

**ESTUDO DA LIBERAÇÃO DE DOPAMINA ESTRIATAL EM
RATOS MPTP HEMI-LESIONADOS
ESTUDO DA DOPAMINA ESTRIATAL**

STUDY OF STRIATAL DOPAMINE RELEASE IN HEMI-LESIONED
MPTP RATS. STUDY OF STRIATAL DOPAMINE

Jamile M. Cugler¹
Cláudio Da Cunha²

RESUMO

Para a fase inicial da doença de Parkinson (DP) são usados como modelo animal ratos com lesão unilateral na substância negra pars compacta (SNc) induzida por 1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6-tetraidropiridina (MPTP). Apesar desses animais não apresentarem alterações motoras, eles apresentam comportamento rotatório quando desafiados com drogas dopaminérgicas. Quando esses ratos são desafiados com apomorfina, agonista direto dos receptores de dopamina (DA), eles apresentam um comportamento rotatório ipsiversivo (em direção ao lado lesionado). Este modelo foi usado para investigar se a concentração estriatal dos níveis extracelulares de DA (DA_E) muda em resposta à apomorfina e se a direção do comportamento rotatório pode ser previsto pela assimetria de DA_E entre o lado lesado e lado não lesado, com o objetivo de estudar o efeito da apomorfina nos mecanismos compensatórios que mantêm o nível de DA_E normal. Com o tratamento, a apomorfina diminuiu DA_E no lado lesado e não lesado, ocorrendo maior diminuição no lado lesado no momento em que os ratos começaram com comportamento rotatório ipsiversivo. Esses resultados sugerem que a ausência de alterações motoras depende da manutenção dos níveis extracelulares de DA por mecanismos que podem ser rompidos por eventos que demandem sua alteração para níveis mais baixos.

Descritores: Microdiálise in vivo, rotação, Apomorfina, Doença de Parkinson

ABSTRACT

¹ **BIOGRAFIA**

1 Graduando do curso de Farmácia pela Faculdades Integradas do Brasil - UNIBRASIL

2 Dr. ^aLaboratório de Fisiologia e Farmacologia do Sistema Nervoso Central, Departamento de Farmacologia, UFPR, Autor para correspondência: Cláudio da Cunha, e-mail:

For the initial phase of Parkinson's disease (PD), rat animal model with unilateral lesion in the substantia nigra pars compacta (SNc) induced by 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine (MPTP) is used. Although these animals do not show motor abnormalities, they exhibit rotational behavior when challenged with dopaminergic drugs. When these animals are challenged with apomorphine, a direct agonist of dopamine (DA) receptors, they exhibit an ipsiversive rotational behavior (toward the lesioned side). This model was used to investigate if the striatal concentration of extracellular levels of DA (DA_E) changes in response to apomorphine and the if the direction of rotational behavior can be predicted by the asymmetry of DA_E between the lesioned and non-lesioned side, with the aim to study the effect of the apomorphine in compensatory mechanisms that maintain DA_E normal. After treatment, apomorphine decreased DA_E on the lesioned and non-lesioned side, occurring greater decreased in the lesioned side at the moment that rats began with ipsiversive rotational behavior. These results suggest that the absence of motor alterations depends on the maintenance of DA extracellular level by mechanisms that may be disrupted by events that require changes to its lowest levels.

Keywords: in vivo microdialysis, rotation, apomorphine, Parkinson's disease.

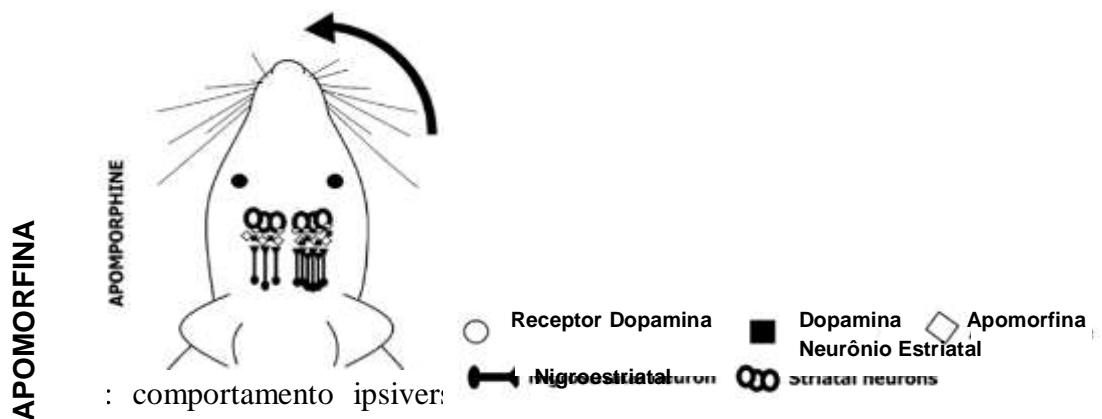
INTRODUÇÃO

A dopamina (DA) é um neurotransmissor catecolamínico do sistema nervoso central (SNC) que se encontra em maior proporção na via *nigroestriatal* do cérebro⁽¹⁾. Os neurônios nigroestriatais partem da substância negra *pars compacta* (SNc) e vão em direção ao estriado⁽²⁾. A DA tem importância em alguns distúrbios do SNC como a doença de Parkinson (DP)⁽¹⁾.

A DP é uma doença neurodegenerativa que tem sido muito estudada atualmente⁽³⁾. Esta neurodegeneração é seletiva de neurônios dopaminérgicos na SNc. Essa destruição neuronal resulta nas principais características da doença⁽⁴⁾ incluindo lentidão dos movimentos, tremor em repouso, rigidez muscular, comprometimento do equilíbrio postural, assim como déficits cognitivos nas funções executivas, memória de trabalho e memória processual⁽⁵⁾. O comprometimento motor aparece em um estágio mais avançado da doença com a degeneração dos neurônios dopaminérgicos da SNc em torno de 70%-85%^(6,7)

Atualmente muitos modelos animais de DP estão disponíveis. Os modelos 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) e 6-hidroxidopamina (6-OHDA) são os mais utilizados^(8,9).

A neurotoxicidade do MPTP nos neurônios dopaminérgicos ficou conhecida quando se analisou o comportamento de um grupo de jovens que fazia uso de drogas ilícitas^(10,11,12). O MPTP causa uma destruição irreversível dos neurônios dopaminérgicos nigroestriatais em humanos e em animais semelhante à DP. No entanto, quando o MPTP é administrado sistemicamente em ratos não causa uma perda expressiva de neurônios dopaminérgicos evidente. Uma explicação pode ser a alta atividade da enzima monoamina-oxidase (MAO) na barreira hematoencefálica de cérebro de ratos, enzima responsável por converter o MPTP em 1-metil-4-fenilpiridínio (MPP+), isto não ocorrendo somente na SNc mas em qualquer região do cérebro⁽¹³⁾. Quando o MPTP é usado em ratos, a substância deve ser infundida em uma alta concentração na SNc, o que ocasiona uma perda seletiva de 50-70% dos neurônios dopaminérgicos^(8,14,15). Esta lesão na SNc com o MPTP leva a uma hipocinesia em ratos que desaparece em poucos dias⁽¹⁶⁾ e após 3 semanas esses animais não apresentam mais alterações motoras⁽¹⁴⁾, porém, apresentam déficits cognitivos^(17,18,19,20,21). Ratos MPTP hemi-lesionados quando desafiados com apomorfina, agonista direto dos receptores de DA, apresentam como resposta um comportamento ipsiversivo (para o lado da lesão) (Figura 1). Esta rotação é devida a uma modulação assimétrica das sinapses corticoestriatais pelos neurônios nigroestriatais que fazem com que os animais rodem para o lado com uma menor estimulação dopaminérgica^(8,22)



desafiados com apomorfina⁽⁸⁾.

Para comportamentos motores normais é preciso que a concentração de DA_E esteja acima de um limiar mínimo (liberação tônica)^(23,24). Esta é a explicação para os

ratos MPTP hemi-lesionados, sem administração de apomorfina, apresentarem um comportamento motor normal⁽¹⁴⁾, enquanto que na aprendizagem, eles apresentam déficits cognitivos, já que a aprendizagem depende de uma liberação fásica de DA, a qual está comprometida nesse modelo animal de DP^(21,25,26). Este fato também pode representar o desenvolvimento de mecanismos compensatórios para a perda dos neurônios dopaminérgicos na manutenção da liberação tônica (importante para a manutenção de movimentos motores) de DA no estriado.

O estudo teve como objetivo analisar em ratos com lesão unilateral na SNc por MPTP se a apomorfina promove um rompimento dos mecanismos compensatórios que mantêm o nível extracelular de dopamina no estriado inalterado e se a direção do comportamento rotatório pode ser predito baseado na assimetria de DA_E entre os lados lesado e não lesado. Para tal, foi realizado um estudo de microdiálise *in vivo* de liberação de DA no estriado de ratos implantados com 2 cânulas de microdiálise em ambos os estriados e posteriormente, esses ratos eram desafiados com apomorfina.

METODOLOGIA

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Paraná com o protocolo número 353.

A metodologia empregada neste trabalho foi baseada na descrita por (Dombrowski e colaboradores, 2010)⁽²⁷⁾. Foram utilizados ratos Wistar machos adultos com peso entre 250-290 g provenientes do biotério da Universidade Federal do Paraná onde foram mantidos em uma sala com temperatura controlada de (22±2° C) em ciclo de 12-h claro/escuro (luzes às 7:00 a.m.), com comida e água á vontade. Nestes ratos foi realizado o procedimento cirúrgico onde vinte minutos antes da cirurgia, os animais receberam sulfato de atropina (0.4 mg/kg, i.p.) para suprimir a salivacão e penicilina G-procaína (0.1 ml, i.m.). Eles foram anestesiados com Equitesin® (3 ml/kg, i.p.) e receberam três injeções de acetaldéido (120 mg/kg, i.p., 10 min antes e 30 e 60 min após o começo da cirurgia). MPTP HCl (2 µg, i.c.v.) em salina (0.9% NaCl) foi infundido na SNc através de uma agulha de metal calibre 30 em uma taxa de infusão de 0.25 µl/min. Utilizando o bregma como ponto de referência, as coordenadas usadas foram:

anteroposterior (AP): -5.0 mm; mediolateral (ML): ± 2.1 mm; dorsoventral (DV): -7.7 mm⁽²⁸⁾. Para os animais sham, o procedimento cirúrgico foi o mesmo, porém foi infundido salina na SNc (direita ou esquerda) ao invés do MPTP.

Após uma semana do procedimento cirúrgico, os animais foram desafiados com uma injeção s.c. de 0.5 mg/kg de apomorfina e por uma hora o seu comportamento de rotação foi contabilizado. Ratos que obtiveram número de rotações ipsiversivas inferior a 50 rotações foram descartados do experimento. Dezesesseis dias após o procedimento cirúrgico, os ratos foram anestesiados como descrito anteriormente e uma cânula guia (15 mm) foi implantada no estriado direito e esquerdo usando as seguintes coordenadas a partir do bregma: AP: +1.2 mm; ML: ± 4.3 mm; DV: -2.8 mm; ângulo de 25°⁽²⁸⁾. A cânula guia foi firmemente ancorada ao crânio com parafusos em miniatura e cimento dental. No final da cirurgia, cada cânula guia foi fechada com arame de alumínio.

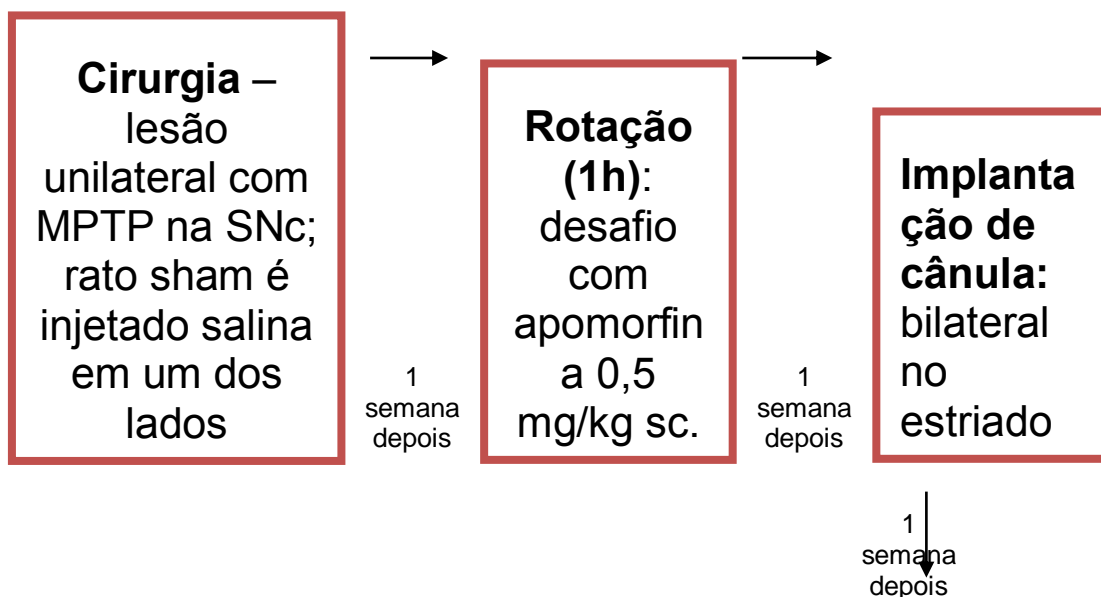
Após cinco dias de recuperação, os animais foram colocados individualmente no mesmo recipiente redondo utilizado anteriormente e o número de rotações 360° para o lado lesado (ipsiversivo) e para o lado não lesado (contraversivo) foram gravados e contados para medir o comportamento de rotação. Simultaneamente foi realizada a técnica de microdiálise onde uma sonda foi inserida através de uma cânula guia no estriado do rato. Em seguida o animal foi desafiado com 0.5 mg/kg de apomorfina. Esta dose de apomorfina (0.5 mg/Kg) foi escolhida baseado em estudos prévios do laboratório da UFPR com ratos MPTP⁽⁸⁾

As sondas de microdiálise possuíam uma membrana semi-permeável, a qual foi perfundida por solução de Ringer(em mM: NaCl, 145.0; KCl, 2.7; CaCl₂, 1.2; MgCl₂, 1.0, pH = 7.4) em fluxo constante de 1.2 μ l/min em bomba de microinjeção. Após o período de equilíbrio de 2-h foram coletadas amostras de microdiálise de 15 em 15 minutos. As 4 primeiras amostras coletadas foram as de níveis basais, seguidas de 9 amostras após a administração de apomorfina e posteriormente foi realizada a coleta de mais 3 amostras. As amostras foram coletadas em tubos de polietileno contendo 15 μ l de solução de ácido perclórico 0.1M e metabissulfito de sódio como antioxidante. As amostras foram guardadas a -70° C até a análise em cromatografia líquida de alta resolução com detector eletroquímico (HPLC-ED).

O dialisado foi injetado no HPLC composto por bomba LC-20AT (Shimadzu Corporation, Japão), um detector eletroquímico (ESA Coulochem III Electrochemical Detector) equipado com uma célula-guarda (ESA 5020) com um potencial de 350 mV e uma célula analítica com potências de oxidação de 100 mV para o primeiro eletrodo e 450 mV para o segundo eletrodo. As separações foram realizadas em uma coluna de fase reversa Fusion RP C-18 (Phenomenex, EUA), dimensões 150 x 2,0 mm, partículas de 4µm, em temperatura de 25°C equipada com uma pré-coluna com dimensões de 4 x 3,0 mm (SecurityGuard Cartridges Fusion-RP). Os cromatogramas da dopamina foram integrados e analisados pelo software LC Solutions (Shimadzu).

A fase móvel utilizada para a análise era constituída de: ácido cítrico 20 g; ácido etileno-diamino-tetra-acético (EDTA) 40 mg; ácido octanossulfônico 200 mg; 900 mL água de miliQ; metanol 10%; pH ajustado em 4,0; fluxo de 1,0 mL/mi (desenho experimental descrito na figura 2).

Os dados foram analisados por ANOVA seguida por teste de Newman-Keuls. $P < 0.05$ foi considerado significativo.



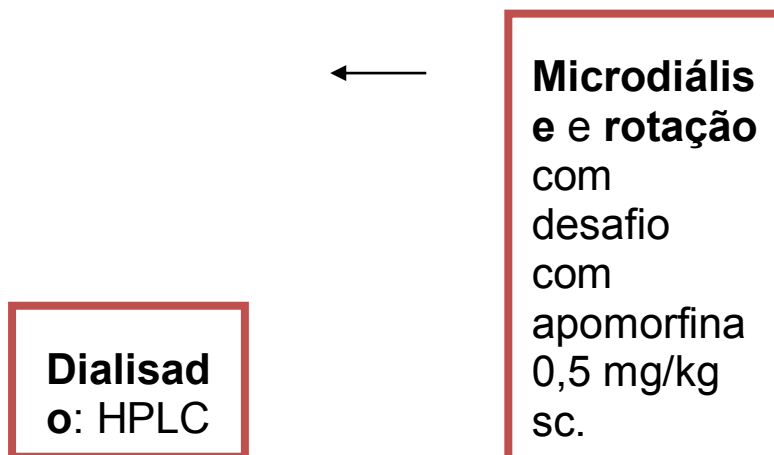


Figura 2: Desenho experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No comportamento de rotação, os ratos MPTP hemi-lesionados, após terem recebido 0.5 mg/Kg de apomorfina, tiveram comportamento de rotação ipsiversivo como mostrado na Fig. 3A. Tal comportamento não foi observado em animais do grupo sham (Fig. 3B) e nem em animais que receberam salina ao invés de apomorfina (Fig. 3C). Os efeitos da apomorfina na liberação da DA é mostrada na Fig. 4A, onde nota-se as alterações nos níveis extracelulares de DA estriatal (DA_E) em resposta a administração de apomorfina. Observa-se uma diminuição de DA_E em ambos os lados, mas essa diminuição é ainda maior no lado lesado, apresentando um comportamento rotatório em direção ao lado com menor liberação de DA ⁽⁸⁾

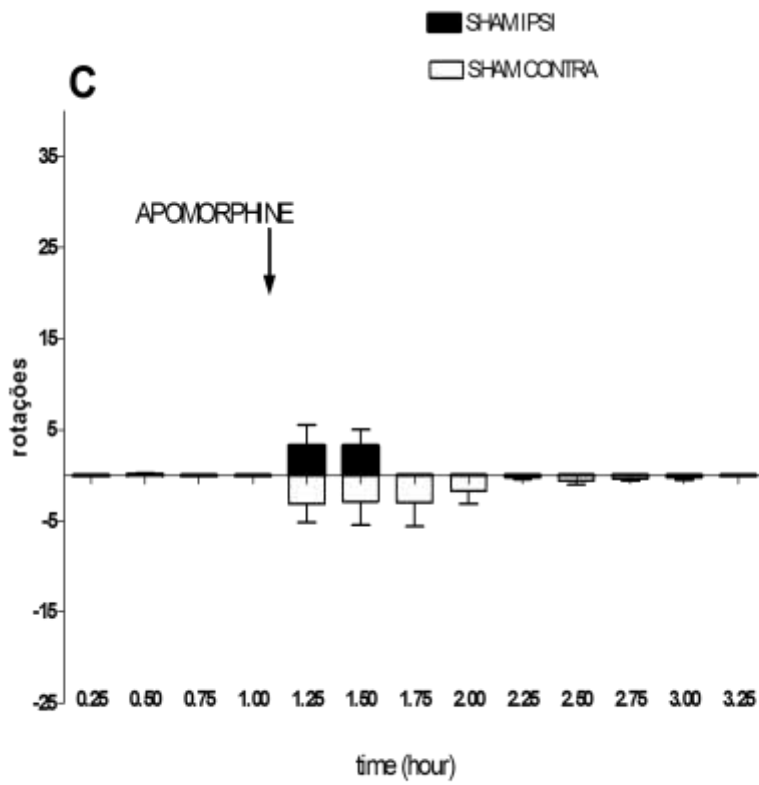
Uma ANOVA de 3-vias mostra um efeito de tratamento ($F(1,32) = 26.62, P < 0.05$) e tempo ($F(7,224) = 25.93, P < 0.05$) significantes, um efeito de lado não-significante ($F(1,32) = 3.07, P = 0.08$) e uma interação não-significante entre os fatores ($P > 0.27$). Nota-se também que depois da injeção de apomorfina, até mesmo o lado não-lesado dos ratos MPTP apresentam níveis mais baixos de DA_E quando comparados aos animais do grupo sham.

Estes resultados sugerem que animais com lesão unilateral induzida por MPTP, sem tratamento farmacológico, não apresentaram alterações motoras significativas⁽¹⁸⁾, isto pode ter como explicação as atividades compensatórias dos neurônios dopaminérgicos remanescentes, já que não há alterações nos níveis basais (Fig. 5). Existem várias explicações para um efeito compensatório em ratos MPTP hemi-lesionados na SN_C que mantêm a DA extracelular basal ao mesmo nível que os animais sham. Um desses mecanismos pode ser que os terminais remanescentes de DA aumentem a liberação de DA, também pode haver um aumento no brotamento dos terminais dopaminérgicos no lado lesado. No presente estudo foi observado uma diminuição de DA_E a qual é ainda maior em ratos MPTP do que em ratos SHAM quando desafiados com apomorfina, a qual atua como um agonista dos receptores pré-sinápticos D2, causando a inibição da liberação de DA (Fig. 4). Em estudos prévios foi também reportado a ação inibitória da apomorfina na liberação de DA^(29,30) isto tendo interação na ação nos receptores pré-sinápticos D2^(31,32,33). Os receptores D2 têm importância no estudo, evidenciando o aumento do comportamento de rotação devido ao bloqueio de receptores D2 do estriado dorsal em ratos desafiados com apomorfina (s.c.)⁽³⁴⁾

Como já foi citado anteriormente, na fase inicial da DP ou no modelo de rato MPTP é evidenciado os déficits cognitivos, já os déficits motores somente são observados na fase tardia da DP^(17,19,21,25,35,36,37). O aprendizado depende da liberação física de DA no estriado^(38,39). Em função disso ocorrem os déficits cognitivos como consequência da lesão dopaminérgica estriatal em ratos MPTP e/ou em pacientes na fase inicial da DP.

Sabe-se que os déficits motores aparecem somente na fase tardia da DP devido ao mecanismo compensatório dos terminais dopaminérgicos no estriado, o que estabiliza o nível basal de DA, porém este fenômeno não é o suficiente para suprir uma demanda maior de liberação de DA, como ocorre na liberação física.

FIGURAS



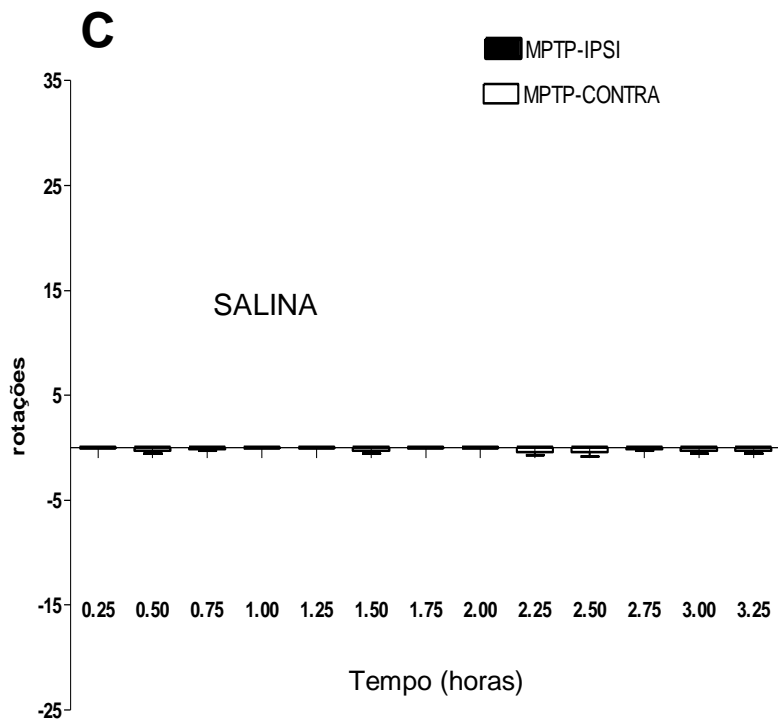


Figura 3. Efeito da injeção sistêmica de 0.5 mg/kg de apomorfina no comportamento de rotação de ratos MPTP-hemilesionados e ratos SHAM.

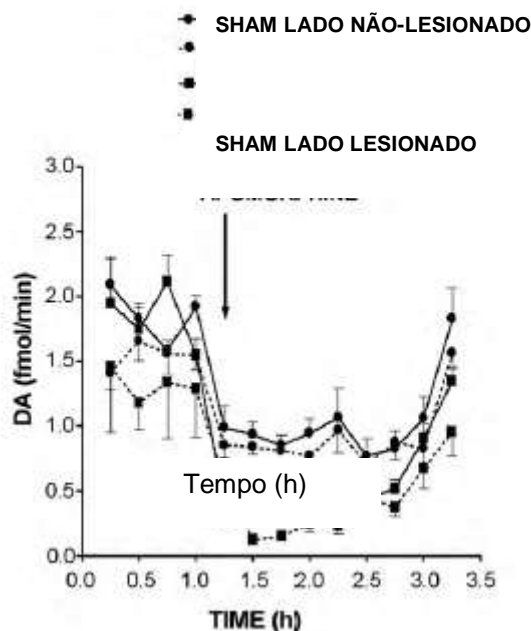


Fig) no nível da DA extracelular no estriado de ratos MPTP hemi-lesionados (n=11) e ratos SHAM (n=8). Análises foram realizadas antes e depois da aplicação de apomorfina.

■ LADO NÃO-LESIONADO
□

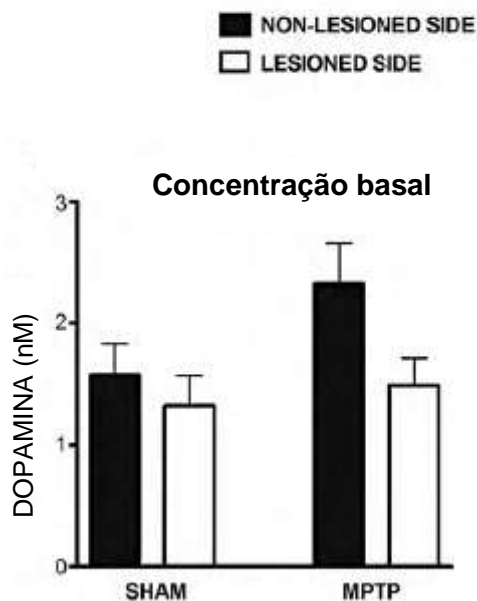


Figura 5: Concentração basal de DA. Dados representam média \pm SEM. MPTP (n=11); SHAM (n=8).

CONCLUSÃO

Com o presente trabalho conclui-se que os prejuízos motores não ocorrem na fase inicial da DP devido a um mecanismo compensatório na liberação tônica que estabiliza os níveis basais de dopamina no estriado. Contudo este evento não é o suficiente para compensar a assimetria que ocorre quando há uma grande demanda na liberação de DA, como na liberação fásica, o que pode explicar o aparecimento dos déficits nas habilidades cognitivas já que a aprendizagem depende dessa liberação fásica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. RANG, H. P; *et al.* Farmacologia tradução da 5ª edição; Rio de Janeiro(RJ): Elsevier; 2004. p.543
2. HIRSCH, E., GRAYBIEL, A. M., e AGID, Y. A., 1988. Melanized Dopaminergic-Neurons Are Differentially Susceptible to Degeneration in Parkinsons-Disease. *Nature* 334, 345-348.
3. WU, S. S., FRUCHT, S. J., 2005. Treatment of Parkinson's disease - What's on the horizon? *CNS Drugs* 19, 723-743.
4. JANKOVIC, J., 2008. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 79, 368-376.
5. GRAHN J. A.; PARKINSON, J. A., e OWEN, A. M., 2009. The role of the basal ganglia in learning and memory: neuropsychological studies. *Behavioural Brain Research* 199, 53-60.
6. AGID, Y., 1991. Parkinson's disease: pathophysiology. *Lancet* 337, 1321-1324.
7. MAYO, J. C., SAINZ, R. M., TAN, D. X., ANTOLIN, I., RODRIGUEZ, C., e REITER, R. J., 2005. Melatonin and Parkinson's disease. *Endocrine* 27, 169-178.
8. Da CUNHA, C., WIETZIKOSKI, E. C., FERRO, M. M., MARTINEZ, G. R., VITAL, M., HIPOLIDE, D., TUFIK, S., e CANTERAS, N. S., 2008. Hemiparkinsonian rats rotate toward the side with the weaker dopaminergic neurotransmission. *Behavioural Brain Research* 189, 364-372.
9. SCHOBER, A., 2004. Classic toxin-induced animal models of Parkinson's disease: 6-OHDA and MPTP. *Cell and Tissue Research* 318, 215-224.
10. DAVIS, G. C., WILLIAMS, A. C., MARKEY, S. P., EBERT, M. H., CAINE, E. D., REICHERT, C. M., e KOPIN, I. J., 1979. Chronic parkinsonism secondary to intravenous injection of meperidine analogues. *Psychiatry Reserch* 1, 249-254.

11. LANGSTON, J. W., 1996. The etiology of Parkinson's disease with emphasis on the MPTP story. *Neurology* 47, S153-S160.
12. LANGSTON, J. W., BALLARD, P., TETRUD, J. W., e IRWIN, I., 1983. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science* 219, 979-980.
13. KALARIA, R. N., MITCHELL, M. J., e HARIK, S. I., 1987. Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain-barrier monoamine-oxidase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84, 3521-3525.
14. FERRO, M. M., BELLISSIMO, M. I., ANSELMO-FRANCI, J. A., ANGELLUCCI, M. E. M., CANTERAS, N. S., e DA CUNHA, C., 2005. Comparison of bilaterally 6-OHDA- and MPTP-lesioned rats as models of the early phase of Parkinson's disease: Histological, neurochemical, motor and memory alterations. *Journal of Neuroscience Methods* 148, 78-87.
15. HARIK, S. I., SCHMIDLEY, J. W., IACOFANO, L. A., BLUE, P., ARORA, P. K., e SAYRE, L. M., 1987. On the mechanisms underlying 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity: the effect of perinigral infusion of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, its metabolite and their analogs in rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 241, 669-676.
16. LIMA, M. D. S., REKSIDLER, A. B., ZANATA, S. M., MACHADO, H. B., TUFIK, S., e VITAL, M., 2006. Different parkinsonism models produce a time-dependent induction of COX-2 in the substantia nigra of rats. *Brain Research* 1101, 117-125.
17. BELLISSIMO, M. I., KOUZMINE, I., FERRO, M. M., DE OLIVEIRA, L. H., CANTERAS, N. S., e DA CUNHA, C., 2004. Is the unilateral lesion of the left substantia nigra pars compacta sufficient to induce working memory impairment in rats? *Neurobiology of Learning and Memory* 82, 150-158.

18. DA CUNHA, C., ANGELUCCI, M. E. M., CANTERAS, N. S., WONNACOTT, S., e TAKAHASHI, R. N., 2002. The lesion of the rat substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons as a model for Parkinson's disease memory disabilities. *Cellular and Molecular Neurobiology* 22, 227-237.
19. DA CUNHA, C., WIETZIKOSKI, S., WIETZIKOSKI, E. C., MIYOSHI, E., FERRO, M. M., ANSELMO-FRANCI, J. A., e CANTERAS, N. S., 2003. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. *Neurobiology of Learning and Memory* 79, 236-242.
20. KUMAR, P., KAUNDAL, R. K., MORE, S., and SHARMA, S. S., 2009. Beneficial effects of pioglitazone on cognitive impairment in MPTP model of Parkinson's disease. *Behavioural Brain Research* 197, 398-403.
21. MIYOSHI, E., WIETZIKOSKI, S., CAMPLESSEI, M., SILVEIRA, R., TAKAHASHI, R. N., e DA CUNHA, C., 2002. Impaired learning in a spatial working memory version and in a cued version of the water maze in rats with MPTP-induced mesencephalic dopaminergic lesions. *Brain Research Bulletin* 58, 41-47.
22. ROBINSON, T. E., NOORDHOORN, M., CHAN, E. M., MOCSARY, Z., CAMP, D. M., and WHISHAW, I. Q., 1994. Relationship between asymmetries in striatal dopamine release and the direction of amphetamine-induced rotation during the first week following a unilateral 6-OHDA lesion of the substantia nigra. *Synapse* 17, 16-25.
23. GOTO, Y., OTANI, S., e GRACE, A. A., 2007. The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective. *Neuropharmacology* 53, 583–587.
24. SCHULTZ, W., 2007. Multiple dopamine functions at different time courses. *Annual Review of Neuroscience* 30, 259-288.
25. BRAGA, R., KOUZMINE, I., CANTERAS, N. S., e DA CUNHA, C., 2005. Lesion of the substantia nigra, pars compacta impairs delayed alternation in a Y-maze in rats. *Experimental Neurology* 192, 134-141.

26. DA CUNHA, C., GEVAERD, M. S., VITAL, M., MIYOSHI, E., ANDREATINI, R., SILVEIRA, R., TAKAHASHI, R. N., e CANTERAS, N. S., 2001. Memory disruption in rats with nigral lesions induced by MPTP: a model for early Parkinson's disease amnesia. *Behavioural Brain Research* 124, 9-18.

27. DOMBROWSKI, P. A; *et al.*, 2010. Microdialysis study of striatal dopamine in MPTP-hemilesioned rats challenged with apomorphine and amphetamine. *Behavioural Brain Research* 215, 63–70.

28. PAXINOS, G., e WATSON, C., 2005. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Ltd., San Diego, CA, USA.

29. KURATA, K., e SHIBATA, R., 1990. Biphasic effect of locally applied apomorphine and 2,3,4,5-tetrahydro-7,8-dihydroxy-1-phenyl-1H-3-benzazepine on the release of striatal dopamine investigated by means of brain dialysis. *Neurosci Lett* 117, 264-268.

30. OZAKI, N., NAKAHARA, D., MIURA, H., KASAHARA, Y., e NAGATSU, T., 1989. Effects of apomorphine on in vivo release of dopamine and its metabolites in the prefrontal cortex and the striatum, studied by a microdialysis method. *J Neurochem* 53, 1861-1864.

31. ADELL, A., e ARTIGAS, F., 2004. The somatodendritic release of dopamine in the ventral tegmental area and its regulation by afferent transmitter systems. *Neurosci Biobehav Rev* 28, 415-431.

32. SEE, R. E., SORG, B. A., CHAPMAN, M. A., e KALIVAS, P. W., 1991. In vivo assessment of release and metabolism of dopamine in the ventrolateral striatum of awake rats following administration of dopamine D1 and D2 receptor agonists and antagonists. *Neuropharmacology* 30, 1269-1274.

33. SKIRBOLL, L. R., GRACE, A. A., e BUNNEY, B. S., 1979. Dopamine Autosynaptic and Postsynaptic Receptors - Electro-Physiological Evidence for Differential Sensitivity to Dopamine Agonists. *Science* 206, 80-82.

34. KONITSIOTIS, S., e KAFETZOPOULOS, E., 1990. Topography of Dopamine D-1 and D-2 Receptor-Mediated Rotation after Intrastratial Injections of Dopamine-Related Drugs in Normosensitive Rats. *European Journal of Pharmacology* 179, 201-205.
35. AARSLAND, D., PEDERSEN, K. F., EHRT, U., BRONNICK, K., GJERSTAD, M. D., e LARSEN, J. P., 2008. [Neuropsychiatric and cognitive symptoms in Parkinson disease]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 128, 2072-2076.
36. DA CUNHA, C., SILVA, M. H. C., WIETZIKOSKI, S., WIETZIKOSKI, E. C., FERRO, M. M., KOUZMINE, I., e CANTERAS, N. S., 2006. Place learning strategy of substantia nigra pars compacta-lesioned rats. *Behavioral Neuroscience* 120, 1279-1284.
37. PASCUAL-LEONE, A., e PRESS, D., 1999. [Cognitive and behavioral disorders in Parkinson disease]. *Rev Neurol* 29, 152-157.
38. DAY, J. J., 2008. Extracellular signal-related kinase activation during natural reward learning: a physiological role for phasic nucleus accumbens dopamine? *J Neurosci* 28, 4295-4297.
39. WANAT, M. J., WILLUHN, I., CLARK, J. J., e Phillips, P. E., 2009. Phasic dopamine release in appetitive behaviors and drug addiction. *Curr Drug Abuse Rev* 2, 195-213.