

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

**AÇÃO DE DROGAS AGONISTAS E ANTAGONISTAS DOS
SISTEMAS COLINÉRGICO E DOPAMINÉRGICO:
ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO EM CORPO
ESTRIADO DE RATO**

EMMANUELLE COELHO NORONHA

Fortaleza-CE
2005



EMMANUELLE COELHO NORONHA

**AÇÃO DE DROGAS AGONISTAS E ANTAGONISTAS DOS
SISTEMAS COLINÉRGICO E DOPAMINÉRGICO:
ESTUDO COMPORTAMENTAL E NEUROQUÍMICO EM CORPO
ESTRIADO DE RATO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Farmacologia, para obtenção do título de Mestre.

Orientação:

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa.

Fortaleza-CE
2005

EMMANUELLE COELHO NORONHA

**AÇÃO DE DROGAS AGONISTAS E ANTAGONISTAS DOS SISTEMAS
COLINÉRGICO E DOPAMINÉRGICO: ESTUDO COMPORTAMENTAL
E NEUROQUÍMICO EM CORPO ESTRIADO DE RATO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Ceará,
como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em
Farmacologia, para obtenção do título de Mestre.

Dissertação aprovada com louvor em 26 de setembro de 2005

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará - UFC

Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Carlos Maurício Castro e Costa
Universidade Federal do Ceará - UFC

À Deus porque me concedeu “falar a seu contento e formular conceitos à altura de seus dons; pois ele não mostra apenas o caminho da sabedoria mas orienta os sábios. Estamos nas suas mãos, nós e nossas palavras, todo entendimento e perícia do agir. Ele me deu a ciência exata do que é, que me fez conhecer a estrutura do universo e a atividade dos elementos, a natureza dos animais, o poder dos espíritos e os pensamentos humanos. Em uma palavra: o que há de oculto e manifesto eu o conheci; e foi a artesã de todas as coisas, a sabedoria que me ensinou”!

Sabedoria 7; 15-21

Aos meus pais, por que a mim dedicaram parte de suas vidas a fim de que eu adquirisse uma instrução sadia, ensinando-me a amar aos livros, o trabalho, a justiça e a disciplina. A eles coube a tarefa de mostrar-me a lei da vida enchendo o meu coração de sabedoria.

*Ao filho amado e tão desejado João Pedro, que trago no meu ventre como sinal de
novos e felizes tempos.*

Ao meu esposo Juvenal pela descoberta da união.

*Aos meus irmãos, ao meu sobrinho Carlinhos e a minha amiga-irmã “Paticinha”
pela dedicação solidária e carinhosa nos momentos mais estressantes que surgiram
durante a confecção deste trabalho, sem os quais teria sido impossível a conclusão
do mesmo.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa, minha orientadora e por quem tenho enorme admiração e carinho. Muito obrigada pela compreensão, confiança, apoio, incentivo e amizade com que me acolheu desde o primeiro dia que cheguei ao laboratório até hoje.

À Profa. Dra. Silvânia Maria Mendes Vasconcelos o meu sincero agradecimento pelo período de convivência, em que estive sempre disposta a ajudar com o que preciso fosse e por, prontamente, ter aceito o convite para participar da minha banca examinadora.

Ao Prof. Dr. Carlo Maurício Castro e Costa, por ter gentilmente aceitado fazer parte da minha banca examinadora.

À Profa. Dra. Glauce Socorro de Barros Viana, por quem tenho grande admiração, pela sua colaboração preciosa e pela acolhida no laboratório de Neurofarmacologia.

À minha amiga de todas as horas Patrícia Bezerra Gomes, a quem considero mais que uma amiga, considero uma irmã. Deus colocou anjos na terra para nos guiar e certamente você é um desses anjos. Essa dissertação é minha e sua também, **MUITO OBRIGADA MINHA “PATICINHA”**.

À minha amiga Adriana Rolim Campos por estar sempre presente em todos os momentos não só durante a realização desse trabalho, mas durante toda a vida. Valeu amiga!!!

À turma do laboratório de Neurofarmacologia e aos amigos e professores do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, em especial: Lissiana, Carlos Renato, Irisandro, Danielle, Cícero, João Paulo, Mirele, Flávio, Aline, Viviane, Vera pela ajuda direta ou indireta, e pela amizade.

Às técnicas e patrimônio do laboratório Vilani e Jaqueline, que me ajudaram em vários momentos desse trabalho.

O meu sincero agradecimento à Coordenação do curso de Pós-Graduação e aos demais colegas de pós-graduação que me acompanharam durante esse período de realização do curso de Mestrado.

Aos meus eternos amigos: Renata, Julio César, Márcia Maria, Márcia Andréa, Marília e Lucilha, por estarem presente em tantos momentos, bons e difíceis, tornando minha vida mais feliz!!

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro, essencial para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE TABELAS	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS	xix
RESUMO	xxi
ABSTRACT	xxii
1- INTRODUÇÃO	24
1.1- SISTEMA COLINÉRGICO MUSCARÍNICO	24
1.1.1- Regulação colinérgica	25
1.1.2- Vias colinérgicas	27
1.1.3- Receptores muscarínicos	29
1.1.4- Localização dos receptores muscarínicos	30
1.1.5- Mecanismo de transdução do sinal	33
1.2- SISTEMA DOPAMINÉRGICO	36
1.2.1- Regulação dopaminérgica	37
1.2.2- Vias dopaminérgicas	39
1.2.3- Receptores dopaminérgicos	40
1.3- INTERAÇÃO DOPAMINA-ACETILCOLINA	45
2- OBJETIVOS	50
2.1. OBJETIVO GERAL	50
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	50
3- MATERIAL E MÉTODOS	53
3.1- ANIMAIS	53
3.2- PREPARO DAS DROGAS	53
3.2.1- Mazindol, pimozida e clozapina	53
3.2.2- Apomorfina, atropina, carbacol, pilocarpina, pirenzepina e SCH 23390	54
3.3- TRATAMENTO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	54
3.3.1- Protocolo I: Tratamento crônico	54
3.3.2- Protocolo II: Tratamento agudo	57
3.4- MATERIAL UTILIZADO	60

3.5- DISSECAÇÃO DAS ÁREAS CEREBRAIS	61
3.6- DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE DE RECEPTORES MUSCARÍNICOS	63
3.6.1- Método	63
3.6.2- Procedimento experimental	64
3.7- DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE DE RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS	65
3.7.1- Método	65
3.7.2- Procedimento experimental	66
3.8- DOSAGEM DE PROTEÍNA	67
3.8.1- Método	67
3.9- SOLUÇÕES REAGENTES UTILIZADAS	68
3.10- TESTES COMPORTAMENTAIS	70
3.10.1- Teste da catalepsia	70
3.10.2- Teste do campo aberto	70
3.11- ANÁLISE ESTATÍSTICA	71
4- RESULTADOS	73
4.1- PROTOCOLO I: TRATAMENTO CRÔNICO	73
4.1.1- Efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica no comportamento (campo aberto e catalepsia) em rato.	73
4.1.2- Efeitos da interação dopamina-acetilcolina sobre os receptores muscarínicos e dopaminérgicos em corpo estriado de rato.	83
4.2- PROTOCOLO II: TRATAMENTO AGUDO	103
4.2.1- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na resposta cataléptica em rato.	103
4.2.2- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na atividade locomotora em rato.	114
5- DISCUSSÃO	121
5.1- PROTOCOLO I: TRATAMENTO CRÔNICO	121
5.1.1- Efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica no comportamento (campo aberto e catalepsia) em rato.	121
5.1.2- Efeitos da interação dopamina-acetilcolina sobre os receptores muscarínicos e dopaminérgico em corpo estriado em rato.	124

5.2- PROTOCOLO II: TRATAMENTO AGUDO	129
5.2.1- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na resposta cataléptica em rato.	129
5.2.2- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na atividade locomotora em rato.	133
6- CONCLUSÕES	138
6.1- PROTOCOLO I: TRATAMENTO CRÔNICO	138
6.1.1- Efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica no comportamento (campo aberto e catalepsia) em rato.	138
6.1.2- Efeitos da interação dopamina-acetilcolina sobre os receptores muscarínicos e dopaminérgico em corpo estriado em rato.	139
6.2- PROTOCOLO II: TRATAMENTO AGUDO	140
6.2.1- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na resposta cataléptica em rato.	140
6.2.2- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na atividade locomotora em rato.	141
6.3- CONCLUSÃO GERAL	142
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	144

LISTA DE QUADROS

QUADRO 01. Localização dos subtipos de receptores muscarínicos.	32
QUADRO 02. Receptores dopaminérgicos: segundos mensageiros, localização no cérebro e afinidade pela dopamina.	44
QUADRO 03. Drogas utilizadas com as respectivas doses e vias de administração.	55
QUADRO 04. Drogas utilizadas em associação.	56
QUADRO 05. Drogas cataleptogênicas utilizadas com as respectivas doses e vias de administração.	57
QUADRO 06. Drogas utilizadas com as respectivas doses, vias de administração e agente cataleptogênico associado.	58
QUADRO 07. Tratamento agudo com pimozida ou SCH 23390.	59
QUADRO 08. Tratamento agudo com pilocarpina.	59

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01.	Estrutura da acetilcolina.	24
FIGURA 02.	Ilustração esquemática da sinapse colinérgica.	25
FIGURA 03.	Vias colinérgicas no SNC.	28
FIGURA 04.	Diagrama esquemático do mecanismo de transdução de sinal dos receptores colinérgicos M1 e M3.	34
FIGURA 05.	Diagrama esquemático geral de receptores acoplados à proteína G.	35
FIGURA 06.	Estrutura química da dopamina.	36
FIGURA 07.	Esquema da síntese geral das catecolaminas, enzimas metabolizadoras e metabólitos envolvidos.	37
FIGURA 08.	Síntese, armazenamento e liberação de dopamina.	38
FIGURA 09.	Vias dopaminérgicas no SNC.	40
FIGURA 10.	Ação de drogas antipsicóticas no receptor dopaminérgico.	43
FIGURA 11.	Dissecação cerebral mostrando a retirada do encéfalo.	61
FIGURA 12.	Dissecação cerebral mostrando a retirada do corpo estriado.	62
FIGURA 13.	Efeitos do carbacol (cbc) na atividade locomotora de rato.	75
FIGURA 14.	Efeitos do carbacol (cbc) na catalepsia de rato.	76
FIGURA 15.	Efeitos do mazindol (maz) na atividade locomotora de rato.	81
FIGURA 16.	Efeitos do mazindol (maz) na catalepsia de rato.	82
FIGURA 17.	Efeitos da atropina (atr) e mazindol (maz), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.	87
FIGURA 18.	Efeitos do carbacol (cbc) e pimozida (pim), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.	88
FIGURA 19.	Efeitos da associação do antagonista muscarínico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz) sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.	89

FIGURA 20.	Efeitos da associação do agonista muscarínico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim) sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.	90
FIGURA 21.	Efeitos da atropina (atr) e mazindol (maz), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.	94
FIGURA 22.	Efeitos do carbacol (cbc) e pimozida (pim), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.	95
FIGURA 23.	Efeitos da associação do antagonista muscarínico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz) sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.	96
FIGURA 24.	Efeitos da associação do agonista muscarínico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim) sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.	97
FIGURA 25.	Efeitos da atropina (atr) e mazindol (maz), em diferentes doses, sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.	99
FIGURA 26.	Efeitos do carbacol (cbc) e pimozida (pim), em diferentes doses, sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.	100
FIGURA 27.	Efeitos da associação do antagonista muscarínico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz) sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.	101
FIGURA 28.	Efeitos da associação do agonista muscarínico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim) sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.	102
FIGURA 29.	Efeitos da pilocarpina (pilo) na catalepsia induzida por pimozida em rato.	105
FIGURA 30.	Efeitos da pilocarpina (pilo) na catalepsia induzida por SCH 23390 em rato.	106
FIGURA 31.	Efeitos da pirenzepina (pz) na catalepsia induzida por pimozida em rato.	109

- FIGURA 32.** Efeitos da pirenzepina (pz) na catalepsia induzida por SCH 23390 em rato. **110**
- FIGURA 33.** Efeitos do mazindol (maz) na catalepsia induzida por pilocarpina em rato. **113**

LISTA DE TABELAS

TABELA 01.	Efeitos do antagonista dopaminérgico (pim) e do agonista colinérgico (cbc), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato.	74
TABELA 02.	Efeitos do antagonista dopaminérgico (pim) e do antagonista colinérgico (atr), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato.	78
TABELA 03.	Efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato.	80
TABELA 04.	Efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.	85
TABELA 05.	Efeitos do agonista colinérgico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.	86
TABELA 06.	Efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.	92
TABELA 07.	Efeitos do agonista colinérgico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.	93
TABELA 08.	Efeitos de agonistas colinérgicos na catalepsia induzida por pimozida ou SCH 23390 em rato.	104
TABELA 09.	Efeitos de antagonistas colinérgicos na catalepsia induzida por pimozida ou SCH 23390 em rato.	108
TABELA 10.	Efeitos de drogas dopaminérgicas na catalepsia induzida por pilocarpina em rato.	112

TABELA 11.	Efeitos de agonistas colinérgicos, sozinhos ou associados, a antagonistas dopaminérgicos na atividade locomotora de rato.	115
TABELA 12.	Efeitos de antagonistas colinérgicos, sozinhos ou associados, a antagonistas dopaminérgicos na atividade locomotora de rato.	117
TABELA 13.	Efeitos de agonistas dopaminérgicos, sozinhos ou associados, a um agonista colinérgico na atividade locomotora de rato.	119

LISTA DE ABREVIATURAS

4-DAMP:	metil-iodeto de 4-difenilacetoxi-N-metilpiridina
³H-NMS:	³ H-N-metilescopolamina
³H:	Hidrogênio tritiado
7-OH-DPAT:	7-hidroxi-2(di-N-propilamino) tetralina
acetil-CoA:	acetil coenzima A
AChE:	acetilcolinesterase
AF-DX 116:	11-[2-(dietilamino)-metil-1-piperidinil]acetil-5,11-dihidro-6H-pirido[(2,3b)1,4benzodiazepine-6]
AMPc:	3',5'-monofosfato de adenosina cíclico
ANOVA:	Análise de Variância
atr:	atropina
ATV:	área tegmentar ventral
BDB:	banda diagonal de broca
BSA:	albumina sérica bovina
CAT:	colina acetiltransferase
cbc:	carbacol
Complexo Gi:	proteínas G inibitórias
Complexo Gs:	proteínas G estimulatórias
COMT:	catecol-O-metil transferase
DA:	dopamina
DOPA:	diidroxifenilalanina
EDTA:	ácido etilenodiaminotetracético
GMPc:	3',5'-monofosfato de guanosina cíclico

HHSiD:	hexagidrosiladifenidol
i.p.:	via intraperitoneal
MAO:	monoamino oxidase
maz:	mazindol
pilo:	pilocarpina
pim:	pimozida
PKC:	proteína cinase C
Proteína G:	proteína transdutora do sinal ligada ao GTP
pz:	pirenzepina
SCH 23390:	7-cloro-2,3,4,5-tetrahidro-3-metil-5-fenil-1H-3benzazepina-7-ol
SKF 38393:	2, 3, 4, 5- tetrahidro - 7, 8 - dihidroxi -1- fenil - 1 H -3-cloridrato de benzapezina
SNC:	sistema nervoso central
SNc:	substância negra compacta
TDA:	transportador de dopamina
TO:	tubérculo olfatório
v.o.:	via oral

RESUMO

Ação de drogas agonistas e antagonistas dos sistemas colinérgico e dopaminérgico: estudo comportamental e neuroquímico em corpo estriado de rato. EMMANUELLE COELHO NORONHA. Orientadora: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa. Dissertação de Mestrado. Curso de Pós-graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, UFC, 2005.

No presente trabalho, foi avaliado a interação entre os sistemas dopaminérgico e colinérgico através do estudo dos efeitos comportamentais (campo aberto e catalepsia) e neuroquímicos (densidade de receptores dopaminérgicos (D1 e D2-símile) e muscarínicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de rato. As seguintes drogas foram utilizadas: mazindol (agonista dopaminérgico indireto), apomorfina (agonista dopaminérgico D1-símile e D2-símile), pimozida (antagonista dopaminérgico D2-símile), SCH 23390 (antagonista dopaminérgico D1-símile), pilocarpina (agonista muscarínico M1-símile), carbacol (agonista muscarínico M2-símile), pirenzepina (antagonista muscarínico M1-símile), atropina (antagonista muscarínico M1 e M2 não seletivo), clozapina (neuroléptico atípico). Os resultados mostraram que a pimozida e o carbacol, sozinhos ou associados, causaram um aumento da resposta cataléptica e uma diminuição da atividade locomotora. O mazindol também aumentou a atividade locomotora. Carbacol, nas menores doses, e o mazindol aumentaram a densidade de receptores D1-símile. A pimozida e a atropina, isoladamente, aumentaram a densidade de receptores D1-símile no corpo estriado enquanto que a atropina causou uma diminuição dos receptores D2-símile e uma *upregulation* dos receptores muscarínicos. O mazindol aumentou o *binding* de ³H-NMS no corpo estriado. O presente trabalho sugere, de maneira geral, que existe uma relação entre os receptores muscarínicos M1 e M2 com os receptores dopaminérgicos D1 e D2, sendo que esta relação pode ocorrer de maneira positiva ou negativa, dependendo da seletividade e da dose das drogas utilizadas.

Palavras-chave: Comportamento; Dopamina; Acetilcolina

ABSTRACT

The action of the agonists and antagonists drugs of cholinergic and dopaminergic systems: behavioral and neurochemical study in striatum of rats. EMMANUELLE COELHO NORONHA. Supervisor: Profa. Dra. Francisca Cléa Florenço de Sousa. Master Dissertation. Course of Post-graduation in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, UFC, 2005.

In the study, the interaction between the dopaminergic and cholinergic systems through the study of behavioral (open field and catalepsy) and neurochemical (density of dopaminergic receptor (D1 and D2-like) and muscarinic (M1+M2-like)) effect in striatum rat was evaluated. The following drugs were used: mazindol (indirect dopaminergic agonist), apomorphine (D1-like and D2-like dopaminergic agonist), pilocarpine (M1-like muscarinic agonist), carbachol (M2-like agonist muscarinic), pirenzepine (M1-like antagonist muscarinic), atropine (non-selective M1 and M2 antagonist muscarinic), clozapina (non-typical neuroleptic). The results showed that the pimozida and carbachol, alone or associated, caused increase in the cataleptic response and reduction in the motor activity. The mazindol also increased the motor activity. In small dosage, the carbachol and mazindol increased the density of D1-like receptors. Isolated, the pimozida and atropine increased the density of the D1-like receptors in striatum whereas the atropine caused a reduction of D2-like receptors and upregulation of muscarinic receptors. This work suggests a relationship, between muscarinic receptors M1 and M2 and dopaminergic receptors D1 and D2, and that this relationship can occur in a positive and negative manner, depending on the selectivity and the dose of the used drug.

Key-words: Behavioral; Dopamine; Acetylcholine

1- INTRODUÇÃO

1.1- Sistema colinérgico muscarínico

A acetilcolina (**Figura 1**) é o neurotransmissor responsável pela transferência de impulsos dos neurônios colinérgicos para células nervosas colinoceptivas e para células de tecido inervados (TUCEK et al., 1993).

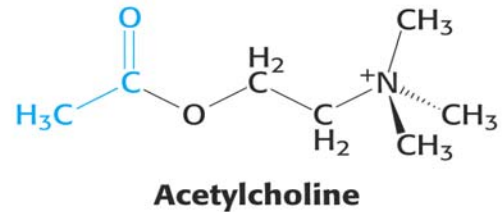


FIGURA 1- Estrutura da acetilcolina

O sistema colinérgico possui um importante papel nos processos de memória e aprendizado (OHNO et al., 1993).

A descoberta da ação farmacológica da acetilcolina derivou do trabalho efetuado com glândulas supra-renais. Sabia-se que os extratos supra-renais provocavam elevação da pressão arterial por causa de seu conteúdo de adrenalina. Em 1900, Reid Hunt constatou que, após remoção de adrenalina desses extratos, estes provocavam a queda da pressão arterial, ao invés de elevá-la, como era observado antes. Atribuiu a queda da pressão ao conteúdo de colina; entretanto, concluiu posteriormente que um derivado mais potente da colina deveria ser o fator responsável. Hunt testou vários derivados de colina e descobriu que a acetilcolina era 100.000 vezes mais potente do que a colina na redução da pressão arterial de coelhos (RANG & DALE, 2004).

No interior do cérebro, o papel da acetilcolina é menos claro, embora ela provavelmente desempenhe funções essenciais na aprendizagem e na vigília. As drogas que bloqueiam a acetilcolina podem produzir déficits de cognição e em doses tóxicas produzem sintomas psicóticos. Esses efeitos podem ser encontrados em alguns psicotrópicos, como os antidepressivos tricíclicos, bem como em uma série de drogas não-psiquiátricas (TAYLOR & BROWN, 1999).

1.1.1- Regulação colinérgica

Um resumo da síntese, armazenamento e liberação da acetilcolina pode se visualizado na **Figura 2**.

A acetilcolina é sintetizada no citoplasma a partir de acetil-CoA e colina pela ação catalítica da colina acetiltransferase (CAT). A acetil-CoA é sintetizada nas mitocôndrias, que estão presentes nas terminações nervosas em grande número. A colina é transportada do líquido extracelular para o terminal neuronal por um transportador dependente de sódio. Após ser sintetizada, a acetilcolina é transportada do citoplasma às vesículas por um antiportador que remove prótons. O armazenamento da acetilcolina é feito pelo agrupamento de “quanta” de moléculas de acetilcolina (ANDERSON et al., 1995).

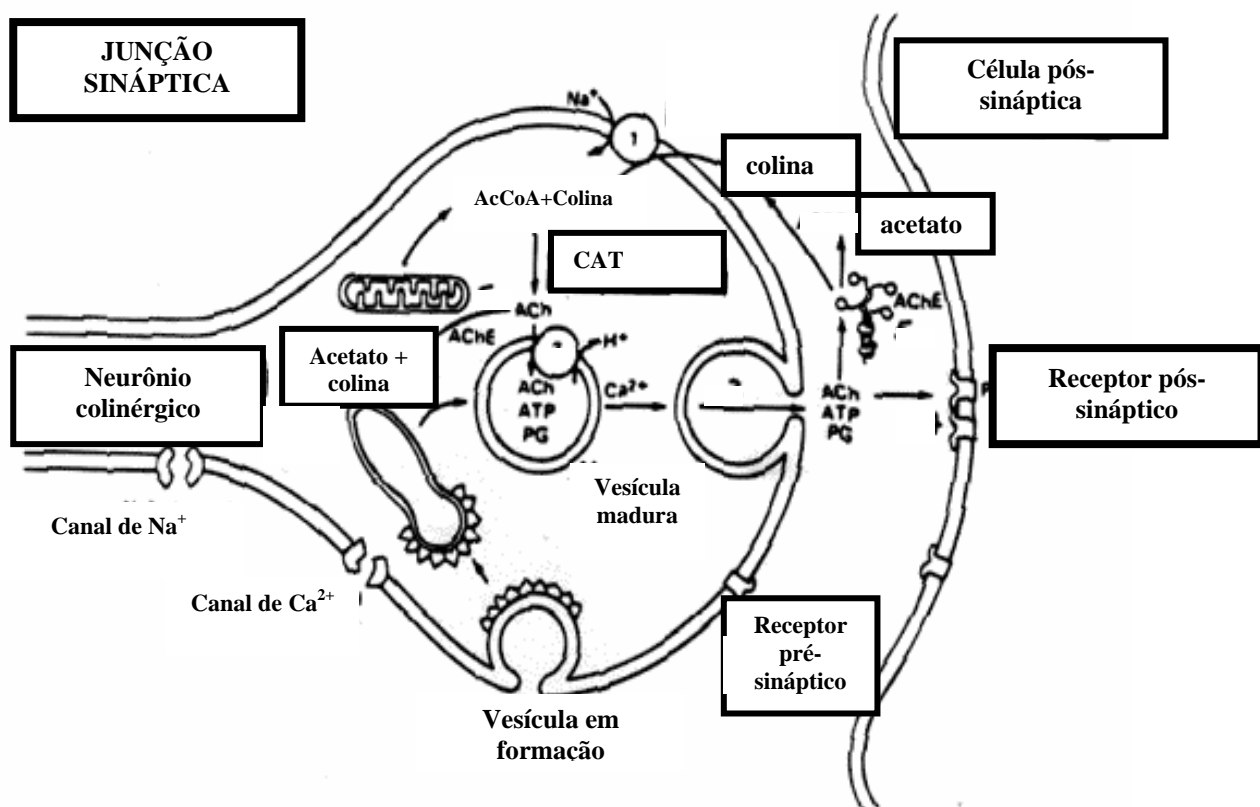


FIGURA 2- Ilustração esquemática da sinapse colinérgica.

Fonte: <http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/nguias/sna.htm>

A liberação do transmissor depende do cálcio extracelular e ocorre quando um potencial de ação chega ao terminal e desencadeia um influxo de cálcio. Há uma fusão das membranas vesiculares com a membrana terminal, com expulsão excitotica do neurotransmissor (BROSE et al., 1982).

O processo de limitação da velocidade da síntese de acetilcolina parece ser o transporte de colina.

1.1.2- Vias colinérgicas

As vias colinérgicas são filogeneticamente antigas. Sua presença é identificada por marcadores tais como acetilcolinesterase (AChE), receptores muscarínicos e nicotínicos e colina acetiltransferase (CAT) (MESULAM, 1995).

Os neurônios colinérgicos são bem distribuídos em todo o sistema nervoso central (SNC) de mamíferos e existem como projeções de neurônios e interneurônios (SOUSA, 1997).

Há oito maiores grupos celulares que se projetam para estruturas do SNC. A nomenclatura Ch1-Ch8 é usada para classificar os neurônios colinérgicos nestes oito grupos celulares (MESULAM, 1995).

Os núcleos da base apresentam ampla inervação colinérgica. A inervação colinérgica no corpo estriado é mais intrínseca, vindo de interneurônios colinérgicos. O corpo estriado também apresenta uma inervação colinérgica de menor extensão de Ch4 e Ch5-Ch6. A inervação colinérgica de alguns componentes dos núcleos da base como, o globo pálido, o núcleo subtalâmico e a substância *pars compacta* da substância negra é exclusivamente extrínseca, provavelmente se originando em grande extensão de Ch5-Ch6 (MESULAM, 1995).

Ainda há incertezas sobre as áreas cerebrais onde as drogas colinérgicas produzem seu efeito cataleptogênico. Por um lado, há o sinergismo entre o efeito cataleptogênico de neurolépticos e drogas colinérgicas e o antagonismo do efeito cataleptogênico de neurolépticos por drogas anticolinérgicas (BARTOHOLINI & LLOYD, 1980; COSTALL & NAYLOR, 1973), que sugerem a existência de um *loci* no estriado para a ação de drogas colinérgicas. Por outro lado, lesões elétricas no caudado-putâmen e palidum de ratos, não previnem e até aumentam, a catalepsia induzida por drogas colinérgicas (COSTALL & OLLEY, 1971a, b; COSTALL & NAYLOR, 1974; TURSKI et al., 1982). Além disso, injeções diretas de arecolina, um agonista muscarínico, no estriado e no palidum não induzem catalepsia (COSTALL et al., 1972). Isso pode sugerir a existência de uma área extra estriatal onde ocorre a produção de catalepsia por drogas colinérgicas.

As diversas vias da acetilcolina são mostradas na **Figura 3**. A primeira via principal (1), origina-se na área tegmentar dorsal e projeta-se para o tálamo. Essa via é parte do “sistema de ativação reticular”, a gama de estímulos do tronco cerebral para o tálamo e o córtex que comandam o nível de excitação e vigília. A segunda via da acetilcolina começa no núcleo septal (2) e envia seus axônios através do fórnix para chegar ao hipocampo (a). Esses estímulos de acetilcolina do núcleo septal são críticos na regulação do ritmo dos disparos do hipocampo. Do estriado ventral ao núcleo septal, há um grupo de neurônios colinérgicos que juntos, são chamados complexo frontocerebral colinérgico (3). Esses são: o membro vertical da banda diagonal de Broca (b), o membro horizontal da banda diagonal de Broca (c) e o núcleo basal de Meynert (d). Esses neurônios projetam-se para o córtex e também para o corpo amigdalóide. Os neurônios colinérgicos seguem ainda para o bulbo olfatório (4) e para o nervo vestibulococlear, importante no equilíbrio (5) (TAYLOR & BROWN, 1999).

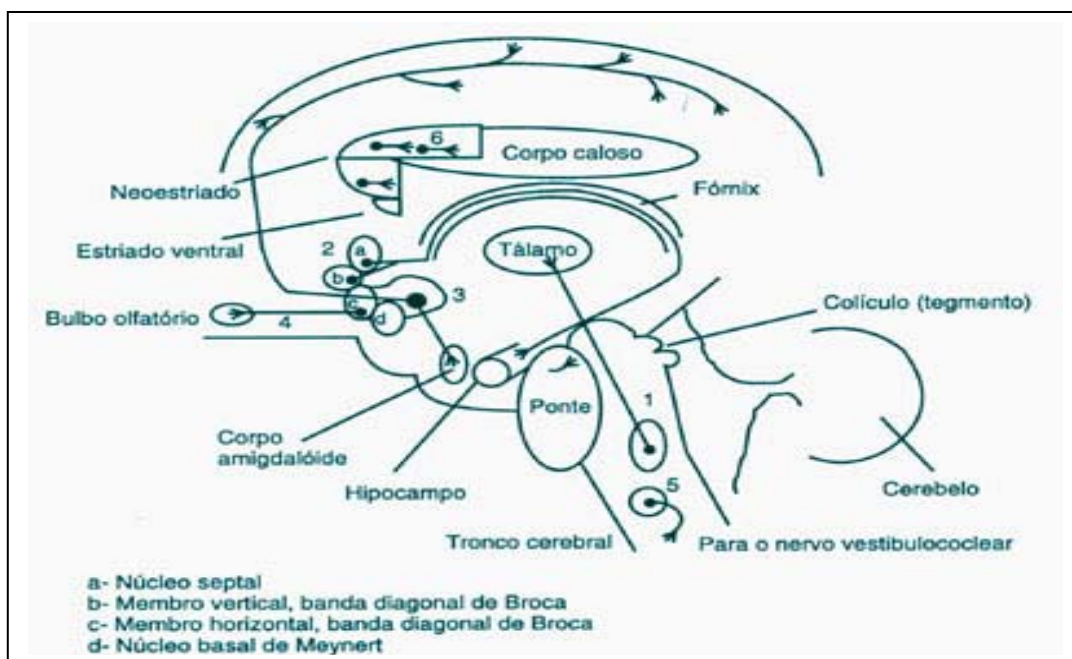


FIGURA 3- Vias colinérgicas no SNC. Grupos celulares colinérgicos são encontrados no núcleo septal (a), banda diagonal de Broca (b, c), núcleo basal de Meynert (d) e pequenos interneurônios (SUNDBERG, 1994).

1.1.3- Receptores muscarínicos

Há 91 anos atrás, Dale (1914) dividiu as ações da acetilcolina em nicotínicas e muscarínicas. Estes efeitos, sabe-se agora, são mediados por duas classes completamente distintas de receptores, que se mostram pouco semelhantes, exceto por sua habilidade de se ligar à acetilcolina (EHLERT et al., 2000).

A classe muscarínica de receptores de acetilcolina é distribuída extensamente por todo o corpo e desempenham diversas funções vitais no cérebro e no sistema nervoso autônomo (LEFKOWITZ et al., 1996).

A ativação de receptores muscarínicos na periferia do corpo causa uma redução da frequência cardíaca e do débito cardíaco, contração da musculatura lisa, constrição das vias aéreas, aumento da atividade do trato gastrointestinal, aumento na secreção lacrimal, contração da pupila (miose) e do músculo ciliar do olho. No cérebro, os receptores muscarínicos são essenciais na aprendizagem, memória, controle da postura (EHLERT et al., 2000), na fisiopatologia de doenças afetivas (JANOWSKY et al., 1972; JANOWSKY et al., 1973; SAFER & ALLEN, 1971) e na esquizofrenia (DAVIS et al., 1975; KARSON et al., 1991; TANDON et al., 1991; TANDON et al., 1992). Devido ao seu possível papel na função cognitiva, os receptores muscarínicos são alvo de pesquisa no caso da doença de Alzheimer (RICHELSON, 1995).

Até 1980, os receptores muscarínicos representavam uma classe razoavelmente homogênea de receptores, embora evidências farmacológicas mostrando o contrário, já existissem desde 1950. A heterogeneidade dos receptores muscarínicos foi divulgada no final de 1980. Assim cinco subtipos de receptores muscarínicos foram identificados usando técnicas de biologia molecular (BONNER et al., 1987; KUBO et al., 1986; LIAO et al., 1989; PERALTA et al., 1987a; PERALTA et al., 1987b). Este resultado foi um avanço, pois até aquele momento, somente três subtipos de receptores muscarínicos poderiam ser identificados usando antagonistas muscarínicos seletivos (EHLERT et al., 2000).

1.1.4- Localização dos receptores muscarínicos

A primeira evidência farmacológica forte para a existência de subtipos do receptor muscarínico foi em 1980 quando as propriedades da pirenzepina, um antagonista muscarínico seletivo, foram descritas. Este composto estava sendo usado na Europa como uma droga antiulcerosa e ao contrário de outros antagonistas muscarínicos, obstruiu a secreção gástrica em doses que praticamente não afetaram a motilidade intestinal, secreção salivar, e a frequência cardíaca. Mostrou-se que a pirenzepina inibe com eficácia uma das subclasses do receptor muscarínico que era abundante no cérebro e nos gânglios periféricos (EHLERT et al., 2000).

Uma variedade de experiências farmacológicas posteriores, demonstraram que a pirenzepina podia ser usada para dividir os receptores muscarínicos em três classes primárias (EHLERT et al., 2000):

- M1: subtipo principal no cérebro e nos gânglios periféricos (afinidade elevada para a pirenzepina);
- M2: subtipo cardíaco (baixa afinidade para a pirenzepina);
- M3: subtipo nas glândulas exócrinas (afinidade intermediária para a pirenzepina).

Outros antagonistas muscarínicos e estudos utilizando técnicas de clonagem molecular foram úteis na classificação dos 5 subtipos do receptor muscarínico (GOMEZA et al., 1998).

Alguns compostos, tais como o 4-DAMP e o HHSiD antagonizam, de maneira mais eficiente, as contrações mediadas pelo receptor M3 no músculo liso intestinal do que as respostas cardíacas mediadas pelo receptor M2, revelando-se assim, como um antagonista M3-seletivo (KASHIHARA et al., 1992; PEDDER et al., 1991). Um outro grupo de compostos inclui a galamina e o AF-DX 116 que têm alta afinidade pelos receptores M2 e afinidade baixa para os outros subtipos (KASHIHARA et al., 1992). A galamina tem uma afinidade elevada por um sítio

alostérico secundário do receptor M2, já o AF-DX 116 exibe uma afinidade elevada por um sítio primário onde a acetilcolina, a atropina e outros agentes se ligam (EHLERT et al., 2000).

Os receptores M4 e M5 também têm alta afinidade por 4-DAMP e HHSiD (KASHIHARA et al., 1992). O receptor M4 representa o principal receptor muscarínico no pulmão de coelhos (LAZARENO et al., 1990), mas não em seres humanos e ratos (FRYER & EL-FAKAHANY, 1990). Também está presente de forma abundante em várias regiões cerebrais, particularmente no corpo estriado e no tubérculo olfatório (YASUDA et al., 1992).

O receptor M5 não se expressa significativamente em tecidos periféricos, e representa menos de 2% da densidade total de receptores muscarínicos em várias regiões do cérebro (YASUDA et al., 1992).

De maneira geral podemos dizer que os membros da família de receptores muscarínicos (M1-M5) estão presentes largamente no sistema nervoso central e na periferia do corpo. Sendo que, os receptores muscarínicos centrais estão envolvidos na memória e aprendizagem como na regulação de muitos processos sensoriais e motores. Na periferia do corpo, os receptores muscarínicos medeiam atividades colinérgicas dos nervos parassimpáticos (GOMEZA et al., 1999).

A localização dos subtipos de receptores muscarínicos está representada de forma resumida no **Quadro 1**.

QUADRO 1- Localização dos subtipos de receptores muscarínicos.

SUBTIPO DO RECEPTOR	LOCALIZAÇÃO
M1	Cérebro (hipocampo e córtex fronto-parietal); Gânglios periféricos.
M2	Coração; Nervos; Músculo liso.
M3	Glândulas exócrinas; Músculo liso; Endotélio.
M4	Cérebro (corpo estriado e tubérculo olfatório).
M5	Não se expressa em tecidos periféricos; <2% em várias regiões do cérebro.

1.1.5- Mecanismos de transdução do sinal

Análises preliminares das seqüências dos subtipos de receptores muscarínicos mostram que estes são membros da superfamília de receptores acoplados à proteínas G (EHLERT et al., 2000). Os receptores M1, M3 e M5 são ligados preferencialmente ao subtipo Gs (estimulatória) enquanto os receptores M2 e M4 são acoplados ao subtipo Gi (inibitória) da superfamília da proteína G (GERBER, et al., 2001).

A família dos receptores acoplados à proteína G se caracteriza pela presença de sete regiões hidrofóbicas. Os segmentos transmembrana do receptor muscarínico representam as regiões homólogas entre subtipos diferentes e de outros membros desta grande família (EHLERT et al., 2000).

Se as seqüências dos cinco subtipos do receptor muscarínicos fossem alinhadas, observar-se-ia que as diferenças destas estão no grupamento amino terminal extracelular, no grupamento carboxi terminal intracelular e na terceira alça citoplasmática longa. Uma comparação das seqüências mostra que os subtipos M1, M3, e M5 apresentam homologia máxima e os subtipos M2 e M4 constituem um grupo homólogo separado (EHLERT et al., 2000).

Pelo menos em termos gerais, os receptores muscarínicos podem ser divididos em duas categorias dependendo do efeito produzido: inibição (Gi) da adenilato ciclase (M2 e M4) ou estimulação (Gs) da hidrólise de fosfoinosítídeos (M1, M3 e M5) (Sousa, 1997). Os receptores M1, M3 e M5 estimulam o aumento de cálcio intracelular e aumentam a excitabilidade neuronal (GERBER et al., 2001).

Essa divisão dos receptores parece correta mesmo que diversas observações empíricas mostrem-se contrárias a este esquema. Por exemplo, foi observado que os receptores M2 e M4 estimulam a hidrólise de fosfoinosítídeos; entretanto a magnitude desta resposta é fraca, e somente ocorre nas células que expressam densidades elevadas destes receptores (PERALTA et al., 1988) ao contrário da resposta dos receptores M1, M3, e M5 à hidrólise de fosfoinosítídeos. Alguns estudos também mostraram que receptores M1, M3, M5 estimulam o acúmulo de

AMPC em células intactas (LAI et al., 1992). Alguns pesquisadores sugeriram que este acúmulo de AMPC seja mediado por mecanismos envolvendo GMPc ou PKC (proteína cinase C) bem como cálcio (JANSSON et al., 1991; TATEISHI et al., 1992; WARHUST et al., 1994; WATSON et al., 1990).

Na **Figura 4**, evidencia-se um diagrama esquemático do mecanismo de transdução de sinal dos receptores M1 e M3.

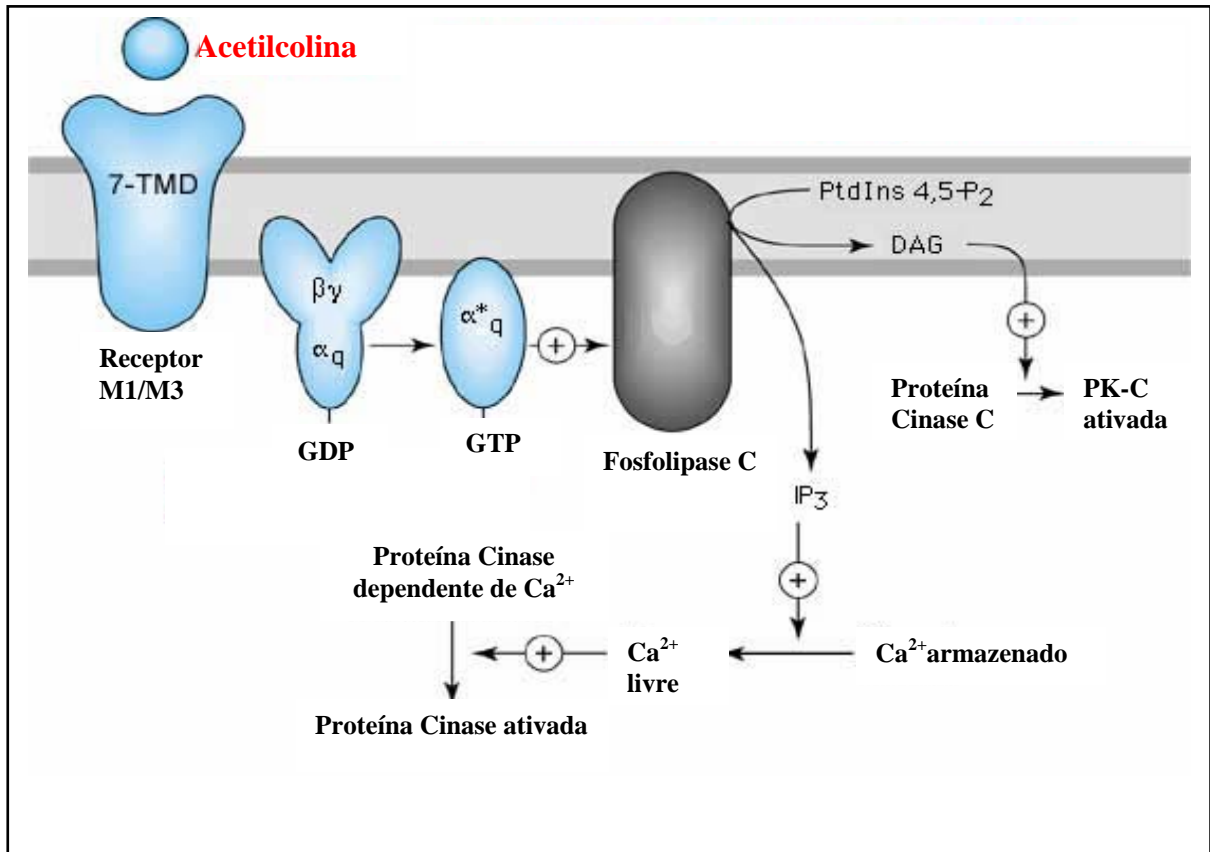


FIGURA 4- Diagrama esquemático do mecanismo de transdução de sinal dos receptores colinérgicos M1 e M3. Fonte: <http://html.rincondelvago.com>

Na **Figura 5**, temos um diagrama esquemático geral de receptores acoplados à proteína G.

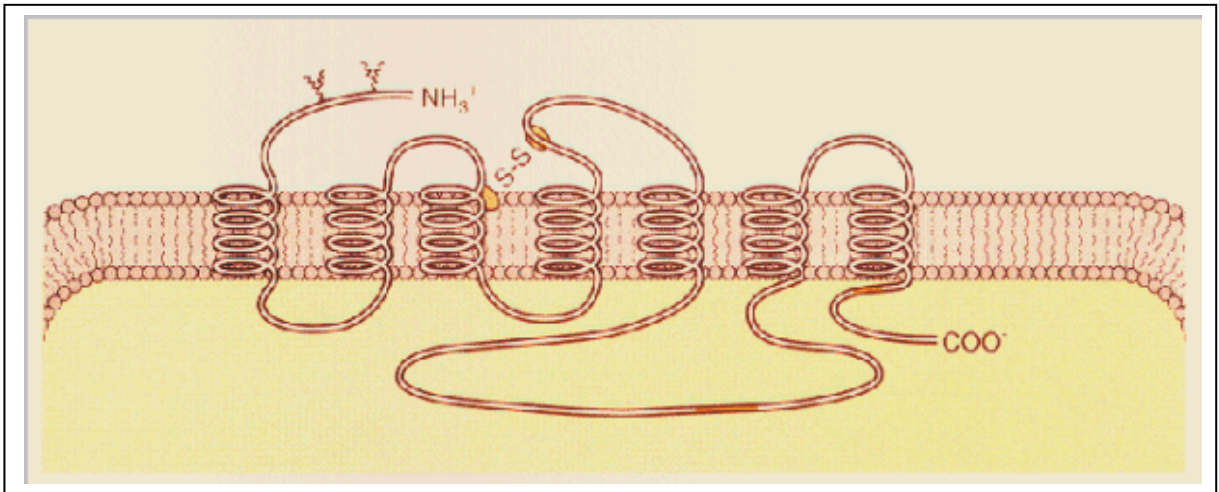


FIGURA 5- Diagrama esquemático geral de receptores acoplados à proteína G. As diferenças dos receptores estão no grupamento amino terminal extracelular, carboxi terminal intracelular e na terceira alça citoplasmática longa (EHLERT et al., 2000).

1.2- Sistema dopaminérgico

As catecolaminas são compostos que contêm um núcleo catecol e uma cadeia lateral contendo amina. Do ponto de vista farmacológico, as catecolaminas mais importantes são:

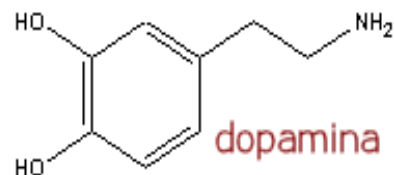


FIGURA 6- Estrutura química da dopamina

- Noradrenalina: substância transmissora liberada por neurônios pós-ganglionares;
- Adrenalina: hormônio secretado, juntamente com a noradrenalina, pela supra-renal;
- Dopamina: precursor da noradrenalina e da adrenalina (**Figura 6**);
- Isoprenalina: derivado sintético da noradrenalina que não é encontrado no corpo (RANG & DALE, 2004).

Um resumo da síntese das catecolaminas, enzimas metabolizadoras bem como metabólitos envolvidos estão representados esquematicamente na **Figura 7**.

A dopamina é um dos principais neurotransmissores de modulação no cérebro (JONES & PILOWSKY, 2002). Evidências mostram que a dopamina tem um papel bem estabelecido na regulação da atividade motora, emoção, motivação e cognição. Um desequilíbrio do sistema dopaminérgico é a base etiológica de doenças como a esquizofrenia, doença de Parkinson e discinesia tardia (SPIELEWOY et al., 2000).

Estudos sobre a influência de agonistas dopaminérgicos no comportamento social são especialmente importante na psiquiatria em relação a esquizofrenia (ARAKAWA, 1991). Este neurotransmissor também está envolvido no modo de ação das drogas antipsicóticas (GRACE, 1993). Devido a esses fatos, o sistema dopaminérgico passou a ser alvo de estudo de vários pesquisadores que buscam melhor entendê-lo e assim tentar manipulá-lo da melhor maneira possível.

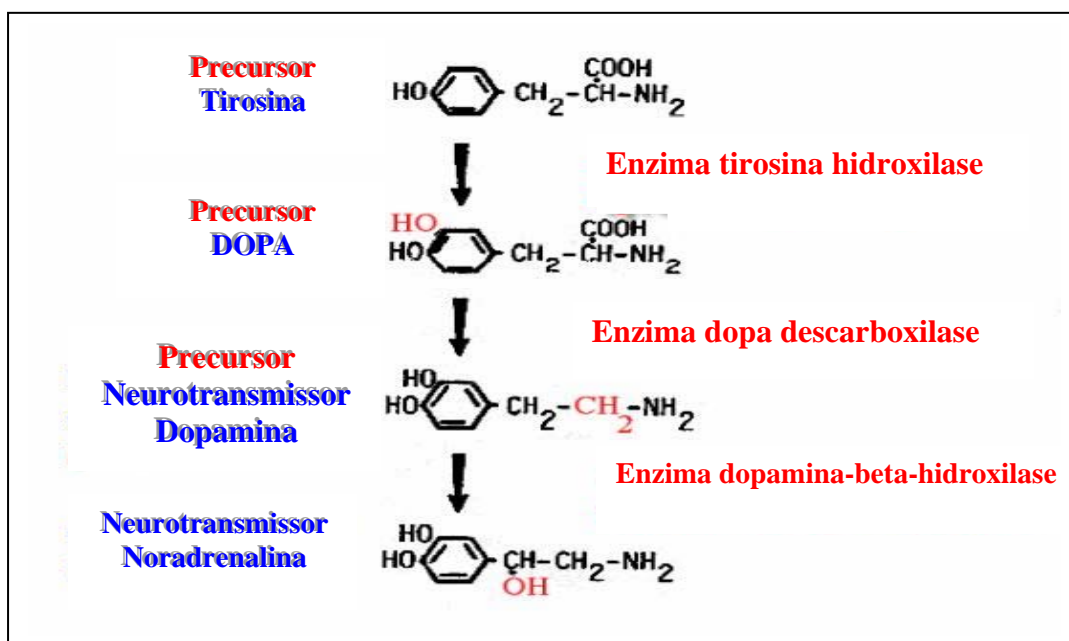


FIGURA 7- Esquema da síntese geral das catecolaminas, enzimas metabolizadoras e metabólitos envolvidos. Fonte: <http://sameens.dia.uned.es/.../imagenes/>

1.2.1- Regulação dopaminérgica

A síntese da dopamina começa com a L-tirosina, um aminoácido aromático presentes nos líquidos orgânicos, que é captado pelos neurônios adrenérgicos. A tirosina hidroxilase, enzima que catalisa a conversão de tirosina em diidroxifenilalanina (DOPA), é encontrada apenas nas células que contêm catecolaminas, provavelmente sob a forma livre no citosol. A etapa seguinte, que consiste na conversão da DOPA em dopamina, é catalisada pela DOPA descorbxilase, uma enzima citosólica, que não se limita às células que sintetizam catecolaminas (RANG & DALE, 2004).

A dopamina sintetizada pode atuar nos receptores dopaminérgicos, ser recaptada sem sofrer nenhuma transformação, ser metabolizada pelas enzimas monoamina oxidase (MAO) e catecol-O-metil transferase (COMT) em produtos inativos ou pode ser convertida em noradrenalina pela dopamina β-hidroxilase nas terminações nervosas (RANG & DALE, 2004).

A **Figura 8** mostra, de maneira mais resumida, a síntese, armazenamento e liberação da dopamina.

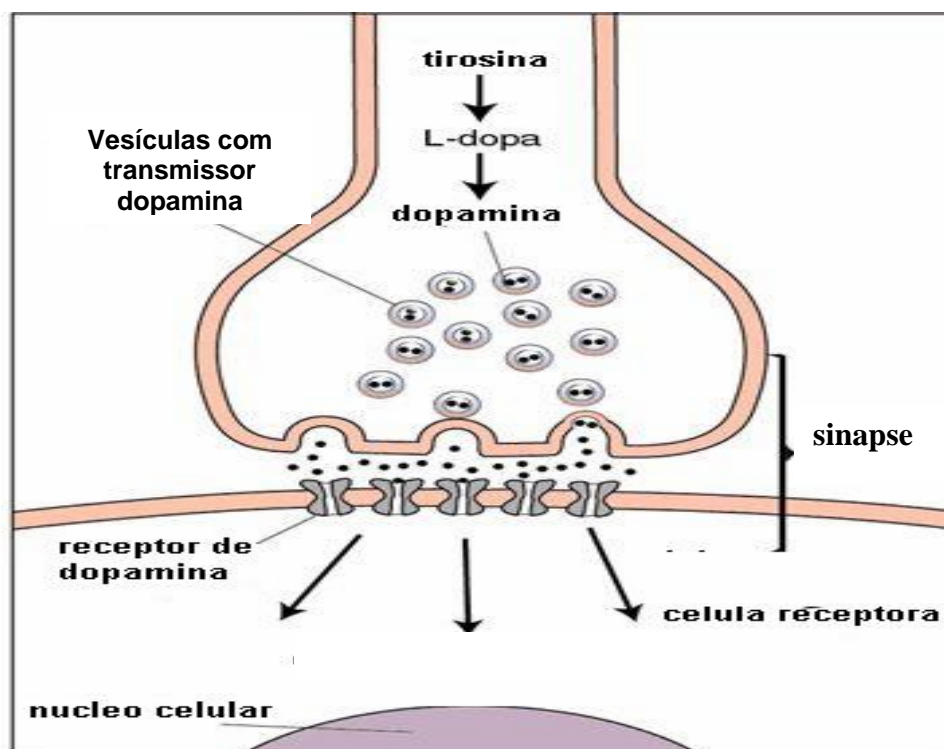


FIGURA 8- Síntese, armazenamento e liberação de dopamina.

Fonte: <http://sites.uol.com.br/gballone/cursos/farmacologia.html>

A neurotransmissão dopaminérgica é controlada por mecanismos envolvendo receptores pós-sinápticos e transdução de sinais, bem como regulação pré-sináptica do neurotransmissor dopamina. O Controle pré-sináptico da concentração de dopamina sináptica envolve a regulação da síntese e liberação de dopamina e a atividade do transportador de dopamina (TDA) (SOUSA et al., 1997).

O TDA é membro da família de proteínas transportadoras de membrana que são dependentes de sódio, apresentam um transporte de alta afinidade e são substrato-específicos (AMARA & KUCHAR, 1993; UHL, 1992). O principal mecanismo de controle da concentração de dopamina é a recaptação do neurotransmissor pelo TDA. Com exceção de suas funções fisiológicas, o TDA é alvo para psicoestimulantes como a cocaína sendo também um alvo para neurotoxinas como a 6-hidroxidopamina (ELWAN & SAKURAGAWA, 2000).

1.2.2- Vias dopaminérgicas

O sistema dopaminérgico está presente em quase todo sistema nervoso central e apresenta duas vias primárias: área tegmentar ventral e substância negra, que têm projeções para as regiões mesolímbica, mesocortical e estriada do cérebro. Uma via separada tuberoinfundibular vai dos neurônios hipotalâmicos para a glândula pituitária (JONES & PILOWSKY, 2002). As diversas vias da dopamina estão resumidas na **Figura 9**.

A primeira via é a substância negra pars compacta (SNc). Os axônios dessa via estão direcionados para o estriado; essa via é denominada “via nigroestriatal”. A doença de Parkinson está relacionada com a deterioração dos neurônios da SNc. A segunda maior via é a área tegmentar ventral (ATV). Os axônios dessa seguem o feixe frontocerebral mediano e depois se espalham para inervar duas regiões: o córtex pré-frontal e o estriado ventral, sendo denominadas de vias mesolímbica e mesocortical dopaminérgicas, respectivamente (KUHAR et al., 1999).

Nos primatas (incluindo os humanos), as projeções de dopamina são bem distribuídas. As projeções mais densas de dopamina são para o córtex motor primário, embora as outras áreas frontais também sejam fortemente inervadas. Praticamente nenhuma dopamina é encontrada no córtex somatossensorial primário (onde a Noradrenalina tem densidade máxima) e muito pouca é encontrada no córtex occipital (LEWIS, 2001).

A menor via de dopamina é a tuberoinfundibular. Os axônios destes neurônios liberam dopamina na hipófise, onde ela inibe a liberação do hormônio prolactina. Nas fêmeas, a prolactina promove o desenvolvimento dos seios e nos machos, o seu papel não é claro. As drogas antipsicóticas mais antigas bloqueiam os receptores de dopamina na hipófise, levando a um aumento da prolactina. Às vezes, nas mulheres tratadas com essas drogas, pode ocorrer a produção indesejada de leite (galactorréia) (KUHAR et al., 1999).

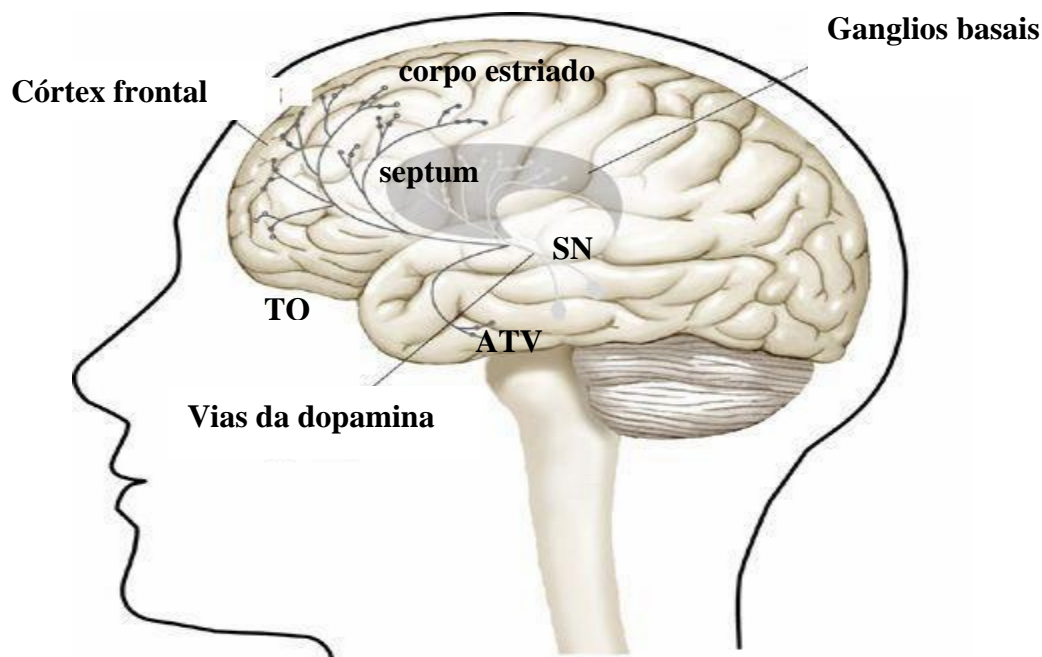


FIGURA 9- Vias dopaminérgicas no SNC. Grupos celulares dopaminérgicos se projetam da substância negra (SN) para o corpo estriado. Corpos celulares próximos à substância negra na área tegmentar ventral (ATV) projetam axônios para o septum, córtex límbico (incluindo córtex frontal e cíngulo), amígdala, núcleo *accumbens* e tubérculo olfatório (TO) (SUNDBERG, 1994).

1.2.3- Receptores dopaminérgicos

A família de receptores da dopamina pode ser dividida em dois grupos principais: D1-símile (D1 e D5) e D2-símile (D2, D3, D4) que estão distribuídos pelo cérebro. Essa divisão foi devido a existência de diferentes seqüências de aminoácido no DNA. Os receptores D1 e D2 encontram-se predominantemente no neocórtex, enquanto os receptores D3 estão presentes principalmente no tubérculo olfatório, núcleo *accumbens* e no hipotálamo (ANANTH et al., 2001; JONES & PILOWSKY, 2002). Os receptores D3 são os mais sensíveis, requerendo menos dopamina para serem disparados do que os outros. O receptor D4 apresenta níveis elevados no córtex pré-frontal (ANANTH et al., 2001) e o D5 no hipotálamo e no hipocampo (JONES & PILOWSKY, 2002)

Os receptores D1-símile são acoplados à proteína Gs levando a uma estimulação da síntese de AMPc. Os receptores D2-símile são acoplados a proteína Gi, provocando uma inibição da atividade da adenilato ciclase com uma diminuição

no nível de AMPc intracelular. Os receptores D2 são acoplados também à ativação de canais de potássio através das subunidades $\beta\gamma$ da proteína G (ADAMS et al., 1997).

A dopamina está envolvida em uma grande variedade de funções motoras e não motoras, incluindo a memória e percepção emocional e sensorial. Entretanto a contribuição da família de receptores D1-símile, em diferentes estruturas do cérebro, na regulação de vários processos comportamentais, ainda não esta totalmente clara. Estudos recentes mostram que a contribuição do receptor D1 para a regulação dos processos emocionais, independe de mudanças na atividade motora (SIEMIATKOWSKI et al., 2000).

Através da clonagem de receptores foi identificado duas isoformas do receptor D2 (D2 curto e D2 longo), que são localizados em diferentes áreas do cérebro. A anatomia neuroquímica difere para a dopamina em regiões: cortical e estriatal, e a densidade do subtipo do receptor D2-símile varia extremamente entre regiões estriatal e extra-estriatal (LIDOW et al., 1998).

As drogas antipsicóticas agem nos receptores D2 e são consideradas eficazes quando apresentam algum grau de antagonismo destes receptores. A afinidade das drogas antipsicóticas pelo receptor D2 e a dose média diária destas para controlar os sintomas clínicos da doença foram correlacionadas diretamente (PEROUTKA & SNYDER, 1980). Destes estudos viram que o receptor D2 era o principal local de ação dessas drogas (CREESE et al., 1976).

Destes achados relacionados com a prática fica evidente que o bloqueio do receptor D2 é a melhor teoria para explicar o aparecimento de efeitos colaterais concomitantes tais como a desordem de movimento (secundária ao bloqueio do receptor D2 estriatal) e a hiperprolactinemia (secundária ao bloqueio do receptor D2 na glândula pituitária) (SIEMIATKOWSKI, 2000).

A eficácia do haloperidol, um protótipo de droga antipsicótica, no tratamento dos sintomas da esquizofrenia é devido, ao menos em parte, a sua capacidade de se ligar e antagonizar os receptores D2-símile (CREESE et al., 1976) levando a um aumento de AMPc (ADAMS et al., 1997).

Embora a relação entre o bloqueio do receptor D2 e o potencial das drogas antipsicóticas esteja bem estabelecido, a relação não é linear. Estudos *in vitro* mostram que o bloqueio de 80% destes receptores produz sintomas extra-piramidais afetando a eficiência relativa dessas drogas (SEDVALL, 1996; ANANTH et al., 2001). Já uma ocupação menor que 80% desses receptores produz características atípicas, com uma diminuição dos sintomas extra-piramidais (KAPUR, 1996).

Em estudos com pacientes que não apresentavam sintomas extra-piramidais, usando uma tomografia de emissão de fóton simples (SPET), a olanzapina, um ligante do receptor D2, se assemelhou ao nível de ligação no cérebro do haloperidol e clozapina. No corpo estriado a olanzapina foi similar aos resultados clozapina (PILOWSKY et al., 1996). Esses resultados mostram que um antagonismo moderado do receptor D2 está associado com uma diminuição dos sintomas extra-piramidais. Essa diminuição parece diferenciar-se quando se refere às drogas antipsicóticas típicas e atípicas. As drogas típicas se ligam fortemente ao receptor D2, enquanto que, as drogas atípicas se ligam mais fracamente ao receptor não induzido os sintomas extra-piramidais (ANANTH et al., 2001).

Na **Figura 10** observamos a ação de drogas antipsicóticas no receptor dopaminérgico de maneira esquemática.

O quinpirole, um antagonista com afinidades semelhantes para os receptores D3 e D4, induz uma diminuição significativa na expressão da c-fos induzida pela clozapina no córtex pré-frontal e núcleo *accumbens*. Por outro lado, o agonista 7-OH-DPAT (LEVESQUE et al., 1992), mais seletivo do receptor D3 reduziu significativamente aumentos na expressão de c-fos induzida pela clozapina no núcleo *accumbens*, e não teve efeito no córtex pré-frontal. Estes dados sugerem que os receptores D3 promovem efeitos no núcleo *accumbens*, e os receptores D4 no córtex pré-frontal (ANANTH et al., 2001).

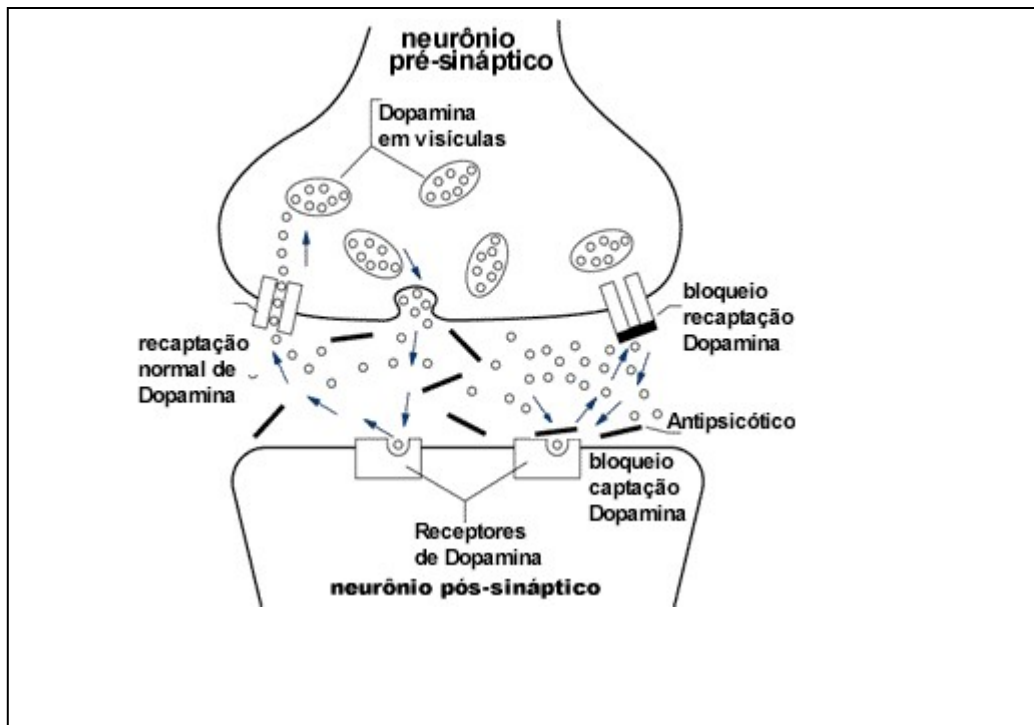


FIGURA 10- Ação de drogas antipsicóticas no receptor dopaminérgico. Os receptores da dopamina mais conhecidos são o D1 e o D2 (ambos pós-sinápticos). A atividade terapêutica dos antipsicóticos parece estar relacionada, principalmente, com o bloqueio da dopamina nos receptores pós-sinápticos do tipo D2 (KRAMER et al., 1998).

No **Quadro 2** é apresentado um resumo dos subtipos de receptores dopaminérgicos com seus sistemas de segundos mensageiros, principais localizações cerebrais e afinidade pela dopamina.

QUADRO 2- Receptores dopaminérgicos: segundos mensageiros, localização no cérebro e afinidade pela dopamina.

Característica Receptor	D1	D2	D3	D4	D5
Sistema de 2º mensageiro	Ativa adenilato ciclase	Inibe a adenilato ciclase	Inibe a adenilato ciclase	Inibe a adenilato ciclase	Ativa adenilato ciclase
Localização no cérebro	Corpo estriado e núcleo <i>accumbens</i>	Corpo estriado, núcleo <i>accumbens</i> , substância negra, área tegmentar ventral	Núcleo <i>accumbens</i> , substância negra, área tegmentar ventral, hipocampo	Córtex frontal, hipocampo, cerebelo	Corpo estriado e núcleo <i>accumbens</i>
Afinidade pela dopamina	2000	2000	30	450	250

1.3- Interação dopamina-acetilcolina

Os sistemas de neurotransmissores não trabalham isolados. Eles são integrados anatomicamente e funcionalmente como uma rede de maneira direta (HATTORI et al., 1976) ou indireta (BUNNEY & AGHAJANIAN, 1976) através de junções sinápticas (TSUKADA et al., 2000).

Evidências clínicas e experimentais mostram que, o sistema dopaminérgico modula o sistema colinérgico em diferentes áreas do cérebro. Assim, a hipótese do balanço entre os sistemas dopaminérgico e colinérgico (LLOYD et al., 1973) tem sido usado para explicar a etiologia de várias desordens neuropsiquiátricas (UNDIE & FRIEDMAN, 1988).

Embora as doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas fossem atribuídas ao déficit de um único sistema de neurotransmissor, a progressão da doença pôde ser relacionada ao déficit do sistema de neurotransmissor afetado inicialmente ou ser modulada por outros neurotransmissores. O sistema extrapiramidal motor, por exemplo, depende do balanço entre a dopamina e a acetilcolina, e um desequilíbrio nesse balanço causa anormalidades motoras (TSUKADA et al., 2000). Nos roedores, a atividade locomotora espontânea é parcialmente mediada pela via dopaminérgica mesolímbica (AHLENIUS & HILLEGART, 1986).

O núcleo *accumbens* é o maior componente do estriado ventral. Suas inervações colinérgicas, como no resto do estriado, é intrínseca e se origina de um pequeno número de neurônios. O núcleo *accumbens* e o estriado dorsal são inervados principalmente por neurônios dopaminérgicos, originados na área tegmentar ventral e da substância negra (CONSOLO et al., 1999).

No estriado dorsal, um controle inibitório sobre os neurônios colinérgicos pela dopamina, atuando via receptores D2, é extensamente documentado *in vitro*. Vários estudos mostram que a dopamina também estimula acetilcolina estriatal produzida por ação do receptor dopaminérgico D1 (AJIMA et al., 1990; BERTORELLI & CONSOLO, 1990; DAMSMA et al., 1990; ZAHM & HEIMER, 1988). Foi verificado

que a dopamina estimula a liberação de acetilcolina nas duas áreas do núcleo *accumbens* (*shell* e *core*). Essa ação é mediada por receptores D1 (CONSOLO et al., 1999).

Receptores muscarínicos pré-sinápticos estão presentes nas terminações dopaminérgicas do córtex frontal e corpo estriado de ratos (HOSS & ELLIS, 1985; MARCHI & RAITERI, 1985; SCHOFFELMER & MULDER, 1986). Esses receptores, chamados heteroreceptores, parecem modular a atividade dopaminérgica (BHATTACHARUA & SEM, 1991).

Estudos mostram que a dopamina e acetilcolina atuam no hipotálamo lateral em vias opostas, sugerindo uma interação desses neurotransmissores nesta região. Por exemplo, a administração local de agonistas dopaminérgicos ou antagonistas colinérgicos reduzem a fome e sede (LEIBOWITZ, 1975; LEIBOWITZ & BROWN, 1980), enquanto que, agonistas colinérgicos ou antagonista dopaminérgicos promovem fome e sede (GROSSMAN, 1960; PARADA et al., 1988; SCIORELLI et al., 1972). Estudos usando a técnica de microdiálise mostram que o nível de dopamina aumenta enquanto que, o nível de acetilcolina diminui no hipotálamo, indicando que esses neurotransmissores atuam em direções opostas durante o desenvolvimento da sede (PUIG DE PARADA et al., 1999).

Os terminais dopaminérgicos no hipotálamo lateral estão ligados às projeções de dopamina do mesencéfalo ou hipotálamo, sendo que, a dopamina exerce suas funções principalmente através dos receptores D2. A existência de células colinérgicas nessa área tem sido associada com a termoregulação e locomoção (PUIG DE PARADA et al., 1999).

A interação entre os sistemas dopaminérgico e colinérgico regula certas funções motoras e comportamentais. O estriado, região envolvida no controle motor extra-piramidal, possui uma alta concentração de acetilcolina. O receptor muscarínico M4 e outros subtipos de receptores muscarínicos estão co-expressados com receptores dopaminérgicos D1 e D2 (GOMEZA et al., 1999; ZHAN-GUO et al., 1997) nessa região.

Estudos bioquímicos revelam que a administração aguda de agonista dopaminérgico D2 inibe diretamente a liberação de acetilcolina no estriado, enquanto que, a administração de agonistas D1 aumenta essa liberação. A administração de infusões contínuas de agonista D2 diminui os efeitos agudos desse agente e aumentam os efeitos agudos dos agonistas D1 na liberação de acetilcolina. Com o advento de técnicas de biologia molecular observou-se que 80% dos neurônios colinérgicos no estriado apresentam níveis detectáveis de receptores dopaminérgicos D2 (BERTORELLI & CONSOLO, 1990; ZHAN-GUO et al., 1997).

Evidências mostram que as interações entre estes sistemas de neurotransmissores são essenciais para o controle motor (BROWN & TAYLOR, 1996). Assim, os severos problemas motores observados nos pacientes que sofrem da doença de Parkinson e outras desordens extra-piramidais podem ser devido a um desequilíbrio colinérgico e dopaminérgico no estriado (BROWN & TAYLOR, 1996; GOMEZA et al., 1999).

Agonistas colinérgicos podem inibir a estereotipia causada pela dopamina, logo, agentes anticolinérgicos e drogas antipsicóticas com propriedades anticolinérgicas inibem os efeitos semelhantes aos extra-piramidais causado por antagonistas dopaminérgicos (ZHAN-GUO et al., 1997).

Uma hiperatividade do hipocampo esta envolvida nas desordens neuropsiquiátricas, como a esquizofrenia (BAST et al., 2001). A estimulação do hipocampo ventral por infusão de N-metil-D-aspartato (NMDA) ou carbacol aumentou a atividade locomotora de ratos.

Em 1987, Yang e Mogenson sugeriram que a via dopaminérgica D2 no núcleo *accumbens* poderia exercer um efeito inibitório na estimulação da atividade locomotora no hipocampo ventral. Observou-se depois que essa resposta locomotora no hipocampo ventral dependia das projeções dopaminérgicas estarem intactas no meso-*accumbens*, sendo inibida por um aumento de dopamina no núcleo *accumbens* e bloqueada por aplicações sistêmicas de antagonistas D2, como o haloperidol (LEGEAULT & WISE, 1999; WU & BRUDZYNSKI, 1995). Esses resultados mostram que, um aumento na atividade locomotora em resposta ao

estímulo do hipocampo ventral depende do aumento da atividade dopaminérgica com uma estimulação concomitante dos receptores dopaminérgicos no núcleo *accumbens* (BAST et al., 2001).

A catalepsia é um efeito comportamental comum causado por neurolépticos. Esta é descrita como uma relativa imobilidade dos animais quando colocados em posições anormais (MUKVAD et al., 1968; ZETLER, 1968; UNDIE & FRIEDMAN, 1988).

O corpo estriado foi apontado como a principal área cerebral relacionada com a catalepsia induzida por drogas neurolépticas (HARTGRAVES & KELLY, 1984). Sugeriu-se também que a via dopaminérgica mesolímbica seria o sítio alvo para ação de seus efeitos antipsicóticos (ELLENBROEK et al., 1991; POTTER & HOLLISTER, 1998).

Essa capacidade de vários neurolépticos causarem catalepsia tem sido associada com a capacidade, dessas drogas, de melhorar os sintomas das doenças neuropsiquiátricas, e sua ação antipsicótica esta correlacionada com a afinidade desses agentes pelos receptores D2 (CREESE et al., 1976; EZRIN-WATERS et al., 1976; OWEN et al., 1978; SEEMAN, 1981). Assim, a catalepsia é um fenômeno mediado por receptores D2. Entretanto, o SCH 23390 um antagonista D1 seletivo, induz catalepsia em animais (CHRISTENSEN et al., 1984; MAILMAN et al., 1984). Essa ação do SCH 23390 é mediada pela inibição do receptor D1, não havendo nenhuma indicação da contribuição do receptor D2 pela ação do próprio SCH 23390 ou por algum possível metabólito seu (HYTTEL, 1984; MELLER et al., 1985), além disso, a ação de SCH 23390 é fortemente inibida pela estimulação concomitante do receptor D2.

Estes dados concordam com outros resultados comportamentais e bioquímicos que conduziram à opinião atual que os receptores dopaminérgicos D1 e D2 são entidades bioquímicas diferentes que funcionam de maneira interativa uns com os outros, bem como com o sistema colinérgico. Assim é possível que uma interação central dos subtipos de receptores dopaminérgicos dependa da interação entre a dopamina e acetilcolina (UNDIE & FRIEDMAN, 1988).

OBJETIVOS

2- OBJETIVOS

Considerando as evidências da relação existente entre a neurotransmissão dopaminérgica e colinérgica e tentando esclarecer alguns efeitos resultantes das interações destes sistemas de neurotransmissores foram utilizadas neste trabalho um agonista dopaminérgico (mazindol) que atua indiretamente inibindo a recaptação de dopamina neuronal, um agonista dopaminérgico não seletivo que age diretamente nos receptores D1 e D2, agindo preferencialmente no receptor D2 (apomorfina), um antagonista dopaminérgico D2 (pimozida), um antagonista dopaminérgico D1 (SCH 23390), um agonista muscarínico M1 (pilocarpina), um agonista muscarínico M2 (carbacol), um antagonista muscarínico M1 (pirenzepina), um antagonista muscarínico M1 e M2 não seletivo (atropina), um neroléptico atípico (clozapina) e verificados seus efeitos em ambos os sistemas.

2.1- OBJETIVO GERAL

❖ Avaliar os efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica através de estudos comportamentais e neuroquímicos.

2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Do ponto de vista experimental, o presente trabalho foi dividido em 2 protocolos experimentais (crônico e agudo) que foram subdivididos em tópicos para melhor compreensão:

Protocolo I- Tratamento crônico:

❖ Estudar os efeitos de agonistas e antagonistas muscarínicos e dopaminérgicos sozinhos ou associados, nos modelos de campo aberto e catalepsia em ratos;

❖ Estudar os efeitos de agonistas e antagonistas muscarínicos e dopaminérgicos sozinhos ou associados, sobre a densidade de receptores muscarínicos (M1 + M2-símile) e dopaminérgicos (D1 e D2-símile) de ratos.

Protocolo II- Tratamento agudo:

❖ Estudar os efeitos de agonistas e antagonistas muscarínicos e dopaminérgicos sozinhos ou associados a um agente cataleptogênico, sobre a resposta cataléptica de ratos;

❖ Estudar os efeitos de agonistas e antagonistas muscarínicos e dopaminérgicos sozinhos ou associados a um agente cataleptogênico, sobre a atividade locomotora de ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- Animais

Foram utilizadas ratas Wistar, adultas-jovens, virgens, 2-4 meses, com peso variando entre 180-200 g provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará.

Durante todos os experimentos os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 6 animais, em condições ambientais semelhantes, com ciclos de alternância claro/escuro de 12 horas, recebendo ração padrão tipo Purina e água *ad libitum*.

3.2- Preparo das drogas

3.2.1- Mazindol, pimozida e clozapina

Comprimidos de Mazindol (Fagolipo[®] 2 mg, Libbs), pimozida (Orap[®] 4 mg, Janssen-Cilag) e clozapina (Leponex[®] 25 mg, Novartis) foram macerados e suspensos em água bidestilada, obtendo-se as seguintes concentrações finais:

DROGAS	CONCENTRAÇÃO FINAL
Mazindol	5, 10, e 20 mg/mL
Pimozida	1, 5, 10 e 20 mg/mL
Clozapina	1, 5 e 10 mg/mL

3.2.2- Apomorfina, atropina, carbacol, pilocarpina, pirenzepina e SCH 23390

Apomorfina (Cloridrato de apomorfina, Sigma, USA), Atropina (sulfato de atropina, Sigma, USA), carbacol (Cloridrato de carbamicolina, Sigma, USA), Pilocarpina (cloridrato de pilocarpina, Sigma, USA), Pirenzepina (Sigma, USA) e SCH 23390 (Sigma, USA) foram dissolvidas em água bidestilada, obtendo-se as seguintes concentrações finais:

DROGAS	CONCENTRAÇÃO FINAL
Apomorfina	1, 5 e 10 mg/mL
Atropina	1, 5 e 10 mg/mL
Carbacol	1, 5 e 10 mg/mL
Pilocarpina	1, 5, 10 e 80 mg/mL
Pirenzepina	1, 5 e 10 mg/mL
SCH 23390	0,3 mg/mL

3.3- Tratamento dos grupos experimentais

3.3.1- Protocolo I: Tratamento crônico

Os animais foram tratados com mazindol, pimozida, atropina e carbacol, durante um período de sete dias, utilizando-se uma cânula intragástrica de polietileno. Vinte e quatro horas após a última administração, os animais foram sacrificados, seus cérebros removidos e a área cerebral de interesse dissecada sobre gelo. Os animais controles foram tratados com salina 0,9%.

O **Quadro 3** sumariza as drogas com suas respectivas doses e vias de administração:

QUADRO 3- Drogas utilizadas com as respectivas doses e vias de administração.

DROGAS	DOSE	VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ABREVIATURA
Atropina	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Oral	atr 1 atr 5 atr 10
Carbacol	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Oral	cbc 1 cbc 5 cbc10
Mazindol	5 mg/kg 10 mg/kg 20 mg/kg	Oral	maz 5 maz 10 maz 20
Pimozida	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg 20 mg/kg	Oral	pim 1 pim 5 pim 10 pim 20

Quando as drogas foram administradas em associação havia um intervalo de 30 minutos entre a primeira e a segunda droga. As associações utilizadas estão sumarizadas no **Quadro 4**.

QUADRO 4- Drogas utilizadas em associação.

ASSOCIAÇÃO	ABREVIATURA
atropina 1 + mazindol 5	atr 1 + maz 5
atropina 5 + mazindol 10	atr 5 + maz 10
atropina 10 + mazindol 20	atr 10 + maz 20
pimozida 1 + atropina 1	pim 1 + atr 1
pimozida 1 + carbacol 10	pim 1 + cbc 10
pimozida 5 + carbacol 10	pim 5 + cbc 10
pimozida 10 + atropina 1	pim 10 + atr 1
pimozida 10 + carbacol 1	pim 10 + cbc 1
pimozida 10 + carbacol 5	pim 10 + cbc 5
pimozida 10 + carbacol 10	pim 10 + cbc 10
pimozida 20 + carbacol 1	pim 20 + cbc 1
pimozida 20 + carbacol 5	pim 20 + cbc 5
pimozida 20 + carbacol 10	pim 20 + cbc 10

3.3.2- Protocolo II: Tratamento agudo

Para observar um efeito cataleptogênico, foi utilizado pimizida, pilocarpina e SCH 23390, em doses que causam catalepsia. O **Quadro 5** sumariza as drogas cataleptogênicas, suas doses e vias de administração.

QUADRO 5- Drogas cataleptogênicas utilizadas com as respectivas doses e vias de administração.

DROGA	DOSE	VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ABREVIATURA
Pilocarpina	80 mg/kg	Intraperitoneal	pilo 80
Pimizida	20 mg/kg	Oral	pim 20
SCH 23390	0,3 mg/kg	Intraperitoneal	SCH 0,3

Os animais receberam atropina, carbacol, pilocarpina e pirenzepina 30 minutos antes de serem tratados com pimizida ou SCH 23390. Os animais que receberam apomorfina, clozapina e mazindol foram tratados 30 minutos antes da dose de pilocarpina como agente cataleptogênico que foi administrada 60 minutos após um pré-tratamento com atropina na dose de 5 mg/kg, via intraperitoneal. Os controles receberam salina 0,9%.

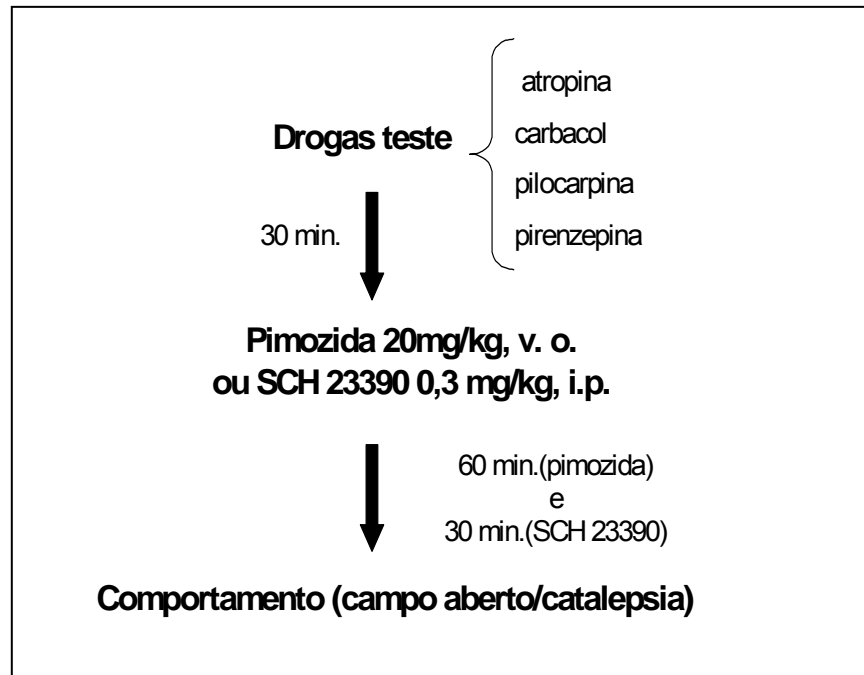
O **Quadro 6** sumariza as drogas utilizadas com suas respectivas doses, vias de administração e agente cataleptogênico associado.

QUADRO 6- Drogas utilizadas com as respectivas doses, vias de administração e agente cataleptogênico associado.

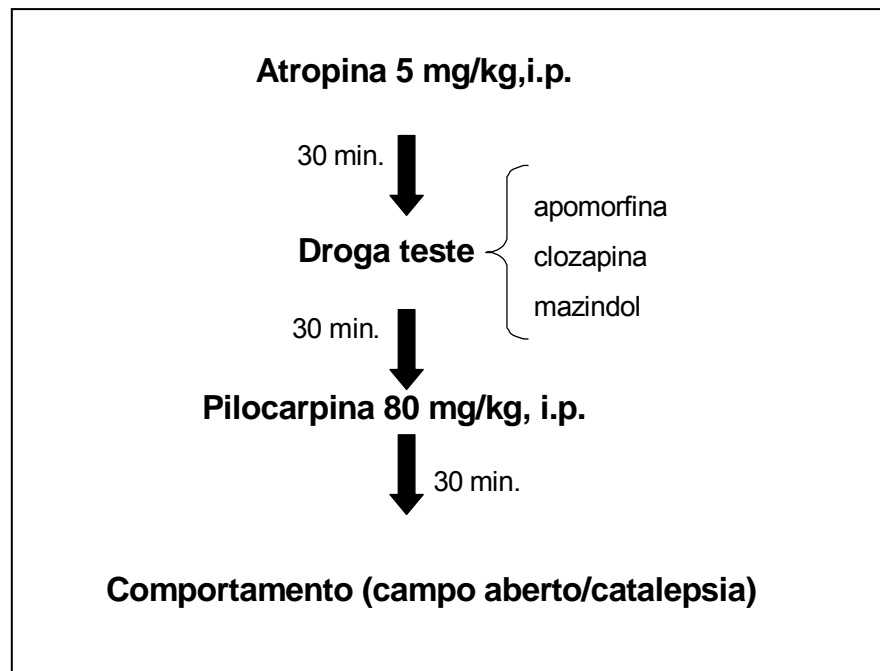
DROGAS	DOSE	VIA DE ADMINISTRAÇÃO	ABREVIATURA	AGENTE CATALEPTOGÊNICO
Apomorfina	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Intraperitoneal	apo 1 apo 5 apo 10	pilo 80
Atropina	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Oral	atr 1 atr 5 atr 10	pim 20 ou SCH 23390
Carbacol	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Oral	cbc 1 cbc 5 cbc10	pim 20 ou SCH 23390
Clozapina	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Oral	cloz 1 cloz 5 cloz 10	pilo 80
Mazindol	5 mg/kg 10 mg/kg 20 mg/kg	Oral	maz 5 maz 10 maz 20	pilo 80
Pilocarpina	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Intraperitoneal	pilo 1 pilo 5 pilo 10	pim 20 ou SCH 23390
Pirenzepina	1 mg/kg 5 mg/kg 10 mg/kg	Intraperitoneal	pz 1 pz 5 pz 10	pim 20 ou SCH 23390

Para melhor compreensão o tratamento do protocolo II está esquematizado abaixo (**Quadro 7 e 8**):

QUADRO 7- Tratamento agudo com pimozida ou SCH 23390.



QUADRO 8- Tratamento agudo com pilocarpina.



3.4- Material utilizado

Material	Origem
Agitador de tubos	Modelo 251, FANEN, SP, Brasil
Balança analítica	Modelo H5, Mettler, Suíça
Banho Maria	Modelo 102/1, FANEN, SP, Brasil
Contador de cintilação líquida	Modelo LS 6500 ,CA, USA
Cubetas de plástico p/ leitura em espectrofotômetro	Sarstedt, Alemanha
Espectrofotômetro	Modelo D2804A, Super VGA, Beckman, CA, USA
Equip. de milipore p/ filtração à vácuo	Milipore apparatus, Bedford, MA, USA
Estufa de secagem e esterilização	Modelo 315 SE FANEN, SP, Brasil
Filtros de fibra de vidro	GF/B Whatman, Maidstone, England
Frascos de vidro para contagem de cintilação	Vials Beckman, Fullerton, CA, USA
Homogeneizadores	Bellico, USA
Guilhotina	Harvard, USA
Micropipetas	H,E. Pedersen, Dinamarca
Medidor de pH	Modelo B374, Micronal, SP, Brasil

3.5- Dissecação das áreas cerebrais

Os animais foram decapitados com uma guilhotina (Harvard, USA). Em seguida, os encéfalos foram rapidamente retirados e colocados sobre papel alumínio numa placa de petri com gelo para posterior dissecação da área cerebral a ser estudada (**Figura 11**).

Seguindo a fissura sagital mediana, a camada cortical cerebral foi retirada com o auxílio de uma pinça reta de microdissecação. O córtex foi exposto e rebatido para os lados, expondo parte do corpo estriado. O corpo estriado (caudado, putamen e globo pálido) foi isolado e sua retirada orientada pelo diâmetro da porção tuberosa visível desses núcleos, após o rebatimento lateral do córtex (**Figura 12**) (ZILLES & WREE, 1985).

Terminada a dissecação, cada área foi colocada em papel alumínio devidamente identificado, pesada e conservada a -70°C para uso posterior. Quando foi necessária a estocagem por um certo período de tempo (no máximo uma semana) os tecidos foram considerados como tendo a mesma viabilidade para a experimentação que os ensaiados imediatamente ou 24 h após a dissecação (BURKE & GREENBAUN, 1987; FIELDER et al., 1987).



FIGURA 11 - Dissecação cerebral mostrando a retirada do encéfalo.



FIGURA 12 - Dissecação cerebral mostrando a retirada do corpo estriado.

3.6- Determinação da densidade de receptores muscarínicos

A densidade de receptores muscarínicos foi determinada, através de ensaios de *binding* executados em homogenatos cerebrais.

↳ Receptores M1 + M2-símile

Para determinação de receptores muscarínicos M1 + M2-símile foi utilizado o ligante não específico $^3\text{H-N}$ -metilescopolamina ($^3\text{H-NMS}$, 85 Ci/mmol- New England), de acordo com o método previamente descrito (DOMBROWSKI et al., 1983).

3.6.1- Método

O antagonista muscarínico marcado, $^3\text{H-N}$ -metilescopolamina, liga-se a sítios específicos dentre os quatro primeiros segmentos transmembrana dos receptores muscarínicos (WHEATLY et al., 1988) que existem nos tecidos homogeneizados. Assim, o ligante tritiado marca os receptores presentes no tecido estudado.

A atropina é um outro antagonista clássico utilizado nos “brancos” dos experimentos para determinar a radioatividade de *background* ou ligações não específicas. A atropina acrescentada em concentração muito maior do que a do $^3\text{H-NMS}$ interage seletivamente com os mesmos sítios de ligação, deslocando e deixando livre toda droga marcada, que é logo depois filtrada. A radioatividade contida no filtro é então determinada por cintilação líquida (SOUSA, 1997).

3.6.2- Procedimento experimental

Terminada a dissecação da área cerebral em gelo, como foi mencionado anteriormente, foram feitos homogenatos a 10% em tampão fosfato de sódio, 150 mM, pH 7,4.

Os homogenatos contendo 150-180 µg de proteína foram incubados em tampão fosfato sódio contendo 2,35 de ³H-NMS, na presença ou ausência de sulfato de atropina 12,5 µM em um volume final de 0,2 mL.

Após incubação a 37 °C por 30 minutos, a reação foi terminada por filtração a vácuo através de filtros Whatman GF/B. Os filtros foram lavados três vezes com 4 mL de solução salina 0,9% gelada, secos a 60 °C por no mínimo 2h e colocados em frascos de vidros (*vials*) com 3 mL de um coquetel de cintilação líquida contendo tolueno.

A radioatividade foi medida em um contador de cintilação líquida Beckman LS-6500 com uma eficiência de 48%. A ligação específica foi calculada como a ligação total menos a ligação não específica feita na presença de atropina 12,5 µM os resultados foram expressos como fentomoles por miligrama de proteína. A concentração de proteína foi determinada segundo o método de Lowry et al., (1951) utilizando-se albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

3.7- Determinação da densidade de receptores dopaminérgicos

A densidade de receptores dopaminérgicos foi determinada, através de ensaios de *binding* executados em homogenatos cerebrais, variando os seguintes parâmetros:

↳ Receptores D1-símile

Foi utilizado o ligante específico $^3\text{H-SCH 23390}$ (87,0 Ci/mmol- New England Nuclear, USA), segundo o método previamente descrito (MELTZER et al., 1989).

↳ Receptores D2-símile

Foi utilizado o ligante específico $^3\text{H-espiroperidol}$ (114,0 Ci/mmol-New England Nuclear, USA), segundo uma adaptação do método previamente descrito por Kessler et al., 1991 e Meltzer et al., 1989.

3.7.1- Método

O ligante $^3\text{H-espiroperidol}$ é um antagonista dopaminérgico que possui alta afinidade pelos receptores D2-símile, possuindo também afinidade pelos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₂ (KESSLER et al., 1991; TERAJ et al., 1989). Para bloquear os receptores serotoninérgicos foi utilizado um antagonista seletivo, a mianserina. O $^3\text{H-SCH 23390}$ é um antagonista dopaminérgico que possui alta afinidade pelos receptores D1-símile e não tem afinidade por receptores serotoninérgicos (SOUSA, 1997).

A dopamina foi utilizada nos “brancos” dos ensaios para determinar a radioatividade de *background* ou ligações não específicas. A dopamina acrescentada em concentração muito maior do que $^3\text{H-SCH 23390}$ ou $^3\text{H-espiroperidol}$ interage seletivamente com os mesmos sítios de ligação do receptor, deslocando e deixando livre toda a droga marcada, que é logo depois filtrada. A radioatividade contida no filtro é medida por cintilação líquida (SOUSA, 1997).

3.7.2- Procedimento experimental

Terminada a dissecação das áreas cerebrais em gelo, como mencionado anteriormente, foram feitos homogenatos a 10% em tampão TRIS HCL 50 mM, pH 7,4.

Os homogenatos contendo 150-180 µg de proteína foram incubados em tampão TRIS HCL modificado (50 mM, pH 7,4). No caso dos receptores D1-símile o tampão continha 5,75 nM de ³H-SCH 23390 para experimentos de pontos únicos. No caso dos receptores D2-símile o tampão continha 10 µM de mianserina (incubada por 30 minutos à temperatura ambiente) para bloquear os receptores serotoninérgicos e 17,3 nM de ³H-espiroperidol para experimentos de ponto único. Em ambos os ensaios, os respectivos ligantes eram incubados na presença ou ausência de dopamina 100 µM (durante 10 minutos), sendo o volume final de 0,2 mL.

Após incubação a 37 °C por 60 minutos, a reação foi terminada por filtração a vácuo através de filtros Whatman GF/B. Os filtros foram lavados cinco vezes com 4 mL de solução salina 0,9% gelada, secos a 60 °C por no mínimo 2h e colocados em frascos de vidros (*vials*) com 3 mL de um coquetel de cintilação líquida contendo tolueno.

A radioatividade foi medida em um contador de cintilação líquida Beckman LS-6500 com uma eficiência de 48%. A ligação específica foi calculada como a ligação total menos a ligação não específica feita na presença de dopamina 100 µM os resultados foram expressos como femtomoles por miligrama de proteína. A concentração de proteína foi determinada segundo o método de Lowry et al., (1951) utilizando-se albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

3.8- Dosagem de proteína

3.8.1- Método

A quantidade de proteína em homogenatos de cérebro foi determinada a 25 °C utilizando albumina sérica bovina como padrão, de acordo com o método previamente descrito (LOWRY et al., 1951), que emprega duas reações de formação de cor para analisar a concentração protéica fotometricamente. Inicialmente é feita uma reação biureto de baixa eficiência no qual os íons de cobre alcalino produzem uma cor azulada na presença de ligações peptídicas. Esta cor biureto é característica de todas as proteínas e fornece uma cor básica de fundo para a próxima etapa do ensaio. Depois o método emprega uma mistura complexa de sais inorgânicos, o reagente Folin-Ciocalteu que produz uma cor verde azulada intensa, na presença de tirosina ou triptofano livres ligados a proteínas. Como a quantidade desses dois aminoácidos é geralmente constante nas proteínas solúveis, com poucas exceções, a cor das reações (verde-azulada) é indicativa da presença de proteína e a intensidade da cor é proporcional à concentração. Esta coloração foi medida em 750 nm, através de espectrofotômetro Beckman DU, modelo D2804A, Super VGA (SOUSA, 1997).

3.9- Soluções reagentes utilizadas

↳ Coquetel de cintilação

0,5 g de p-bis-2-(5-feniloxazolil) benzeno, POPOP (Sigma, St. Louis, MO, USA) e 4,0 g de 2,5 difeniloxazol, PPO (Sigma, St. Louis, MO, USA), em 100 mL de tolueno (Beckman, Fullerton, CA, USA).

↳ Solução estoque de atropina

Sulfato de atropina (Sigma, St. Louis, MO, USA) em água bidestilada, para obter uma concentração de 0,5 mM.

↳ Solução estoque de ³H-N-metilescopolamina (³H-NMS)

Cloridrato de ³H-NMS (85 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA, USA) em tampão fosfato de sódio 150mM, pH 7,4 para obter uma solução de concentração 23,52 nM.

↳ Tampão fosfato de sódio

Na₂PO₄ (Reagen, Rio de Janeiro, Brasil) foi dissolvido em água bidestilada, para obter uma solução 150 mM e o pH foi ajustado para 7,4 com solução de HCL 1N (Merck, rio de Janeiro, Brasil).

↳ ³H-espiroperidol (114Ci/mmol, Amesham Life Science, USA)

5 µL de ³H-espiroperidol foram diluídos em tampão TRIS HCL pH 7,4, de forma que a concentração final seria de 43,28 nM.

↳ ³H-SCH 23390 (87 Ci/mmol, Amesham Life Science)

5 µL de ³H-SCH 23390I foram diluídos em tampão TRIS HCL pH 7,4, de forma que a concentração final seria de 11,5 nM.

↳ Tampão TRIS HCL

6g de TRIS HCL (TRIZMA BASE, Sigma, Brasil) foram diluídos em 1000 mL de água bidestilada, obtendo-se uma concentração final de 50 mM. O pH foi ajustado para 7,4 com solução de HCL 1N (Merck, Rio de Janeiro, Brasil).

↳ **Tampão TRIS HCL modificado**

NaCl 120 mM; KCL 1 mM; CaCL₂ 2 mM; MgCL₂ 1 mM; NaEDTA 1 mM e ascorbato sódico 1 mM foram dissolvidos em tampão TRIS HCL , 50 mM, pH 7,4.

↳ **Mianserina**

Comprimidos de mianserina (Tolvon 30 mg, Organon, SP, Brasil) foram macerados e diluídos em tampão TRIS HCL obtendo-se uma concentração final de 100 µM.

↳ **Dopamina (Cloridrato de 3-Hidroxitiramina)**

Dopamina (Sigma, St. Louis, MO, USA) foi dissolvida em tampão TRIS HCL 50 mM, pH 7,4 contendo ácido ascórbico a 0,02% de forma a se obter uma concentração final de 4000 µM.

↳ **Reagente A:**

Na₂CO₃ (Reagen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 2% em NaOH (Reagen, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) 0,1 N;

↳ **Reagente B:**

CuSO₄.5H₂O a 0,5% em NaKC₄H₄O₆.4H₂O (Grupo Química, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 1%;

↳ **Reagente C:**

Solução de cobre alcalino (24 mL do Reagente A com 1 mL do Reagente B, misturados no momento de usar);

↳ **Reagente de Follin – Ciocalteau - Fenol (Labordin, Piraquara, PR, Brasil):**

1:1 em água bidestilada;

↳ **Solução Albumina Sérica (Sigma, St. Louis, MO, USA)**

1 mg/mL em água bidestilada.

3.10- Testes comportamentais

3.10.1-Teste da catalepsia

Nesse teste as extremidades superiores do animal foram colocadas em uma base rígida com 2 cm de espessura e 9 cm de altura. Os animais foram habituados durante 1 minuto e posteriormente foi medido o tempo em que eles permaneceram imóveis (na mesma posição) sobre a barra. O tempo de permanência era de 150 segundos. O estado cataléptico foi considerado positivo quando o animal ultrapassava o tempo de 60 segundos nessa posição (AHLENIUS; HILLEGAART, 1986 ; JORGENSEN et al., 1994).

O teste de catalepsia foi realizado 1 h após o tratamento com as drogas estudadas no protocolo I. Já no protocolo II a resposta cataleptogênica foi observada 30 minutos após a administração dos agentes cataleptogênicos pilocarpina (80 mg/kg) e SCH 23390 (0,3 mg/kg) e 60 minutos após o tratamento com pimozida (20 mg/kg).

3.10.2- Teste do campo aberto

Os animais foram colocados em um campo aberto com área de 50 x 50 cm e iluminados por uma luz vermelha. Este campo foi confeccionado com cartolina de cor vermelha, a qual foi dividida em quatro quadrantes. Antes do teste os animais foram habituados por 1 minuto no campo aberto. O teste foi realizado em uma sala livre de sons. O observador colocava os animais (um por vez) nesse campo e registrava o número de travessias de um quadrante para outro durante 3 minutos (JORGENSEN et al.,1994).

O teste do campo aberto foi realizado 1 h após o tratamento com as drogas estudadas no protocolo I. Já no protocolo II a atividade locomotora foi observada 30 minutos após a administração dos agentes cataleptogênicos pilocarpina (80 mg/kg) e SCH 23390 (0,3 mg/kg) e 60 minutos após o tratamento com pimozida (20 mg/kg).

3.11- Análise estatística

Para comparações múltiplas foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como um teste *post hoc*. Os resultados foram considerados significantes em $p < 0,05$.

RESULTADOS

4- RESULTADOS

4.1- Protocolo I: Tratamento crônico

4.1.1- Efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica no comportamento (campo aberto e catalepsia) em rato.

A **Tabela 1** mostra os efeitos do antagonista dopaminérgico (pim) e do agonista colinérgico (cbc), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato. O carbacol, na dose mais alta (10 mg/kg, v.o.), diminuiu a resposta motora ($2,97 \pm 0,47$) quando comparada ao controle ($7,73 \pm 0,56$). Na resposta cataléptica o carbacol 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. provocou um aumento significativo no tempo de permanência na barra ($8,81 \pm 1,83$; $10,83 \pm 2,75$; $16,46 \pm 3,13$, respectivamente) se comparado ao controle ($1,78 \pm 0,16$).

A pimozida nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg v.o. diminuiu significativamente a resposta motora ($1,38 \pm 0,50$; $0,83 \pm 0,32$; $1,15 \pm 0,36$, respectivamente) quando comparado ao controle. Na resposta cataléptica a pimozida, nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg v.o. causou um aumento significativo do tempo de permanência na barra ($39,07 \pm 1,75$; $115,09 \pm 10,15$; $107,19 \pm 8,56$, respectivamente) se comparado ao controle (**Tabela 1**).

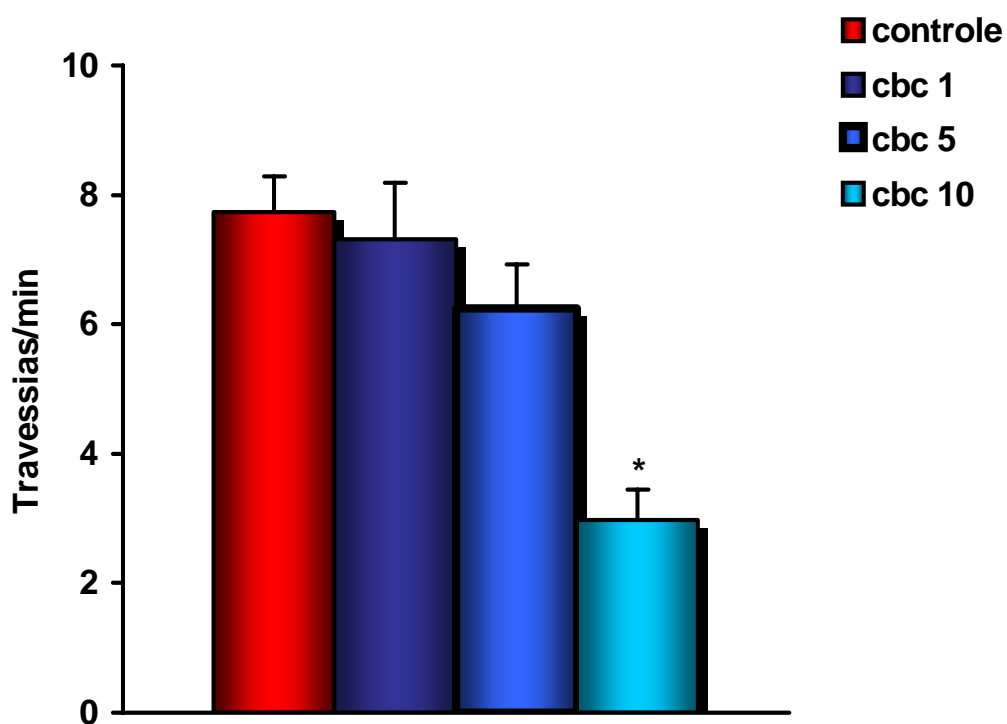
Na associação pim 1 + cbc 10 ocorreu uma diminuição da atividade locomotora ($1,63 \pm 0,38$) se comparado ao controle. Nas demais associações o carbacol não reverteu o efeito do pimozida. Na catalepsia a associação pim 1 + cbc 10, provocou uma diminuição do efeito cataléptico da pimozida ($8,23 \pm 1,66$) pelo carbacol quando comparado ao pimozida 1 mg/kg, v.o., sozinho. Nas demais associações o carbacol não reverteu o efeito do pimozida (**Tabela 1**) O efeito significativo do carbacol na atividade locomotora e na resposta cataléptica foi demonstrado nas **Figuras 13 e 14**, respectivamente.

TABELA 1- Efeitos do antagonista dopaminérgico (pim) e do agonista colinérgico (cbc), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato.

GRUPO	ATIVIDADE LOCOMOTORA (Travessia/3min)	CATALEPSIA (s)
Controle	7,73 ± 0,56 (64)	1,78 ± 0,16 (49)
cbc 1	7,32 ± 0,85 (25)	8,81 ± 1,83 (36)*
cbc 5	6,24 ± 0,68 (21)	10,83 ± 2,75 (24)*
cbc 10	2,97 ± 0,47 (35)*	16,46 ± 3,13 (28)*
pim 1	1,38 ± 0,50 (16)*	39,07 ± 1,75 (14)*
pim 5	0,83 ± 0,32 (18)*	115,09 ± 10,15 (11)*
pim 10	1,15 ± 0,36 (26)*	107,19 ± 8,56 (21)*
pim 1 + cbc 10	1,63 ± 0,38 (19)*	8,23 ± 1,66 (13) ^{p₁}
pim 5 + cbc 10	1,83 ± 0,38 (24)*	93,40 ± 6,61 (15) ^{*,c₅,c₁₀}
pim 10 + cbc 1	0,17 ± 0,14 (23) ^{*,c₁}	116,00 ± 11,36 (12) ^{*,c₁}
pim 10 + cbc 5	2,00 ± 1,16 (06)*	128,33 ± 11,74 (06) ^{*,c₅}
pim 10 + cbc 10	0,00 ± 0,00 (06)*	129,83 ± 9,77 (06) ^{*,c₁₀}

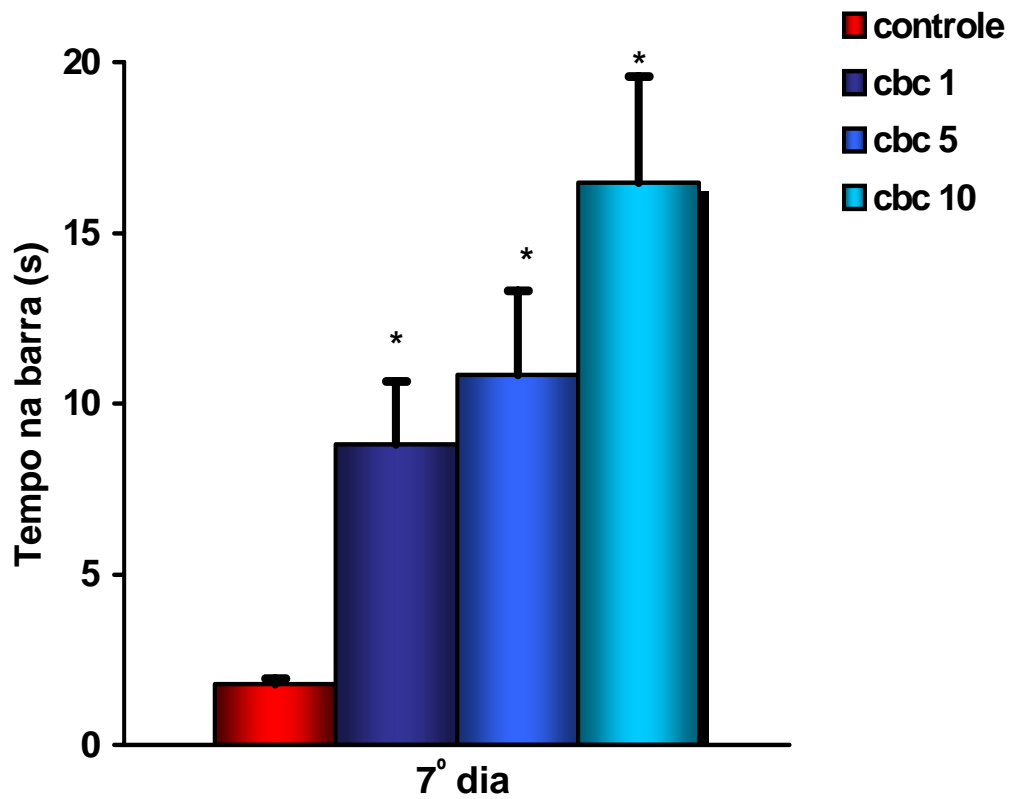
Ratos Wistar (180-200 g) foram tratados diariamente durante 7 dias. Os animais foram tratados 1 h antes de serem submetidos aos testes comportamentais. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, c₁, c₅, c₁₀, p₁= p< 0,05 quando comparado ao controle, carbacol 1 , 5 e 10 mg/kg e pimozida 1 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 13- Efeitos do carbacol (cbc) na atividade locomotora de rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com carbacol 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. diariamente durante 7 dias. A atividade locomotora foi observada 1 hora após a administração da droga. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 14- Efeitos do carbacol (cbc) na catalepsia de rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com carbacol 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. durante 7 dias. A resposta cataléptica foi observada 1 hora após a administração da droga. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

Os efeitos do antagonista dopaminérgico (pim) e do antagonista colinérgico (atr), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato foi demonstrado na **Tabela 2**. A atropina, sozinha, nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. não alterou a atividade locomotora dos ratos tratados quando comparado ao controle. Quando associada com a pimozida (pim 1 + atr 1; pim 10 + atr 1) observou-se uma diminuição na atividade motora em ambas as associações ($1,63 \pm 0,38$; $2,31 \pm 1,08$, respectivamente) quando comparado ao controle e atropina 1 mg/kg ($7,73 \pm 0,56$; $6,46 \pm 0,80$). Na resposta cataléptica a atropina, sozinha, também não causou nenhum efeito. As associações pim 1 + atr 1 e pim 10 + atr 1 causaram um aumento significativo no tempo de permanência na barra ($50,56 \pm 7,55$; $91,27 \pm 10,90$, respectivamente) quando comparado ao controle e atropina 1 mg/kg sozinha. A associação pim 10 + atr 1 causou uma diminuição da resposta cataléptica se comparado ao efeito do pimozida 10 mg/kg sozinho ($91,27 \pm 10,90$).

TABELA 2- Efeitos do antagonista dopaminérgico (pim) e do antagonista colinérgico (atr), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato.

GRUPO	ATIVIDADE LOCOMOTORA (Travessia/3min)	CATALEPSIA (s)
Controle	7,73 ± 0,56 (64)	1,78 ± 0,16 (49)
atr 1	6,46 ± 0,80 (35)	3,29 ± 0,63 (35)
atr 5	7,32 ± 0,88 (28)	2,22 ± 0,35 (27)
atr 10	6,07 ± 1,19 (15)	1,27 ± 0,27 (11)
pim 1	1,38 ± 0,50 (16)*	39,07 ± 1,75 (14)*
pim 5	0,83 ± 0,32 (18)*	115,09 ± 10,15 (11)*
pim 10	1,15 ± 0,36 (26)*	107,19 ± 8,56 (21)*
pim 1 + atr 1	1,63 ± 0,38 (19)*, a ₁	50,56 ± 7,55 (09)*, a ₁
pim 10 + atr 1	2,31 ± 1,08 (13)*, a ₁	91,27 ± 10,90 (11)*, a ₁ , p ₁₀

Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, a₁, p₁₀, = p < 0,05 quando comparado ao controle, atropina 1 mg/kg e pimozida 10 mg/kg, respectivamente.

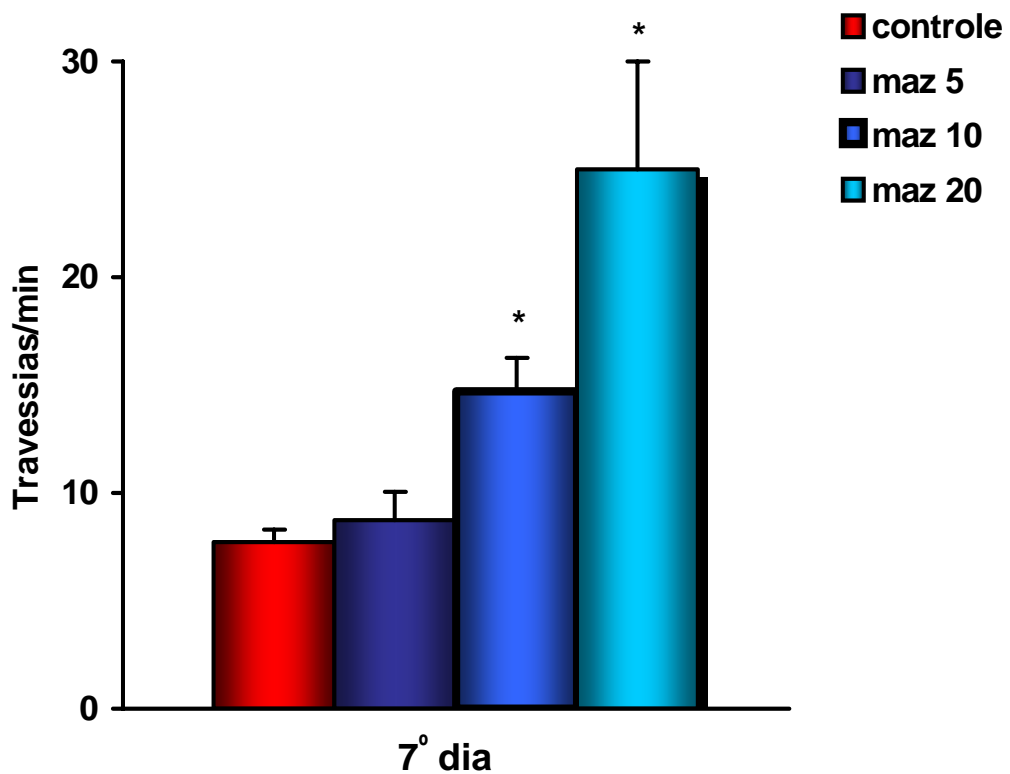
Na **Tabela 3** observamos os efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato. Nas maiores doses, o mazindol (10 e 20 mg/kg, v.o.) aumentou significativamente o número de travessias no teste do campo aberto ($14,72 \pm 1,56$; $25,00 \pm 5,63$) quando comparado ao controle ($7,73 \pm 0,56$). Quando associado a atropina observou-se que atr 1 + maz 5 causou uma diminuição da atividade locomotora ($5,33 \pm 1,04$) quando comparado ao controle e atr 5 + maz 10 causou uma diminuição desta resposta ($8,59 \pm 0,94$) quando comparado ao efeito do mazindol 10 mg/kg. Somente o mazindol 10 mg/kg, v.o causou um aumento no tempo de permanência na barra ($7,20 \pm 1,83$) se comparado ao controle ($1,78 \pm 0,16$). As demais doses (5 e 20 mg/kg) não causaram efeito significativo na resposta cataléptica. A associação atr 5 + maz 10 provocou uma diminuição significativa da resposta cataléptica ($1,46 \pm 0,43$) se comparado ao efeito do mazindol 10 mg/kg sozinho. O efeito significativo do mazindol na atividade locomotora e na resposta cataléptica foi demonstrado nas **Figuras 15 e 16**, respectivamente.

TABELA 3- Efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre a atividade locomotora e catalepsia de rato.

GRUPO	ATIVIDADE LOCOMOTORA (Travessia/3min)	CATALEPSIA (s)
Controle	7,73 ± 0,56 (64)	1,78 ± 0,16 (49)
atr 1	6,46 ± 0,80 (35)	3,29 ± 0,63 (35)
atr 5	7,32 ± 0,88 (28)	2,22 ± 0,35 (27)
atr 10	6,07 ± 1,19 (15)	1,27 ± 0,27 (11)
maz 5	8,72 ± 1,35 (18)	3,35 ± 0,87 (20)
maz 10	14,72 ± 1,56 (18)*	7,20 ± 1,83 (20)*
maz 20	25,00 ± 5,63 (06)*	0,40 ± 0,40 (06)
atr 1 + maz 5	5,33 ± 1,04 (09)*	1,22 ± 0,40 (09)
atr 5 + maz 10	8,59 ± 0,94 (17) ^{m₁₀}	1,46 ± 0,43 (11) ^{m₁₀}

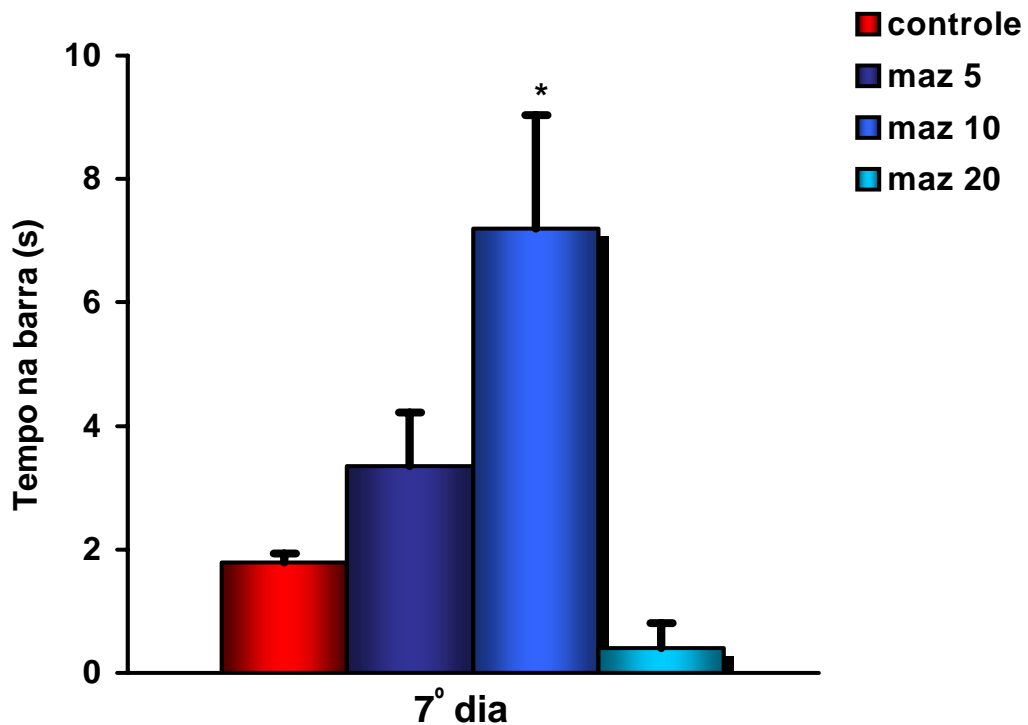
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*.*, m₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, mazindol 10 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 15- Efeitos do mazindol (maz) na atividade locomotora de rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com mazindol 5, 10 e 20 mg/kg, v.o. diariamente durante 7 dias. A atividade locomotora foi observada 1 hora após a administração da droga. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 16- Efeitos do mazindol (maz) na catalepsia de rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com mazindol 5, 10 e 20 mg/kg, v.o. diariamente durante 7 dias. A resposta cataléptica foi observada 1 hora após a administração da droga. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

4.1.2- Efeitos da interação dopamina-acetilcolina sobre os receptores muscarínicos e dopaminérgicos em corpo estriado de rato.

A **Tabela 4** mostra que a atropina nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. aumentou 57%, 59% e 38% ($324,39 \pm 14,39$; $329,08 \pm 14,75$; $285,89 \pm 19,67$ fmol/mg de proteína, respectivamente) a densidade dos receptores D1-símile quando comparado ao controle ($205,95 \pm 19,70$ fmol/mg de proteína). O mazindol, sozinho, nas doses de 5 e 10 mg/kg, v.o. também causou um aumento de mais de 50% na densidade dos receptores D1-símile ($333,52 \pm 19,70$; $314,59 \pm 21,29$ fmol/mg de proteína, respectivamente). Já com a maior dose de mazindol (20 mg/kg) observou-se uma diminuição de 23% ($156,83 \pm 12,36$ fmol/mg de proteína) nos receptores quando comparado ao controle. Os efeitos da atropina e mazindol, sozinhos e em diferentes doses, sobre a densidade dos receptores D1-símile foi demonstrado na **Figura 17**.

Na associação destas duas drogas observou-se que a atropina, na maior dose (10 mg/kg), e o mazindol, na maior dose (20 mg/kg), conseguiu reverter parcialmente o efeito da atropina sozinha pois não produziu nenhuma alteração na densidade dos receptores D1-símile ($232,22 \pm 25,04$ fmol/mg de proteína) quando comparado ao controle. Nas outras associações (atr 1 + maz 5 e atr 5 + maz 10) ocorreu um aumento na densidade dos receptores D1-símile ($356,40 \pm 11,29$; $318,30 \pm 25,04$ fmol/mg de proteína, respectivamente) com relação ao controle (**Tabela 4 e Figura 19**).

Na **Tabela 5** observamos que o carbacol, nas doses 1 e 5 mg/kg, e a pimozida (10 e 20 mg/kg) provocaram um aumento de mais de 50% na densidade de receptores D1-símile ($325,24 \pm 20,50$; $326,18 \pm 21,05$ fmol/mg de proteína para carbacol 1 e 5 mg/kg, respectivamente, e $320,77 \pm 12,50$; $363,19 \pm 17,42$ fmol/mg de proteína para pimozida 10 e 20 mg/kg, respectivamente). O carbacol na dose de 10 mg/kg causou uma diminuição do número de receptores em torno de 33% ($137,43 \pm 11,44$ fmol/mg de proteína) quando comparado ao controle. Os efeitos do carbacol e pimozida, sozinhos e em diferentes doses, sobre a densidade dos receptores D1-símile foram demonstrados na **Figura 18**.

A associação da pimozida 10 mg/kg, v.o. e do carbacol nas doses 1 e 5 mg/kg, v.o., provocou um aumento no número de receptores D1-símile ($249,21 \pm 11,25$; $282,46 \pm 11,85$; fmol/mg de proteína para, pim 10 + cbc 1 e pim 10 + cbc 5, respectivamente) quando comparado ao controle. Já a associação pim 10 + cbc 10 causou uma redução ($106,61 \pm 8,26$ fmol/mg de proteína) do número desses receptores se comparado ao controle. Uma redução dos receptores D1-símile também foi observado com as associações pim 10 + cbc 1 e pim 10 + cbc 10, se comparado ao carbacol 1 mg/kg, v.o. (pim 10 + cbc 1) e pimozide 10 mg/kg (pim 10 + cbc 1 e pim 10 + cbc 10) sozinhos (**Tabela 5** e **Figura 20**).

TABELA 4- Efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.

GRUPO	3H-SCH 23390 (D1-símile)
Controle	205,95 ± 19,70 (22)
atr 1	324,39 ± 14,39 (08)*
atr 5	329,08 ± 14,75 (08)*
atr 10	285,89 ± 19,67 (10)*
maz 5	333,52 ± 19,70 (11)*
maz 10	314,59 ± 21,29 (12)*
maz 20	156,83 ± 12,36 (08)
atr 1 + maz 5	356,40 ± 11,29 (08)*
atr 5 + maz 10	318,30 ± 25,04 (06)*
atr 10 + maz 20	232,22 ± 12,42 (08)

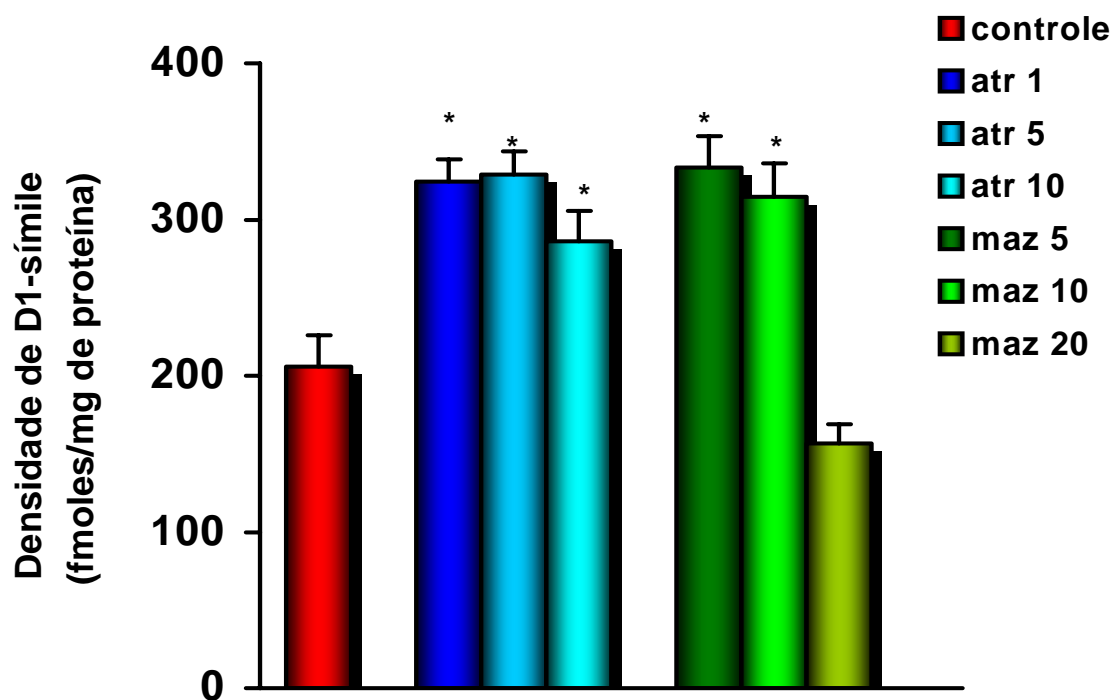
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = p < 0,05 quando comparado ao controle.

TABELA 5- Efeitos do agonista colinérgico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.

GRUPO	3H-SCH 23390 (D1-símile)
Controle	205,95 ± 19,70 (22)
cbc 1	325,24 ± 20,50 (09)*
cbc 5	326,18 ± 21,05 (09)*
cbc 10	137,43 ± 11,44 (16)*
pim 10	320,77 ± 12,50 (08)*
pim 20	363,19 ± 17,42 (10)*
pim 10 + cbc 1	249,21 ± 11,25 (12)*, ^{c₁} , ^{p₁₀}
pim 10 + cbc 5	282,46 ± 11,85 (08)*
pim 10 + cbc 10	106,61 ± 8,26 (10)*, ^{p₁₀}

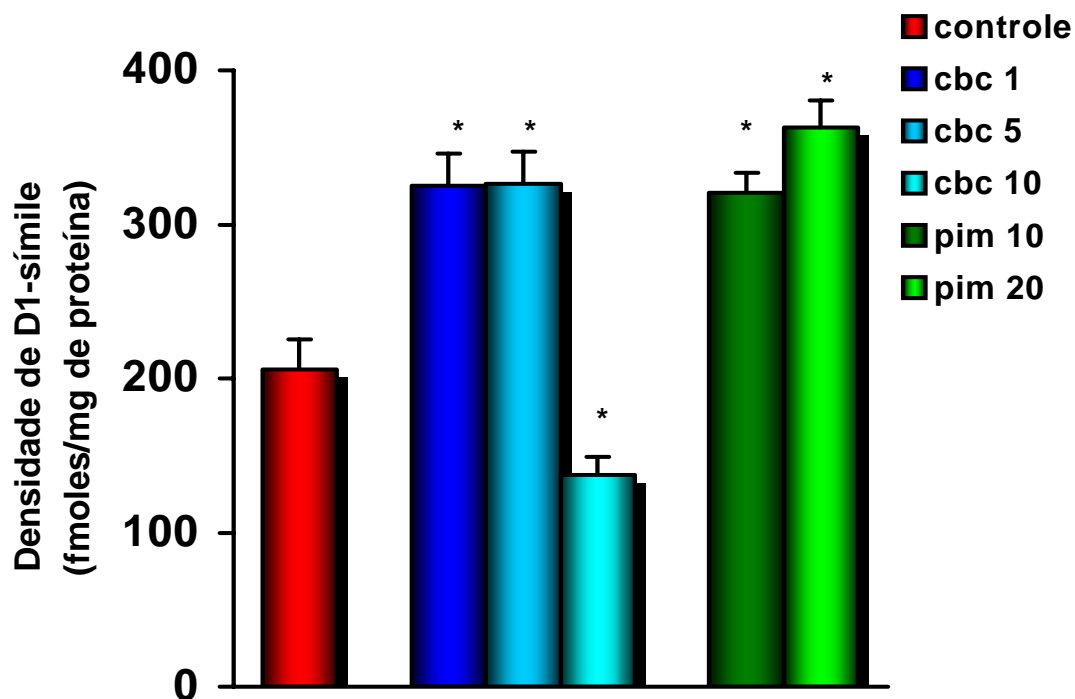
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, ^{c₁}, ^{p₁₀} = p < 0,05 quando comparado ao controle, carbacol 1 mg/kg e pimozida 10 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 17- Efeitos da atropina (atr) e mazindol (maz), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.



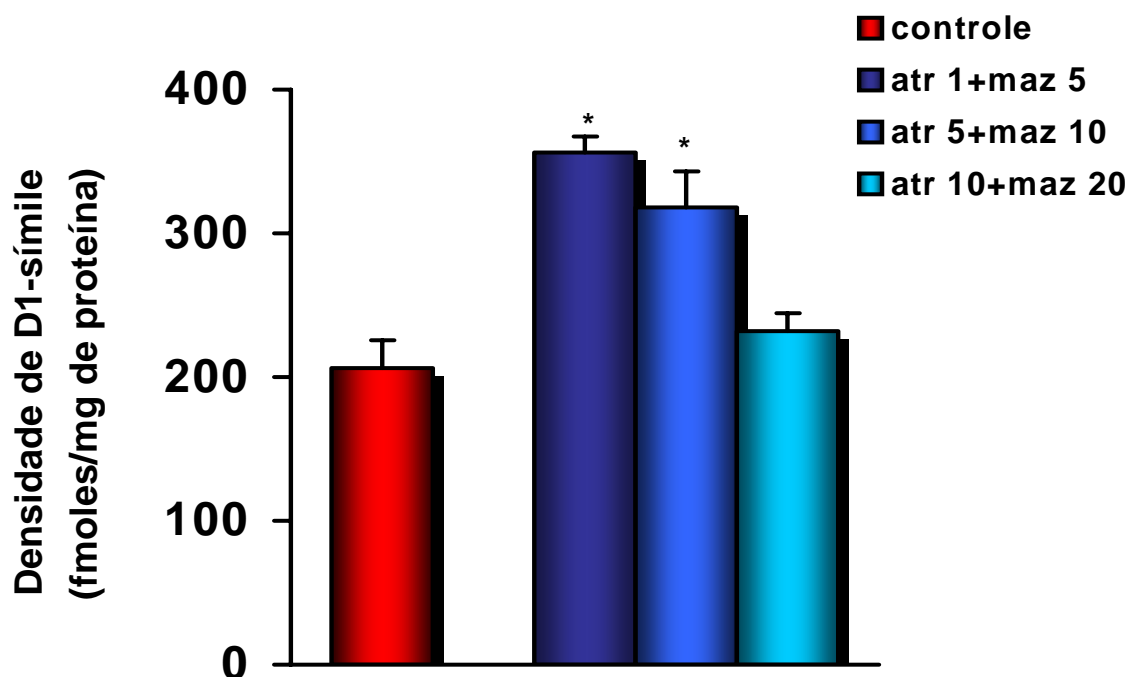
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 18- Efeitos do carbacol (cbc) e pimozida (pim), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.



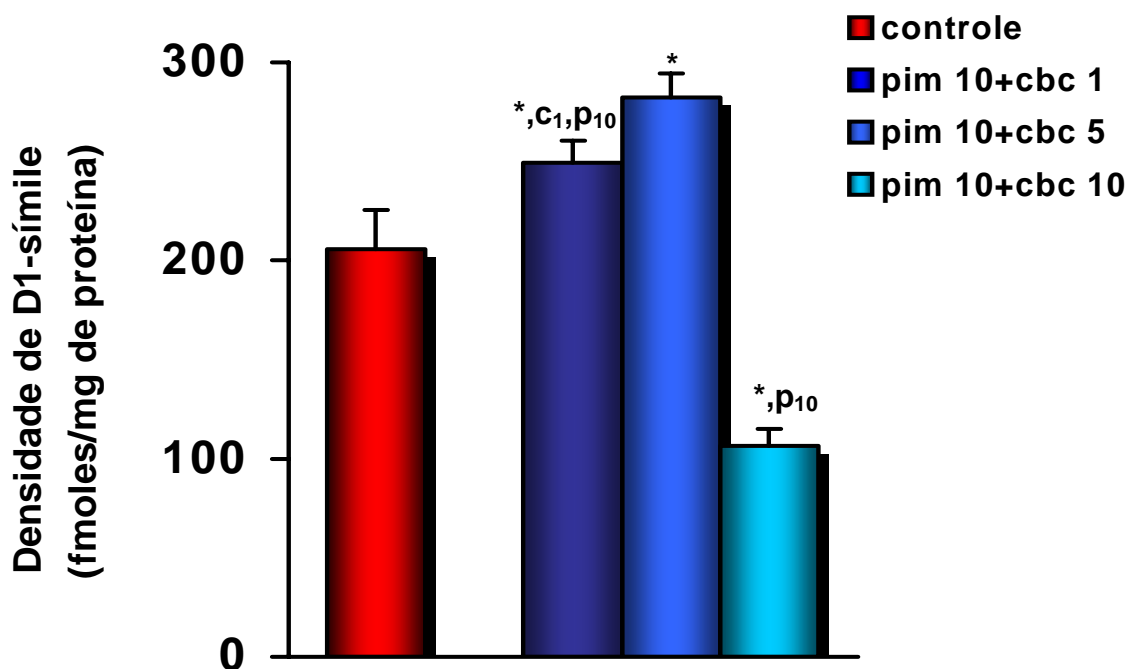
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 19- Efeitos da associação do antagonista muscarínico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz) sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.



Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 20- Efeitos da associação do agonista muscarínico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim) sobre os receptores dopaminérgicos (D1-símile) em corpo estriado de ratos.



Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como um teste *post hoc*. *,c1,p10 = $p < 0,05$ quando comparado ao controle, carbacol 1 mg/kg e pimozida 10 mg/kg, respectivamente.

Sobre a densidade dos receptores D2-símile (**Tabela 6**) foi verificado que a atropina (5 e 10 mg/kg v.o.) e o mazindol (5 e 10 mg/kg, v.o.) produziram uma diminuição significativa desses receptores ($136,00 \pm 7,26$; $135,62 \pm 9,02$ fmol/mg de proteína para atropina 5 e 10 mg/kg e $119,86 \pm 3,77$; $126,00 \pm 4,67$ fmol/mg de proteína para mazindol 5 e 10 mg/kg, respectivamente) quando comparado ao controle ($174,80 \pm 13,34$ fmol/mg de proteína). Os efeitos da atropina e mazindol, sozinhos e em diferentes doses, sobre a densidade dos receptores D2-símile foi demonstrado na **Figura 21**.

A associação dessas duas drogas (atr 1 + maz 5; atr 5+ maz 10 e atr 10 + maz 20) também causou uma diminuição de 25, 29 e 65%, respectivamente ($123,98 \pm 4,21$; $130,31 \pm 5,77$; $60,71 \pm 5,44$ fmol/mg de proteína), do número de receptores D2 quando comparado ao controle. A associação atr 10 + maz 20 também causou uma diminuição do número de receptores D2- símile quando comparado a atropina 10 mg/kg ($135,62 \pm 9,02$ fmol/mg de proteína) e ao mazindol 20 mg/kg ($164,40 \pm 16,56$ fmol/mg de proteína) sozinhos (**Tabela 6 e Figura 23**).

Na **Tabela 7** observamos que a pimozida 10 mg/kg provocou um aumento de 19% ($208,67 \pm 12,46$ fmol/mg de proteína) na densidade dos receptores D2-símile, quando comparado ao controle, enquanto que na dose de 20 mg/kg observou-se um efeito contrário com uma diminuição de 19% ($141,19 \pm 9,11$ fmol/mg de proteína). O carbacol, nas doses usadas, não apresentou nenhuma mudança na densidade dos receptores D2-símile. Já a associação pim 10 + cbc 1; pim 10 + cbc 5) causou uma diminuição no número de receptores ($141,09 \pm 6,18$; $125,35 \pm 5,81$ fmol/mg de proteína) quando comparado ao controle, sendo que esta diminuição é de 28% com a associação pim 10 + cbc 5. Já as associações pim 10 + cbc 1 e pim 10 + cbc 10 ($141,09 \pm 6,18$; $126,46 \pm 7,26$ fmol/mg de proteína, respectivamente) também diminuiram o número de receptores D2-símile quando comparado ao pimozida 10 mg/kg, sozinho (**Figura 24**).

Os efeitos do carbacol e pimozida, sozinhos e em diferentes doses, sobre a densidade dos receptores D2-símile foram demonstrados na **Figura 22**.

TABELA 6- Efeitos do antagonista colinérgico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.

GRUPO	3H-ESPIROPERIDOL (D2-símile)
Controle	174,80 ± 13,34 (24)
atr 1	147,51 ± 8,01 (13)
atr 5	136,00 ± 7,26 (10)*
atr 10	135,62 ± 9,02 (11)*
maz 5	119,86 ± 3,77 (11)*
maz 10	126,00 ± 4,67 (13)*
maz 20	164,40 ± 16,56 (11)
atr 1 + maz 5	123,98 ± 4,21 (08)*
atr 5 + maz 10	130,31 ± 5,77 (09)*
atr 10 + maz 20	60,71 ± 5,44 (13)*, ^a ₁₀ , ^m ₂₀

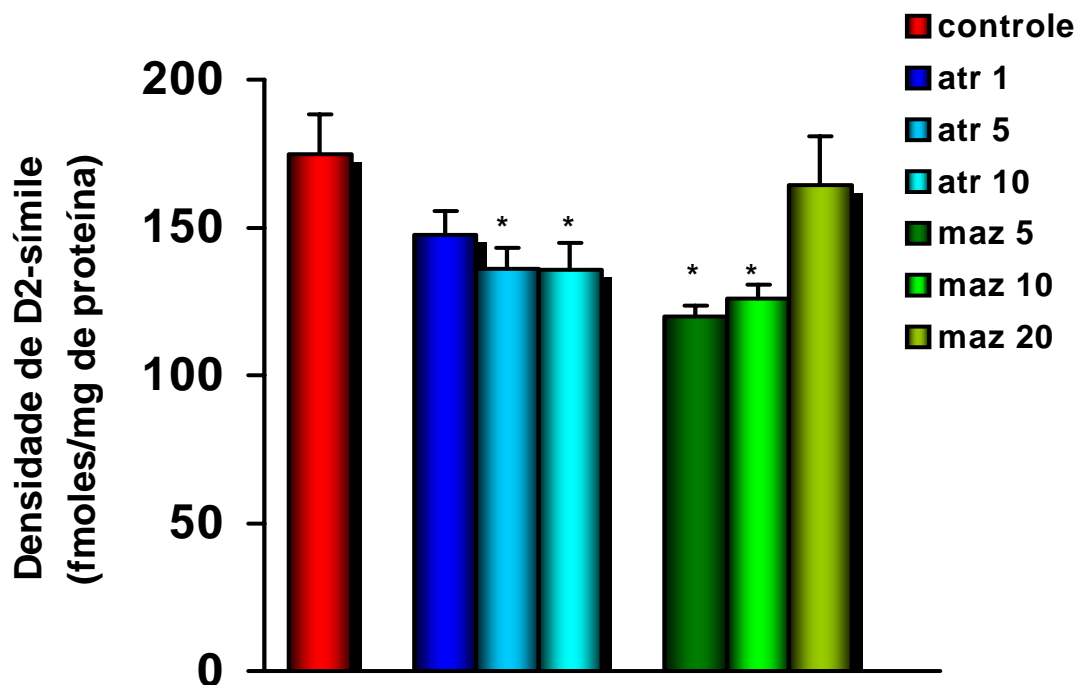
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, ^a₁₀, ^m₂₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, atropina 10 mg/kg e mazindol 20 mg/kg, respectivamente.

TABELA 7- Efeitos do agonista colinérgico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim), sozinhos ou associados, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.

GRUPO	3H-ESPIROPERIDOL (D2-símile)
Controle	174,80 ± 13,34 (24)
cbc 1	144,92 ± 7,77 (18)
cbc 5	144,39 ± 7,81 (12)
cbc 10	154,75 ± 7,89 (12)
pim 10	208,67 ± 12,46 (16)*
pim 20	141,19 ± 9,11 (11) ^{p₁₀}
pim 10 + cbc 1	141,09 ± 6,18 (13)*, ^{p₁₀}
pim 10 + cbc 5	125,35 ± 5,81 (09)*
pim 10 + cbc 10	126,46 ± 7,26 (07) ^{p₁₀}

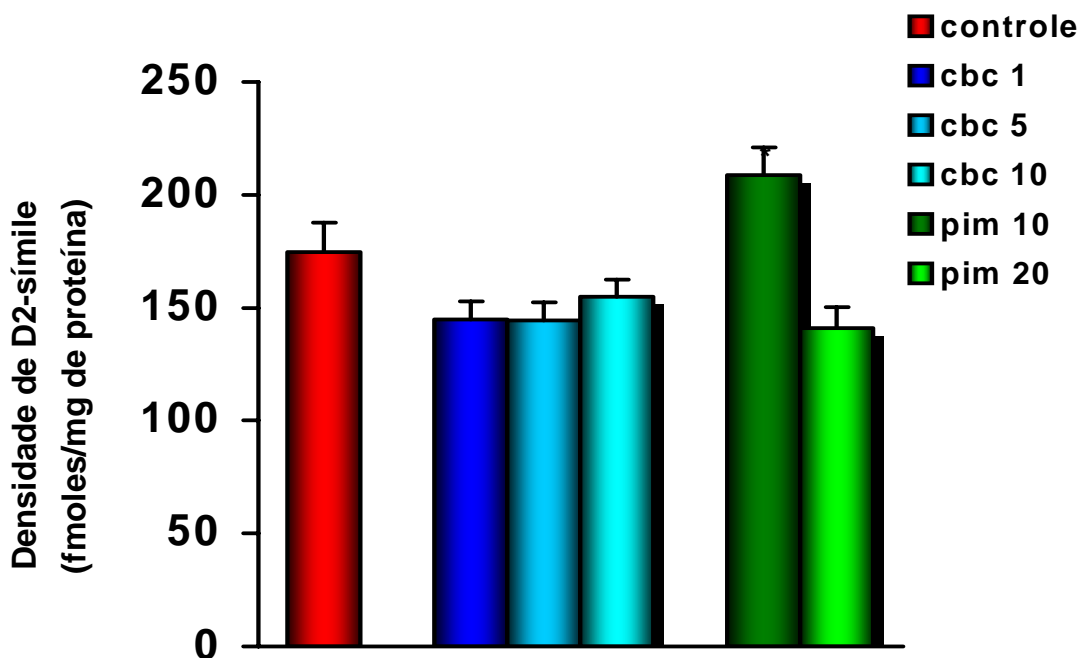
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, p₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle e pimozida 10 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 21- Efeitos da atropina (atr) e mazindol (maz), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.



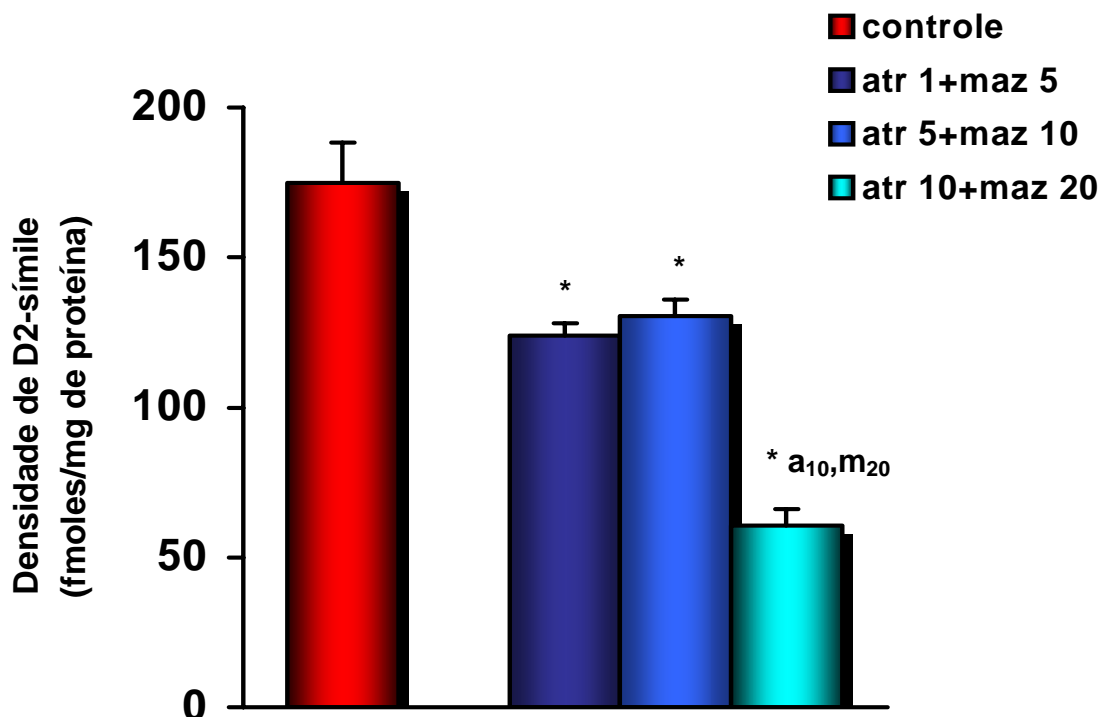
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 22- Efeitos do carbacol (cbc) e pimozida (pim), em diferentes doses, sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.



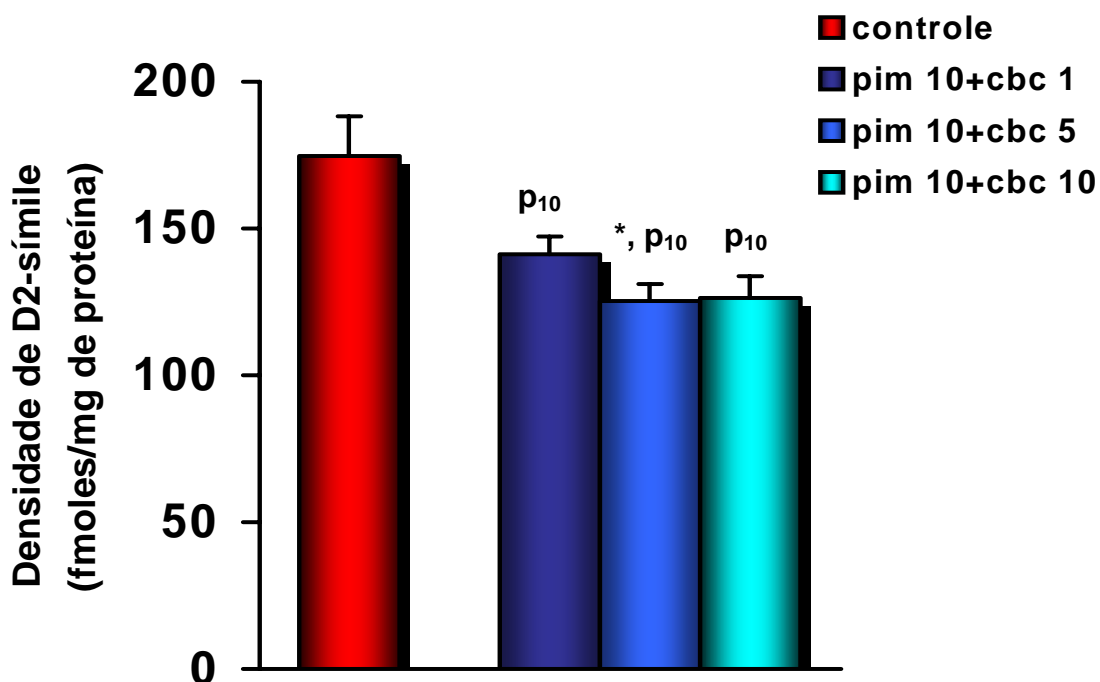
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 23- Efeitos da associação do antagonista muscarínico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz) sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.



Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, a_{10} , m_{20} = $p < 0,05$ quando comparado ao controle, atropina 10 mg/kg e mazindol 20 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 24- Efeitos da associação do agonista muscarínico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim) sobre os receptores dopaminérgicos (D2-símile) em corpo estriado de ratos.



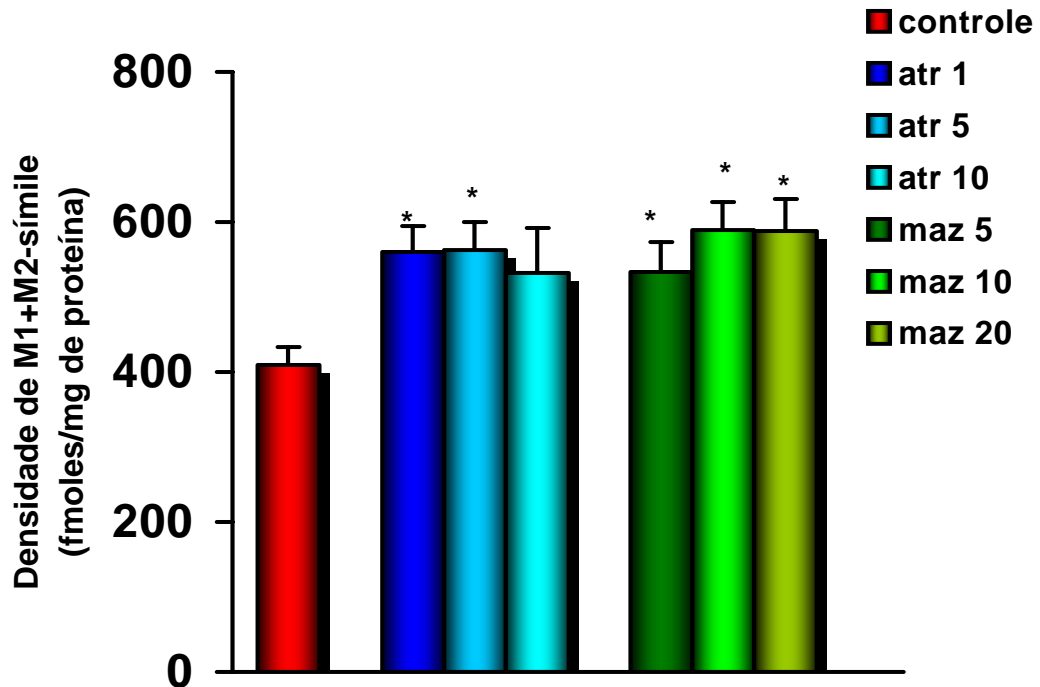
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *,p₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle e pimozida 10 mg/kg, respectivamente.

A **Figura 25** mostra que houve um aumento dos receptores M1+M2-símile nos animais tratados com mazindol 5, 10 e 20 mg/kg, v.o. ($533,33 \pm 39,70$; $589,5 \pm 37,50$; $587,70 \pm 42,50$ fmol/mg de proteína) quando comparado ao controle ($410,00 \pm 23,05$ fmol/mg de proteína). Da mesma maneira a atropina nas doses 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. promoveu um aumento de mais de 30% dos receptores muscarínicos ($560,50 \pm 34,40$; $563,10 \pm 37,50$; $531,9 \pm 60,22$ fmol/mg de proteína, respectivamente). Esse aumento persistiu com a associação das duas drogas (atr 1 + maz 5; atr 5 + maz 10; atr 10 + maz 20), elevando o número de receptores M1+M2-símile ($556,40 \pm 31,30$; $531,5 \pm 32,07$; $552,22 \pm 32,42$ fmol/mg de proteína, respectivamente) quando comparado ao controle (**Figura 27**)

O tratamento com carbacol nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. não alterou significativamente a densidade de receptores M1+M2-símile ($435,80 \pm 35,20$; $440,40 \pm 36,92$; $420,10 \pm 46,24$ fmol/mg de proteína, respectivamente) quando comparado ao controle (**Figura 26**). Similarmente, quando administrado em associação com a pimizida 10 mg/kg, v.o. (pim 10 + cbc 1; pim 10 + cbc 5 e pim 10 + cbc 10), nenhuma alteração significativa foi observada ($449,21 \pm 31,85$; $476,30 \pm 31,26$; $406,61 \pm 38,25$ fmol/mg de proteína, respectivamente) (**Figura 28**).

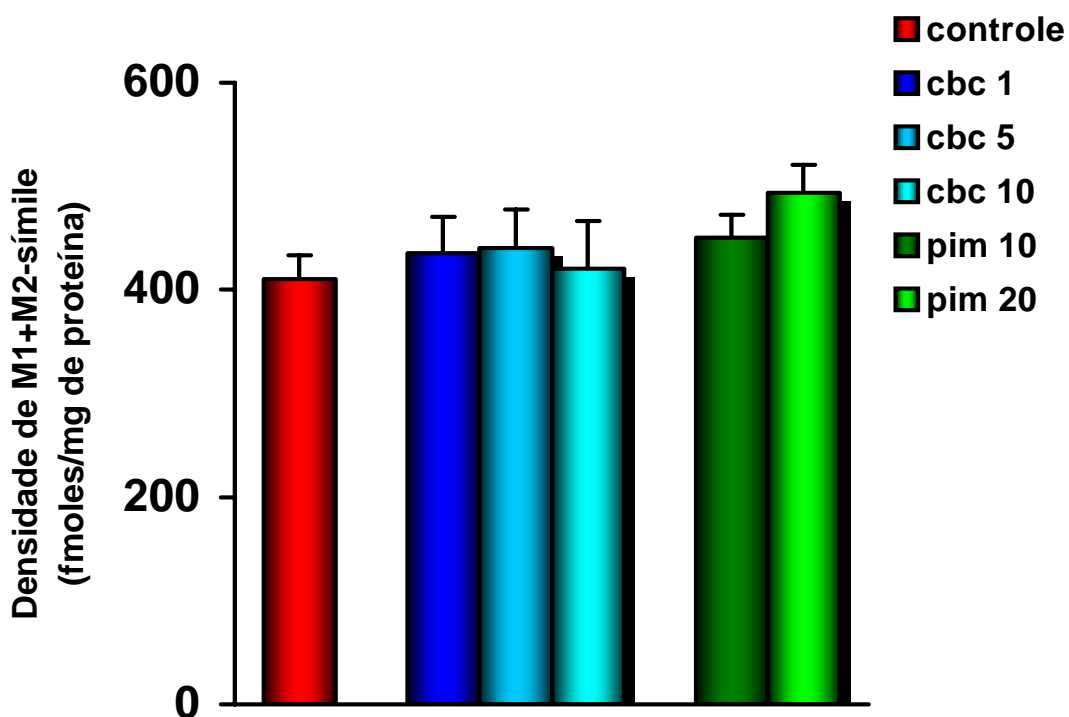
A pimizida na dose de 10 mg/kg não mostrou alteração no número de receptores M1+M2-símile enquanto na dose de 20 mg/kg, mostrou uma tendência em aumentar (20%) esses receptores muscarínicos ($493,50 \pm 26,85$ fmol/mg de proteína) (**Figura 26**).

FIGURA 25- Efeitos da atropina (atr) e mazindol (maz), em diferentes doses, sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.



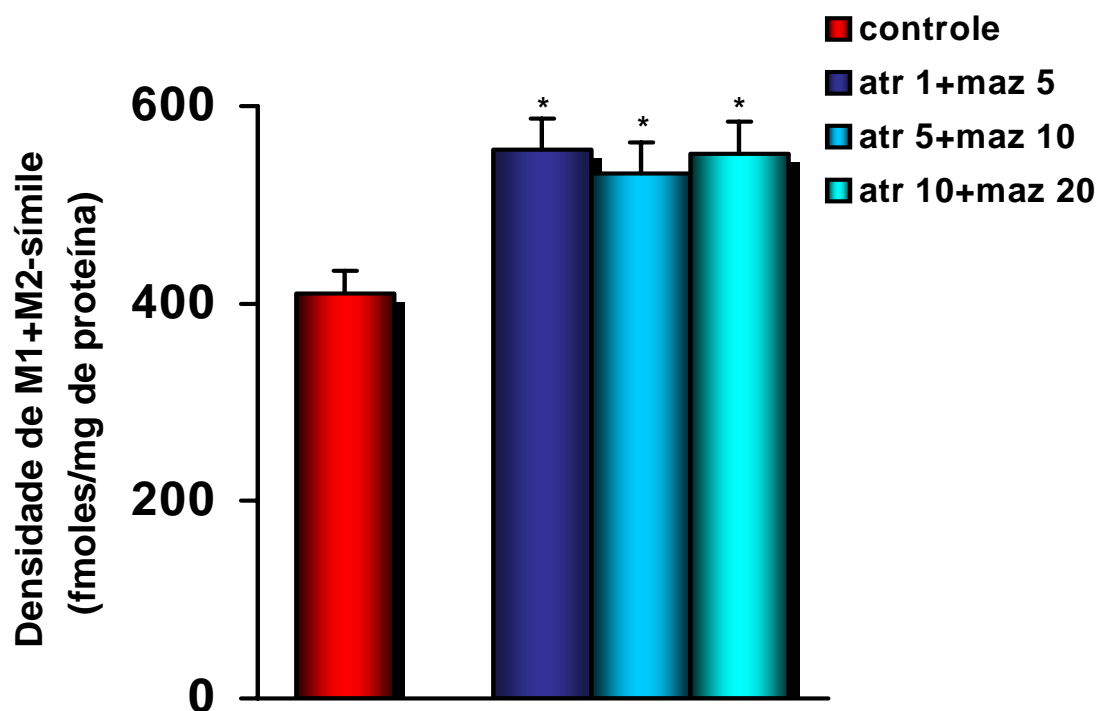
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 26- Efeitos do carbacol (cbc) e pimozida (pim), em diferentes doses, sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.



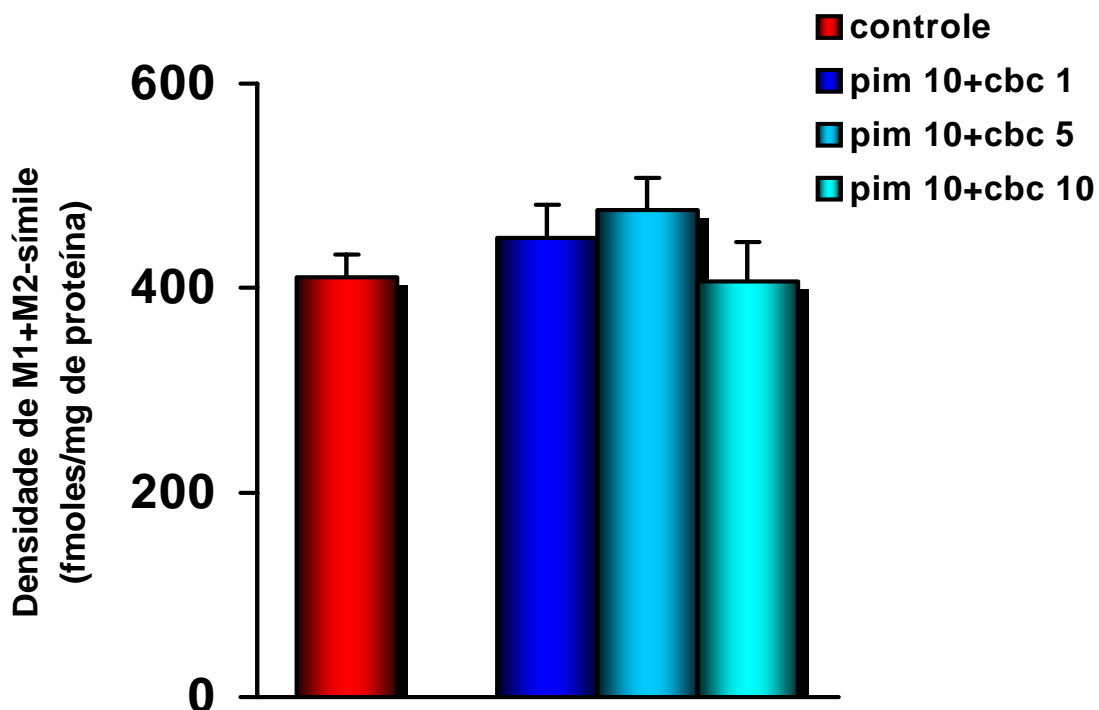
Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*.

FIGURA 27- Efeitos da associação do antagonista muscarínico (atr) e do agonista dopaminérgico (maz) sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.



Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. * = $p < 0,05$ quando comparado ao controle.

FIGURA 28- Efeitos da associação do agonista muscarínico (cbc) e do antagonista dopaminérgico (pim) sobre os receptores colinérgicos (M1+M2-símile) em corpo estriado de ratos.



Os experimentos foram executados como descrito na Tabela 1. Os valores em fmol/mg de proteína estão representados como média \pm EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*.

4.2- PROTOCOLO II: TRATAMENTO AGUDO

4.2.1- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na resposta cataléptica em rato.

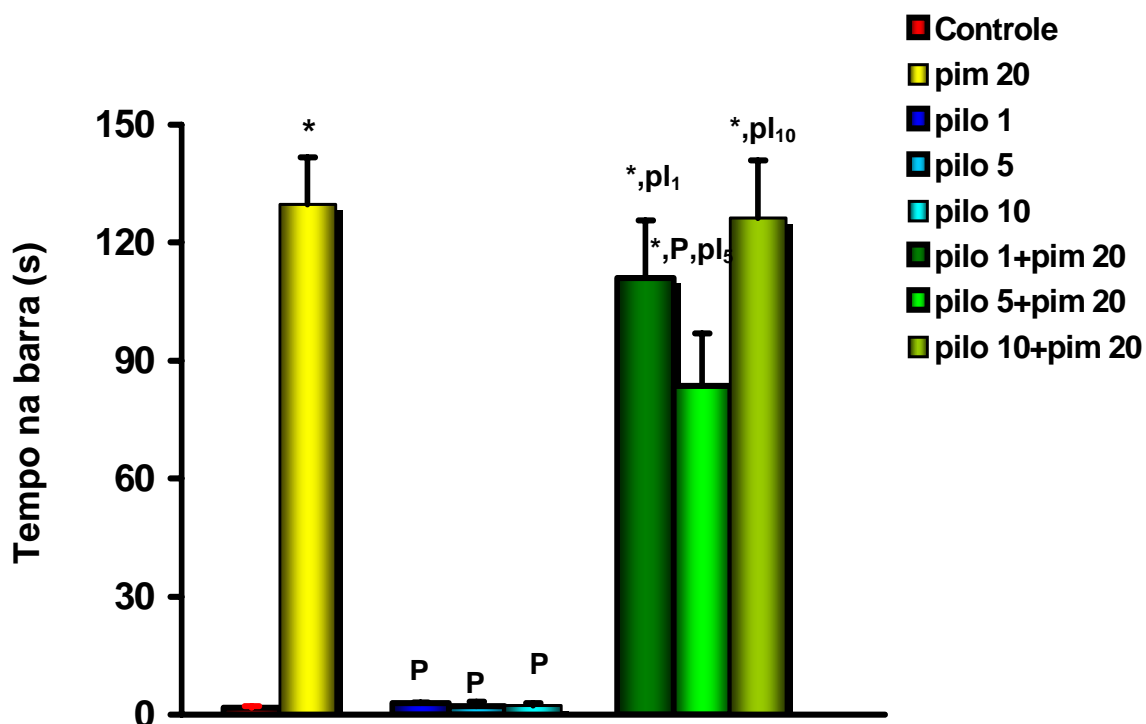
A **Tabela 8** mostra os efeitos de agonistas colinérgicos na resposta cataléptica induzida por antagonistas dopaminérgicos. O carbacol 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($0,93 \pm 0,23$; $2,75 \pm 0,76$; $7,39 \pm 1,91$, respectivamente) e a pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p. ($2,86 \pm 0,74$; $2,13 \pm 0,23$; $2,33 \pm 0,55$, respectivamente) não induziram catalepsia quando comparados ao controle ($1,83 \pm 0,26$). Essas mesmas drogas também não alteraram a resposta cataléptica induzida pelo agente cataleptogênico pimozida 20 mg/kg, v.o. ($129,75 \pm 11,99$), exceto a pilocarpina 5 mg/kg/ i.p. que reverteu parcialmente esse efeito ($83,50 \pm 13,44$). A resposta cataléptica induzida pelo agente cataleptogênico SCH 23390 0,3 mg/kg, i.p. ($117,00 \pm 13,44$) foi inibida de maneira significativa pelo carbacol 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($26,86 \pm 5,22$; $19,17 \pm 3,81$; $23,50 \pm 2,57$, respectivamente) e quase que completamente pela pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p. ($4,50 \pm 1,00$; $4,57 \pm 1,13$; $2,13 \pm 0,61$, respectivamente). O efeito significativo da pilocarpina na resposta cataléptica induzida pela pimozida ou SCH 23390 foi demonstrado na **Figura 29 e 30**, respectivamente.

TABELA 8- Efeitos de agonistas colinérgicos na catalepsia induzida por pimozida ou SCH 23390 em rato.

GRUPO	RESP OSTA CATALÉPTICA (s)		
	SALINA (10 ml/kg,v.o.)	PIMOZIDA (20mg/kg,v.o.)	SCH 23390 (0,3mg/kg,i.p.)
Controle	1,83 ± 0,26 (41)	129,75 ± 11,99 (06)*	117,00 ± 13,44 (07)*
Carbacol 1	0,93 ± 0,23 (15) ^{P,S}	114,36 ± 8,35 (14) ^{*, c₁}	26,86 ± 5,22 (07) ^{*,S, c₁}
Carbacol 5	2,75 ± 0,76 (16) ^{P,S}	115,79 ± 9,87 (14) ^{*, c₅}	19,17 ± 3,81 (06) ^{*,S, c₅}
Carbacol 10	7,39 ± 1,91 (31) ^{P,S}	109,25 ± 9,79 (12) ^{*, c₁₀}	23,50 ± 2,57 (06) ^{*,S, c₁₀}
Pilocarpina 1	2,86 ± 0,74 (07) ^{P,S}	111,00 ± 14,72 (06) ^{*, pl₁}	4,50 ± 1,00 (08) ^S
Pilocarpina 5	2,13 ± 0,23 (08) ^{P,S}	83,50 ± 13,44 (06) ^{*,P, pl₅}	4,57 ± 1,13 (07) ^S
Pilocarpina 10	2,33 ± 0,55 (09) ^{P,S}	126,33 ± 14,66 (06) ^{*, pl₁₀}	2,13 ± 0,61 (08) ^S

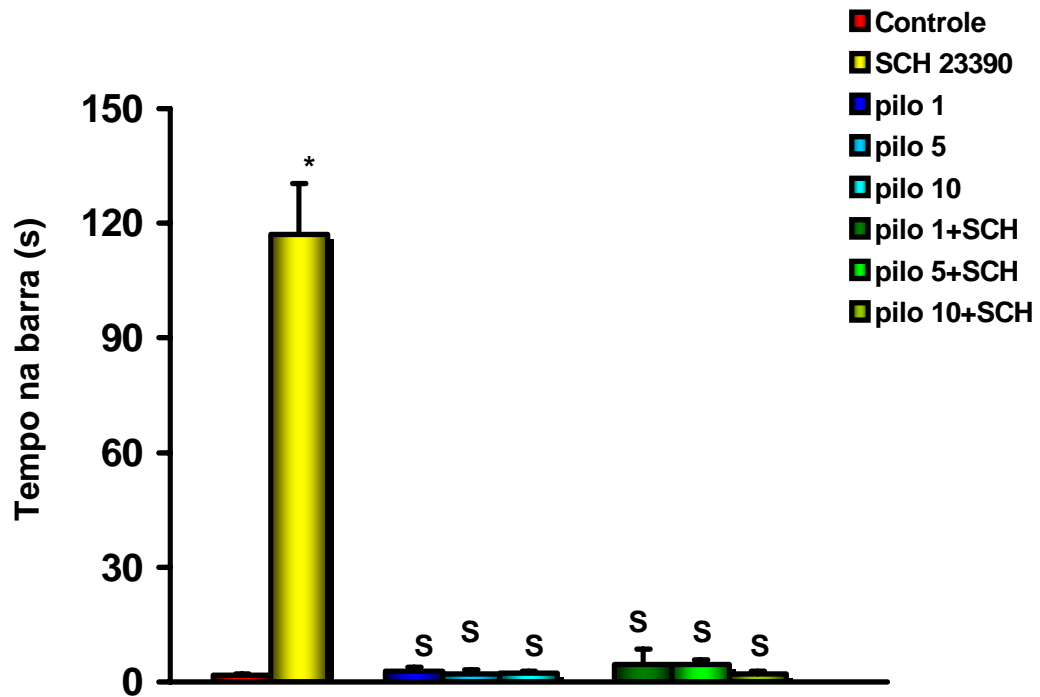
Ratos Wistar (180-200g) foram tratados com a droga teste 30 min antes de receberem o agente cataleptogênico. A resposta cataléptica foi observada 60 ou 30 min após a administração dos agentes cataleptogênicos pimozida 20 mg/kg, v.o. e SCH 23390, 0,3 mg/kg, i.p., respectivamente. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, P, S, c₁, c₅, c₁₀, pl₁, pl₅, pl₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, pimozida, SCH 23390, carbacol 1, 5 e 10 e pilocarpina 1, 5 e 10, respectivamente.

FIGURA 29- Efeitos da pilocarpina (pilo) na catalepsia induzida por pimozida em rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p. A resposta cataléptica foi observada 60 min após a administração de pimozida 20 mg/kg, v.o. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, P, pl₁, pl₅, pl₁₀ = $p < 0,05$ quando comparado ao controle, pimozida 20mg/kg e pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 30- Efeitos da pilocarpina (pilo) na catalepsia induzida por SCH 23390 em rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p.. A resposta cataléptica foi observada 30 min após a administração de SCH 23390 0,3 mg/kg, i.p. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, S, pl₁, pl₅, pl₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, SCH 23390 e pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, respectivamente.

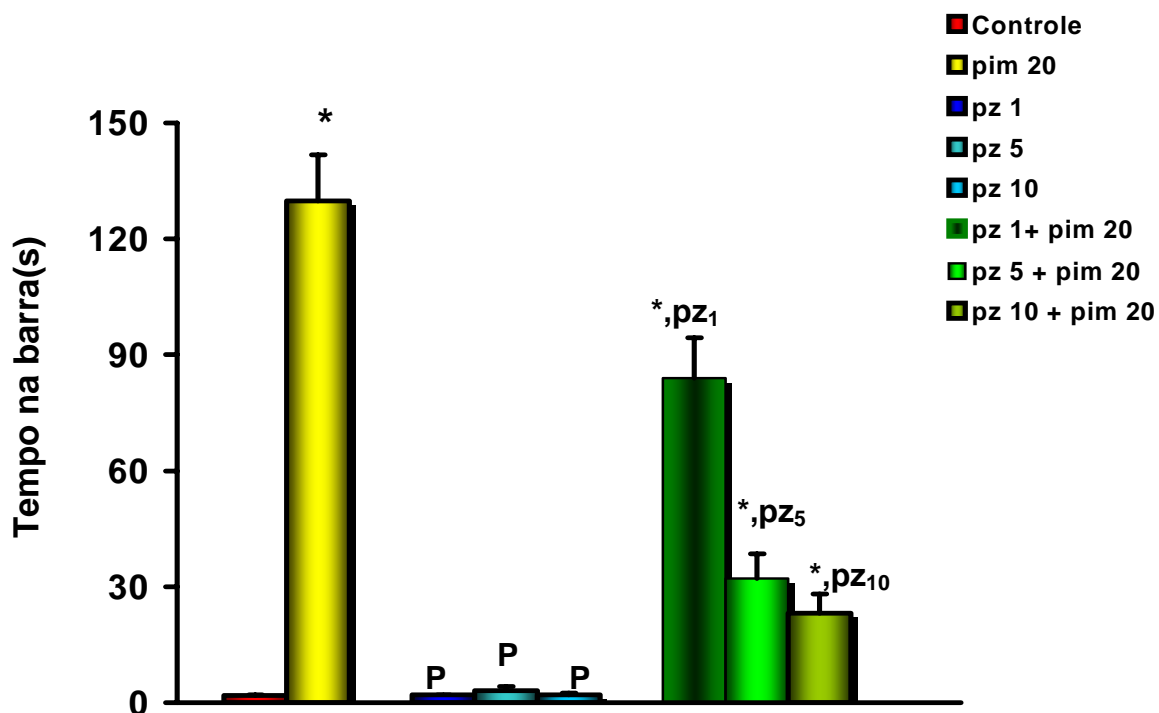
O efeito de antagonistas colinérgicos na catalepsia induzida por antagonistas colinérgicos, foi demonstrado na **Tabela 9**. A atropina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($1,46 \pm 0,27$; $0,60 \pm 0,16$; $0,91 \pm 0,39$, respectivamente) e a pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($2,00 \pm 0,33$; $3,13 \pm 1,06$; $2,00 \pm 0,50$, respectivamente) não causaram catalepsia quando comparado com o controle ($1,83 \pm 0,26$). Quando associado à pimozida 20 mg/kg, v.o. ($129,75 \pm 11,99$) tanto a atropina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($21,17 \pm 3,38$; $27,00 \pm 3,55$; $19,50 \pm 4,17$, respectivamente) como a pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($84,00 \pm 10,35$; $32,13 \pm 6,37$; $23,13 \pm 4,99$, respectivamente) conseguiram reverter parcialmente a catalepsia induzida por esse agente cataleptogênico. Em relação a catalepsia induzida pelo SCH 23390 0,3 mg/kg i.p. ($117,00 \pm 13,44$) tanto a atropina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. quanto a pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. inibiram o efeito do SCH 23390 na resposta cataléptica de maneira significativa ($10,14 \pm 1,68$; $6,00 \pm 1,84$; $6,14 \pm 1,50$; $30,43 \pm 4,12$; $22,33 \pm 3,68$; $2,83 \pm 1,45$, respectivamente). O efeito significativo da pirenzepina, na resposta cataléptica induzida pela pimozida ou SCH 23390 foi demonstrado na **Figura 31** e **32**, respectivamente.

TABELA 9- Efeitos de antagonistas colinérgicos na catalepsia induzida por pimozida ou SCH 23390 em rato.

GRUPO	RESPOSTA CATALÉPTICA (s)		
	SALINA (10 ml/kg,v.o.)	PIMOZIDA (20mg/kg,v.o.)	SCH 23390 (0,3mg/kg,i.p.)
Controle	1,83 ± 0,26 (41)	129,75 ± 11,99 (06)*	117,00 ± 13,44 (07)*
Atropina 1	1,46 ± 0,27 (26) ^{P,S}	21,17 ± 3,38 (06) ^{*,P, a₁}	10,14 ± 1,68 (07) ^S
Atropina 5	0,60 ± 0,16 (10) ^{P,S}	27,00 ± 3,55 (07) ^{*,P, a₅}	6,00 ± 1,84 (07) ^S
Atropina10	0,91 ± 0,39 (11) ^{P,S}	19,50 ± 4,17 (06) ^{*,P, a₁₀}	6,14 ± 1,50 (07) ^S
Pirenzepina 1	2,00 ± 0,33 (08) ^{P,S}	84,00 ± 10,35 (08) ^{*,P, pz₁}	30,43 ± 4,12 (07) ^{*S}
Pirenzepina 5	3,13 ± 1,06 (08) ^{P,S}	32,13 ± 6,37 (08) ^{*,P, pz₅}	22,33 ± 3,68 (06) ^{*S}
Pirenzepina 10	2,00 ± 0,50 (09) ^{P,S}	23,13 ± 4,99 (08) ^{*,P, pz₁₀}	2,83 ± 1,45 (06) ^S

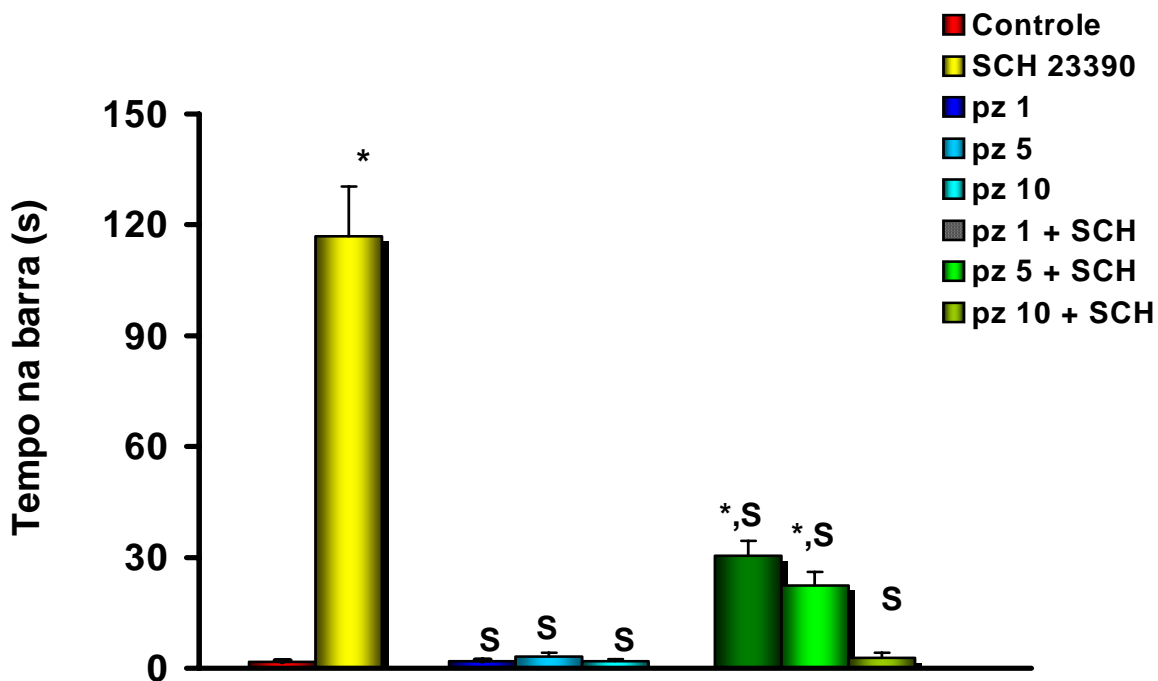
Ratos Wistar (180-200g) foram tratados com a droga teste 30 min antes de receberem o agente cataleptogênico. A resposta cataléptica foi observada 60 ou 30 min após a administração dos agentes cataleptogênicos pimozida 20 mg/kg, v.o. e SCH 23390,0,3 mg/kg, i.p., respectivamente. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, P, S, a₁, a₅, a₁₀, pz₁, pz₅, pz₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, pimozida, SCH 23390, atropina 1, 5 e 10 e pirenzepina 1, 5 e 10, respectivamente.

FIGURA 31- Efeitos da pirenzepina (pz) na catalepsia induzida por pimozida em rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p.. A resposta cataleptica foi observada 60 min após a administração de pimozida 20 mg/kg, v.o. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, P, pz₁, pz₅, pz₁₀ = $p < 0,05$ quando comparado ao controle, pimozida 20mg/kg e pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, respectivamente.

FIGURA 32- Efeitos da pirenzepina (pz) na catalepsia induzida por SCH 23390 em rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p.. A resposta cataléptica foi observada 30 min após a administração de SCH 23390 0,3 mg/kg, i.p. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, S = $p < 0,05$ quando comparado ao controle e SCH 23390, respectivamente.

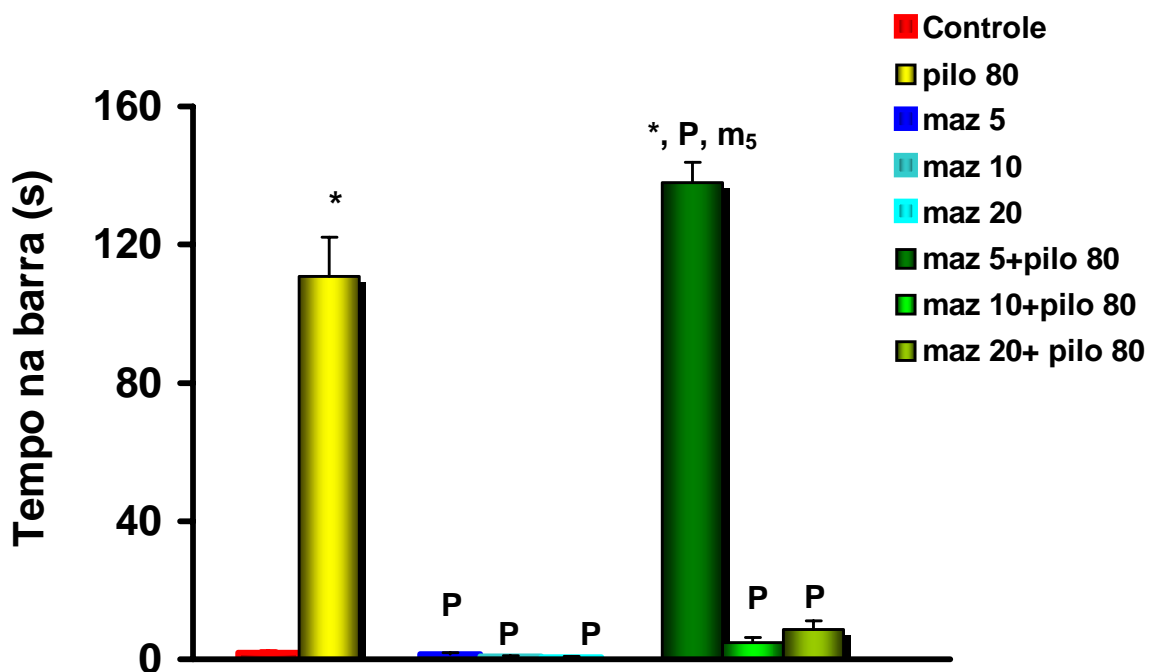
A resposta da apomorfina, clozapina e mazindol na catalepsia induzida por um agonista colinérgico (pilocarpina 80 mg/kg, i.p.) está indicado na **Tabela 10**. Essas drogas, sozinhas, não induziram catalepsia (apomorfina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p., (5,86 ± 2,41; 1,75 ± 0,83; 0,50 ± 0,26); clozapina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o.(1,25 ± 0,36; 2,57 ± 0,78; 1,68 ± 0,49); mazindol 5, 10 e 20 mg/kg, v.o.(1,43 ± 0,52; 0,75 ± 0,31; 0,62 ± 0,26) quando comparadas ao controle (1,83 ± 0,26). Entretanto, o pré-tratamento com apomorfina 1 mg/kg, i.p. bloqueou a catalepsia (13,75 ± 3,68) induzida pela pilocarpina 80 mg/kg, i.p. (110,90 ± 11,31). As outras doses de apomorfina não inibiram a resposta cataléptica causada pelo agente cataleptogênico. A clozapina, um neuroléptico atípico, nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg, i.p. (99,50 ± 24,91; 116,60 ± 20,72; 100,00 ± 14,81, respectivamente) não inibiram a catalepsia induzida pela pilocarpina. As maiores doses do mazindol (10 e 20 mg/kg, v.o.) bloquearam esse efeito (4,83 ± 1,55; 8,71 ± 2,49, respectivamente) causado pela pilocarpina. O efeito significativo do mazindol, na resposta cataléptica induzida pela pilocarpina foi mostrado na **Figura 33**.

TABELA 10- Efeitos de drogas dopaminérgicas na catalepsia induzida por pilocarpina em rato.

GRUPO	RESPOSTA CATALÉPTICA (s)	
	SALINA (10 ml/kg,v.o.)	PILOCARPINA (80mg/kg,i.p.)
Controle	1,83 ± 0,26 (41)	110,90 ± 11,31 (10)*
Apomorfina1	5,86 ± 2,41 (07) ^{pl}	13,75 ± 3,68 (08) ^{pl}
Apomorfina 5	1,75 ± 0,83 (08) ^{pl}	116,25 ± 10,91 (08)*, a ₅
Apomorfina 10	0,50 ± 0,26 (08) ^{pl}	111,13 ± 6,71 (08)*, a ₁₀
Clozapina 1	1,25 ± 0,36 (08) ^{pl}	99,50 ± 24,91 (04)*, cl ₁
Clozapina 5	2,57 ± 0,78 (07) ^{pl}	116,60 ± 20,72 (05)*, cl ₅
Clozapina 10	1,68 ± 0,49 (06) ^{pl}	100,00 ± 14,81 (08)*, cl ₁₀
Mazindol 5	1,43 ± 0,52 (07) ^{pl}	137,83 ± 6,03 (06)*, pl, m ₅
Mazindol 10	0,75 ± 0,31 (08) ^{pl}	4,83 ± 1,55 (06) ^{pl}
Mazindol 20	0,62 ± 0,26 (08) ^{pl}	8,71 ± 2,49 (07) ^{pl}

Ratos Wistar (180-200g) foram tratados com a droga teste 30 min antes de receberem o agente cataleptogênico. A resposta cataléptica foi observada 30 min após a administração da pilocarpina 80 mg/kg, i.p. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, pl, a₅, a₁₀, cl₁, cl₅, cl₁₀, m₅ = p< 0,05 quando comparado ao controle, pilocarpina, apomorfina 5 e 10, clozapina 1, 5 e 10 e mazindol 5, respectivamente.

FIGURA 33- Efeitos do mazindol (maz) na catalepsia induzida por pilocarpina em rato.



Os animais (6 por grupo) foram tratados com mazindol 5, 10 e 20 mg/kg, v.o. A resposta cataléptica foi observada 30 min após a administração de pilo 80 mg/kg, i.p. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, m₅, pl = p < 0,05 quando comparado ao controle, mazindol 5 mg/kg e pilocarpina 80mg/kg, respectivamente.

4.2.2- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na atividade locomotora em rato.

A **Tabela 11** mostra os efeitos de agonistas colinérgicos sozinhos ou associados a antagonistas dopaminérgicos na atividade locomotora. O carbacol 5 e 10 mg/kg, v.o., sozinho, mostrou uma diminuição progressiva na atividade locomotora ($3,59 \pm 0,69$; $2,84 \pm 0,43$, respectivamente) e a pilocarpina nas doses de 1, 5 e 10 mg/kg, i.p. ($13,88 \pm 1,89$; $9,75 \pm 1,75$; $7,33 \pm 1,13$, respectivamente) não alterou este efeito quando comparado ao controle ($9,86 \pm 0,81$). Quando associado aos agentes cataleptogênicos pimozida 20 mg/kg, v.o. e SCH 23390 0,3 mg/kg, i.p., o efeito comportamental da dose mais baixa do carbacol (1 mg/kg, v.o.) foi bloqueado ($0,00 \pm 0,00$; $0,29 \pm 0,18$, respectivamente) quando comparado ao controle ($9,86 \pm 0,81$) e ao carbacol 1 mg/kg, v.o. ($12,88 \pm 0,98$). Estes antagonistas dopaminérgicos diminuíram mais ainda o efeito do carbacol 5 mg/kg, v.o. ($0,00 \pm 0,00$; $0,00 \pm 0,00$, respectivamente) e do carbacol 10 mg/kg, v.o. ($0,57 \pm 0,36$; $0,00 \pm 0,00$) quando comparado ao controle. A pimozida 20 mg/kg, v.o. bloqueou, completamente, a resposta locomotora do pilocarpina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p. ($0,00 \pm 0,00$; $0,00 \pm 0,00$; $0,00 \pm 0,00$, respectivamente) e o SCH 23390 diminuiu significativamente este efeito ($3,38 \pm 0,94$; $2,75 \pm 0,56$; $3,88 \pm 0,55$, respectivamente).

TABELA 11- Efeitos de agonistas colinérgicos, sozinhos ou associados, a antagonistas dopaminérgicos na atividade locomotora de rato.

GRUPO	ATIVIDADE LOCOMOTORA (Travessia/min)		
	SALINA (10 ml/kg,v.o.)	PIMOZIDA (20mg/kg,v.o.)	SCH 23390 (0,3mg/kg,i.p.)
Controle	9,86 ± 0,81 (49)	0,00 ± 0,00 (09)*	0,50 ± 0,27 (08)*
Carbacol 1	12,88 ± 0,98 (24) ^{P,S}	0,00 ± 0,00 (08)*, c ₁	0,29 ± 0,18 (07)*, c ₁
Carbacol 5	3,59 ± 0,69 (27)*	0,00 ± 0,00 (08)*	0,00 ± 0,00 (06)*
Carbacol 10	2,84 ± 0,43 (57)*	0,57 ± 0,36 (07)*	0,00 ± 0,00 (06)*
Pilocarpina 1	13,88 ± 1,89 (08) ^{P,S}	0,00 ± 0,00 (07)*, pl ₁	3,38 ± 0,94 (08)*, pl ₁
Pilocarpina 5	9,75 ± 1,75 (08) ^{P,S}	0,00 ± 0,00 (06)*, pl ₅	2,75 ± 0,56 (08)*, pl ₅
Pilocarpina 10	7,33 ± 1,13 (09) ^{P,S}	0,00 ± 0,00 (06)*, pl ₁₀	3,88 ± 0,55 (08)*

Ratos Wistar (180-200g) foram tratados com a droga teste 30 min antes de receberem o agente cataleptogênico. A atividade locomotora foi observada 60 ou 30 min após a administração dos agentes cataleptogênicos pimozida 20 mg/kg, v.o. e SCH 23390, 0,3 mg/kg, i.p., respectivamente. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, P, S, c₁, pl₁, pl₅, pl₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, pimozida, SCH 23390, carbacol 1 e pilocarpina 1, 5 e 10, respectivamente.

Os efeitos de antagonistas colinérgicos sozinhos ou associados com antagonistas dopaminérgicos na atividade locomotora, foi demonstrado na **Tabela 12**. A atropina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($10,03 \pm 0,82$; $11,14 \pm 0,77$; $9,86 \pm 1,22$, respectivamente) e a pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. ($11,00 \pm 1,44$; $14,75 \pm 2,31$; $13,67 \pm 1,78$, respectivamente) não alteraram a atividade locomotora quando comparado ao controle ($9,86 \pm 0,81$). O pimozida 20 mg/kg, v.o., reverteu parcialmente a resposta locomotora dos animais que receberam atropina, em todas as doses ($3,86 \pm 1,71$; $2,63 \pm 0,59$; $3,25 \pm 0,88$, respectivamente) e o agente cataleptogênico SCH 23390 0,3 mg/kg, i.p. inibiu este efeito ($0,71 \pm 0,57$; $0,29 \pm 0,18$; $0,43 \pm 0,43$, respectivamente). Os animais que receberam pirenzepina 1, 5 e 10 mg/kg, v.o. tiveram o efeito revertido parcialmente ($2,63 \pm 1,31$; $1,25 \pm 0,62$; $3,75 \pm 0,82$, respectivamente) pelo SCH 23390 e bloqueado pela pimozida ($1,00 \pm 0,63$; $0,00 \pm 0,00$; $0,00 \pm 0,00$, respectivamente).

TABELA 12- Efeitos de antagonistas colinérgicos, sozinhos ou associados, a antagonistas dopaminérgicos na atividade locomotora de rato.

GRUPO	ATIVIDADE LOCOMOTORA (Travessia/min)		
	SALINA (10 ml/kg,v.o.)	PIMOZIDA (20mg/kg,v.o.)	SCH 23390 (0,3mg/kg,i.p.)
Controle	9,86 ± 0,81 (49)	0,00 ± 0,00 (09)*	0,50 ± 0,27 (08)*
Atropina 1	10,03 ± 0,82 (31) ^{P,S}	3,86 ± 1,71 (07)*, a ₁	0,71 ± 0,57 (07)*, a ₁
Atropina 5	11,14 ± 0,77 (22) ^{P,S}	2,63 ± 0,59 (08)*, a ₅	0,29 ± 0,18 (07)*, a ₅
Atropina 10	9,86 ± 1,22 (21) ^{P,S}	3,25 ± 0,88 (08)*, a ₁₀	0,43 ± 0,43 (07)*, a ₁₀
Pirenzepina 1	11,00 ± 1,44 (08) ^{P,S}	1,00 ± 0,63 (08)*, pZ ₁	2,63 ± 1,31 (08)*, pZ ₁
Pirenzepina 5	14,75 ± 2,31 (08) ^{P,S}	0,00 ± 0,00 (08)*, pZ ₅	1,25 ± 0,62 (08)*, pZ ₅
Pirenzepina 10	13,67 ± 1,78 (09) ^{P,S}	0,00 ± 0,00 (08)*, pZ ₁₀	3,75 ± 0,82 (08)*, pZ ₁₀

Ratos Wistar (180-200g) foram tratados com a droga teste 30 min antes de receberem o agente cataleptogênico. A atividade locomotora foi observada 60 ou 30 min após a administração dos agentes cataleptogênicos pimozida 20 mg/kg, v.o. e SCH 23390, 0,3 mg/kg, i.p., respectivamente. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, P, S, a₁, a₅, a₁₀, pZ₁, pZ₅, pZ₁₀ = p < 0,05 quando comparado ao controle, pimozida, SCH 23390, atropina 1, 5 e 10 e pirenzepina 1, 5 e 10, respectivamente.

Os efeitos da apomorfina, clozapina e mazindol na atividade locomotora, sozinhos ou associados com a pilocarpina (80 mg/kg, i.p.), estão demonstrados na **Tabela 13**. A apomorfina 1, 5 e 10 mg/kg, i.p., sozinha, diminui significativamente a atividade locomotora ($2,86 \pm 0,73$; $3,43 \pm 1,32$; $1,12 \pm 0,63$, respectivamente) quando comparado ao controle ($9,86 \pm 0,81$). Quando a apomorfina foi associada ao agente cataleptogênico pilocarpina este efeito foi potencializado ($0,78 \pm 0,43$; $0,12 \pm 0,12$; $0,00 \pm 0,00$, respectivamente).

A clozapina (5 e 10 mg/kg, v.o.), um neuroléptico atípico, sozinho, mostrou uma diminuição progressiva na atividade locomotora ($2,87 \pm 0,71$; $1,50 \pm 0,77$, respectivamente), quando comparado ao controle ($9,86 \pm 0,81$). A clozapina na dose mais baixa (1mg/kg) e o mazindol (5, 10 e 20 mg/kg, v.o.) não alteraram este efeito, em comparação ao controle. O efeito comportamental das doses mais baixas do mazindol (5 mg/kg) e da clozapina (1mg/kg), foi revertido pela pilocarpina, que inibiu a atividade locomotora produzida pelo estas drogas ($1,87 \pm 0,69$; $0,22 \pm 0,14$, respectivamente). O efeito da clozapina 5 e 10 mg/kg, v.o. foi potencializado pela pilocarpina 80 mg/kg, i.p. ($0,43 \pm 0,43$; $0,12 \pm 0,12$, respectivamente). As doses mais elevadas do mazindol (10 e 20 mg/kg, v.o.), associados a pilocarpina 80 mg/kg, i.p., não alteraram o efeito motor ($10,86 \pm 1,40$; $9,33 \pm 2,67$, respectivamente) quando comparado ao controle (**Tabela 13**).

TABELA 13- Efeitos de agonistas dopaminérgicos, sozinhos ou associados, a um agonista colinérgico na atividade locomotora de rato.

GRUPO	ATIVIDADE LOCOMOTORA (Travessia/min)	
	SALINA (10 ml/kg,v.o.)	PILOCARPINA (80mg/kg,i.p.)
Controle	9,86 ± 0,81 (49)	0,42 ± 0,33 (12)*
Apomorfina 1	2,86 ± 0,73 (07)*	0,78 ± 0,43(09)*
Apomorfina 5	3,43 ± 1,32 (07)*	0,12 ± 0,12 (08)*
Apomorfina 10	1,12 ± 0,63 (08)*	0,00 ± 0,00 (08)*
Clozapina 1	9,12 ± 1,09 (08) ^{pl}	0,22 ± 0,14 (09)*, cl ₁
Clozapina 5	2,87 ± 0,71 (08)*	0,43 ± 0,43 (07)*
Clozapina 10	1,50 ± 0,77 (08)*	0,12 ± 0,12 (08)*
Mazindol 5	9,25 ± 1,09 (08) ^{pl}	1,87 ± 0,69 (08)*
Mazindol 10	9,37 ± 0,82 (08) ^{pl}	10,86 ± 1,40 (07) ^{pl}
Mazindol 20	8,50 ± 2,19 (08) ^{pl}	9,33 ± 2,67(06) ^{pl}

Ratos Wistar (180-200 g) foram tratados com a droga teste 30 min antes de receberem o agente cataleptogênico. A atividade locomotora foi observada 30 min após a administração da pilocarpina 80 mg/kg, i.p. Os valores estão representados como média ± EPM do número de animais em parênteses. Para análise estatística foi utilizado Análise de Variância (ANOVA) e teste de Student-Newman-Keuls como teste *post hoc*. *, pl, cl₁ = p < 0,05 quando comparado ao controle, pilocarpina e clozapina 1 mg/kg, respectivamente.

DISCUSSÃO

5- DISCUSSÃO

5.1- PROTOCOLO I: TRATAMENTO CRÔNICO

5.1.1- Efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica no comportamento (campo aberto e catalepsia) em rato.

A administração crônica de estimulantes psicomotores que atuam como agonistas dopaminérgicos indiretos resulta em numerosas alterações comportamentais, incluindo uma sensibilidade aumentada, ou sensibilização comportamental (KALIVAS & STEWART, 1991; ROBINSON & BECKER, 1991).

A sensibilização comportamental em animais se assemelha à psicose induzida por psicoestimulantes em humanos e tem merecido especial atenção como modelo animal de esquizofrenia (POST & CONTEL, 1983; ROBINSON & BECKER, 1986). Embora seja conhecido que a sensibilização comportamental induzida por psicoestimulantes esteja relacionada com o aumento da disponibilidade de dopamina, várias pesquisas sugerem que os receptores dopaminérgicos D1-símile podem desempenhar um papel crítico nesta sensibilização (HAMAMAURA et al., 1991; STEWART & VEZINA, 1989; UJIKE et al., 1989; VEZINA & STEWART, 1989).

Existem evidências de que os receptores D1 e D2 podem interagir de um modo sinérgico ou antagônico. Agonistas do receptor D1 e D2 não são efetivos isoladamente, mas agem sinergisticamente estimulando a locomoção e induzindo a estereotipia. A locomoção depende da ativação do receptor D1 (STARR & STARR, 1989) e os comportamentos estereotipados orais, tais como “lamber” e “morder”, dependem da ativação dos receptores D2 (ARNT et al., 1987; USHIJIMA et al., 1988a; USHIJIMA et al., 1988b).

A catalepsia é um distúrbio motor, comumente associado com a inibição da neurotransmissão dopaminérgica no corpo estriado, enquanto a supressão da atividade locomotora espontânea, é pelo menos em parte, devido a transmissão dopaminérgica no sistema límbico (AHLENIUS & HILLEGART, 1986).

No teste do campo aberto foi observado que os animais tratados com pimozida, 1, 5 e 10 mg/kg, praticamente não se locomoveram, permanecendo imóveis, o que foi confirmado no teste da catalepsia, quando todas as doses mostraram um aumento no tempo de permanência na barra, sendo que, nas doses de 5 e 10 mg/kg esse período de imobilidade foi superior a 100 s. Os animais que receberam carbacol, apresentaram um aumento no tempo de permanência na barra e uma diminuição da atividade locomotora (cbc 10 mg/kg) quando comparado aos controles.

Nossos resultados demonstram também que a catalepsia induzida pela pimozida não foi alterada após a associação com o carbacol, com exceção da associação da maior dose do carbacol (10 mg/kg) com a menor dose da pimozida (1 mg/kg), quando houve uma diminuição do tempo de permanência na barra quando comparado ao pimozida 1 mg/kg, sozinho. Quando associado a atropina (que sozinha não causou nenhuma mudança na atividade motora e na catalepsia) a pimozida reverteu parcialmente o efeito da atropina na atividade locomotora e na resposta cataléptica. Estas observações sugerem que a ação cataleptogênica é mediada por um mecanismo dopaminérgico, provavelmente envolvendo os receptores D2, mas que é altamente susceptível à interações com o sistema colinérgico.

Várias evidências sugerem que anticolinérgicos podem produzir hiperatividade através de interações diretas ou indiretas com o sistema dopaminérgico. A alfametiltirosina inibiu a hiperatividade produzida por anticolinérgicos tais como escopolamina, benzotropina e atropina (THORNBURG & MOORE, 1973). Similarmente, o comportamento rotatório produzido por escopolamina em ratos com lesão unilateral provocada por 6-hidroxi-dopamina, foi abolido por alfametiltirosina (PYCOCK et al., 1978).

Trabalhos também mostram que a administração de mazindol e cocaína resultam numa sensibilização comportamental evidenciada pelo aumento da atividade locomotora. Esta sensibilização aumentada parece ser semelhante àquela induzida por outros psicoestimulantes (ROBINSON & BECKER, 1991). Como o efeito anorexígeno do mazindol é primariamente, embora não exclusivamente,

devido a uma inibição da recaptação de dopamina (JAVITCH et al., 1984; POGUN et al., 1991), é provável que a sensibilização locomotora induzida por esta droga também seja devido à ação da dopamina nos terminais dopaminérgicos.

Gogerty et al., (1975) relataram que os efeitos do mazindol eram 3 a 4 vezes menos intensos do que aquelas produzidos pela d-anfetamina. Zambotti et al., 1976 demonstraram que a metanfetamina 5 mg/kg aumentava a atividade motora. Posteriormente Mattei & Carlini (1995) também observaram que a metanfetamina numa dose menor (2,5 mg/kg) também aumentava a atividade locomotora semelhante ao mazindol e que o mazindol era 4 vezes menos potente do que a metanfetamina nos seus efeitos sobre a atividade motora e movimentos estereotipados. Estes efeitos produzidos por ambas as drogas podem ser descritos como causados por um mecanismo similar, ou seja, uma aumentada liberação de catecolaminas e uma inibição de sua captação pelos terminais nervosos (SEIDEN et al., 1993; HEIKKILA et al., 1981; ROSS, 1979).

Sousa et al., (1999) demonstraram que o mazindol aumentou a atividade locomotora em ratos, sugerindo que este efeito estimulante do mazindol pode ser mediado por ativação dos receptores D2, pois com a presença de antagonistas D2, como a pimozida e sulpirida, os efeitos do mazindol foram atenuados significativamente, indicando que a ativação destes receptores é necessária para que ocorra a resposta comportamental.

No presente trabalho os efeitos do mazindol (nas doses mais altas) sobre atividade locomotora confirma esses dados da literatura, pois ocorre um aumento da resposta motora. Observa-se também que os efeitos do mazindol foram atenuados pela atropina, indicando que, alguma influência do sistema colinérgico também pode ocorrer como o bloqueio dos receptores pós-sinápticos da acetilcolina provocado pela atropina.

Na verdade, o comportamento é uma atividade de organismos vivos e não um transmissor passivo de efeitos de drogas. Assim, os efeitos das drogas sobre o comportamento dos animais, sofrem influências de características peculiares de cada droga, de sua interação com seus receptores específicos e sistemas efetores,

de sua interação com vários sistemas, bem como do comportamento do animal anterior à administração da droga (SOUSA, 1997).

5.1.2- Efeitos da interação dopamina-acetilcolina sobre os receptores muscarínicos e dopaminérgico em corpo estriado em rato.

Embora a interação entre dopamina e acetilcolina seja claramente importante para a função normal do corpo estriado, os mecanismos envolvidos com esta interação não são bem definidos (SOUSA, 1997).

Dados da literatura mostraram que a anfetamina aumenta a concentração de dopamina e acetilcolina extracelular no corpo estriado. Este efeito é bloqueado pelo SCH 23390 ou pela depleção dos estoques de dopamina (CONSOLO et al., 1992).

Estes mesmos autores observaram que o raclopride, um antagonista D2 seletivo, do mesmo modo aumentou a liberação de acetilcolina no corpo estriado e este efeito foi bloqueado pelo antagonista D1-seletivo, SCH 23390, sugerindo que os neurolépticos aumentam a liberação de acetilcolina através de um duplo mecanismo (DAMSMA et al., 1991).

Até onde se sabe existe pouca informação a cerca da interação dopamina-acetilcolina após o tratamento com drogas colinérgicas. Cubeddu et al. (1991) e Raiteri et al. (1990) demonstraram que o carbacol, um agonista de receptores muscarínicos, aumenta a liberação de dopamina no córtex pré-frontal e no corpo estriado, sendo que uma maior facilitação da liberação de dopamina foi visto nos terminais dopaminérgicos do córtex pré-frontal. Em ambas as regiões cerebrais a atropina bloqueou o aumento da liberação de dopamina induzida pelo carbacol.

Posteriormente foi demonstrado que esse aumento da liberação de dopamina promovido pelo carbacol poderia ter sido mediado via ativação da PKC (proteína cinase C), sugerindo que a facilitação da transmissão dopaminérgica induzida pelo carbacol poderia ocorrer através da estimulação da proteína cinase C (CUBEDDU et al., 1991).

Hoffman e colaboradores (1996) mostraram que os efeitos dos agonistas muscarínicos sobre a liberação de dopamina e acetilcolina eram dependentes do subtipo de receptor ativado. Assim eles demonstraram que o receptor muscarínico M2 inibe a liberação de dopamina, enquanto que a estimulação do receptor M1 facilita a liberação de dopamina em corpo estriado.

O aumento dos receptores D1-símile provocado pelo carbacol 1 e 5 mg/kg, no presente trabalho sugere uma influência muscarínica na regulação dopaminérgica a nível estriatal. De fato Hoffman et al., (1996) também demonstraram que o carbacol aumentou a liberação de dopamina em córtex pré-frontal e corpo estriado e que este efeito foi bloqueado pela atropina. Nossos dados mostram que o carbacol, nas menores doses, aumentou os receptores D1-símile e não provocou alteração na densidade dos receptores D2-símile com nenhuma dose utilizada, sugerindo o envolvimento desta droga com os receptores D1-símile. De fato, na presença da pimozida, comprovadamente um antagonista D2, ocorreu um aumento e uma diminuição nos receptores D1 e D2, respectivamente confirmando o envolvimento do receptor D1.

Porceddu et al., (1986) demonstraram que o haloperidol e a sulpirida não alteram os valores da densidade dos receptores no *binding* SCH 23390. Entretanto, no presente trabalho, a pimozida diferentes de outros antagonistas D2, aumentou a densidade de receptores D1-símile no corpo estriado. De fato, Sousa (1997), demonstrou que a pimozida quando associada ao mazindol, um inibidor da recaptação de dopamina, aumentou o número de receptores D1-símile, potencializando assim os efeitos do mazindol sozinho.

A administração crônica de neurolépticos clássicos, incluindo flufenazina é normalmente associada com um aumento na densidade ou sensibilidade de receptores dopaminérgicos estriatais D2-símile, enquanto a administração de clozapina, usualmente (CREESE & SNYDER, 1980), embora nem sempre significativa (SMITH & DAVIS, 1976), é reportada não causar tais efeitos.

Outros trabalhos mostram que, embora as drogas neurolépticas tenham em comum a habilidade de antagonizar os receptores dopaminérgicos, elas também se

ligam a outros tipos de receptores, apresentando, portanto, algumas vezes efeitos diversificados (ANDERSEN et al., 1992). Assim, enquanto o haloperidol aumenta os receptores dopaminérgicos D2 marcados pelo ^3H -espiroperidol, a pimozida causa uma diminuição destes receptores (TECOTT et al., 1986).

A literatura mostra que a escopolamina, um antagonista muscarínico, potencia a liberação de dopamina no núcleo *accumbens*. Provavelmente este efeito ocorre porque a escopolamina inibe os heteroreceptores muscarínicos pré-sinápticos que modulam a liberação de outros neurotransmissores, além da acetilcolina, tais como a dopamina (DURKIN et al., 1983; MAJOCHA & BALDESSARINI, 1984; RAITERI et al., 1990).

Boyson et al., (1988) mostraram que a atropina 20 mg/kg não alterou significativamente a densidade de receptores D2, mas causou um aumento significativo na densidade dos receptores muscarínicos em corpo estriado de rato. Além disso, esses autores demonstraram que em concentrações micromolares e nanomolares, a atropina interagiu com receptores dopaminérgicos e muscarínicos respectivamente. Na presente investigação, atropina causou um aumento significativo nos receptores D1 e uma diminuição dos receptores D2. O fato observado da atropina em aumentar os receptores D1-símile, confirma a sua influência nos receptores dopaminérgicos D1-símile. De fato, na presença do mazindol, agonista dopaminérgico indireto, este efeito sobre os receptores D1 persistiu demonstrando que a atividade antagonista muscarínica pode ter induzido a uma *upregulation* ocorrida nos receptores dopaminérgicos D1 no grupo tratado pela atropina (SOUSA, 1997).

Albures e colaboradores (1992) mostraram que o tratamento com cocaína (15 mg/kg, i.p. 2 vezes ao dia) promoveu um aumento dos receptores D1-símile sem alterar o receptor D2-símile. Do mesmo modo, foi observado no presente trabalho que o mazindol, um inibidor da recaptação de dopamina semelhante a cocaína, causou um aumento de D1-símile, nas menores doses entretanto, diminuiu o número de receptores D2-símile.

Dados na literatura referem ocorrer uma *downregulation* dos receptores dopaminérgicos após o tratamento com agonistas dopaminérgicos. Entretanto, o mazindol, um agonista indireto, causou uma *upregulation* dos receptores D1. É possível que o mazindol ao aumentar os níveis de dopamina ocasionou uma interação desta com receptores dopaminérgicos pré-sinápticos. Entretanto, os efeitos de agonista indiretos são controversos (SOUSA et al., 1997).

A administração crônica de antagonistas muscarínicos causa uma *upregulation* dos receptores muscarínicos (BEM-BARAK & DUDAI, 1980; BERSTEIN & HAGA, 1990; HADCOK & MALBON, 1991). Vários exemplos podem ser citados; entre eles a *upregulation* de receptores muscarínicos induzida pelo uso de antidepressivos e escopolamina que têm propriedades antimuscarínicas (BEM-BARAK & DUDAI, 1980; MAJOCHA & BALDESSARINI, 1984).

Os dados do presente trabalho concordam com os dados da literatura, onde foi observado que a atropina, um antagonista muscarínico não seletivo M1/M2, causa uma *upregulation* dos receptores muscarínicos, confirmando o conceito de que a densidade dos receptores neuronais é aumentada quando sua interação com o neurotransmissor é reduzida (PORCEDDU et al., 1986). Provavelmente, a acetilcolina liberada pré-sinápticamente não interagiu com os receptores (SOUSA, 1997). É relevante também sugerir que a dose administrada de atropina foi efetiva.

Por outro lado, sabe-se que o tratamento com agonistas muscarínicos causa uma *downregulation* de receptores muscarínicos em várias regiões cerebrais (BERSTEIN & HAGA, 1990; HADCOK & MALBON, 1991). Agonistas colinérgicos diminuem a ligação de 3H-acetilcolina induzida por despolarização, e este fato é atribuído à ativação de receptores muscarínicos pré-sinápticos (JAMES & CUBEDDU, 1983). A diminuição da liberação de acetilcolina conduz a uma diminuição na densidade destes receptores. Sousa (1997) demonstrou que o carbacol na dose de 20 mg/kg, induziu uma *downregulation* de M1+M2-símile, confirmando os dados da literatura. Entretanto, no presente trabalho, o carbacol não alterou o número de receptores muscarínicos. É possível que a dose utilizada não tenha sido suficiente para induzir tal alteração.

Há evidências de que manipulações no sistema dopaminérgico podem afetar as funções colinérgicas. Parece que na presença de atividade dopaminérgica aumentada ocorre uma diminuição da liberação de acetilcolina. A apomorfina, por exemplo, um agonista dopaminérgico, aumentou os níveis estriatais de acetilcolina, enquanto o antagonista dopaminérgico, haloperidol diminuiu o nível de acetilcolina estriatal, conseqüente a um aumento na liberação de acetilcolina (SETHY & WENGER, 1985).

No presente trabalho o mazindol, um agonista dopaminérgico indireto, aumentou o *binding* de ³H-NMS no corpo estriado, o que foi confirmado quando ocorreu a associação com a atropina e esse aumento persistiu, mostrando a interação entre os sistemas dopaminérgico e colinérgico e sugerindo que as drogas de ambos os sistemas podem interagir de maneira sinérgica, como a atropina, uma antagonista muscarínico, com o mazindol, um agonista dopaminérgico.

Algumas das discrepâncias vista no presente trabalho quando relacionado a outros dados na literatura, podem ser explicadas pelas diferenças na duração do tratamento, dose e via de administração.

5.2- PROTOCOLO II: TRATAMENTO AGUDO

5.2.1- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na resposta cataléptica em rato.

A catalepsia em animais de laboratório é definida como uma postura anormal por um período prolongado. Quando um animal normal é colocado em uma postura incomun, este tem a tendência de mudar sua posição dentro de segundos. Um animal cataléptico, por outro lado, manterá esta postura por um período de tempo maior (SANBERG et al., 1988).

A catalepsia é de grande interesse científico devido a sua similaridade com os sintomas de desordens neuropsiquiátricas humanas como a doença de Parkinson, a esquizofrenia catatônica e danos cerebrais envolvendo partes dos ganglios basais (SANBERG et al., 1988).

Estudos mostram que a ocorrência de alterações no sistema muscarínico poderia ser um fator contribuinte para esquizofrenia (DEAN & CROOK, 1996; CROOK ET AL, 2001; YEOMANS, 1995). Além disso, pesquisas recentes nesta área da farmacologia revelaram que compostos com propriedades de agonistas muscarínicos podem ter efeitos terapêuticos úteis no tratamento de doenças psiquiátricas, como a esquizofrenia (BYMASTER et al., 1999; FELDER et al., 2001) embora o mecanismo de ação dessas drogas não esteja totalmente esclarecido.

Um aumento na transmissão dopaminérgica subcortical também seria uma das principais hipóteses para explicar a base molecular da esquizofrenia (CARLSSON et al., 2001; WEINBERGER, 1987; SEEMAN, 1987).

Drogas colinomiméticas podem antagonizar alguns dos efeitos comportamentais de agonistas dopaminérgicos e realçar os efeitos de antagonistas dopaminérgicos (SOUSA et al., 2001).

Nós demonstramos na Tabela 1, que o efeito cataléptico induzido pelo pimozida (um antagonista dopaminérgico D2), sozinho foi mantido mesmo após o pré-tratamento com carbacol e pilocarpina, um agonista colinérgico M2 e M1, respectivamente. Entretanto, esses resultados não foram observados após a administração de SCH 23390, um antagonista dopaminérgico D1, mostrando assim o envolvimento dos receptores D2.

De fato, Ushijima et al., (1997) sugeriram que a catalepsia induzida pelo SCH 23390 pode ser parcialmente mediada pelos receptores pós-sinápticos D2, enquanto que a catalepsia induzida pelo haloperidol, antagonista do receptor D2 como a pimozida, não envolve a ativação de receptores D1.

Ushijima et al., (1995) também mostraram que a catalepsia induzida pelo SCH 23390 era afetada por um tratamento crônico com haloperidol, mas o mesmo não ocorria com a catalepsia induzida por haloperidol quando ocorria um tratamento crônico com SCH 23390, sugerindo que a catalepsia induzida por SCH 23390 poderia ser mediada pelo bloqueio indireto do receptor D2 através do bloqueio do receptor D1.

Dados na literatura mostram que a pilocarpina não possui a capacidade de estimular o metabolismo de fosfoinositídeos, mas mostra-se tão eficaz quanto a acetilcolina na inibição da adenilato ciclase estimulada pela dopamina no cérebro de rato. Essas diferenças farmacológicas podem ser atribuídas a ações em diferentes subtipos de receptores. Assim, a diferença entre um subtipo do receptor colinérgico que é ligado ao sistema dopaminérgico D1 e outro subtipo de receptor colinérgico que é ligado ao sistema dopaminérgico D2 pode constituir uma possível explicação para a habilidade da pilocarpina de interagir de maneira diferente com o SCH 23390 e a pimozida (UNDIE & FRIEDMAN, 1993).

De fato, no presente trabalho a pilocarpina não alterou a catalepsia induzida pela pimozida e diminuiu o efeito cataléptico do SCH 23390, um antagonista D1.

Nossos resultados mostram que a atropina, um antagonista não seletivo M1 e M2, aboliu o efeito cataléptico do SCH 23390 e da pimozida, antagonistas

dopaminérgico D1 e D2, respectivamente. A pirenzepina, um antagonista colinérgico M1, diminuiu significativamente a resposta cataléptica induzida pela pimozida e SCH 23390. A maior dose da pirenzepina (10 mg/kg) bloqueou completamente este efeito (Tabela 2), sugerindo que a resposta dos receptores dopaminérgicos D1 e D2 podem ser mediados por receptores colinérgicos M1 e M2. Estudos anteriores sobre os efeitos da pirenzepina na liberação estriatal da dopamina sugerem que os receptores colinérgicos do tipo M1 podem facilitar essa transmissão dopaminérgica estriatal (XU et al., 1989; DE KLIPPEL et al., 1993).

O efeito cataléptico induzido por antagonistas dopaminérgicos parece envolver, predominantemente outros sistemas tais como o sistema colinérgico. Assim, os receptores dopaminérgicos D1 e D2 podem agir independentemente influenciando o sistema colinérgico (receptores colinérgicos M1 e M2), como os sistemas NMDA e opióide (USHIJIMA et al., 1997).

A apomorfina, um agonista dopaminérgico não seletivo D1 e D2, tem uma afinidade maior pelos subtipos do receptor dopaminérgico D2-símile (D2, D3, D4) do que para os subtipos do receptor dopaminérgico D1-símile (D1, D5). Estudos farmacológicos mostram claramente que, com o aumento das doses da apomorfina ocorre um recrutamento de receptores dopaminérgicos com uma menor afinidade pelos receptores dopaminérgicos D1-símile (RAMPIN et al., 2003). Baixas doses de apomorfina ativam, preferencialmente, receptores dopaminérgicos D2 pré-sinápticos, resultando em uma inibição da liberação de dopamina e conseqüente diminuição de sua síntese, enquanto que doses mais elevadas desta droga estimulam os receptores pós-sinápticos (USHIJIMA et al., 1997).

Nossos resultados mostram que a apomorfina 1mg/kg diminuiu a catalepsia induzida pela pilocarpina, sugerindo que o efeito inibitório desta dose na resposta cataléptica pode ser mediado pela ativação colinérgica secundária a estimulação da transmissão dopaminérgica.

A resposta cataléptica induzida pela pilocarpina foi mantida após o pré-tratamento com clozapina, uma droga antipsicótica recomendada para os pacientes que não respondem às drogas tradicionais, sendo usada como droga antipsicótica

de primeira escolha em muitos países. A clozapina não melhora os sinais extrapiramidais nos pacientes ou causa catalepsia nos ratos. Estes sinais extrapiramidais são aliviados, frequentemente, por benzotropina. Isso pode ser devido a um bloqueio (à longo prazo), dos receptores da acetilcolina pela clozapina produzindo uma hiperatividade colinérgica, levando a um aumento dos sinais extrapiramidais. A velocidade com que estes sinais emergem, entretanto, não foi explicada ainda. Além disso, é possível que o pré-tratamento com clozapina possa ter alterado as propriedades dos receptores da dopamina nos pacientes psicóticos (WADEMBERG & SEEMAN, 1999).

Trabalhos anteriores mostram que ocorre uma rápida liberação de clozapina radioativa dos receptores dopaminérgicos D2. O raclopride, um antagonista dopaminérgico com alta afinidade pelos receptores D2 e muito usado para o estudo dos efeitos crônicos e agudos do uso de bloqueadores dopaminérgicos D2 em ratos (ERICSON et al., 1996), é muito mais potente em deslocar clozapina radioativa destes receptores se estes forem pré-tratados com clozapina não radioativa (WADEMBERG & SEEMAN, 1999).

No presente trabalho altas doses de mazindol (10 e 20 mg/kg), diminuíram o efeito causado pela pilocarpina quando comparado ao controle, sugerindo que a resposta colinérgica do receptor M1 pode ser mediada por receptores dopaminérgicos. Dados na literatura também sugerem que a liberação de acetilcolina é controlada pelos receptores dopaminérgicos do tipo D2 (CLOSSE et al., 1995).

5.2.2- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na atividade locomotora em rato.

A acetilcolina exerce um importante papel modulatório no sistema nervoso central. Evidências mostram que a atividade colinérgica pode modular a transmissão dopaminérgica central, entretanto, a natureza desta interação e os receptores envolvidos permanecem indefinidos (GEBER et al., 2001).

Estudos anteriores sugerem a existência de um complexo balanço entre os sistemas colinérgico e dopaminérgico nos ganglios basais e o desequilíbrio deste balanço poderia contribuir no surgimento das desordens do movimento como o parkinsonismo. Está bem estabelecido que a síndrome extra-piramidal resulta de um distúrbio no balanço dopamina-acetilcolina nos ganglios basais (USHIJIMA et al., 1997).

As drogas anticolinérgicas estimulam a ativação motora e possuem efeitos de sinergismo com os estimulantes psicomotores. Por outro lado, os agonistas colinérgicos antagonizam os efeitos comportamentais com a ativação dos neurônios dopaminérgicos. Os agonistas dopaminérgicos exercem ações inibitórias sobre os neurônios colinérgicos no estriado que podem ser impedidas por antagonistas dopaminérgicos D2 (SOUSA et al., 2001).

Sob circunstâncias normais, a dopamina, atua como o transmissor inibitório, regulando a atividade de neurônios colinérgicos no neostriado. Drogas neurolépticas, como o haloperidol, reduzem o controle inibitório da dopamina na atividade neuronal colinérgica através do bloqueio de receptores dopaminérgicos nas células colinérgicas, causando um hiperatividade do neurônio colinérgico, que transmitem, por sua vez, mensagens anormais ao tálamo e a outras áreas que controlam a função motora. (USHIJIMA et al., 1997).

A dopamina pode exercer influências positivas e negativas na transmissão colinérgica estriatal através dos receptores D1 e D2, que exercem ações estimulatórias e inibitórias, respectivamente (GERBER et al., 2001). A estimulação dos receptores dopaminérgicos D1 exerce um importante papel sobre o

comportamento, controle do movimento e na memória. Muitas destas funções dependem do sistema dopaminérgico no estriado e do sinergismo entre os receptores D1 e D2 (MORATALLA et al., 1996).

Os receptores dopaminérgicos foram implicados nas respostas comportamentais geradas por drogas antipsicóticas. Tais drogas incluem os estimulantes psicomotores, que aumentam a atividade motora e as drogas neurolépticas, que são dadas aos pacientes com esquizofrenia para melhora dos sintomas (MORATALLA et al., 1996).

Nós demonstramos na Tabela 4, que a atividade locomotora foi mantida após o pré-tratamento com pilocarpina, um agonista colinérgico M1, e que esta atividade diminuiu após a administração do carbacol (5 e 10 mg/kg), um agonista colinérgico M2. Entretanto, este efeito do carbacol foi impedido após a administração da pimozida, um antagonista dopaminérgico D2, ou após a administração do SCH 23390, um antagonista dopaminérgico D1. A resposta motora da pilocarpina foi completamente bloqueada pelo pimozida e diminuída de maneira significativa pelo SCH 23390. Como foi descrito no tópico anterior a pilocarpina pode atuar em diferentes subtipos de receptores o que poderia constituir uma possível explicação para a habilidade da pilocarpina de interagir de maneira diferente com o SCH e a pimozida (UNDIE & FRIEDMAN, 1988).

Drogas anticolinérgicas, incluindo a atropina, aumentam a atividade locomotora (SIPOS et al., 1999). Por outro lado, mostrou-se (BRUDZYNKI et al., 1991) que injeções intracerebrais de carbacol diminuem significativamente a atividade locomotora, e estes efeitos foram invertidos pelo pré-tratamento com atropina mas não pela pirenzepina, sugerindo a participação predominante de receptores muscarínicos M2. Ushijima (1997) relatou que as respostas muscarínicas do receptor M2 podem ser mediadas por ambos os receptores dopaminérgicos D1 e D2.

Nossos resultados mostram (Tabela 5) que a atropina, um antagonista colinérgico não seletivo M1/M2 (dependendo da dose), e a pirenzepina, um antagonista colinérgico M1, sozinhos, não alteram a atividade locomotora quando

comparado ao controle. O efeito da atropina foi parcialmente e completamente revertido pela pimozida e SCH 23390, respectivamente, enquanto o efeito da pirenzepina foi parcialmente e completamente revertido pelo SCH 23390 e pimozida, respectivamente.

Sabe-se que uma ativação geral de receptores centrais dopaminérgicos, pela apomorfina, um agonista não-seletivo D1/D2, ou L-DOPA, resulta em sedação seguido por uma estimulação locomotora nos ratos. Este efeito bifásico é resultante da ativação de auto-receptores inibitórios e receptores pós-sinápticos dopaminérgicos, respectivamente. Estes efeitos são provavelmente mediados por receptores da família D2, principalmente pelos receptores D2 e D3. Os receptores cerebrais do tipo D1 são pós-sinápticamente localizados, e acredita-se que estes receptores, geralmente, estão ligados à estimulação da atividade locomotora atuando parcialmente com os receptores pós-sinápticos dopaminérgicos D2 e D3 (SALMI et al., 2000).

Com base nos dados da literatura (CARLSSON, 1975; CONSTENTIN et al., 1974; DI CHIARA et al., 1976), verificou-se que determinados efeitos da apomorfina como movimentos esterotipados, verticalização e rotação resultam da estimulação dos receptores D1 e são antagonizados por determinados neurolépticos que bloqueiam, preferencialmente, este tipo de receptor. Outros efeitos da apomorfina como a hipotermia e hipomotilidade correspondem aos receptores D2 e são antagonizados por neurolépticos que bloqueiam esse receptor (PUECH, ET AL. 1981).

Evidências indicam que a sensibilização comportamental tem uma base neuronal. Alterações neurobiológicas foram relatadas juntamente com essa sensibilização. A habilidade dos psicoestimulantes em aumentar a liberação de dopamina nos terminais nervosos, tem sido bastante documentada. Este aumento pode não ser secundário a um aumento comportamental, caso o aumento na liberação de dopamina não seja observado em uma parte do estriado. Embora esse aumento na liberação de dopamina não seja sempre observado, as alterações em outras partes do sistema dopaminérgico como no transportador de dopamina (TDA), nos autoreceptores, na enzima tirosina hidroxilase, na densidade dos receptores

pós-sinápticos e no transdução de sinal pós-sináptica foram relatadas (OHMORI et al., 2000).

Nossos resultados (Tabela 6) mostraram que a apomorfina, sozinha, diminuiu significativamente a atividade locomotora. Este efeito foi potencializado pela pilocarpina, sugerindo um sinergismo entre a acetilcolina e a dopamina. A atividade locomotora diminuiu significativamente após o pré-tratamento com clozapina (5 e 10 mg/kg) sendo potencializado pela pilocarpina. Por outro lado, a clozapina 1 mg/kg não alterou este efeito e foi bloqueado pela pilocarpina.

Trabalhos anteriores mostraram uma rápida liberação da clozapina, na forma radioativa, dos receptores dopaminérgicos D2 (WANDENBERG & SEEMAN, 1999). Um tratamento crônico com neurolépticos clássicos, tal como o haloperidol, leva a uma tolerância e hipersensibilidade à agonistas dopaminérgicos, juntamente com um aumento no número de receptores dopaminérgicos do tipo D2. Ao contrário, os neurolépticos atípicos, como a clozapina, produzem menos efeitos no sistema dopaminérgico e quando esses efeitos se manifestam ocorrem de maneira seletiva no sistema dopaminérgico mesolímbico (ERICSON et al., 1996).

O efeito comportamental das doses mais baixas do mazindol (5 mg/kg) foi inibido pela pilocarpina. Já as doses mais elevadas deste agonista dopaminérgico indireto, não alteram o efeito da atividade motora quando associado a pilocarpina, sugerindo que o efeito da pilocarpina pode ser mediado pela ativação do receptor D2.

O efeito do mazindol (5 mg/kg) pode estar relacionado com a inibição da dopamina causada pelo pilocarpina, que provavelmente liga-se aos receptores D2. A pilocarpina possui a capacidade de inibir a adenilato ciclase estimulada pela dopamina, funcionando como uma droga antidopaminérgica. Entretanto, alguma influência do sistema colinérgico também pode ocorrer como o bloqueio dos receptores pós-sinápticos da acetilcolina provocado pela atropina, usada no pré-tratamento (SOUSA et al., 2001).

CONCLUSÕES

6-CONCLUSÕES

6.1- PROTOCOLO I: TRATAMENTO CRÔNICO

6.1.1- Efeitos da interação dopaminérgica e colinérgica no comportamento (campo aberto e catalepsia) em rato.

- A pimozida e o carbacol, sozinhos ou associados, causaram um aumento da resposta cataléptica e uma diminuição da atividade locomotora.

- A atropina, sozinha, não causou nenhuma mudança na atividade motora e catalepsia. A pimozida reverteu parcialmente o efeito da atropina.

- É possível que a atenuação dos efeitos do mazindol sobre atividade locomotora pela atropina, seja devido a alguma influência do sistema colinérgico, provavelmente devido ao bloqueio dos receptores pós-sinápticos da acetilcolina pela atropina.

- De forma geral, os resultados deste protocolo sugerem que a ação cataleptogênica é mediada por um mecanismo dopaminérgico, provavelmente envolvendo os receptores D2, mas que é altamente susceptível à interações com o sistema colinérgico.

6.1.2- Efeitos da interação dopamina-acetilcolina sobre os receptores muscarínicos e dopaminérgico em corpo estriado em rato.

- O carbacol, nas menores doses, aumentou a densidade de receptores D1-símile e não provocou alteração na densidade dos receptores D2-símile. Na presença da pimozida este fato persistiu. Estes dados podem indicar que o carbacol tem uma ação seletiva sobre os receptores D1-símile.

- A pimozida aumentou a densidade de receptores D1-símile no corpo estriado.

- A atropina causou um aumento nos receptores D1 e uma diminuição dos receptores D2. Na presença do mazindol este efeito persistiu demonstrando que a atividade antagonista muscarínica pode ter induzido a uma *upregulation* ocorrida nos receptores dopaminérgicos D1 no grupo tratado pela atropina.

- O mazindol aumentou os receptores D1-símile podendo indicar que o mazindol ao aumentar os níveis de dopamina ocasionou uma interação desta com receptores dopaminérgicos pré-sinápticos.

- A atropina causou uma *upregulation* dos receptores muscarínicos, confirmando o conceito de que a densidade dos receptores neuronais é aumentada quando sua interação com o neurotransmissor é reduzida.

- O mazindol aumentou o *binding* de 3H-NMS no corpo estriado, confirmado com a associação com a atropina, mostrando a interação entre os sistemas dopaminérgico e colinérgico e sugerindo que as drogas de ambos os sistemas podem interagir de maneira sinérgica.

6.2- PROTOCOLO II-TRATAMENTO AGUDO

6.2.1- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na resposta cataléptica em rato.

- A catalepsia induzida por SCH 23390 pode ser mediada pelo bloqueio indireto do receptor D2 através do bloqueio do receptor D1.

- A atropina e a pirenzepina aboliram e diminuíram o efeito cataléptico do SCH 23390 e da pimozida, respectivamente, sugerindo que a resposta dos receptores dopaminérgicos D1 e D2 pode ser mediada por receptores colinérgicos M1 e M2.

- O efeito inibitório da apomorfina na resposta cataléptica pode ser mediado pela ativação colinérgica secundária a estimulação da transmissão dopaminérgica.

- O bloqueio dos receptores da acetilcolina pela clozapina produz uma hiperatividade colinérgica.

6.2.2- Efeitos dos sistemas colinérgico e dopaminérgico na atividade locomotora em rato.

- A pilocarpina pode atuar em diferentes subtipos de receptores.

- O efeito da pilocarpina pode ser mediado pela ativação do receptor D2. Entretanto, alguma influência do sistema colinérgico também pode ocorrer.

- A diminuição da atividade locomotora causada pela apomorfina sugere um sinergismo entre a acetilcolina e a dopamina.

6.3- CONCLUSÃO GERAL

- O presente trabalho sugere, de maneira geral, que existe uma relação entre os receptores muscarínicos M1 e M2 com os receptores dopaminérgicos D1 e D2.
- O estudo da interação de drogas entre os sistemas dopaminérgico e colinérgico é importante para explicar a etiologia de várias doenças neuropsiquiátricas tais como o Parkinsonismo e Alzheimer, nas quais claramente ocorre um desequilíbrio entre esse dois sistemas. O presente trabalho mostra que a interação entre esses sistemas pode ocorrer no mesmo sentido ou em sentido opostos, como consequência de fatores como seletividade da droga pelo receptor e dose utilizada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, M.R.; BRANDON, E.P.; CHARTOFF, E.H.; IDZERDA, R.L; DORSA, D.M.; McKNIGHT, S. Loss of haloperidol induced gene expression and catalepsy in protein kinase A-deficient mice. **Neurobiology** v. 94, p. 12157-12161, 1997.

AHLENIUS, S.; HILLEGAART, V. Involvement of extrapyramidal motor mechanisms in the suppression of locomotor mechanisms in the suppression of locomotor activity by antipsychotic drugs. a comparison between the effects produced by pre and post-synaptic inhibition of dopaminergic neurotransmission. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 24, p. 1409-1415, 1986.

AJIMA, A.; YAMAGUCHI, T.; KATO, T. Modulation of acetylcholine release by D1, D2 dopamine receptors in rat striatum under freely moving conditions. **Brain Res.** v. 518, p. 193-198, 1990.

ALBURGES, M.E.; NARANG, N.; JOHNSON, C.; WAMSLEY, J.K. Dose-dependent changes in the rat dopaminergic receptor system after chronic administration of cocaine. **Soc. Neurosc.** v. 18, p. 1079, 1992.

AMARA, S.G.; KUHAR, M.J. Neurotransmitter transporters. **Annu. Rev. Neurosci.** v. 15, p. 73-93, 1993.

ANANTH, J.; BURGOYNE, K.S.; GADASALLI, R.; AQUINO, S. How do the atypical antipsychotics work? **Journal of Psychiatry & Neuroscience** v. 26, p. 385-394, 2001.

ANDERSEN, P.H.; GRONVALD, F.C.; HOHLWEG, R.;HANSEN, L.B.; GRUDDAL, E.; BRAESTRUP, C.; NIELSEN, E.B. NNC-112, NNC-687 AND NNC-756, new selective and highly potent dopamine D1 receptor antagonists. **Eur. J. Pharmacol.** v. 219, p. 45-52, 1992.

ANDERSOM, D.C.; KING, S.C.; PARSONS, S.M. Pharmacological characterization of the acetylcholinergic transport system in purified torpedo synaptic vesicles. In . Katzung, B.G. (ed). **Farmacologia Básica e Clínica**. 6^a ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, cap. 6, p.57-70, 1995.

ARAKAWA, O.; IKEDA, T. Apomorphine effect on single and paired rat open-field behavior. **Physiology & Behavior** v. 50, p. 189-194, 1991.

ARNT, J.; HYTTEL, J.; PERREGAARD, J. Dopamine D1 receptor agonists combined with the selective D2 agonist quinpirole facilitate the expression of oral stereotyped behavior in rats. **Eur. J. Pharmacol.** v. 133, p. 137-145, 1987.

BAST, T.; ZHANG, W.N.; HEIDBREDER, C.; FELDON, J. Hyperactivity and disruption of prepulse inhibition induced by N-methyl-D-aspartate stimulation of the ventral hippocampus and the effects of pretreatment with haloperidol and clozapine. **Neuroscience** v. 103, p. 325-335, 2001.

BEM-BARAK, J.; DUDAI, Y. Scopolamine induces an increase in muscarinic receptor level in rat hippocampus. **Brain Res.** v. 193, p. 309-313, 1980.

BERSTEIN, G.; HAGA, T. Molecular aspect of muscarinic receptors. In. Osborne, N.N. **Current aspect of the neurosciences I**. New York. Macmillian Press, p. 245-284, 1990.

BERTHOLINI, G.; LLOYD, K.G. Biochemical effects of neuroleptic drugs. **Psychotropic agents I**, New York, v. 55, n. 1, p. 193-212, 1980.

BERTORELLI, R.; CONSOLO, S. D1 and D2 dopaminergic regulation of acetylcholine release from striata of freely moving rats. **J Neurochem.** v. 54, p. 2145-2148, 1990.

BHATTACHARYA, S.K; SEM, A.P. Effects of muscarinic receptor agonists and antagonists on dopamine-mediated behavioural paradigms. **Journal of Neural Transmission** v. 84, p. 241-246, 1991.

BONNER, T.I.; BUCKLEY, N.J.; YOUNG, A.C.; BRANN, M.R. Identification of a family of muscarinic acetylcholine receptor genes. **Science** v. 237, p. 527-532., 1987.

BOYSON, S.J.; MC GONICLE, P.; LUTHIN, G.R.; WOLFE, B.B.; MOLINOFF, P.B. Effects of chronic administration of neuroleptic and anticholinergic agents on densities of D2 dopamine and muscarinic cholinergic receptors in rat striatum. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 244, p. 987-993, 1988.

BROSE, N. Synaptotagmin. A calcium sensor on the synaptic vesicle surface. **Science** v. 256, p. 1021, 1992.

BROWN, J.H.; TAYLOR, P. **Pharmacological basis of therapeutics.** In. Hardman, J.G.; Limbird, L.E. (eds). New York. McGraw-Hill, p. 141-160, 1996.

BRUDZYNKI, S.M.; McLACHLAN, R.S.; GIRVIN, J.P. Involvement of M1 and M2 muscarinic receptors of the basal forebrain in cholinergically mediated changes in the rat locomotion. **Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry** v. 15, p. 279-284, 1991.

BUNNEY, B.S.; AGHAJANIAN, G.K. Dopaminergic influence in the basal ganglia. evidence for striatonigral feedback regulation. In. Yahr, M. (ed) **The basal ganglia**, New York, Raven, p. 249-267, 1976.

BURKE, R.E.; GREENBAUM, D. Cholinesterase and succinic dehydrogenase in the central nervous system of the dog. **J. Physiol. (Lond)** v. 114, p. 296-305, 1987

BYMASTER, F.P.; SHANNON, H.E.; RASMUSSEN, K.; DELAPP, N.W.; WARD, J.S.; CALLIGARO, D.O.; MITCH, C.H.; WHITESITT, C. Potential role of muscarinic receptors in schizophrenia. **Life Sci.** v; 64, n. 6-7, p. 527-534, 1999.

CARLSSON, A. Receptor mediated control of dopamine metabolism. In. Usdin, E.; Bunney, W. E. (eds). **Pre- and post-synaptic receptors.** New York, Marcel Dekke, 1975.

CARLSSON, A.; WATERS, N.; HOLM-WATERS, S.; TEDROFF, J.; NILSSON, M.; CARLSSON, M.L. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia new evidence. **Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.** v. 41, p. 237-260, 2001.

CHRISTENSEN, A.V.; ARNY, J.; LARSEN, J.J.; SVENDSEN, O. Pharmacological effects of specific dopamine D1 antagonist SCH 23390 in comparison with neuroleptics. **Life Science** v. 34, p. 1529-1540, 1984.

CLOSSE, A.; FRICK, W.; MARKSTEIN, R.; MAURER, R.; NORDMANN, R. [3H] 205-501, a non-catechol dopaminergic agonist, labels selectively and with high affinity dopamine D2 receptors. **J. Neural Transm.** v. 62, p. 231-248, 1985.

CONSOLO, S.; CALTAVUTURO, C.; COLLI, E.; RECCHIA, M.; DI CHIARA, G. Different sensitivity of *in vivo* acetylcholine transmission to D1 receptor stimulation in shell and core of nucleus accumbens. **Neuroscience** v. 89, p. 1209-1217, 1999.

CONSOLO, S.; GIROTTI, P.; RUSSI, G.; DI CHIARA, G. Endogenous dopamine facilitates striatal *in vivo* acetylcholine release by acting on D1 receptors localized in the striatum. **J. Neurochem.** v. 59, p. 1555-1557, 1992.

CONSTANTIN, J.; SCHWARTZ, J.C.; BOULOU, R. Dopamine thermoregulation étude pharmacologique. **J. Pharmacol.** (Paris) v. 5, p. 455-456, 1974.

COSTALL, B.; NAYLOR, R.J. Neuroleptic and non-neuroleptic catalepsy. **Arzneimittelforschung**, v. 23, p. 674-683, 1973.

COSTALL, B.; NAYLOR, R.J. On catalepsy and catatonia and the predictability of the catalepsy test for neuroleptic activity. **Psychopharmacology**, v. 13, p. 233-241, 1974.

COSTALL, B.; NAYLOR, R.J.; OLLEY, J.E. Catalepsy and circling behavior after intracerebral injections of neuroleptic, cholinergic and anticholinergic agents into the caudate-putamen, globus pallidus and substantia nigra of rat brain. **Neuropharmacology** v. 11, p. 645-663, 1972.

COSTALL, B.; OLLEY, J.E. Cholinergic- and neuroleptic-induced catalepsy. modification by lesions in the caudate-putamen. **Neuropharmacology**, v. 10, p. 581-594, 1971a.

COSTALL, B.; OLLEY, J.E. Cholinergic- and neuroleptic-induced catalepsy. modification by lesions in the globus pallidus and substantia nigra. **Neuropharmacology**, v. 10, p. 581-594, 1971b.

CREESE, I.; BURT, D.R.; SNYDER, S.H. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies and antipsychotic drugs. **Science** v. 192, p. 481-483, 1976.

CREESE, I.; SNYDER, S.H. Chronic neuroleptic treatment and dopamine receptor regulation. **Adv. Biochem. Psychopharmacol.** v. 24, p. 89-94, 1980.

CROOK, J.M.; TOMASKOVIC-CROOK, E.; COPOLOV, D.L.; DEAN, B. Low muscarinic receptor binding in prefrontal cortex from subjects with schizophrenia. a study of Brodmann's areas 8, 9, 10, and 46 and the effects of neuroleptic drug treatment. **Am. J. Psychiatry** v. 158 (6), p. 918-925, 2001.

CUBEDDU, L.X.; HOFFMAN, I.S.; TALMICIU, R.K.; DILIBERTO, P.; LOVENBERG, T. Carbachol-phorbol ester interactions at muscarinic receptors modulating dopamine release. **Neurosci. Lett.** v. 131, p. 245-248, 1991.

DAMSMA, G.; ROBERTSON, G.S.; THAM, C.; FIBIGER, H.C. Dopaminergic regulation of striatal acetylcholine release. importance of D1 and N-methyl-d-aspartate receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 259, p. 1064, 1991.

DAMSMA, G.; THAM, C.S.; ROBERTSON, G.S.; FIBIGER, H.C. Dopamine D1 receptors stimulation increases striatal acetylcholine release in the rat. **Eur. J. Pharmac.** v. 186, p. 335-338, 1990.

DAVIS, K.L.; HOLLISTER, L.E.; BERGER, P.A.; BARCHAS, J.D. Cholinergic imbalance hypotheses of psychoses and movement disorders strategies for evaluation. **Psychopharmacol. Commun** v.1, p. 533-543, 1975.

DE KLIPPEL, N.; SARRE, S.; EBINGER, G.; MICHOTTE, Y. Effect of M1- and M2-muscarinic drugs on striatal dopamine release and metabolism. an in vivo microdialysis study comparing normal and 6-hydroxydopamine-lesioned rats. **Brain Res.** v. 630, n. 1-2, p. 57-64, 1993.

DEAN, B.; CROOK, J.M.; OPESKIN, K.; HILL, C.; KEKS, N.; COPOLOV, D.L. The density of muscarinic M1 receptors is decreased in the caudate-putamen of subjects with schizophrenia. **Mol. Psychiatry.** v.1, p. 54-58, 1996.

DI CHIARA, G.; PORCEDDU, M.L.; VARGIU, L.; ARGOLAS, A.; GESSA, G.L. Evidence for dopamine receptors mediating sedation in the mouse brain. **Nature** v. 264, p. 564-568, 1976.

DOMBROWSKI, A.M.; JERKINS, A.A.; KAUFAMAN, F.C. Muscarinic receptor binding and oxidative activities in ytheadult rat superior cervical ganglion effects of 6-hydroxydopamine and nerve growth factor. **J. Neuroscience** v. 3, p. 1963-1970, 1983.

DURKIN, T.P.; HASHM-ZADEH, H.; MANDEL, P.; KEMPF, J.; ABEL, A. Genotypic variation in the dopaminergic inhibitory control of striatum and hippocampal cholinergic activity in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 19, p. 63-70, 1983.

EHLERT, F.J.; ROESKE, W.R.; YAMAMURA, H.I. Molecular biology and brain distribution of subtypes of the muscarinic receptor. In. Bloom, F.E. & Kupfer, D.J. **Psychopharmacol.**, cap. 10, p. 111-124, New York. Raven Press, Ltda., 2000.

ELLENBROEK, B.A.; ARTZ, M.T.; COOLS, A.R. The involvement of dopamine D1 and D2 receptors in the effects of the classical neuroleptic haloperidol and atypical neuroleptic clozapine. **Eur. J. Pharmacol.** v. 196, p. 103-108, 1991.

ELWAN, M.S.; SAKURAGAWA, N. Characterization of [3H]mazindol binding sites in cultured monkey amniotic epithelial cells. **Neurosci Lett.** v. 279, p. 37-40, 2000.

ERICSON, H.; RADESATER, A.C.; SERVIN, E.; MAGNUSSON, O.; MOHRINGE, B. Effects of intermittent and continuous subchronic administration of raclopride on motor activity, dopamine turnover and receptor occupancy in the rat. **Pharmacol. Toxicol.** v. 79, n. 6, p. 277-286, 1996.

EZRIN-WATERS, C.; MULLER, P.; SEEMAN, P. Ctalepsia induced by morphine or haloperidol effects of apomorphine and anticholinergic drugs. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** v. 54, p. 516-519. 1976.

FELDER, C.C.; PORTER, A.C.; SKILLMAN, T.L.; ZHANG, L.; BYMASTER, F.P.; NATHANSON, N.M.; HAMILTON, S.E.; GOMEZA, J.; WESS, J.; MCKINZIE, D.L. Elucidating the role of muscarinic receptors in psychosis. **Life Sci.** v. 68, n. 22-23, p. 2605-2613, 2001.

FIELDER, E.P.; MARKS, M.J.; COLLINS A. Postnatal development of cholinergic enzymes and receptors in mouse brain. **J. Neurochem.** v. 49, p. 983-990, 1987.

FRYER, A.D.; EL-FAKAHANY, E.E. Identification of three muscarinic receptor subtypes in rat lung using binding studies with selective antagonists. **Life Sci.** v. 47, p. 611-618, 1990.

GERBER, D.J.; SOTNIKOVA, T.D.; GAINETDINOV, R.R.; CARON, G.; TONEGAWA, S. Hyperactivity, elevated dopaminergic transmission, and response to amphetamine in M1 muscarinic acetylcholine receptor deficient. **Neurobiology** v. 98, p. 15312-15317, 2001.

GOMEZA, J.; SHANNON, H.; KOSTENIS, E.; FELDER, C.; BRODKIN, L.Z.; GRINBERG, A.; SHENG, H.; WESS, J. Pronounced pharmacologic deficits in M2 muscarinic acetylcholine knockout mice. **Neurobiology**, v. 96, p.1692-1697, 1998.

GOMEZA, J.; ZHANG, L.; KOSTENIS, E.; FELDER, C.; BYMASTER, F.; BRODKIN, J.; HARLAN, S.; XIA, B.; DENG, C.; WESS, J. Enhancement of D1 dopamine receptor-mediated locomotor stimulation in M4 muscarinic acetylcholine receptor knockout mice. **Neurobiology** v. 96, p. 10483-10488, 1999.

GORGERTY, J.H.; PENBERTHY, C.; IORIO, L.C.; TRAPOLD, J.H. Pharmacological analysis of a new anorexic substitute. 5-hydroxy-5-(4'-chlorophenyl)-2,3-dihydro-5Himidazo(2,1-a)isoindole (mazindol). **Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.** v. 214, p. 285-307, 1975.

GRACE, A.A. Cortical regulation of subcortical dopamine systems and its possible relevance to schizophrenia. **J. Neural. Transm.** v. 91, p. 111-134, 1993.

GROSSMAN, S.P. Eating or drinking elicited by direct adrenergic or cholinergic stimulation of hypothalamus. **Science** v. 132, p. 301-302, 1960.

HADCOK, J.R.; MALBON, C.C. Regulation of receptor expression by agonists transcriptacional and post-transcriptional controls. **Trends Neurol. Sci.** v.14, p. 242-247, 1991.

HAMAMAURA, T.; AKIYAMA, K.; AKIMOTO, K.; KASHIHARA, K.; OKUMURA, K.; UJIKE, H.; OTSUKI, S. Co-administration of either a selective D1 or D2 dopamine antagonist with methamphetamine prevents methamphetamine-induced behavioral sensitization of neurochemical changes, studied by *in vivo* intracerebral dialysis. **Brain Res.** v. 546, p. 40-46, 1991.

HARTGRAVES, S.L.; KELLY, P.H. Role of mesencephalic reticular formation in cholinergic-induced catalepsy and anticholinergic reversal of neuroleptic-induced catalepsy. **Brain Res.** v. 307, p. 47-54, 1984.

HATTORI, T.; SINGH, V.K.; McGEER, P.L.; McGEER, E.G. Immunohistochemical localization of choline acetyltransferase containing neostriatal neurons and their relationship with dopaminergic synapse. **Brain Res.** v. 102, p. 164-173, 1976.

HEIKKILA, R.E.; CABBAT, S.F.; MANZINO, L.; RONALD, G.B.; HOULIHAN, W.J. Unexpected differences between mazindol and its homologs on biochemical and behavioral responses. **Amer. Soc. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 217, p. 833-839, 1981.

HOFFMAN, I.S.; TALMACIU, R.K.; AQUINO, R.; CUBEDDU, L.X. Differential effects of muscarinic receptor agonists and phorbol ester on muscarinic and D2-dopamine release-modulatory receptors. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 278, p. 662-668, 1996.

HOSS, W.; ELLIS, J. Muscarinic receptors subtypes in the central nervous system. **Rev. Neurobiol.** v. 26, p. 151-199, 1985.

HYTTEL, J. Functional evidence for selective dopamine D1 receptor blockade by SCH 23390. **Neuropharmacology**, v. 23, p. 1395-1401, 1984.

JAMES, M.K.; CUBEDDU, L.X. Frequency-dependent muscarinic receptor modulation of acetylcholine and dopamine release from rabbit-striatum. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 229, p. 98-104, 1983.

JANOWSKY, D.S.; EL-YOUSEF, M.K.; DAVIS, J.M.; SEKERKE, H.J. A cholinergic-adrenergic hypothesis of mania and depression. **Lancet** v. 1, p.632-635, 1972.

JANOWSKY, D.S.; EL-YOUSEF, M.K.; DAVIS, J.M.; SEKERKE, H.J. Prasympathetic supression of manic symptoms by physostigmine. **Arch. Gen. Psychiatry** v. 28, p. 542-545, 1973.

JANSSON, C.C.; KUKKONEN, J.; AKERMAN, K.E.O. Muscarinic receptor-linked elevation of cAMP on SH-SY-5Y neurblastoma cells is mediated by Ca⁺² and protein kinase C. **Biochem. Biophys. Acta.** v., 1085, p. 255-260, 1991.

JAVITCH, J.A.; BLAUSTEIN, R.O.; SNYDER, S.H. [3H]-Mazindol biding associated with neuronal dopamine and norepinephrine uptake sites. **Mol. Pharmacol.** v. 26, p. 35-44,1984.

JONES, H.M; PILOWSKY, L.S. Dopamine and antipsychotic drug action revisited. **The Royal College of Psychiatrists** v. 181, p. 271-275, 2002.

JORGENSEN, H.A.; ANDREASSEN, D.A.; HOLE, K. The relationship between motor effects, in rats follwing acute and chronic haloperidol treatment. **Psychopharmacol.** v. 116, p. 89-92, 1994.

KALIVAS, P.W; STEWART, J. Dopamine transmission in initiation and expression of drugs- and stress-induced sensitization of motor activity. **Brain Res.** v. 16, p. 223-244, 1991.

KAPUR, S. Serotonin dopamine interaction and its relevance in schizophrenia. **Am J. Psychiatry** v. 153, p. 466-476, 1996.

KARSON, C.N.; GARCIA-RILL, E.; BIERDERMANN, J. The brain stem reticular formation in schizophrenia. **Psychiatry Res. Neuroimaiging** v. 40, p.31-48, 1991.

KASHIHARA, K.; VARGA, E.V.; WAITE, S.L.; ROESKE, W.R.; YAMAMURA, H.I. Cloning of the rat M3, M4 and M5 muscarinic acetylcholine receptor genes by the polymerase chain reaction (PCT) and pharmacological characterization of the expressed genes. **Life Sci.** v. 51, p. 955-971, 1992.

KESSLER, R.M.; ANSARI, M.S.; SCHMIDT, D.E.; DE PAULIS, T.; CLANTON, J.A.; INNIS, R.; AL TIKRITI, M.; MANNING, R.G.; GILLESPIE, D. High affinity dopamine D2 receptors. **Life Sci.** v. 49, p. 617-628, 1991.

KRAMER, M.S.; CUTLER, N.; FEIGHNER, J.; SHRIVASTAVA, R.; CARMAN, J.; SRAMEK, J.J. Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance p receptors. **Science** v. 281, p. 1640-1645, 1998.

KUBO, T.; MAEDA, A.; SUGIMOTO, K. Primary structure of porcine cardiac muscarinic acetylcholine receptor deduced from the cDNA sequence. **FEBS Lett** v. 209, p. 367-372, 1986.

KUHAR, M.J.; COUCEYRO, P.R.; LAMBERT, PD. Catecholamines. In: Siegel, G.J.; Agranoff, B.W.R.; Albers, W; Fisher, S.K.; Uhler, M.D. (eds.). **Basic neurochemistry. Molecular cellular and medical aspects**, Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins, 6^a ed., p. 243-262, 1999.

LAI, J.; NUNAN, L.; WAITE, S.L.; MA, S.-W.; BLOOM, J.W; ROESKE, W.R.; YAMAMURA, H.I. Chimeric M1/M2 muscarinic receptors. correlation of ligand selectivity and functional coupling with structural modifications. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 262, p. 173-180, 1992.

LAZARENO, S.; BUCKLEY, N.J.; ROBERTS, F.F. Characterization of muscarinic M4 binding sites in rabbit lung chicken heart, and NG 108-15 cells. **Mol. Pharmacol.** v. 38, p. 805-815, 1990.

LEFKOWITZ, R.J.; HOFFMAN, B.B.; TAYLOR, P. The autonomic and somatic motor nervous systems. In. Gilman, A.G.; Ruddon, R.W.; Molinoff, P.B.; Limbird L.E. & Hardman, J.G.; eds. **The pharmacological basis of therapeutics**. New York. Macgraw-Hill, p. 105-139, 1996.

LEGEAULT, M.; WISE, R.A. Injections of N-methyl-D-aspartate into the ventral hippocampus increase extracellular dopamine in the ventral tegmental area and nucleus accumbens. **Synapse** v. 31, p. 241-249, 1999.

LEIBOWITZ, S.F. Catecholaminergic mechanisms of the lateral hypothalamus. their role in the mediation of amphetamine anorexia. **Brain Res.** v. 98, p. 529-545, 1975.

LEIBOWITZ, S.F.; BROWN, L. Histochemical and pharmacological analysis of catecholaminergic projections to the perifornical hypothalamus in relation to feeding inhibition. **Brain Res.** v. 201, p. 315-345, 1980.

LEVESQUE, D.; DIAZ, J.; PILON, C.; MARTRES M.P.; GIROS, B.; SOUIL, E. Identification, characterization and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[³H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin. **Proc. Natl. Acad. Sci.** v. 89, p. 8155-8159, 1992.

LEWIS, D.A. The catecholamine innervation of primate cerebral cortex. In. Solanto, M.V, Arnsten, A.F.T & Castellanos, F.X. (Eds.). **Stimulant drugs and ADHD basic and clinical neuroscience**. New York. Oxford University Press, p. 77-103, 2001.

LIAO, C.F.; THEMME, A.P.N.; JOHO, R.; BARBERIS, C.; BIRNBAUMER, M.; BIRNBAUMER, L. Molecular cloning and expression of a fifth muscarinic acetylcholine receptor. **J. Biol. Chem.** v. 264, p. 7328-7337, 1989.

LIDOW, M.S.; WILLIAMS, G.V.; GOLDMAN-RAKIC, P.S. The cerebral cortex. a case for a common site of action of antipsychotics. **Trends Pharmacol Sci.** v. 19, p. 136-40, 1998.

LLOYD, K.G.; STADLER, H.; BARTHOLINI, G. Dopamine and acetylcholine neurones in limbic structure effect of neuroleptic drugs. In. Usdin, E.,; Snyder, S. (eds) **Frontiers in Catecholamine Research**. Pergamon Press, New York, p. 777-779, 1973.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with follin phenol reagent. **J. Biol. Chem.** v. 193, p. 265-275, 1951.

MAILMAN, R.B.; SHULZ, D.W.; LEWIS, M.H.; STAPLES, L.; ROLLEMA, H.; DEHAVEN, D.L. SCH 23390. a selective D1 dopamine antagonist with potent D2 behavioral actions. **Eur. J. Pharmacol.** v. 101, p. 159-160, 1984.

MAJOCHA, R; BALDESSARINI, R.J. Tolerance to na anticholinergic agent is paralleled by increase binding to muscarinic receptor in rat brain and increased behavioral response to a centrally active cholinomimetic. **Life Sci.** v. 35, p. 2247-2255, 1984.

MARCHI, M.; RAITERI, M. On the presence in the central cortex of muscarinic receptor subtypes wich differ in neuronal localization, function and pharmacological properties. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** v. 235, p. 230-233, 1985.

MATTEI, R.; CARLINI, E.A. Mazindol anorectic and behavioral effects in female rats. **Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.** v. 330, p. 279-287, 1995.

MELLER, E.; KUGA, F.; FRIEDHOFF, A.J.; GOLDSTEIN, M. Slective D2 dopamine agonist prevent catalepsy induced by SCH 23390, a selective D1 antagonist. **Life Science** v. 36, p. 1857-1864, 1985.

MELTZER, H.Y.; MATSUBARA, S.; LEE, J.C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D1- and D2- and serotonin2pKi values. **J. Pharmacol. Exp. Therap.** v. 251, p. 238-246, 1989.

MESULAM, M.M, Structure and function of cholinergic pathways in the cerebral cortex, limbic system, basal ganglia, and thalamus of the human brain. In. Bloom, F.E. & Kupfer, D.J., **Psychopharmacol.**, New York. Raven Press, p.135-146, 1995.

MORATALLA, R.; XU, M.; TONEGAWA, S.GRAYBIEL. A.M. Cellular responses to psychomotor stimulant and neuroleptic drugs are abnormal in mice lacking the D1 dopamine receptor. **Proc Natl Acad Sci (U S A)** v. 93, p. 14928-14933, 1996.

MUKVAD, I.; PAKKENBERG, H.; RANDRUP, A. Aminergic systems in basal ganglia associated with stereotyped hyperactive behaviour and catalepsy. **Brain Behav. Evol.** v. 1, p. 89-100,1968.

OHMORI, T.; ABEKAWA, T.; ITO, K.; KOYAMA, T. Context determines the type of sensitized behaviour. a brief review and a hypothesis on the role of environment in behavioural sensitization. **Lippincott Williams & Wilkins** v. 11, p. 211-221, 2000.

OHNO, M.; YAMAMOTO, T.; WATANABE, S. Blockade of hippocampal nicotinic receptors impairs working memory but not reference memory in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 45, p. 89-93, 1993.

OWEN, F.; CROW, T.J.; POULTER, M.; CROSS, A.J.; LONGDEN, A.; RILEY, G.J. Increased dopamine receptor sensitivity in schizophrenia. **Lancet** v. 2, p. 233-226, 1978.

PARADA, M.A.; HERNANDEZ, L.; SANTIAGO, C. An improved circular tilt-cage shows that intrahypothalamic injections of sulpiride increase locomotion. **Brain. Res. Bull.** v.21, p. 873-880, 1988.

PEDDER, E.K.; AVELEIGH, P.; POYNER, D.; HULME, E.C.; BIRDSALL, N.J.M. Modulation of the structure-binding relationships of antagonists for muscarinic acetylcholine receptor subtypes. **Br. J. Pharmacol.** v.103, p. 1561-1567, 1991.

PERALTA, E.G.; ASHKENAZI, A.; WINSLOW, J.W.; RAMACHANDRAN, J.; CAPON, D.J. Differential regulation of PI hydrolysis and adenylyl cyclase by muscarinic receptor subtypes. **Nature** v. 334, p. 434-437, 1988.

PERALTA, E.G.; ASHKENAZI, A.; WINSLOW, J.W.; SMITH, D.H.; RAMACHANDRAN, J.; CAPON, D.J. Distinct primary structure, ligand-binding properties and tissue-specific expression of four human muscarinic acetylcholine receptors. **EMBO J.** v. 6, p. 3923-3929, 1987a.

PERALTA, E.G.; WINSLOW, J.W.; PETERSON, G.L.; SMITH, D.H.; ASHKENAZI, A.; RAMACHANDRAN, J.; SCHIMERLIK, M.I.; CAPON, D.J. Primary structure and biochemical properties of the M2 muscarinic receptor. **Science** v. 236, p. 600-605, 1987b.

PEROUTKA, S.J.; SNYDER, S.H. Relationship of neuroleptic drug effects at brain dopamine, serotonin, alpha adrenergic and histamine receptors to clinical potency. **American J. of Psychiatry** v. 137, p. 1518-1522, 1980.

PILOWSKY, L.S.; BUSATTO, G.F.; TAYLOR, M. COSTA, D.C. SHARMA, T.; SIGMUNDSSON, T. Dopamine D2 receptor occupancy in vivo by the novel atypical antipsychotic olanzapine-¹²³I. IBZM single photon emission tomography (SPET) study. **Psychopharmacology (Berl)** v. 124, p. 148-153, 1996.

POGUN, S.; SCHEFFEL, U.; KUCHAR, M.J. Cocaine displaces [3H]WIN 35428 binding to dopamine uptake sites in vivo more rapidly than mazindol or GBR 12909. **Eur. J. Pharmacol.** v. 198, p. 203-205, 1991.

PORCEDDU, M.L.; GIORGI, O.; ONGINI, E.; MILE, S.; BIGGIO, G. 3H-SCH 23390 binding sites in rat substantia nigra evidence for a presynaptic localization and innervation by dopamine. **Life Sci.** v. 39, p. 321-328, 1986.

POST, R.M.; CONTEL, N.R. Human and animal studies of cocaine implications for development of behavioral pathology. In: Creese, I. (ed), **Neurochemical, Behavioral and Clinical Perspective**. New York. Raven Press, p. 169-203, 1983.

POTTER, W.Z.; HOLLISTER, L.E. Antipsychotic agents & lithium. In Katzung, B.g. (ed), **Basic e clinical pharmacology**, seventh ed. Appleton & Lange, East Norwalk, Connecticut, USA, p. 464-482, 1998.

PUECH, A.J.; CHERMANT, R.; PONCELET, M.; DOARÉ, L.; SIMON, P. Antagonism of hypothermia and behavioral response to apomorphine a simple, rapide and discriminating test for screening antidepressants and neuroleptics. **Psychopharmacol.** v. 75, p. 84-91, 1981.

PUIG DE PARADA, M.; PARADA, M.A.; RADA, P.; HERNANDEZ, L.; HOELBER, B.G. Dopamine-acetylcholine interaction in the rat lateral hypothalamus in the control of locomotion. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** v. 66, p. 227-234, 1999.

PYCOCK, C.; MILSON, J.; TARSY, D.; MARSDEN, C.D. The effects of manipulation of cholinergic mechanisms on turning behavior in mice with unilateral destruction of the nigro-neoestriatal dopaminergic system. **Neuropharmacol.** v. 17, p. 175-183, 1978.

RAITERI, M.; MARCHI, M.; PAUDICE, P. Presynaptic muscarinic receptors in the central nervous system. In. S. Kalsner and T. Westfall, Presynaptic receptors and question of autoregulation of neurotransmitter release. **Annals of New York Academy of Science**, New York v. 604, p. 113-119, 1990.

RAMPIN, O.; JEROME, N.; SUAUDEAU, C. Proerectile effects of apomorphine in mice. **Life Sci.** v. 72, p. 2329-2336, 2003.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Transmissão colinérgica. In: Rang, H.P; Dale, M.M. **Farmacologia**, 5^a ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, cap. 7, p. 93-115, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Transmissão noradrenérgica In. Rang, H.P; Dale, M.M. **Farmacologia**, 5^a ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, cap. 8, p.116-135, 2004.

RANG, H.P.; DALE, M.M. Transmissão química e o sistema nervoso central. In. Rang, H.P & Dale, M.M. (eds). **Farmacologia**, 5^a ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, cap. 6, p.80, 2004.

RICHELSON, E. Cholinergic transduction. In. Bloom, F.E. & Kupfer, D.J. **Psychopharmacol.** cap 11. p. 125-134, New York. Raven Press, Ltda., 1995.

ROBINSON, T.E.; BECKER, J.B. Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration. a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. **Brain Res. Rev.** v. 11, p. 157-198, 1991.

ROSS, S.B. The central stimulatory action of inhibitors of the dopamine uptake. **Life Sci.** v. 24, p. 159-168, 1979.

SAFER, D.J; ALLEN, R.P. The central effects of scopolamine in man. **Biol. Psychiatry** v. 3, p. 347-355,1971.

SALMI, P.; AHLENIUS, S. Sedative effects of dopamine D1 receptor agonist A 68930 on rat open-field behavior. **Neuropharmacol.** v. 11, p. 1269-1272, 2000.

SANBERG, P.R.; GIORDANO, M.; BUNSEY, M.D.; NORMAN, A.N. The catalepsy test. its ups and dows. **Behav. Neurosci.** v. 102, p. 748-759, 1988.

SCHOFFELMER, G.; MULDER, A.H. Muscarinic receptor-mediated modulation of (³H) dopamine and (¹⁴C) acetylcholine release from rat neonatal slices. selective antagonism by gallamine but not pirenzepine. **Eur. J. Pharmacol.** v. 128, p. 291-294, 1986.

SCIORELLI, G.; POLONI, M.; RINDI, G. Evidence of cholinergic mediation of ingestive responses elicited by dibutyryl adenosine-3',5'-monophosphate in rat hypothalamus. **Brain Res.** v. 48, p. 427-431, 1972.

SEDVALL, G.C. Neurobiological correlates of acute neuroleptic treatment. **Int. Clin. Psychopharmacol.** v. 11, p. 41-46, 1996.

SEEMAN, P. Brain dopamine receptors. **Pharmacol. Rev.** v. 32, p. 229-313, 1981.

SEEMAN, P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Synapse** v. 1, p. 133-152, 1987.

SEIDEN, L.S.; SABOL, K.E.; RICAURTE, G.A. Amphetamine effects on the catecholamine systems and behavior. **Annu Rev. Pharmacol.** v. 33, p. 639-677, 1993.

SETHY, V.H.; WENGER, D. Effect of dopaminergic drugs on striatal acetylcholine concentration. **J. Neurochem.** v. 37, p. 73-74, 1985.

SIEMIATKOWSKI, M.; ROKICKI, D.; CZLONKOWSKA, D.; AGNIESZKA, I.; SIENKIEWICZ-JAROSZ, H.; BIDZINSKI, A.; PLAZNIK, A. Locomotor activity and a conditioned fear response. correlation with cortical and subcortical binding of the dopamine D1 receptor antagonist [³H]SCH 23390. **Neuropharmacol. and Neurotoxicol.** v. 11, p. 3953-3956, 2000.

SIPOS, M.L.; BURCHNELL, V.; GALBICKA, G. Dose-response curves and time-course effects of selected anticholinergics on locomotor activity in rats. **Psychopharmacol.** v. 147, p. 250-256, 1999.

SMITH, R.C.; DAVIS, J.M. Behavioral evidence for supersensitivity after administration of haloperidol, clozapine and thioridazine. **Life Sci.** v; 19, p. 725-732, 1976.

SOUSA, F.C.; GOMES, P.B.; NORONHA, E.C.; MACEDO, D.S.; VASCONCELOS, S.M.; FONTELES, M.M.; VIANA, G.S. Effects of dopaminergic and cholinergic interactions on rat behavior. **Life Sci.** v. 69, p. 2419-2428, 2001.

SOUSA, F.C.F. Interação dopamina-acetilcolina- Ação de drogas que atuam nos sistemas dopaminérgico e colinérgico em córtex motor e corpo estriado de rato. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, p. 1-219, 1997.

SOUSA, F.C.F; GOMES, P.B.; MACÊDO, D.S.; MARINHO, M.M.F; VIANA, G.S.B. Early withdrawal from repeated cocaine administration upregulates muscarinic and dopaminergic D2-like receptors in rat neostriatum. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 62, p. 15-20, 1999.

SPIELEWOY, C.; ROUBERT, C.; HAMON, M.; NOSTEN-BERTRAND, M.; BETANCUR, C.; GIROS, B. Behavioural disturbances associated with hyperdopaminergia in dopamine-transporter knockout mice. **Behav Pharmacol.** v.11, p. 279-90, 2000.

STARR, M.S.; STARR, B.S. Behavioral synergism between the dopamine agonist SKF 38393 and LY 171555 in dopamine-depleted mice. antagonism by sulpirida reveals only stimulant postsynaptic D2 receptors. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 33, p. 41-44, 1989.

STEWART, J.; VEZINA, P. Microinjections of SCH 23390 into the ventral tegmental area and substantia nigra pars reticulata attenuate the development of sensitization to the locomotor activating effects of systemic amphetamine. **Brain Res.** v. 495, p. 401-406, 1989.

SUNDBERG, D.J. Chemical Messenger Systems. In. Conn, P.M. **Neuroscience in Medicine**, Philadelphia. J.B. lippincott Company, p. 403-426, 1994.

TANDON, R.; DEQUARDO, J.R.; GOODSON, J.; MANN, N.A.; GREDEEN, J.F. Effect of anticholinergics on positive and negative symptoms in schizophrenia. **Psychopharmacol. Bull.** v. 28, p. 297-302, 1992.

TANDON, R.; SHIPLEY, J.E.; GREDEEN, J.E.; MANN, N.A.; EISNER, W.H.; GOODSON, J. Muscarinic cholinergic hyperactivity in schizophrenia-relationship to positive and negative symptoms. **Schizophrenia Res.** v. 4, p. 23-30, 1991.

TATEISHI, K.; FUNAKOSHI, A.; KITAYAMA, N.; MATSUOKA, Y. Interaction between phosphoinositide turnover system and cyclic AMP pathway for the secretion of pancreastatin and somatostatin from QGP-1N cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** v. 185, p. 1041-1047, 1992.

TAYLOR, P.; BROWN, J.H. Acetylcholine. In: Siegel, G.J.; Agranoff, B.W.R.; Albers, W.; Fisher, S.K.; Uhler, M.D. (eds.). **Basic neurochemistry. Molecular cellular and medical aspects**, Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins, 6^a ed., p. 213-242, 1999.

TECOTT, L.H.; KWONG, L.L.; UHR, S.; PEROUTKA, S.J. Differential modulation of dopamine D2 receptors by chronic haloperidol, nitrendipine and pimozide. **Biological Psychiatry** v. 21, p. 1114-1112, 1986.

TERAI, M.; HIOAKA, K.; NAKAMURA, Y. Comparison of 3H-YM-09151-2 with 3H-spiroperone and 3H-raclopride for dopamine receptor binding to rat striatum. **Eur. J. Pharmacol.** v. 173, p. 177-182, 1989.

THORNBURG, J.E.; MOORE, K.E. Inhibition of anticholinergic drug-induced locomotor stimulation in mice by alpha-methyltyrosine. **Neuropharmacol.** v. 12, p. 1179-1185, 1973.

TSUKADA, H.; HARADA, N.; NISHIYAMA, S.; OHBA, H.; KAKIUCHI, T. Cholinergic neuronal modulation alters dopamine D2 receptor availability in vivo by regulation receptor affinity induced by facilitated synaptic dopamine turnover. positron emission tomography studies with microdialysis in the conscious monkey brain, **The Journal of Neuroscience** v. 20, p. 7067-7073, 2000.

TUCEK, S. Short-term control of the synthesis of acetylcholine. **Prog. Biophys. Molec. Biol.** v.60. p. 59-69, 1993.

TURSKI, W.; CZUCZWAR, S.J.; TURSKI, L.; KLEINROK, Z. Bilateral injection of kainic acid into the rat striatum potentiates morphine, arecoline and pilocarpine but not haloperidol catalepsy. **Methods Find Exp Clin Pharmacol** v. 4, p. 287-291, 1982.

UHL, G.R. Neurotransmitter transporters (plus). a promising new gene family. **Trends Neurol. Sci.** v. 15, p. 265-268, 1992.

UJIKE, H.; ONOUSE, T.; AKIYAMA, K.; HAMAMURA, T.; OTSUKI, S. Effects of selective D1 and D2 dopamine antagonist on development of methamphetamine induced behavioral sensitization. **Psychopharmacol.** v. 98, p. 311-316, 1989.

UNDIE, A.S.; FRIEDMAN, E. Diet restriction prevents aging-induced deficits in brain phosphoinositide metabolism. **J. Gerontol.** v. 48, n. 2, p. 62-67, 1993.

UNDIE, A.S.; FRIEDMAN, E. Differences in the cataleptogenic actions of SCH 23390 and selected classical neuroleptics. **Psychopharmacology** v. 96, p. 311-316, 1988.

USHIJIMA, I.; CARINO, M.A.; HORITA, A. Involvement of D1 and D2 dopamine system in the behavioral effects of cocaine in rats. **Pharmacol. Biochem. Behavior** v. 52, p. 737-741, 1995.

USHIJIMA, I.; KAWANO, M.; KANEYUKI, H.; SUETSUGI, M.; USAMI, K.; HIRANO, H.; MIZUKI, Y.; YAMADA, M. Dopaminergic and cholinergic interaction in cataleptic responses in mice. **Pharmacol. Biochem. Behav.** v. 58, n. 1, p. 103-108, 1997.

USHIJIMA, I.; MIZUKI, Y.; YAMADA, M. Multifocal sites of action involved in dopaminergic-cholinergic neuronal interactions in yawning. **Psychopharmacol.** v. 95, p. 34-37, 1988b.

USHIJIMA, I.; MIZUKI, Y.; YAMADA, M. The mode of action of brocriptine following pretreatment with reserpine and alfa-methyl-p-tyrosine in rats. **Psychopharmacol.** v. 95, p. 29-33, 1988a.

VEZINA, P.; STEWART, J. The effect of dopamine receptor blockade on the development of sensitization to the locomotor activating effects of amphetamine and morphine. **Brain Res.** v. 499, p. 108-120, 1989.

WADEMBERG, M.L.; SEEMAN, P. Clozapine pre-treatment enhances raclopride catalepsy. **Eur. J. Pharmacol.** v. 14, n. 1, p. 377, 1999.

WARHUST, G.; FOGG, K.E.; HIGGS, N.B.; TONGE, A.; GRUNDY, J. Ca^{+2} mobilising agonists potentiate forskolin an VIP stimulated cAMP production in human colonic cell line, HT29-cl.19A. role of $[Ca^{+2}]$, and protei kinase C. **Cell Calcium** v. 15, p. 162-174, 1994.

WATSON, E.L.; SINGH, J.C.; McPHEE, C.; BEAVO, J.; JACOBSON, K.L. Regulation of cAMP metabolism in mouse.paratid gland by cGMP and calcium. **Mol. Pharmacol.** v. 38, p. 547-553, 1990.

WEINBERGER, D.R. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. **Arch. Gen. Psychiatry.** v. 44, n. 7, p. 660-669, 1987.

WHEATLY, M.; HULME, E.C.; BIRDSALL, N.J.M.; CURTIS, C.A.; EVELEIGH, P.; PEDDER, E.K.; POYNER, D. Peptide mapping studies on muscarinic receptors. receptor structure and location of the ligand binding site. **Trends Pharmacol. Sci.**, suppl. Feb. p. 19-24, 1988.

WU, M.; BRUDZYNSKI, S.M. Mesolimbic dopamine terminals and locomotor activity induced from the subiculum. **NeuroReport** v. 6, p. 1601-1604, 1995.

XU, M.; MIZOBE, F.; YAMAMOTO, T.; KATO, T. Differential effects of M1- and M2-muscarinic drugs on striatal dopamine release and metabolism in freely moving rats. **Brain Res.** v. 495, p. 232-242, 1989.

YANG, C.; MOGENSEN, G.J. Hippocampal signal transmission to the pedunculo-pontine nucleus and its regulation by dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens. an electrophysiological and behavioral study. **Neuroscience** v. 23, p. 1041-1055, 1987.

YASUDA, R.P.; CIESLA, W.; FLORES, L.R.; WALL, S.J.; LI, M.; SATKUS, S.A.; WEISSTEIN, J.S.; SPAGNOLA, B.V.; WOLFE, B.B. Development of antisera selective for M4 and M5 receptors in rat brain. **Mol. Pharmacol.** v. 43, p. 405-412, 1992.

YEOMANS, J.S. Role of tegmental cholinergic neurons in dopaminergic activation, antimuscarinic psychosis and schizophrenia. **Neuropsychopharmacol.** v.12, p. 3-16, 1995.

ZAHM, D.S.; HEIMER, L. Ventral striatopallidal parts of the basal ganglia of the rat. I. Neurochemical compartmentation as reflected by the distribution of neurotensin and substance P immunoreactivity. **J. Comp. Neurol.** v. 272, p. 516-535, 1988.

ZAMBOTTI, F.; CARRUBA, M.O.; BARZAGUI, F.; VICENTINI, L.; GROPETTI, A.; MANTEGAZA, P. Behavioral effects of a new nonphenylethylamine anorexigenic agent. mazindol. **Eur. J. Pharmacol.** v. 36, p. 405-412, 1976.

ZETLER, G. Cataleptic state and hypothermia in mice, caused by central cholinergic stimulation and antagonized by anticholinergic and antidepressant drugs. **Int. J. Neuropharmacol.** v. 7, p. 325-335, 1968.

ZHAN-GUO, G.; WEN-YU, C.; CHUAN-GUI, L. Modulation of apomorphine-induced rotations in unilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats by cholinergic agonists and antagonists. **Life Sci.** v. 60, p. 317-323, 1997.

ZILLES, K.; WREE, A. Cortex a real and laminar structure. In. Paxinos, A. (ed). The rat nervous system. **Forebrain and midbrain.** Sydney. academic Press cap. 10 (1), p. 375-415, 1985.