. Their brains were removed and stored in formalin for histological localization of infusion sites as explained elsewhere (Izquierdo *et al.*, 1992 and 1997). Only animals with correct cannulae locations (Fig. 1) were included in the final statistical analysis.

Statistics

Parametric statistics were used. Data are reported as means \pm standard errors of means of retention scores of both test sessions. However, before performing the parametric tests, data were transformed to their Neperian logarithms in order to normalize their distribution. Differences from the control group were evaluated by the one-way analyses of variance (ANOVA), in the training session, and by the independent-samples t test, two-tailed, in the test session. The paired-samples t test evaluated the differences between training and test session performance in each group. $P < 0.05$ was considered to indicate

statistical significance.

RESULTS

There was no difference among groups in training session performance [ANOVA: overall mean, 3.86 s; standard error of mean, 0.37 s; $F(5,68) = 1.048$; $p = 0.397$; data not shown].

Results are shown in Fig. 2. Controls learned (paired-samples t test: $N = 15$, $p = 0.001$), as well as animals treated with DPAT or NAN ($p < 0.01$). DPAT (1.25 μg but not 0.0125 or 0.125 μg) was amnesic relative to controls when infused into IC right after training (independent-samples t test, $p = 0.035$, 0.302, and 0.515, respectively). N per group was 12, 13, and 11, respectively. NAN (0.125 or 1.25 μg) was not effective in altering retention of inhibitory avoidance 24 h after training (independent-samples t test, $p = 0.592$ and 0.584, respectively). N per group was 11 and 12, respectively.

DISCUSSION

In the present study, we showed that infusion into the insular cortex of a 5-HT1A agonist receptor, DPAT, disrupts memory consolidation for step-down inhibitory avoidance when infused right after training.

It is well established that IC is involved in CTA, an associative learning model in which animals become aversive, in a single trial, to a specific taste experienced as a conditioned stimulus followed by a gastric irritation as an unconditioned stimulus (Bermúdez-Rattoni et al., 1995). However, hedonic responses to taste remain intact in IC-lesioned or even in decerebrated rats (Kiefer, 1985). Previous studies also showed that the same structure is involved in memory for water maze spatial learning and inhibitory avoidance (Bermúdez-Rattoni et al., 1991; Santos-Anderson and Routtemberg, 1976). Pretraining and post-training infusions into IC of tetrodotoxin were effective in impairing retention for both tasks, indicating that IC mediates both acquisition and consolidation (Bermúdez-Rattoni et al., 1991). In addition, reversion by homotopic fetal IC grafts of the disruptive effects of lesions induced by NMDA infusions on the ability to recall showed

that IC is also involved in retrieval of inhibitory avoidance but probably not in its long-term storage (Bermúdez-Rattoni et al., 1995).

The amnesic effect of DPAT on memory consolidation for inhibitory avoidance suggests that 5-HT_{1A} receptors in IC are physiologically less active during memory consolidation and/or their hyperactivation triggers a negative feedback mechanism which disrupts memory consolidation. However, the former alternative may, at first, be ruled out, since NAN was not effective in facilitating memory; if the latter is correct, a question remains: does this negative feedback mechanism perform a physiological function in the intact brain or is it merely activated pharmacologically?

Evidence has shown that a feedback loop in the frontal cortex may account for part of an inhibition of 5-HT neuronal activity due to systemic administration of 5-HT_{1A} receptor agonists: First, DPAT increases the firing rate of fronto-cortical neurons (Ceci et al., 1992) at the same doses that inhibits the firing rate of dorsal raphe serotonergic neurons (Blier and deMontigny, 1987; Blier et al., 1987). Second, this effect on dorsal raphe serotonergic neurons is reduced by fronto-cortical deafferentiation (Ceci et al. 1994). So, DPAT may activate the afferent projections from the frontal cortex -- including those from the medial precentral area and the anterior cingulate cortex (Sesack et al., 1989), and those from the insular cortex (Peyron et al., 1998; Reep and Winans, 1982) -- to the dorsal raphe, which, in turn, would decrease the activity of its 5-HT neurons. It is worth to point out that 5-HT_{1A} receptor agonists inhibit a variety of behavioral responses, being powerful tools in the treatments of depression, anxiety and, possibly, other psychological disorders (De Vry, 1995; Frazer and Hensler, 1994). Therefore, it is reasonable to postulate that the amnesic effect of DPAT (1.25 µg) is due to an involvement of 5-HT_{1A} receptors in a negative feedback mechanism by which IC mediates or simply modulates memory processes, at least those related to inhibitory avoidance. In addition, this amnesic effect might also contribute to the understanding of side effects of treatments against depression which affect the serotonergic system.

5-HT_{1A} receptors in the hippocampus and the entorhinal cortex have been implicated in consolidation of memory for inhibitory avoidance by means of its interaction of the cAMP signaling pathway (Bevilaqua et al., 1997; Izquierdo and Medina, 1997). Compelling evidence shows that this signaling pathway is very important in mediating

memory consolidation (Bach et al., 1999; Bevilaqua et al., 1997; Bourtchuladze et al., 1998; Izquierdo and Medina, 1997; Schafe et al., 1999). Therefore, DPAT might also act upon this signaling pathway in the neurons of IC and, as a consequence, impair memory consolidation.

There may be functional differences of IC along the anterior-posterior axis, as ascertained by the differential effects on water maze and CTA performance of permanent lesions produced by bilateral microinjections of NMDA into different coordinates of IC (Bermúdez-Rattoni et al., 1991). Our infusions combined reached an area equivalent to the anterior IC of Nerad et al. (1996), lesions of which did not disrupt water maze or CTA performance. Therefore, anterior IC may be involved in the consolidation of memory of inhibitory avoidance but not of water maze or CTA.

The present study focused on the effect of altering the serotonergic transmission in the insular cortex on the consolidation of memory for inhibitory avoidance. In addition, this study might also have some clinical relevance, since such an approach of interfering the serotonergic transmission has currently been used in the therapeutics of some mood disorders, especially depression, in which several prefrontal areas are affected.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) and PRONEX, Brazil. We are grateful to Maria Beatriz Moleta for her contribution in the present work.

REFERENCES

- Ardenghi P, Barros D, Izquierdo LA, Bevilaqua L, Schroder N, Quevedo J, Rodrigues C, Madruga M, Medina JH, 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**:745-51.
- Bach ME, Barad M, Son H, Zhuo M, Lu YF, Shih R, Mansuy I, Hawkins RD, Kandel ER (1999). 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. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**: 5280-5.

Bermúdez-Rattoni F, Introini-Collison IB, McGaugh, JL (1991). Reversible inactivation of the insular cortex by tetrodotoxin produces retrograde and anterograde amnesia for inhibitory avoidance and spatial learning. *Proc Natl Aca Sci USA* **88**:5379-5382.

Bermúdez-Rattoni F and McGaugh JL (1991). Insular cortex and amygdala lesions differentially affect acquisition of inhibitory avoidance and conditioned taste aversion. *Brain Res* **549**:165-170.

Bermúdez-Rattoni F, Ormsby CE, Escobar ML, Hernández-Echeagaray E (1995). The Role of the Insular Cortex in the Acquisition and Long Lasting Memory for Aversively Motivated Behavior. In: *Plasticity in the Central Nervous System -- Learning and Memory* (Eds. McGaugh JL, Bermúdez-Rattoni F, Prado-Alcalá RA) pp. 67-82. Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates, Pbs.

Bevilaqua L, Ardenghi P, Schroder N, Bromberg E, Schmitz PK, Schaeffer E, Quevedo J, Bianchin M, Walz R, Medina JH, 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.

Blier P and de Montigny C (1987). Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of the 5-HT_{1A} agonist gepirone: electrophysiological studies in the rat brain. *Synapse* **1**:470-80.

Blier P, de Montigny C, Tardif D (1987). Short-term lithium treatment enhances responsiveness of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors without altering 5-HT autoreceptor sensitivity: an electrophysiological study in the rat brain. *Synapse* **1**:225-32.

Bourchuladze R, Abel T, Berman N, Gordon R, Lapidus K, Kandel ER (1998). Differential training procedures recruit either one or two critical periods for contextual memory consolidation. *Learn Mem* **5**:465-474.

Butter C (1969). Perseveration in extinction and in discrimination reversal tasks following selective frontal ablations in *Macaca Mulatta*. *Physiol Behav* **4**:163-171.

- Cechetto DF and Saper CB (1987). Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus of the rat. *J Comp Neurol* **262**: 27-45.
- Ceci A, Baschiroto A, Borsini F (1992). Effect of 5-HT monoamine uptake blockers and 5-HT agonists on spontaneous firing rate of prefrontal cortical neurons. *Soc Neurosci Abst* **271.1**.
- Ceci A, Baschiroto A, Borsini F (1994). The inhibitory effect of 8-OH-DPAT on the firing activity of dorsal raphe serotonergic neurons in rats is attenuated by lesion of the frontal cortex. *Neuropharmacology* **33**:709-13.
- De Vry (1995). 5-HT_{1A} receptor agonists: recent developments and controversial issues. *Psychopharmacology* **121**:1-26.
- Frazer A and Hensler JG (1994). Serotonin. In: *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects*, 5th Ed. Siegel GJ, Agranoff, BW, Albers, RW, and Molinoff, PB (ed.). New York, pp: 283-309.
- Groenewegen HJ (1988). Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, **24**: 397-431.
- Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AHM (1990). The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: Evidence for a parallel organization. *Progress in Brain Res*, **85**:95-118.
- Hankins WG, Garcia J, Rusiniak KW (1974). Cortical lesions: Flavor-illness and noise-shock conditioning. *Behav Biology*, **10**: 173-181.
- Hardy, SGP and Holmes, DE (1988) Prefrontal stimulus-produced hypotension in rat. *Experimental Brain Res*, **73**: 249-255.
- Izquierdo I, Da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira MBC, Medina JH (1992). Neurotransmitter receptors involved in memory processing by the amygdala, medial septum and hippocampus of rats. *Behav Neural Biology*, **58**:16-26.
- Izquierdo I and Medina JH (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem* **68**:285-316.

- Izquierdo I, Quillfeldt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK, Medina JH (1997). Sequential role of hippocampus and amygdala, the entorhinal cortex and the posterior parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *Eur J Neurosci* **9**:786-793.
- Izquierdo I and Medina JH (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem* **68**:285-316.
- Kiefer (1985). Neural mediation of conditioned food aversion. *Ann N Y Acad Sci* **443**: 100-109.
- Kolb B, Nonneman AJ, Singh RK (1974). Double dissociation of spatial impairments and perseveration following selective prefrontal lesions in rats. *J Comp Physiol Psychol* **87**:772-80.
- Krushel RP and Van der Kooy D (1988). Visceral cortex: Integration of the mucosal senses with limbic information in the rat agranular insular cortex. *J Comp Neurol* **270**:39-54, 62-3.
- Morgan MA and LeDoux JE (1999). Contribution of Ventrolateral Prefrontal Cortex to the Acquisition and Extinction of Conditioned Fear in Rats. *Neurobiol Learn Mem* **72**:244-251.
- Nénonéné EK, Radja F, Carli M, Grondin L, Reader TA (1994). Heterogeneity of cortical and hippocampal 5-HT_{1A} receptors: a reappraisal of homogenate binding with 8-[³H]hydroxydipropylaminotetralin. *J Neurochem* **62**:1822-34.
- Nerad L, Ramirez-Amaya V, Ormsby CE, Bermudez-Rattoni F (1996). Differential effects of anterior and posterior insular cortex lesions on the acquisition of conditioned taste aversion and spatial learning. *Neurobiol Learn Mem* **66**:44-50
- Nonneman AJ, Voigt J, Kolb BE (1974). Comparisons of behavioral effects of hippocampal and prefrontal cortex lesions in the rat. *J Comp Physiol Psychology*, **87**:249-260.
- Paxinos G and Watson C (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (2nd Ed.). San Diego: Academic Press.

- Peyron C, Petit JM, Rampon C, Jouvet M, Luppi PH (1998). Forebrain afferents to the rat dorsal raphe nucleus demonstrated by retrograde and anterograde tracing methods. *Neuroscience* **82**:443-68
- Powell DA, Buchanan S, Hernandez, L (1985). Electrical stimulation of insular cortex elicits cardiac inhibition but insular lesions do not abolish conditioned bradycardia in rabbits. *Behav Brain Res* **17**:125-144.
- Reep RL and Winans SS (1982). Efferent connections of dorsal and ventral agranular insular cortex in the hamster, *Mesocricetus auratus*. *Neuroscience* **7**:2609-35.
- Santos-Anderson RM and Routtenberg A (1976). Stimulation of rat medial or sulcal prefrontal cortex during passive avoidance learning selectively influences retention performance. *Brain Res* **103**:243-59.
- Sarter MF and Markowitsch HJ (1984). Collateral innervation of the medial and lateral prefrontal cortex by amygdaloid, thalamic, and brain-stem neurons. *J Comp Neurol* **224**:445-460.
- Schafe GE, Nadel NV, Sullivan G.M, Harris A, LeDoux JE (1999). Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA, and MAP Kinase. *Learn Mem* **6**: 97-110.
- Sesack SR, Deutch AY, Roth RH, Bunney BS (1989). Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol* **290**:213-42.
- Zilles K and Wree A (1995). Cortex: Areal and Laminar Structure. In: *The Rat Nervous System*. Paxinos G (ed.). San Diego: Academic Press.

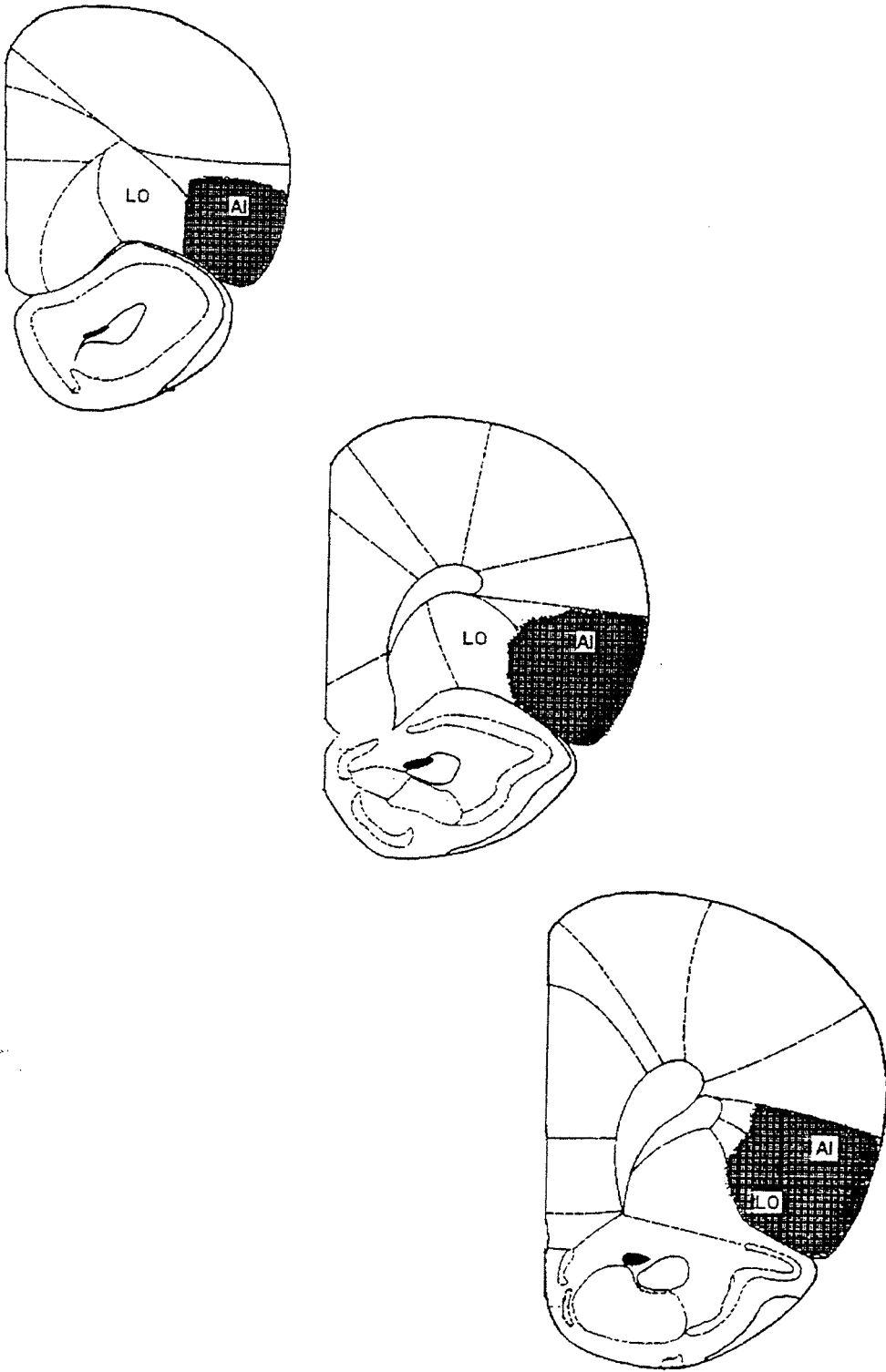


FIG. 1. Schematic drawing of rat brain sections at planes + 0.42, 0.37, and 0.32 cm of the anterior-posterior axis, from the Atlas of Paxinos and Watson (1986), showing (stippled) a composite of the extension of infusions of 4% methylene blue given into both sides of the ventrolateral prefrontal cortex (details in METHODS). The figure illustrates a composite of all infusions given on both sides. AI -- agranular insular cortex; LO -- lateral orbital cortex.

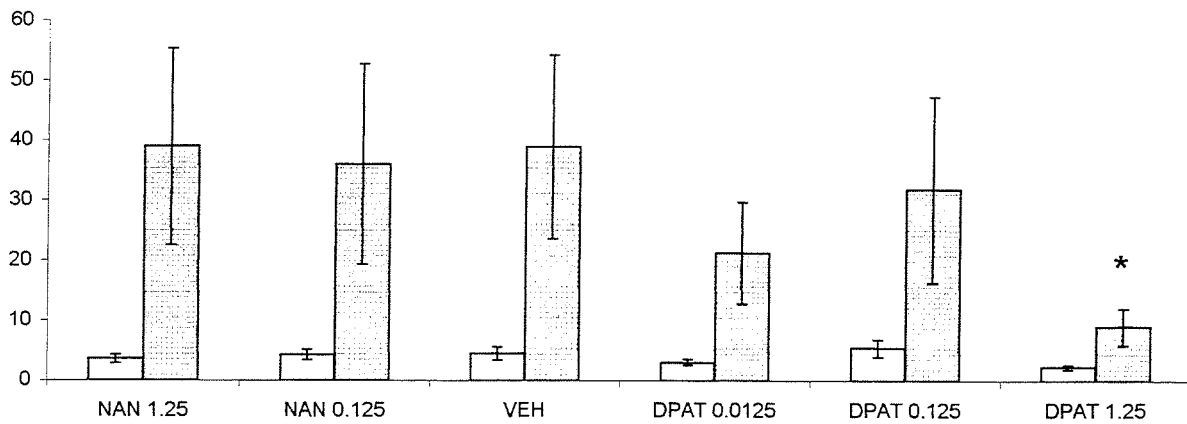


FIG. 2. Means (\pm SEM) of retention scores of the training and test sessions (white and gray bars, respectively) in groups infused bilaterally into the ventrolateral prefrontal cortex right after training with NAN (0.125 or 1.250 μ g) or DPAT (0.0125, 0.125, or 1.25 μ g). Horizontal axis is oriented towards an increasing 5-HT_{1A} receptor activity. Asterisk indicates statistical significance at $p < 0.05$ (independent-samples t test, two-tailed; for more details, see *Statistics* under METHODS). N per group was 11-15.

7. Discussão

Nesta Discussão, não nos deteremos nos aspectos da neurofarmacologia da memória da tarefa de esQUIVA inibitória, pois estes foram extensivamente discutidos nos artigos dos Capítulos 3, 4, 5 e 6. Procuraremos, sim, posicionar os referidos trabalhos diante do atual conhecimento sobre memória e sobre a função das diversas estruturas corticais aqui estudadas. Questionaremos, inclusive, os próprios paradigmas que nortearam os referidos trabalhos.

7.1 *Estão os Nossos Paradigmas Corretos?*

Os estudos aqui apresentados sobre o envolvimento do **córtex cingulado** e do **Fr2** na memória da tarefa de esQUIVA inibitória foram realizados (e interpretados) segundo alguns paradigmas:

1. A classificação dos tipos de memória em sistemas de memórias, onde as memórias teriam localização específica (ver 1.3.1).
2. A PLD como fenômeno subjacente à memória. Portanto, os mecanismos centrais da memória estariam relacionados com a transmissão glutamatérgica.
3. A hipótese da migração das memórias declarativas da formação hipocampal ao isocórtex (1.3.2.2). Combinando com a abordagem de sistemas de memórias (item 1), as memórias teriam localização espaço-temporal específica.
4. Evocação mede memória (abordagem fenomenológica).

7.1.1 **A Topologia do Engrama**

Como abordado em 1.3.2.2, postula-se que as memórias declarativas migrem da formação hipocampal às demais regiões corticais. Às evidências já mencionadas, poderíamos ainda adicionar as seguintes: (1) as alterações metabólicas provenientes da consolidação da memória de labirinto radial ocorrem primeiramente nas regiões do allocórtex (v.g., hipocampo), para só depois ocorrerem na **região frontal**, no **córtex cingulado** e em regiões isocorticais temporais (Sif *et al.*, 1991); e, durante o sono, neurônios ativos durante um aprendizado voltam a se ativar de forma correlacionada

(Wilson e McNaughton, 1994), o que poderia indicar uma transferência do traço mnemônico. Por sinal, o sono é de conhecida importância no reforço do traço da memória de algumas tarefas (Karni *et al.*, 1994; Smith, 1985).

Entretanto, a questão da localização intermediária das memórias declarativas no hipocampo ou mesmo em outra área que não o isocórtex (*v.g.*, **córtex cingulado posterior**) é controversa. Dois resultados experimentais mostram-se contrários à hipótese da migração da memória: (1) a correlação de atividade dos neurônios do hipocampo e do córtex parietal durante a aprendizagem e durante o sono só é respeitada ao se observar as estruturas isoladamente; quando se observa a atividade conjunta de ambas as estruturas, o hipocampo é primeiramente ativado apenas durante o aprendizado, mas não no sono (Qin *et al.*, 1997); e (2) a lesão bilateral na amígdala reverte a piora do desempenho no labirinto aquático provocada por lesão bilateral no hipocampo (Roozendaal *et al.*, 1999).

É possível que uma memória sensorial complexa seja uma propriedade emergente da atividade de vários sistemas em interação, conforme defendido por Fuster (1997). Neste caso, a memória não necessariamente estaria localizada em algum de seus componentes (*v.g.*, **córtex cingulado** ou **Fr2**), mas resulte [emerja] da atividade global da rede neuronal. Entretanto, **não** podemos descartar a relevância das mudanças físicas localizadas, ou mesmo, o deslocamento físico em cadeia destas mudanças. Por sinal, pequenas e bem localizadas alterações poderiam promover alteração de atividade em toda uma rede, conforme defendido em modelo computacional (em Shaw *et al.*, 1988), o que desencadearia mudança comportamental. Também não podemos negligenciar a existência das “mother-cells”, tampouco descartar a localização de funções específicas em áreas cerebrais (estas últimas, abordadas em 1.4).

Em 1.3.2.1 mostramos a hipótese na qual dois sistemas interagem para a execução de uma tarefa sensório-motora. Portanto, mesmo que o hipocampo, o **córtex cingulado posterior**, o **Fr2** ou outra estrutura cortical qualquer não seja o **sítio** de armazenamento da memória em dado instante, certamente tal estrutura (ou parte dela) será um dos componentes de um sistema ainda mais amplo. Como consequência, as alterações plásticas de cada estrutura vão interferir nas complexas interações do sistema, tendo como resultado final a memória.

Os fenômenos de plasticidade que podem intermediar estas alterações vêm sendo

intensamente estudados nas últimas décadas, de onde se destacam a PLD e a DLD, abordadas em 1.2. Devemos ressaltar, porém, que a PLD e a DLD são respostas padrões de sistemas biológicos manipulados sobre certas condições artificiais, não necessariamente fisiológicas: os protocolos de indução. Portanto, é mais provável que estas respostas apenas indiquem algumas características dos fenômenos de plasticidade sináptica que realmente sejam fisiológicos.

A abordagem de estudar o envolvimento de estruturas ao longo da consolidação da memória através da infusão de muscimol e de AP5, drogas que afetam a PLD (Bliss e Collingridge, 1993), tem o potencial de proporcionar importantes informações a respeito do envolvimento das diversas estruturas corticais (**mais precisamente, de seus diversos sistemas de neurotransmissão e de suas diversas cascatas enzimáticas**, cujos alguns detalhes foram extensivamente discutidos nos Capítulos 3, 4, 5 e 6). Vale ressaltar, porém, que suas conclusões podem não ser sempre idênticas às dos fenômenos de plasticidade sináptica naturalmente ocorrentes, pois as propriedades de um nível de organização são consequência das propriedades de níveis de organização inferiores, embora não sejam necessariamente semelhantes ou mesmo totalmente explicáveis por estas (Blomberg, 1994; Roland, 1994). Entretanto, esta ressalva, que nem sempre é aplicável, não diminui a importância da Neurofarmacologia Comportamental, uma importante abordagem que auxilia o entendimento integrado de uma série de fenômenos associados a diferentes níveis de organização: sináptico, circuital e comportamental. O conhecimento advindo desta integração pode, inclusive, ter aplicação clínica futura.

Voltando à questão da migração da memória, podemos fazer algumas considerações finais a seu respeito. Pode-se especular que a expressão da memória da esquila inibitória esteja **sempre** condicionada à atividade neuronal do isocórtex (v.g., córtex parietal associativo). As alterações de atividade neuronal nesta região decorrentes da expressão da memória poderiam ocorrer, então, não porque nela haja alterações plásticas no início da consolidação, mas porque seus neurônios estariam, direta ou indiretamente, conectados com os neurônios de outras partes do sistema que têm suas conexões alteradas neste momento (v.g., hipocampo e **córtex cingulado posterior**). Assim, a hipótese da migração da memória não estaria correta, mesmo que os sítios de plasticidade se desloquem em direção ao seu sítio de armazenamento, como evidenciado por este e trabalhos

anteriores (Izquierdo *et al.*, 1997; Zanatta *et al.*, 1997).

A memória pode, também, em seu prolongado dinamismo, ativar cada vez menos regiões cerebrais (v.g. em Haglund *et al.*, 1994, e em Haier *et al.*, 1992) e ser menos sensível a determinados tratamentos farmacológicos (v.g., CNQX é amnésico para a esQUIVA inibitória quando dado pré-teste no hipocampo 1 dia, mas não 31 dias após o treino) (Izquierdo *et al.*, 1997). A memória da esQUIVA inibitória “sairia” das sinapses glutamatérgicas do hipocampo, embora nunca tenha estado apenas nelas. Por sinal, como demonstramos, várias estruturas são importantes para a evocação na tarefa da esQUIVA inibitória no 1º dia pós-treino, como o **córtex cingulado anterior**, que mobiliza seus receptores glutamatérgicos metabotrópicos e do tipo NMDA, mas não do tipo AMPA, ou suas enzimas PKA e MAPK (Capítulo 5).

7.1.2 Papel das Estruturas na Memória

O hipocampo serviria só para formar memórias? E o **córtex cingulado posterior**, seria um mero auxiliar do hipocampo, filtrando as informações que por ele passam no diálogo entre o hipocampo e o isocórtex? Qual o papel do **córtex cingulado anterior** e do **Fr2** na memória da tarefa de esQUIVA inibitória? E do **córtex insular agranular**?

A formação hipocampal seria uma “região formadora de memória” por dois aspectos: (1) é capaz de executar associações amplas (Eichenbaum, 1993), pois o córtex entorrinal, estrutura que tem grande contato com o hipocampo, é um centro convergente de informações de diferentes modalidades sensoriais (conforme abordado em Iijima *et al.*, 1996); (2) é capaz de grande plasticidade (Bliss e Collingridge, 1993; Tsumoto, 1992), o que permite uma maior maleabilidade entre as interações dos diversos sistemas (Eichenbaum, 1993). Com estas características, unificaria diferentes traços de memória, muitas vezes transitórios dentro de cada (sub)sistema operacional, a ponto de serem fixados com maior robustez, em um todo. Este todo não necessariamente deve persistir com o tempo, pois a evocação posterior da memória não necessariamente deva envolver a ativação de todos os sub-traços primordiais (Spear, 1978). A propósito, apenas as representações mediadas pelo hipocampo permitem associações de diversos itens, envolvendo amplo armazenamento no cérebro (Eichenbaum *et al.*, 1996). Porém, outros aspectos do processamento da informação precisam ser relevados, o que é feito pelas demais estruturas

do Circuito de Papez.

Postula-se que existem dois aspectos básicos relacionados com a emoção que são processados por diferentes sistemas: a avaliação de seu conteúdo e a resposta comportamental associada (Damásio, 1996; Ellsworth, 1991; LeDoux, 1995). O hipocampo pode mediar componentes de uma memória sem qualquer conteúdo emocional (v.g., localização espacial na tarefa do labirinto radial). Entretanto, como observado por Maddock (1999), o **córtex cingulado posterior** é a segunda estrutura que mais freqüentemente se mostra metabolicamente alterada em estudos que envolvem experiências com conteúdo emocional em seres humanos, enquanto que não há evidência consistente de sua participação em tarefas sem conteúdo emocional [embora, a princípio, não devemos descartar esta possibilidade]. Maddock, então, propõe que o **córtex cingulado posterior** está envolvido com a interação entre emoção e memória episódicas. Esta interação estaria, a princípio, associada à avaliação dos conteúdos emocionais e não à geração de respostas emocionais, bem como o **córtex cingulado posterior** poderia estar envolvido com a implementação de memórias episódicas nos seus primeiros estágios de consolidação, por avaliar o seu conteúdo emocional (Maddock, 1999). Já Jung *et al.* (1998) mostraram que, quando ratos estão apreendendo um labirinto radial, o córtex pré-frontal medial, da qual o **córtex cingulado anterior** faz parte, ativa-se. Esta ativação, porém, limita-se a aspectos relacionados com a memória de trabalho e tomada de decisão, e não ao componente espacial da tarefa (Jung *et al.*, 1988). Em acréscimo, Kubota e Gabriel (1995) postulam que o circuito no qual os **córtices cingulados anterior e posterior** participam tem uma função comparativa, onde informações recentes são comparadas com as informações já memorizadas na memória de longa duração. Caso elas se coadunem, “programas” anteriormente formulados são executados; caso contrário, o **córtex cingulado** aumenta a atenção ao problema e inibe ações estereotipadas. Propomos, inclusive, que a inibição da descida à plataforma no teste da tarefa de esquiiva inibitória possa ser uma destas ações estereotipadas a serem inibidas por tal sistema comparador. Vale salientar que ato de explorar ambientes novos (ou relativamente novos) é um comportamento natural do rato, a menos que algo que seja tomado como uma ameaça esteja envolvido (v.g., a presença de um predador, um comportamento inato, ou a possibilidade de choque, que é aprendido).

Assim, a princípio, o componente associado à avaliação do conteúdo emocional da

memória parece ser mediado pelo **córtex cingulado posterior**. Entretanto, o componente associado à elaboração de respostas seria tanto o **córtex cingulado anterior**, como, possivelmente, o **córtex cingulado posterior**. Fr2, que pertence ao SCM (em 1.3.2.1) e tem correspondentes homólogos com o **córtex pré-motor** (em 1.4.2), também deve estar participando do circuito responsável pela elaboração de respostas. Nossos resultados não contradizem e, a princípio, confirmam algumas destas hipóteses, estendendo-as a mais uma espécie, o rato, e a mais uma tarefa comportamental, a esQUIVA INIBITÓRIA.

Verificamos que o **córtex cingulado posterior** do rato participa do processo de consolidação da tarefa de esQUIVA INIBITÓRIA tanto por mecanismos sensíveis ao muscimol (até 90 min pós-treino), quanto ao AP5 (a 90 minutos pós-treino) (Capítulo 3). Por sinal, a memória da tarefa de esQUIVA INIBITÓRIA é episódica, com alto conteúdo emocional (aversivo), além de não ser mais sensível ao muscimol e ao AP5 nesta estrutura em estágios mais avançados do processo de consolidação (a 180 min pós-treino).

O conteúdo emocional de uma memória pode reforçar-lhe a evocação (Bradley *et al.*, 1992; Cahill e McGaugh, 1998). Este efeito não é sensível a lesões hipocámpicas, mas a lesões da amígdala (Cahill *et al.*, 1995; Hamann *et al.*, 1997), podendo ter o **córtex cingulado posterior** participação no processo (Maddock, 1999). Logo, embora esta estrutura possa mediar o trânsito de informações entre o hipocampo e o isocórtex, ela pode não ter função completamente subsidiária à do hipocampo, uma questão que merece estudos posteriores.

Como por nós demonstrado, o **córtex cingulado anterior** (Cg1 e Cg3) é necessário para a evocação da tarefa de esQUIVA INIBITÓRIA (Capítulo 5). Por sinal, esta estrutura é também importante para a evocação de respostas ao labirinto radial, possivelmente devido ao fato de participar de um circuito comparativo (Seamans *et al.*, 1995).

Bontempi *et al.* (1999) encontraram que o **córtex cingulado anterior** e **regiões frontais** passam a ter maior atividade metabólica pela evocação de uma memória de 25 dias, enquanto que o hipocampo passa a ter menor atividade. O circuito comparador do qual o **córtex cingulado anterior** faz parte poderia inibir o hipocampo (Bontempi *et al.*, 1999), gerando maior flexibilidade comportamental. Além disto, Izquierdo *et al.* (2000) encontraram que o hipocampo é, sim, importante para a evocação da esQUIVA INIBITÓRIA a 31

dias pós-treino, mas através de seus receptores glutamatérgicos metabotrópicos e de suas enzimas PKA e MAPK. Assim, a visão abordada em 1.3.2.2 de que a memória “sairia” do hipocampo após alguns dias é, possivelmente, equivocada (pelo menos em relação à estrutura como um todo, e, não, particularmente, em relação aos seus receptores AMPA, como abordado anteriormente).

Curiosamente, dentro das estruturas que possivelmente participam do processamento da elaboração das respostas, **Fr2**, mas não o **córtex cingulado anterior** (pelo menos na coordenada por nós utilizada), mostrou-se sensível ao muscimol durante a consolidação (por sinal, de 0 a 180 min pós-treino). O **Fr2** em sua parte mais anterior, atualmente denominada de **FrA**, revelou-se essencial à consolidação da memória da esquiva inibitória através de mecanismos sensíveis ao muscimol e ao SCH 23390 (este, um antagonista dos receptores dopaminérgicos D1), tanto durante seus estágio iniciais, como em estágios mais avançados. Por ser o **Fr2** ainda pouco conhecido, tanto em suas propriedades ao nível sináptico como ao nível circuital, ainda não nos é possível avaliar com profundidade o motivo pelo qual isto acontece. Portanto, ainda não podemos afirmar se o **Fr2** é um sítio de armazenamento da memória ou apenas está envolvido com os mecanismos subjacentes à consolidação. Porém, se levarmos em conta que existe PLD na região pré-frontal que é induzido pela estimulação da formação hipocampal (Hirsch e Crepel, 1990; Laroche *et al.*, 1990), podemos especular que certos componentes importantes da memória relacionados com, por exemplo, planos de ação, poderiam ser guardados nesta região, mesmo que não necessária e especificamente nestas sinapses com a PLD acima descrita (*i.e.*, ainda há a possibilidade de que estas potenciações apenas induzam outras mudanças, permanentes, como ocorre no diálogo entre o SCE e o SCM, abordado em 1.3.2.1). Por sinal, **Fr2** pertence ao SCM hipotetizado por Hikosaka *et al.* (1999); logo, este poderia, a princípio, apresentar mudanças plásticas permanentes. Entretanto, o **córtex cingulado anterior** pode não ser necessário à consolidação da memória da esquiva inibitória de uma via, como também demonstrado em gatos (McCleary, 1961), embora o seja em memórias aversivas com outros componentes cognitivos envolvidos (conforme abordado no Capítulo 6). Por sinal, a PLD do **córtex cingulado anterior** dura menos de uma hora (Sah e Nicoll, 1991), curiosamente, contrariando a definição clássica de PLD apresentada em 1.2, e a ativação intensa desta

estrutura pode inibir a consolidação da memória de esquiva inibitória (Santos-Anderson e Routtenberg, 1976), possivelmente por saturar ou desorganizar o sistema mediador da memória de trabalho.

Já o **córtex insular agranular** tem conhecida participação na aquisição, consolidação e evocação da memória da esquiva inibitória, embora não seja sítio de armazenamento (conforme abordado no Capítulo 6). Em nosso trabalho, mostramos que a excessiva ativação dos receptores 5-HT_{1A} no início da consolidação provoca amnésia quando a memória é medida 24 horas depois. É possível que tal efeito seja mediado por um mecanismo de retroalimentação negativa existente entre o **córtex insular agranular** e os núcleos da rafe, como abordado no Capítulo 6. Caso este seja o mecanismo, alguma estrutura do cérebro deve ter seus níveis de serotonina diminuídos ao ser infundido DPAT no **córtex insular agranular**, o que provocaria a amnésia. Esta estrutura não é, porém, o hipocampo, a amígdala, o córtex entorrinal ou o córtex parietal (Izquierdo e Medina, 1997). Uma outra possibilidade é de que a ativação dos receptores 5HT_{1A} esteja inibindo a ativação da cascata do AMPc/PKA no **córtex insular agranular**, como é sugerido que ocorra no hipocampo, no córtex entorrinal e no córtex parietal (Izquierdo e Medina, 1997). Um próximo estudo sobre os efeitos da infusão no córtex insular agranular de Rp-AMPS e do Sp-AMPS (um inibidor e um estimulador, respectivamente, da atividade da proteína quinase A) sobre a consolidação da memória da tarefa de esquiva inibitória, que por sinal já sendo implementado, poderá auxiliar no esclarecimento de tal questão. A participação de outros sistemas (v.g., glutamatérgico) pode vir também a ser estudada.

7.1.3 Considerações Sobre a Medida da Memória através da Evocação

Avaliamos a memória, ao longo deste trabalho, através da mudança do comportamento animal na fase de teste. Esta é, de fato, a única forma, até o presente momento, que efetivamente possuímos para medir a memória, mesmo sendo esta uma forma indireta (Quillfeldt, 1994). Porém, alguns fatores podem dificultar a avaliação da memória segundo a perspectiva de sua evocação:

(1) Um traço pode ser reativado através de diferentes estratégias, ou seja, por diferentes combinações dos elementos adquiridos pelo sujeito durante a aquisição (Spear, 1978) e que foram modulados durante a consolidação (MgGaugh, 2000). Alguns destes

elementos poderiam não estar sob o controle (ou meramente a atenção) do experimentador (Spear, 1978);

(2) O estado neuro-humoral do sujeito experimental pode interferir na evocação (v.g., dependência de estado) (Izquierdo, 1984);

(3) O grau de acessibilidade da memória à evocação, que de alguma forma é determinado durante sua consolidação e armazenamento (Izquierdo, 1984) (v.g., tratamento pré-treino com cicloheximida, um inibidor da síntese protéica, é amnésico ao primeiro, mas não ao segundo dia de teste) (Quartermain e McEwen, 1970).

Nossa abordagem experimental, ao analisar o resultado a nível comportamental da interferência (direta) do funcionamento de apenas uma estrutura (ou apenas de parte desta), observa o efeito sobre a memória da exclusão funcional temporária (“lesões químicas reversíveis”) de um componente de um ou mais sistemas operacionais atuantes durante a aquisição, consolidação ou evocação. Por sinal, esta tem sido a abordagem utilizada em trabalhos anteriores que verificaram a participação do hipocampo, da amígdala, do córtex entorrinal e do córtex parietal na memória da tarefa de esquiva inibitória (dentre estes, podemos citar Izquierdo *et al.*, 1997 e Zanatta *et al.*, 1997). Logo, a relevância desta interferência pode variar enormemente segundo vários fatores, tais como: (1) a riqueza desta memória, proporcionada pelo número de componentes/sistemas que ela possui/mobiliza; (2) a intensidade na qual ela foi gravada, que pode variar segundo a existência ou não de componentes emocionais (estes, por sinal, também podem variar em intensidade); (3) a natureza da interferência, se no núcleo ou na modulação do processo (Barros *et al.*, 1999); e (4) a importância intrínseca de cada componente e a relação entre eles. A natureza do engrama é, portanto, de difícil acessibilidade por esta via, provavelmente devido à sua complexidade. Assim sendo, é necessário um grande conjunto de evidências experimentais, através de diferentes abordagens, para que possamos definir conclusivamente se uma determinada estrutura participa, e de que forma o faz, em determinada memória.

Outras abordagens experimentais, como a observação do metabolismo das diversas regiões cerebrais (v.g. em Bontempi *et al.*, 1999 e Sif *et al.*, 1991) ou da atividade neuronal de diversas estruturas (v.g. em Nicoletis *et al.*, 1995), revelam a natureza do engrama sobre diferente perspectiva, ao revelarem algumas das propriedades globais dos sistemas intactos.

Porém, apesar de todo o esforço até então empreendido em diversos laboratórios ao redor do mundo, muitas questões, até de caráter mais básico, ainda permanecem em aberto. Esperamos ter dado uma pequena contribuição rumo às respostas das diversas questões aqui levantadas, através de um estudo de Neurofarmacologia Comportamental com enfoque anatômico, o qual verificou o envolvimento de algumas estruturas — **córtex cingulado posterior, córtex cingulado anterior, área pré-central medial (Fr2) e córtex insular agranular** — na memória da esquiva inibitória, que, agora, somam-se ao já conhecido envolvimento do hipocampo, da amígdala, do córtex entorrinal e do córtex parietal. Esperamos, mais ainda, termos suscitado novas questões.

8. Bibliografia

- Anderson SA, Eisenstat DD, Shi L, Rubenstein JL (1997). Interneuron migration from basal forebrain to neocortex: dependence on *Dlx* genes. *Science* **278**:474-6.
- Artola A e Singer W (1987). Long-term potentiation and NMDA receptors in rat visual cortex. *Nature* **330**:649-652.
- Barros DM, Izquierdo LA, Sant'Anna MK, Quevedo J, Medina JH, McGaugh JL e Izquierdo I (1999). Stimulators of the cAMP cascade reverse amnesia induced by intra-amygdala but not intrahippocampal KN-62 administration. *Neurobiology of Learning and Memory* **71**:94-103.
- Bear MF, Connors BW e Paradiso, MA (1995). *Neuroscience: Exploring the Brain*. Baltimore: Willians e Wilkins; pp. 386-390.
- Bliss TVP e Collingridge GL (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **361**:31-39.
- Bliss TVP e Gardner-Medwin AR (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology* **232**: 357-74.
- Bliss TVP e Lømo TJ (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology* **232**: 331-56.
- Bloch V (1970). Facts and hypotheses concerning memory consolidation processes. *Brain Research* **24**:561-575.
- Blomberg C (1994). The Physicist's Road to Theoretical Biology and the Mind-Matter Problem. *Journal of Theoretical Biology* **171**:41-52.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C e Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature*

400:671-5.

- Bradley MM, Greenwald MK, Petry MC e Lang PJ (1992). Remembering pictures: pleasure and arousal in memory. *Journal of Experimental Psychology of Learning and Memory and Cognition* **18**:379-90.
- Cahill L, Babinsky R, Markowitsch HJ e McGaugh JL (1995). The amygdala and emotional memory. *Nature* **377**:295-6.
- Cahill L e McGaugh JL (1998). Mechanisms of emotional arousal and lasting declarative memory. *Trends in Neurosciences* **21**:294-9.
- Caviness VS, Jr. (1975). Architectonic map of neocortex of the normal mouse. *Journal of Comparative Neurology* **164**:247-264.
- Caviness VS, Jr. e Frost DO (1980). Tangential organization of thalamic projections to the neocortex in the mouse. *Journal of Comparative Neurology* **194**:335-67.
- Changeux JP (1991). *O Homem Neuronal* (2a. ed.). Lisboa: Publicação Dom Quixote.
- Chapman PF, Kairiss EW, Keenan CL e Brown TH (1990). Long-term synaptic potentiation in the amygdala. *Synapse* **6**:271-278.
- Clugnet MC e LeDoux JE (1990). Synaptic plasticity in fear conditioning circuits: induction of LTP in the lateral nucleus of the amygdala by stimulation of the medial geniculate body. *Journal of Neuroscience* **10**:2818-2824.
- Crair MC e Malenka RC (1995). A critical period for long-term potentiation at thalamocortical synapses. *Nature* **375**:325-8.
- Damásio AR (1996). *O Erro de Descartes: Emoção, Razão e o Cérebro Humano*. São Paulo: Companhia das Letras.
- Deacon TW (1997). *The Symbolic Species: The Coevolution of Language and the Brain*. Nova Iorque: W.W. Norton & Company.
- Edelman GM e Mountcastle VB (1978). *The Mindful Brain*, MIT Press.

- Eichenbaum H (1993). Thinking about brain cell assemblies. *Science* **261**:993-994.
- Eichenbaum H, Schoenbaum G, Young B e Bunsey M (1996). Functional organization of the hippocampal memory system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* **93**:13500-13507.
- Ellsworth PC (1991). In: Strongman K.T. (Ed.), *International Review of Studies on Emotion*. Vol.1, pp. 143-162. Citado em Maddock, 1999.
- Finlay BL e Darlington RB (1995). Linked Regularities in the Development and Evolution of Mammalian Brains. *Science* **268**:1578-1584.
- Fuster JM (1997). Network memory. *Trends in Neurosciences* **20**:451-459.
- Gabriel M, Kubota Y e Shenker J (1988). Limbic circuit interactions during learning. In: Markowitsh H. (Ed.), *Information processing by the brain*. Toronto: Hans Huber; pp 39-63.
- Greengard P, Jen J, Nairn AC e Stevens CF (1991). Enhancement of the glutamate response by cAMP-dependent protein kinase in hippocampal neurons. *Science* **253**:1135-8.
- Groenewegen HJ (1988). Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, **24**: 397-431.
- Gross CG e Graziano MSA (1995). Multiple representations of space in the brain. *The Neuroscientist* **1**:43-50.
- Haglund MM, Ojemann GA, Schwartz TW, Lettich E (1994). Neuronal activity in human lateral temporal cortex during serial retrieval from short-term memory. *Journal of Neuroscience* **14**:1507-15.
- Haier RJ, Siegel BV Jr., MacLachlan A, Soderling E, Lottenberg S e Buchsbaum MS (1992). Regional glucose metabolic changes after learning a complex visuospatial/motor task: a positron emission tomographic study. *Brain Research* **570**:134-43.

- Hamann SB, Cahill L e Squire LR (1997). Emotional perception and memory in amnesia. *Neuropsychology* **11**:104-13.
- Hart M, Poremba A e Gabriel M (1997). The nomadic engram: Overtraining eliminates the impairment of discriminative avoidance behavior produced by limbic thalamic lesions. *Behavioural Brain Research* **82**:169-177.
- Hedberg TG, Simpson GV e Stanton PK (1993). Microcircuitry of posterior cingulate cortex in vitro: electrophysiology and laminar analysis using the current source density method. *Brain Research* **632**:239-48.
- Hedberg TG e Stanton PK (1995). Long-term potentiation and depression of synaptic transmission in rat posterior cingulate cortex. *Brain Research* **670**:181-196.
- Hicks RR e Huerta MF (1991). Differential thalamic connectivity of rostral and caudal parts of cortical areas Fr2 in rats. *Brain Research* **568**:325-329.
- Hikosaka O, Nakahara H, Rand MK, Sakai K, Lu X, Nakamura K, Miyachi S, Doya K (1999). Parallel neural networks for learning sequential procedures. *Trends in Neurosciences* **22**:464-71.
- Hirsch JC e Crepel FJ (1990). Use-dependent changes in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro. *Physiology* **427**:31-49.
- Horikawa K, Kinjo N, Stanley LC e Powell EW (1988). Topographic organization and collateralization of the projections of the anterior and laterodorsal thalamic nuclei to cingulate areas 24 and 29 in the rat. *Neuroscience Research* **6**:31-44.
- Hume D (1748). *Investigação Acerca do Entendimento Humano*. Série “Os Pensadores”. Nova Cultural.
- Iijima T, Witter MP, Ichikawa M, Tominaga T, Kajiwara R e Matsumoto G (1996). Entorhinal-hippocampal interactions revealed by real-time imaging. *Science* **272**:1176-9.
- Izquierdo I (1984). Endogenous State Dependency: Memory Depends on the Relation between the Neurohumoral and Hormonal States Present after

- Training and at the Time of Testing. *In*: Lynch G, McGaugh JL e Weinberger NM (eds.). *Neurobiology of Learning and Memory*. Guilford Press, Nova Iorque, pp. 333-350.
- Izquierdo I (1989). Different forms of post-training memory processing. *Behavioral and Neural Biology* **51**:171-202.
- Izquierdo I (1992). The Neurobiology of Memory Consolidation. *Neurosciences* **18**:1-11.
- Izquierdo LA, Barros DM, Ardenghi PG, Pereira P, Rodrigues C, Choi H, Medina JH e Izquierdo I (2000). Different hippocampal molecular requirements for short- and long-term retrieval of one-trial avoidance learning. *Behav Brain Res* **111**:93-8.
- Izquierdo I e Medina JH (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory* **68**:285-316.
- Izquierdo I, Quilfedt JA, Zanatta MS, Quevedo J, Schaeffer E, Schmitz PK, e Medina JH (1997). Sequential role of hippocampus and amygdala, the entorhinal cortex and the posterior parietal cortex in formation and retrieval of memory for inhibitory avoidance in rats. *European Journal of Neuroscience* **9**:786-793.
- Jung MW, Qin Y, McNaughton BL e Barnes CA (1998). Firing characteristics of deep layer neurons in prefrontal cortex in rats performing spatial working memory tasks. *Cereb Cortex* **8**:437-50.
- Kaas JH e Reiner A (1999). Evolutionary neurobiology. The neocortex comes together. *Nature* **399**:418-9.
- Karni A, Tanne D, Rubenstein BS, Askenasy JJM e Sagi D (1994). Dependence on REM sleep of overnight improvement of a perceptual skill. *Science* **265**:679-682.
- Kombian SB e Malenka RC (1994). Simultaneous LTP of non-NMDA- and LTD of NMDA-receptor-mediated responses in the nucleus accumbens. *Nature*

368:242-246.

- Krubitzer L, Manger P, Pettigrew J e Calford M (1995). Organization of somatosensory cortex in monotremes: in search of the prototypical plan. *Journal of Comparative Neurology* **351**:261-306.
- Kubota Y e Gabriel M (1995). Studies of the limbic comparator: Limbic circuit training-induced unit activity and avoidance behavior in rabbits with anterior dorsal thalamic lesions. *Behavioral Neuroscience* **109**:258-277.
- Laroche S, Jay TM e Thierry AM (1990). Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neuroscience Letters* **114**:184-90.
- LeDoux JE (1995). Emotion: clues from the brain. *Annual Review of Psychology* **46**:209-35.
- Leonard CM (1969). The prefrontal cortex of the rat. I. Cortical projection of the mediodorsal nucleus. II. Efferent connections. *Brain Research* **12**:321-343.
- Leung LW e Borst JG (1987). Electrical activity of the cingulate cortex. I. Generating mechanisms and relations to behavior. *Brain Research* **407**:68-80.
- Maddock RJ (1999). The retrosplenial cortex and emotion: new insights from functional neuroimaging of the human brain. *Trends in Neuroscience* **22**:310-6.
- Marshall JC (1988). Sensation and semantics. *Nature* **334**:378.
- McCleary RA (1961). Response specificity in the behavioral effects of limbic system lesions in the cat. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* **54**:605-613.
- McGaugh JL (1966). Time-dependent processes in memory storage. *Science* **153**:1351-1358.
- McGaugh JL (2000). Memory — a Century of Consolidation. *Science* **287**:248-251.
- Mountcastle VB (1978). An organizing principle for cerebral function: the unit module and the distributed system. In: Edelman GM e Mountcastle VB (Eds),

- The mindful brain*. Cambridge: MIT Press; pp. 1-50.
- Nicolelis MA, Baccala LA, Lin RC e Chapin JK (1995). Sensorimotor encoding by synchronous neural ensemble activity at multiple levels of the somatosensory system. *Science* **268**:1353-8.
- Nicoll RA e Malenka RC (1995). Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **377**:115-118.
- Northcutt RG e Kaas JH (1995). The emergence and evolution of mammalian neocortex. *TINS* **18**:373-379.
- Papez JW (1937). A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology and Psychiatry* **38**:725-743.
- Paxinos G e Watson C (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (4^a ed.). San Diego: Academic Press.
- Preuss TM (1995). Do rats have prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert program reconsidered. *Journal of Cognitive Neuroscience* **7**:1-24.
- Preuss TM e Kaas JH (1999). Human Brain Evolution. In: Zigmond MJ, Bloom FE, Landis SC, Roberts JL e Squire, LR (Eds.), *Fundamental Neuroscience* Academic Press, San Diego, pp. 1283-1311.
- Qin YL, McNaughton BL, Skaggs WE e Barnes CA (1997). Memory reprocessing in corticocortical and hippocampocortical neuronal ensembles. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **352**:1525-33.
- Quartermain D e McEwen BS (1970). Temporal characteristics of amnesia induced by protein synthesis inhibitor: determination by shock level. *Nature* **228**:677-8.
- Quillfeldt JA (1994). O papel dos receptores glutamatérgicos do tipo AMPA na expressão da memória no córtex entorrinal e estruturas relacionadas. Tese de Doutorado do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFGRS.
- Rakic P (1988) Specification of cerebral cortical areas. *Science* **241**:170-176.

- Rakic P (1995). A small step for the cell, a giant leap for mankind: a hypothesis of neocortical expansion during evolution. *TINS* **18**:383-388.
- Roesler R, Zanatta MS, Mello e Souza T, Quevedo J, Schmitz PK, Schaeffer E, Quillfeldt JA, Medina JH e Izquierdo I (1997). Memory expression is blocked by CNQX infused into the posterior parietal cortex up to 90 days after training. *Society for Neuroscience Abstracts* **23**:219.
- Roland PE (1994). Obstacles on the Road Towards a Neuroscientific Theory of Mind. *Journal of Theoretical Biology* **171**:19-28.
- Roozendaal B, Ferry B e McGaugh JL (1999). Basolateral amygdala lesions block the impairing effects induced by excitotoxic lesions of the dorsal hippocampus on spatial memory in a water maze. *Society for Neuroscience Abstracts* **25**:1624.
- Sah P e Nicoll RA (1991) Mechanisms underlying potentiation of synaptic transmission in rat anterior cingulate cortex in vitro. *Journal of Physiology* **433**:615-630.
- Santos-Anderson RM e Routtenberg A (1976). Stimulation of rat medial or sulcal prefrontal cortex during passive avoidance learning selectively influences retention performance. *Brain Research* **103**:243-59.
- Schacter DL (1982). *Stranger Behind the Engram - Theories of Memory and the Psychology of Science*. Hillsdale: Lawrence Erlbaum Associates; pp 2.
- Seamans JK, Floresco SB e Philips AG (1995). Functional differences between the prelimbic and anterior cingulate regions of the rat prefrontal cortex. *Behavioral Neuroscience* **109**:1063-1076.
- Shaw GL, Silverman DJ e Pearson JC (1988). Trion Model of Cortical Organization and the Search for the Code of Short-Term Memory and of Information Processing. In: Levy J e Delacour J (Eds.) *Systems with Learning and Memory Abilities*. Nova Iorque: Elsevier; pp 411-435.
- Shibata H (1993). Efferent projections from the anterior thalamic nuclei to the cingulate cortex in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* **330**:533-

542.

- Sif J, Messier C, Meunier M, Bontempi B, Calas A e Destrède C (1991). Time-dependent sequential increases in [14C]2-deoxyglucose uptake in subcortical and cortical structures during memory consolidation of an operant training in mice. *Behavioral and Neural Biology* **56**:43-61.
- Smith C (1985). Sleep states and learning: a review of the animal literature. *Biobehavioral Reviews* **9**:157-168.
- Spear NE (1978). *The processing of memories: Forgetting and retention*. Hillsdale: Erlbaum.
- Squire LR (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkey, and humans. *Psychological Reviews* **99**: 195-221.
- Squire LR e Zola SM (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* **93**:13515-13522.
- Tononi G e Edelman G (1998). Consciousness and complexity. *Science* **282**:1846-1851.
- Tsumoto T (1992). Long-term potentiation and long-term depression in the neocortex. *Progress in Neurobiology* **39**:209-228.
- Tsumoto T (1993). Long-term depression in cerebral cortex: a possible substrate of “forgetting” that should not be forgotten. *Neuroscience Research* **16**:263-270.
- Van Eden CG, Lammed VAF e Uylings HBM (1992). Heterotopic cortical afferents to the medial prefrontal cortex in the rat: A combined retrograde and anterograde tracer study. *European Journal of Neurosciences* **4**:77-97.
- Vogt BA e Gabriel M (1993). *Neurobiology of cingulate cortex and limbic thalamus: A comprehensive handbook*. Basel: Birkhauser
- Vogt BA e Peters A (1981). Form and Distribution of Neurons in Rat Cingulate Cortex: Areas 32, 24, and 29. *Journal of Comparative Neurology* **195**:603-625.

- Vogt BA, Rosene DL, Peters A (1981). Synaptic termination of thalamic and callosal afferents in cingulate cortex of the rat. *Journal of Comparative Neurology* **201**:265-83.
- Wilson MA e McNaughton BL (1994). Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep. *Science* **265**:676-9.
- Zanatta MS, Quillfeldt JH, Schaeffer E, Schmitz PK, Quevedo J, Medina JH, Izquierdo I (1997). Involvement of the hippocampus, amygdala, entorhinal cortex and posterior parietal cortex in memory consolidation. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **30**:235-40.
- Zheng F e Gallagher JP (1992). Metabotropic glutamate receptors are required for the induction of long-term potentiation. *Neuron* **9**:163-72.
- Zilles K e Wree A (1995). Cortex: Areal and Laminar Structure. *In*: Paxinos G (Ed.), *The Rat Nervous System*. San Diego: Academic Press.

9. Lista de Publicações no Doutorado

9.1 Da Tese

1. **Mello e Souza T**, Roesler R, Madruga M, de Paris F, Quevedo J, Rodrigues C, Sant'Anna MK, Medina JH e Izquierdo I (1999). Differential effects of post-training muscimol and AP5 infusions into different regions of the cingulate cortex on retention for inhibitory avoidance in rats. *Neurobiology of Learning and Memory* **72**:118-127.
2. **Mello e Souza T**, Vianna MRM, Rodrigues C, Quevedo J, Madruga M, Medina JH e Izquierdo I (2000). Involvement of the medial precentral prefrontal cortex in memory consolidation for inhibitory avoidance in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **66**(3):615-622.
3. Barros DM, Izquierdo LA, **Mello e Souza T**, Ardenghi PG, Pereira P, Medina JH e Izquierdo I (2000). Molecular signalling pathways in the cerebral cortex are required for retrieval of one-trial avoidance learning in rats. *Behavioural Brain Research* **114**(1-2):183-92.
4. **Mello e Souza T**, Rodrigues C, Souza MM, Vinadé E, Choi H e Izquierdo I. Involvement of serotonergic type 1A (5-HT_{1A}) receptor in the Agranular Insular Cortex in the Consolidation of Memory for Inhibitory Avoidance in Rats. *Behavioural Pharmacology* (submetido).

9.2 Sobre Cingulado ou Pré-Frontal (Fora da Tese)

1. Izquierdo I, Izquierdo LA, Barros DM, **Mello e Souza T**, de Souza MM, Quevedo J, Rodrigues C, Sant'Anna M Kauer, Madruga M e Medina JH (1998). Differential Involvement of Cortical Receptor Mechanisms in Working, Short- and Long-term Memory. *Behavioural Pharmacology* **9**(5-6):421-7.
2. Souza MM, **Mello e Souza T**, Vinadé ER, Rodrigues C, Choi HK, Dedavid e Silva TL e Medina JH e Izquierdo I. Effects of Post-training Treatments in the Posterior

Cingulate Cortex on Short- and Long-Term Memory for Inhibitory Avoidance in Rats. *Neurobiology of Learning and Memory* (submetido).

3. Pereira P, Ardenghi P, **Mello e Souza T** e Izquierdo I. Time-dependent cAMP-dependent protein kinase activity changes in the rat brain due to training in step-down inhibitory avoidance task and in habituation to an open field. *Behavioural Pharmacology* (submetido)
4. Barros DM, **Mello e Souza T**, De-David T, Choi H, Aguzzoli A, Madche C, Ardenghi P, Medina JH e Izquierdo I. Simultaneous Modulation of Retrieval by Dopaminergic D1, β -Noradrenergic, Serotonergic-1A and Cholinergic Muscarinic Receptors in Cortical Structures of the Rat. *Behavioral Brain Research* (submetido).
5. Pereira GS, **Mello e Souza T**, Bonan CD, Battastini AMO, Izquierdo I e Sarkis JJF. Effects of Inhibitory Avoidance Training and/or Isolated Foot-Shock on Ectonucleotidase Activities in Synaptosomes from the Anterior and Posterior Cingulate Cortex and the Medial Precentral Area (Fr2) of Adult Rats. *Behavioural Brain Research* (em elaboração).

9.3 Outras

1. **Mello e Souza T**, Rohden A, Meinhardt M, Gonçalves CA e Quillfeldt JA. Post-training infusion of s100 β into the hippocampus facilitates long-term memory both for the open-field habituation and for the step-down inhibitory avoidance tasks in rats. *Physiology & Behavior* **71**(1-2):29-33.
2. Izquierdo LA, Vianna M, Barros DM, **Mello e Souza T**, Ardenghi P, Sant'Anna MK, Rodrigues C, Medina JH e Izquierdo I (2000). Short- and Long-term Memory are Differentially Affected by Metabolic Inhibitors Given into Hippocampus and Entorhinal Cortex. *Neurobiology of Learning and Memory* **73**:141-149.
3. Bianchin M, **Mello e Souza T**, Medina JH e Izquierdo I (1999). The Amygdala is Involved in the Modulation of Long-term memory, but not in Working or Short-term memory. *Neurobiology of Learning and Memory* **71**(2):127-31.
4. Izquierdo I, Medina JH, Ardenghi PG, Barros DM, Bevilacqua L, Izquierdo LA, **Mello**

- e Souza T**, Quevedo J e Schröder N (1998). Memory processing and its shifting maps: interactions between monoamines and events dependent on glutamatergic transmission." *In: T Palomo, T Archer e R Beninger (Eds.). Monoamine Interactions and Brain Disease*. Madrid: Complutense, pp. 515-545.
5. Izquierdo I, Medina JH, Barros DM, **Mello e Souza T**, de Souza MM e Izquierdo LA (1998). Mecanismos separados para la memoria de corta y de larga duración. *Revista Argentina de Neurociencias* **2**(4):6-7.
 6. Izquierdo I, Medina JH, Izquierdo LA, Barros DM, de Souza MM e **Mello e Souza T** (1998). Short- and Long-Term Memory are Differentially Regulated by Monoaminergic Systems in the Rat Brain. *Neurobiology of Learning and Memory* **69**:219-224.
 7. Izquierdo I, Barros DM, **Mello e Souza T**, de Souza MM, Izquierdo LA e Medina JH (1998). Mechanisms for memory types differ. *Nature* **393**:635-636.
 8. Roesler R, Zanatta MS, **Mello e Souza T**, Quevedo J, Schmitz PK, Schaeffer E, Quillfeldt JA, Medina JH e Izquierdo I (1997). Memory expression is blocked by CNQX infused into the posterior parietal cortex up to 90 days after training. *Society for Neuroscience Abstracts*, **23**(1):219.
 9. Barros D, **Mello e Souza T**, Souza MM, Choi H, Dedavid e SilvaTL, Lenz G e Izquierdo I. Inhibition of phosphoinositide 3-kinase (PI 3-K) by intrahippocampal infusion of LY294002 impairs acquisition and retrieval but not consolidation of memory for step-down inhibitory avoidance in rats. *Behavioural Pharmacology* (submetido).
 10. Izquierdo I, Ardenghi PG, Barros DM, Bevilaqua L, Izquierdo LA, Medina JH, **Mello e Souza T**, Pereira P, de Souza MM e Vianna MRM. Consolidation of short- and long-term memory (em elaboração).

Hic jacet lepus.