

1 INTRODUÇÃO

Os núcleos da base e o cerebelo são estruturas nervosas responsáveis pelos ajustes das atividades nos tratos descendentes do Sistema Nervoso Central (SNC). Regulam a contração muscular, a força muscular, os movimentos de múltiplas articulações e as sequências de movimentos. São compostos pelos seguintes núcleos, situados no cérebro e mesencéfalo: o caudado, o putâmen, o globo pálido, os núcleos subtalâmicos e a substância negra. Com base na proximidade anatômica alguns desses núcleos recebem nomes comuns: o globo pálido e o putâmen formam o núcleo lenticular; o conjunto do caudado e do putâmen formam o estriado (EKMAN, 2000).

A substância negra é um núcleo mesencefálico, designado assim pela coloração de suas células. Algumas células contêm melanina, fazendo com que o núcleo pareça preto. A substância negra tem duas partes: a compacta e a reticular. A parte compacta da substância negra fornece dopamina essencial para o estriado. A parte reticular da substância negra e a parte interna do globo pálido são as vias de saída do sistema dos gânglios da base. A saída desses núcleos inibe o tálamo motor e o núcleo pedúnculo-pontino do mesencéfalo. A estimulação do núcleo pedúnculo-pontino provoca comportamentos rítmicos, como padrões locomotores. Embora o funcionamento dos núcleos da base seja vital para os movimentos normais, eles não têm conexões diretas com os motoneurônios inferiores. Sua influência é exercida por áreas de planejamento motor do córtex cerebral, e pelo núcleo pedúnculo-pontino do mesencéfalo. A influência sobre a área motora suplementar do córtex cerebral é indireta, por meio do tálamo. Um circuito importante dos gânglios da base conecta as áreas motoras do córtex ao putâmen, o putâmen aos núcleos de saída (por vias direta e indireta) e os núcleos de saída ao tálamo motor, sendo que o tálamo motor excita as áreas do córtex cerebral (EKMAN, 2000).

A influência dos núcleos da base sobre o tálamo motor na via direta, inicia-se com a excitação do putâmen produzida pelas áreas corticais motoras. Na via direta, o putâmen inibe os núcleos de saída. Como as eferências dos núcleos de saída são inibitórias para o tálamo motor e para o núcleo pedúnculo-pontino, o efeito final do aumento das entradas (*input*) para o putâmen, pela via direta, é o de aumentar a saída (*output*) excitatória do tálamo motor para

as áreas corticais motoras. Portanto, aumentam as atividades nas vias córtico-fugais, que inervam os músculos apendiculares (EKMAN, 2000).

Já a via indireta sai do putâmen, inibindo a parte externa do globo pálido, até a inibição do núcleo subtalâmico, excitação da parte reticular da substância negra e inibição do tálamo motor, resultando em menor excitação das áreas motoras do córtex cerebral. Por conseguinte, a atividade pela via indireta reduz o nível de atividade nas vias cortico-fugais.

Os núcleos da base e as vias diretas e indiretas podem ser visualizados na Figura 1.

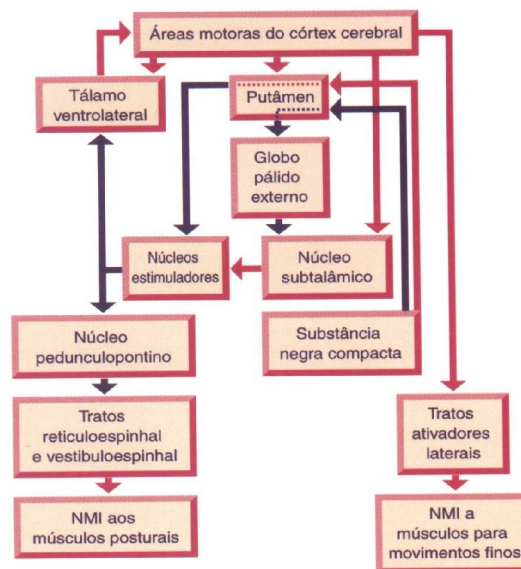


Figura 1 – Representação dos núcleos da base (via direta e via indireta).
Fonte: Ekman, 2000

Sendo assim, ressalta-se que, na via indireta, os núcleos da base têm um efeito inibitório tônico sobre a via tálamo cortical, conseqüentemente ligada a moderação do movimento. Portanto, quando o córtex provoca um efeito excitatório nos núcleos da base o efeito inibitório da via tálamo cortical é reduzido, o que resulta na facilitação de movimentos de modo adequado dos músculos apendiculares e músculos posturais.

A dopamina produzida na parte compacta da substância negra aumenta a atividade do córtex motor por se ligar a dois tipos de receptores, D1 e D2, no circuito dos núcleos da base. A ligação da dopamina a receptores D1 facilita a atividade na via direta, enquanto a ligação de dopamina a receptores D2 inibe a atividade na via indireta (EKMAN, 2000).

Hallet (1993), propôs que a função dos núcleos da base é selecionar (via direta) e inibir (via indireta) sinergias motoras específicas .

O distúrbio motor mais comum dos núcleos da base é a doença de Parkinson, caracterizada por rigidez muscular, marcha festinante, postura curvada, tremores musculares

rítmicos e expressão facial semelhante à de uma máscara. Nesta doença, sabe-se que o efeito inibitório (via direta e indireta) encontra-se ampliado, o que resulta em dificuldades para iniciar tanto os movimentos apendiculares quanto os movimentos de tronco.

O tratamento da doença de Parkinson é baseado principalmente na administração da L-DOPA, que é um precursor da dopamina, a qual visa reverter os efeitos da depleção de dopamina estriatal induzida pela destruição da via nigro-estriatal. Porém, esta terapia tem sua ação mais efetiva nos períodos iniciais do tratamento. O uso contínuo da levodopa apresenta limitações, como o aparecimento de movimentos involuntários ou discinesia, após 5-10 anos de tratamento. Além desses problemas, pode ocorrer disfunção autonômica, congelamento da marcha, desequilíbrio e complicações neuropsiquiátricas em cerca de 40% dos pacientes (OBESO *et al.*, 2000).

Atualmente, terapias farmacológicas baseadas no sistema não dopaminérgico surgem como uma nova possibilidade para um tratamento mais eficaz a médio e longo prazo da doença de Parkinson, e estão voltadas para a implementação na qualidade de vida dos indivíduos acometidos por esta doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A doença de Parkinson é primariamente uma doença da função motora extrapiramidal, causada por degeneração severa de neurônios dopaminérgicos da substância negra. O tratamento corrente da doença de Parkinson está baseado na terapia dopaminérgica, visando reverter os efeitos da depleção de dopamina estriatal induzida pela destruição da via nigro-estriatal (JANKOVIC, 2002; OBESO; OLANOW; NUTT, 2000; QUINN, 1998). Essa interfere tanto nos movimentos voluntários como nos movimentos automáticos (EKMAN, 2000).

Apesar da identificação da patologia - morte das células produtoras de dopamina na parte compacta da substância negra e das células produtoras de acetilcolina no núcleo pedúnculo-pontino - a causa dessa morte permanece desconhecida. A morte celular ocorre muito antes que os sinais clínicos da doença de Parkinson fiquem evidentes; cerca de 80% das células produtoras de dopamina morrem antes do aparecimento dos sinais da doença (EKMAN, 2000). Segundo Oertel (1995) e Olanow (2004), a doença de Parkinson é o distúrbio de movimento mais comum nos Estados Unidos, e afeta aproximadamente 1 milhão de indivíduos.

A perda da dopamina na via direta dos núcleos da base reduz a atividade das áreas motoras do córtex cerebral, diminuindo os movimentos voluntários. A perda das células do núcleo pedúnculo-pontino, combinada com a inibição aumentada do próprio núcleo pedúnculo-pontino, desinibe as vias retículo-espinhal e vestibulo-espinhal, produzindo a contração excessiva dos músculos posturais (EKMAN, 2000).

Uma pessoa com doença de Parkinson terá dificuldade em se levantar de uma cadeira, e sua marcha será caracterizada por postura em flexão, arrastamento dos pés, com redução ou ausência do balanço dos braços. Os sinais distintivos da doença de Parkinson são rigidez, hipocinesia (movimentação diminuída), tremor de repouso e comprometimento visual-perceptivo (EKMAN, 2000).

O tratamento sintomático da doença de Parkinson com L-DOPA e drogas agonistas de dopamina predominam a terapia e são altamente efetivas em tratar os estágios iniciais da doença. Todavia, a introdução de drogas dopaminérgicas está associada a efeitos colaterais agudos, tais como náusea, vômito e hipotensão, além de uma série de complicações relacionadas ao tratamento a longo prazo, as quais aumentam em severidade com a progressão da doença. Além disso, todas as terapias utilizadas atualmente tratam os sintomas e não

modificam significativamente a progressão da doença. Como consequência destes fatores, há a necessidade do desenvolvimento de novas manipulações farmacológicas para o tratamento da doença de Parkinson. Novas manipulações devem produzir agentes com ação anti-parkinsonianas em todas as fases da doença, sem perda da eficácia da droga e que previna o surgimento de discinesias (JENNER, 2003).

O estudo de novas terapias para a doença de Parkinson está voltado para sistemas não dopaminérgicos dentro dos núcleos da base que vão além das vias nigroestriatais lesionadas (BROTCHIE, 1998; JENNER, 2000). Vários agentes apresentando um potencial terapêutico têm sido descritos, incluindo agentes que atuam em receptores glutamatérgicos, canabinóides, opióides, α_2 -adrenérgicos e receptores colinérgicos nicotínicos e muscarínicos (JENNER, 2003).

A identificação de receptores de adenosina A_{2A} nos gânglios basais, como uma maneira potencial de modificar o comportamento motor, por meio de um mecanismo não dopaminérgico, pode ter consequências terapêuticas importantes para o tratamento futuro da doença de Parkinson (JENNER, 2003; KASE, 2001; ONGINI, 1996; SVENNINGSSON *et al.*, 1999; FREDHOLM, 1996).

A adenosina desempenha um papel importante em regular um conjunto de funções fisiológicas no SNC. Esta se encontra presente em todas as partes do SNC de mamíferos e modula a função neuronal via receptores de membrana celular específicos. No SNC, está co-localizada, nos terminais pré-sinápticos, com uma variedade de neurotransmissores dos quais ela é liberada depois da despolarização, com a finalidade de modular a atividade neuronal (ABBACCHIO; CATTABENI, 1999). A adenosina se liga a receptores de membrana específicos, acoplados a proteína G (FREDHOLM *et al.*, 1994). Quatro sub-tipos principais de receptores de adenosina têm sido caracterizados de acordo com sua seqüência primária e suas propriedades bioquímicas e farmacológicas: A₁, A_{2A}, A_{2B} e A₃ (FREDHOLM *et al.*, 1994).

Receptores do tipo A₁ são vastamente distribuídos em todas as partes do cérebro (ex. hipocampo, córtex cerebral, tálamo e cerebelo), onde eles regulam a liberação de neurotransmissores e os disparos neuronais. Atuando em receptores do tipo A₁ localizados na região pré-sináptica, a adenosina suprime a liberação de vários neurotransmissores (incluindo o glutamato e dopamina), enquanto que a ativação pós-sináptica destes receptores induz hiperpolarização neuronal (BRUNDEGE; DUNWIDDIE, 1997). Esta atividade inibitória, que é aumentada sob condições neurotóxicas, coloca a adenosina como um importante agente em

mecanismos de neuroproteção (BRUNDEGE; DUNWIDDIE, 1997; RALEVIC; BURNSTOCK, 1998).

Por outro lado, receptores do tipo A2 são normalmente facilitatórios. Eles são particularmente expressados em regiões ricas em receptores de dopamina, onde se co-localizam com receptores do tipo D2 (FINK *et al.*, 1992).

No caudado-putâmen (Cpu ou estriado), a estrutura de maior entrada dos núcleos da base, receptores A2A são seletivamente expressos e co-localizados com receptores D2 de dopamina, em uma sub-população de neurônios se projetando para o globo pálido (FINK *et al.*, 1992; SCHIFFMANN *et al.*, 1991). Estes neurônios estriato-palidais constituem a via indireta, uma das duas maiores vias de saída do Cpu que controla a atividade dos núcleos de saída dos gânglios da base, i.e. a substância negra, pars reticulada e o núcleo entopeduncular.

Em contraste, neurônios estriato-nigrais e estriato-entopedunculares, regulados por receptores A1 e D1 (FERRE *et al.*, 1997), constituem a via direta dos núcleos da base. As vias direta e indireta tem efeitos opostos na atividade motora (ALBIN; YOUNG; PENNEY, 1989)

A ativação de receptores A2A de adenosina reduz a atividade de receptores D2 a agonistas dopaminérgicos, incluindo o ligante endógeno dopamina (FERRE *et al.*, 1997; FERRE *et al.*, 1991a; FERRE *et al.*, 1991b). Essa ativação pode ser visualizada na Figura 2.

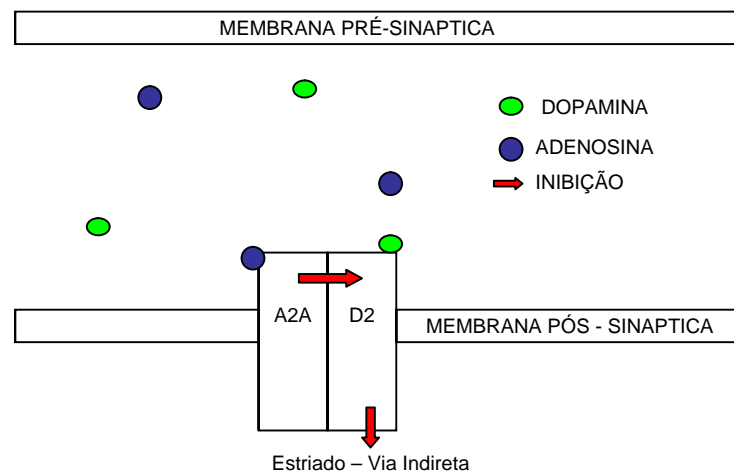


Figura 2 – Representação da inibição dos receptores A2A sob receptores D2.

Nos núcleos da base a neuromodulação pela adenosina desempenha um papel crucial no controle motor (FERRE *et al.*, 1997). Vários estudos de comportamento indicam que ativação ou bloqueio de receptores A2 de adenosina inibe ou estimula, respectivamente, efeitos mediados por receptores D2 de dopamina, provavelmente por meio de interação direta

entre os receptores A2 de adenosina e D2 de dopamina (BARRACO *et al.*, 1993; FERRE *et al.*, 1992; MORELLI *et al.*, 1994; ONGINI; FREDHOLM, 1996).

Bloqueio sistêmico de receptores A2A estimulou rotações contra-laterais dependentes de receptores D1 e D2 em ratos lesados com 6-hidroxidopamina (FENU *et al.*, 1997; PINNA *et al.*, 1996; POLLACK; FINK, 1996). Além disso, administração sistêmica de antagonistas de receptores A2A reverteu catalepsia induzida por bloqueio de receptores ou depleção de dopamina e potencializou os efeitos anti-catalépticos da L-DOPA (HAUBER *et al.*, 1998; HAUBER *et al.*, 2001; KANDA *et al.*, 1994; KANDA *et al.*, 1998; SHIOZAKI *et al.*, 1999).

Os efeitos motores sinérgicos ou antagônicos mediados por ligantes de receptores A2A e D2 poderia ser explicado por interações diretas entre receptores A2A-D2 nos neurônios estriato-palidais (FERRE *et al.*, 1997). Em contraste, interações entre a via direta e a via indireta pode explicar os efeitos motores sinérgicos e antagônicos dos ligantes de receptores A2A e D1 (FERRE *et al.*, 1997; PINNA *et al.*, 1996), já que os respectivos receptores estão localizados em populações separadas de neurônios estriatais. Dados de comportamento mais recentes sugerem que interações entre receptores A2A-D1 (POPOLI; REGGIO; PEZZOLA, 2000) podem não ser tão fortes como as interações entre os receptores A2A-D2 (FENU *et al.*, 1997; PINNA *et al.*, 1996; POLLACK; FINK, 1996; STROMBERG *et al.*, 2000).

Evidências experimentais sugerem que cafeína, um alcalóide vastamente conhecido por suas propriedades estimulantes do SNC (FREDHOLM *et al.*, 1999), apresenta propriedades anti-parkinsonianas por meio do bloqueio de receptores estriatais de adenosina A2A (FERRE *et al.*, 2001; SVENNINGSSON *et al.*, 1999). Adenosina provê um tono inibitório a várias regiões cerebrais e a estimulação de comportamentos pela cafeína e teofilina são atribuídos ao antagonismo não seletivo dos receptores de adenosina A1/A2A (BRUNDEGE; DUNWIDDIE, 1997).

Por outro lado, tem sido demonstrado que agonistas de receptores de adenosina produzem hipomobilidade (DURCAN; MORGAN, 1989) e têm efeito ansiolítico em camundongos (JAIN *et al.*, 1995), sendo o efeito motor atribuído a receptores do A2 e o efeito ansiolítico a receptores A1 (JAIN *et al.*, 1995). Todavia, alguns agonistas induzem modificações no comportamento de forma bifásica. Por exemplo, 5',N-Ethylcarboxamidoadenosine (NECA) um agonista não seletivo de receptores de adenosina e 2-cloro-N6-ciclopentiladenosina (CCPA) agonista seletivo A1, em doses baixas estimulam e em doses altas inibem locomoção (FLORIO *et al.*, 1997). Agonistas de receptores de adenosina podem ainda induzir catalepsia (FERRE *et al.*, 1991; ZARRINDAST;

MODABBER; SABETKASAI, 1993) ou potencializar catalepsia induzida por antagonistas de dopamina (KHISTI; CHOPDE; ABRAHAM, 2000).

No entanto, outros neurotransmissores, além de adenosina e dopamina, estão presentes nos núcleos da base e participam da modulação do comportamento motor (DEL BEL *et al.*, 2002; HALCAK *et al.*, 2000). Entre eles, pode-se citar o neuromodulador óxido nítrico (NO), o qual tem de forma crescente sido reconhecido como um mensageiro inter e extracelular no SNC (PRAST; PHILIPPU, 2001).

Ativação de receptores NMDA é um estímulo pivô para a produção de NO em neurônios, em um processo dependente de Ca^{2+} -calmodulina (KISS, VIZI, 2001; PRAST; PHILIPPU, 2001). NO, o qual pode se difundir por distâncias relativamente grandes no tecido cerebral (LANCASTER, JR., 1997), é também hábil para regular a atividade sináptica (KISS; VIZI, 2001; PRAST; PHILIPPU, 2001). Entre seus papéis extra-celulares, o NO tem mostrado regular a liberação de vários neurotransmissores, tais como aminoácidos, dopamina, acetilcolina e serotonina (PRAST; PHILIPPU, 2001). Na análise do comportamento, moduladores de NO exercem resultados incongruentes, como mostrados pelos efeitos similares produzidos tanto por aumento como por diminuição dos níveis de NO, observados em hiper-locomção induzida por antagonistas de receptores NMDA (BUJAS-BOBANOVIC *et al.*, 2000; JOHANSSON; JACKSON; SVENSSON, 1997), epilepsia, sono (FARADJI *et al.*, 2000) e lesão cerebral (IADECOLA *et al.*, 1997).

Tem sido demonstrado que inibidores da sintase do óxido nítrico (NOS) produzem catalepsia em camundongos (DEL BEL; DA SILVA; GUIMARAES, 1998; MARRAS *et al.*, 1995) e em ratos (DEL BEL *et al.*, 2004), a qual é potencializada pela co-administração de haloperidol (DEL BEL *et al.*, 2004; CAVAS; NAVARRO, 2002).

A interferência com a formação do NO também pode produzir déficits em outros testes motores. Inibidores da NOS diminuem locomoção e exploração vertical de camundongos no teste do campo aberto (DEL BEL *et al.*, 2002) e a atividade motora espontânea de ratos (HALCAK *et al.*, 2000). Os inibidores da NOS, L-NOARG e 7-NI suprimem a atividade locomotora induzida por agonistas de receptores dopaminérgicos D_1 e D_2 (STARR; STARR, 1995). Estes autores levantaram a hipótese que a atividade contínua ou tônica da NOS constitutiva seria necessária para ocorrerem movimentos normais do corpo. A administração sistêmica de antagonistas de receptores da dopamina do tipo D_1 diminuem a atividade da NADPH-d em neurônios estriatais, enquanto que antagonistas de receptores do tipo D_2 produzem o efeito oposto (MORRIS *et al.*, 1997).

Doadores de NO estimulam a liberação de adenosina em “slices” hipocampais (BROAD; FALLAHI; FREDHOLM, 2000; FALLAHI *et al.*, 1996) e em culturas neuronais, por meio da inibição da adenosina-quinase (ROSENBERG *et al.*, 2000). De forma similar, doadores de NO aumentam, ao passo que inibidores da sintase do óxido nítrico (NOS) diminuem os níveis de adenosina estriatal in vivo (FALLAHI *et al.*, 1996). Todavia, a interação entre NO e adenosina não está bem esclarecida ao nível do comportamento.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral:

Avaliar a interação entre os neurotransmissores adenosina, dopamina e óxido nítrico nos núcleos basais, por meio da avaliação do comportamento motor, em um modelo animal da doença de Parkinson.

3.2 Específicos:

a) Avaliar o efeito de um agonista e um antagonista de receptores de adenosina (NECA e cafeína, respectivamente), no comportamento de catalepsia em camundongos, induzida por inibição de receptores de dopamina, com haloperidol e, inibição da NOS, com L-NOARG ou L-NAME.

b) Estudar a interação entre os neurotransmissores adenosina, dopamina e óxido nítrico sobre o comportamento motor e exploratório em camundongos, por meio do teste do campo aberto.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Animais

Neste experimento foram utilizados 272 camundongos Suíços, machos, oriundos do biotério central da Universidade Católica Dom Bosco, pesando entre 20-30g. Os animais foram mantidos no biotério, com água e comida a vontade até o início dos testes. O ciclo de luz (12/12 hs, luzes ligadas às 6:00 h) e a temperatura ambiente ($23\pm 1^{\circ}\text{C}$) foram controlados. Após os experimentos os animais foram eutanasiados. O protocolo experimental deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob o protocolo número 191/2008.

4.1.2 Drogas

Foram empregadas as seguintes drogas: antagonistas de receptores de dopamina: Haloperidol 1mg (Haldol-Janssen-Cilag); inibidores da sintase do óxido nítrico: N^{G} -nitro-L-arginine (L-NOARG - Sigma) e N^{G} -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME - Sigma); substrato da sintase do óxido nítrico (L-Arginina), agonista não seletivo de receptores de adenosina: 5',N-Ethylcarboxamidoadenosine (NECA - Sigma); antagonista não seletivo de receptores de adenosina: cafeína (Sigma). Todas as drogas foram dissolvidas em solução salina a 0,9%.

4.1.3 Experimentos e grupos experimentais

Neste estudo foram realizados 2 grandes experimentos. Cada um deles foi constituído por 3 grupos controle, além de 4 subexperimentos, sendo cada um deles constituído de 3 grupos experimentais, como descritos a seguir. Os resultados de cada subexperimento foram comparados com aqueles dos grupos controle. O tamanho da amostra de cada grupo

experimental variou entre 8 e 16 camundongos. Cada animal foi utilizado somente em um dos grupos experimentais.

4.1.3.1 Experimento I

Neste experimento avaliou-se o efeito da cafeína, antagonista de adenosina, nas alterações do comportamento motor, induzida pela L-Arginina, haloperidol, L-NOARG e L-NAME. Os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de salina ou cafeína (1-2mg/kg), seguida pela aplicação i.p. salina ou de L-Arginina, haloperidol, L-NOARG ou L-NAME (40 mg/kg) após 30 minutos. Foram realizados os seguintes grupos experimentais:

4.1.3.1.1 Grupos controle

Foram compostos na seguinte ordem:

Grupo sal+sal (n=16): os animais receberam injeção i.p. de salina e após 30 minutos, outra injeção i.p. de salina;

Grupo sal+caf1 (n=16): os animais receberam injeção i.p. de salina e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (1mg/kg);

Grupo sal+caf2 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de salina e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (2mg/kg);

4.1.3.1.2 Subexperimento I

Avaliou-se o efeito da cafeína nas alterações do comportamento motor induzidas pela L-Arginina, substrato da sintase do óxido nítrico:

Grupo L-Arg+sal (n=16): os animais receberam injeção i.p. de L-Arginina (40 mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo L-Arg+caf1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-Arginina (100mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (1mg/kg);

Grupo L-Arg+caf2 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-Arginina (100mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (2mg/kg).

4.1.3.1.3 Subexperimento II

Avaliou-se o efeito da cafeína nas alterações do comportamento motor induzidas pelo haloperidol:

Grupo haldol+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p. de haloperidol (0,5mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo haldol+caf1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de haloperidol (0,5mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (1mg/kg);

4.1.3.1.4 Subexperimento III

Foi avaliado o efeito da cafeína nas alterações do comportamento motor induzidas pelo L-NOARG, inibidor da sintase de óxido nítrico:

Grupo L-NOARG+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NOARG (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo L-NOARG+caf1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NOARG (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (1mg/kg);

Grupo L-NOARG+caf2 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NOARG (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (2mg/kg).

4.1.3.1.5 Subexperimento IV

Observou-se o efeito da cafeína nas alterações do comportamento motor induzidas pelo L-NAME, inibidor da sintase de óxido nítrico:

Grupo L-NAME+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NAME (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo L-NAME+caf1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NAME (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (1mg/kg);

Grupo L-NAME+caf2 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NAME (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de cafeína (2mg/kg).

4.1.3.2 Experimento II:

Avaliou-se o efeito do 5',N-Etilcarboxamidoadenosina (NECA), agonista não seletivo de receptores de adenosina, nas alterações do comportamento motor induzidas por L-Arginina, haloperidol, L-NOARG e L-NAME. Os animais receberam injeção intraperitoneal (i.p.) de salina ou NECA (0,05-0,1mg/kg), seguida pela aplicação i.p. de salina ou L-Arginina (40mg/kg), ou haloperidol (0,5mg/kg) ou L-NOARG ou L-NAME (40 mg/kg) após 30 minutos. Realizaram-se os seguintes grupos experimentais:

4.1.3.2.1 Grupos controle

Foram compostos na seguinte ordem:

Grupo sal+sal (n=16): os animais receberam injeção i.p. de salina e após 30 minutos, outra injeção i.p. de salina;

Grupo sal+NECA0,05 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de salina e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,05mg/kg);

Grupo sal+NECA0,1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de salina e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,1mg/kg);

4.1.3.2.2 Subexperimento V

Analisou-se o efeito do 5',N-Etilcarboxamidoadenosina (NECA) nas alterações do comportamento motor induzidas por L-Arginina:

Grupo L-Arg+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-Arginina (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo L-Arg+NECA0,05 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-Arginina (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,05mg/kg);

Grupo L-Arg+NECA0,1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-Arginina (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,1mg/kg).

4.1.3.2.3 Subexperimento VI

Observou-se o efeito do 5',N-Etilcarboxamidoadenosina (NECA) nas alterações do comportamento motor induzidas pelo haloperidol:

Grupo haldol+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p. de haloperidol (0,5mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo haldol+NECA0,05 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de haloperidol (0,5mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,05mg/kg);

Grupo haldol+NECA0,1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de haloperidol (0,5mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,1mg/kg).

4.1.3.2.4 Subexperimento VII

Avaliou-se o efeito do 5',N-Etilcarboxamidoadenosina (NECA) nas alterações do comportamento motor induzidas pelo L-NOARG:

Grupo L-NOARG+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NOARG (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo L-NOARG+NECA0,05 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NOARG (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,05mg/kg);

Grupo L-NOARG +NECA0,1(n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NOARG (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,1mg/kg).

4.1.3.2.5 Subexperimento VIII

Observou-se o efeito do 5',N-Etilcarboxamidoadenosina (NECA) nas alterações do comportamento motor induzidas pelo L-NAME:

Grupo L-NAME+sal (n=8): os animais receberam injeção i.p de salina e após 30 minutos, injeção i.p de L-NAME (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de salina;

Grupo L-NAME+NECA0,05 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NAME (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,05mg/kg);

Grupo L-NAME+NECA0,1 (n=8): os animais receberam injeção i.p. de L-NAME (40mg/kg) e após 30 minutos, injeção i.p. de NECA (0,1 mg/kg).

4.2 Métodos

4.2.1 Avaliação funcional dos animais

A avaliação funcional dos animais após a aplicação das drogas foi realizada por meio do teste de catalepsia (ZARRINDAST; MODABBER; SABETKASAI, 1993), e do teste do campo aberto (WALSH, 1976; WHIMBEY, 1967). Os testes de comportamento realizaram-se sempre no mesmo horário e local, como descritos a seguir:

4.2.1.1 Teste de catalepsia na barra

A catalepsia é definida como uma falha na correção de uma postura externa imposta. Este teste é amplamente usado para avaliar os efeitos motores de drogas que agem no sistema extrapiramidal. Esta foi avaliada de acordo com o método da barra, onde o camundongo é colocado com ambas as patas anteriores sobre uma barra de vidro horizontal (diâmetro de 0,5 cm), elevada 4,5 cm do solo (SANBERG *et al.*, 1988) (Figura 3). O tempo em segundos, durante o qual o animal permanece nesta posição foi registrado, até um tempo máximo de 300 segundos (ZARRINDAST; MODABBER; SABETKASAI, 1993), permitindo três tentativas de colocação do animal em posição cataléptica. O tempo de catalepsia foi considerado finalizado quando as patas anteriores tocaram o solo ou quando o camundongo subiu na barra. As medidas realizaram-se depois de 30, 60 e 90 minutos após a administração das drogas.



Figura.3 – Teste de Catalepsia na barra

4.2.1.2 Teste do campo aberto:

Este teste foi utilizado para avaliar o estado motor do animal (Figura 4). O mesmo foi inicialmente descrito e utilizado por Calvin S. Hall na década de 1930, sendo o seu uso estendido e modificado por P. L. Broderhurst na década de 1960, em estudos sobre o medo e a herança do comportamento, onde ficou demonstrado que a quantidade de bolos fecais expelidos pelo rato eram relacionados positivamente com o medo.

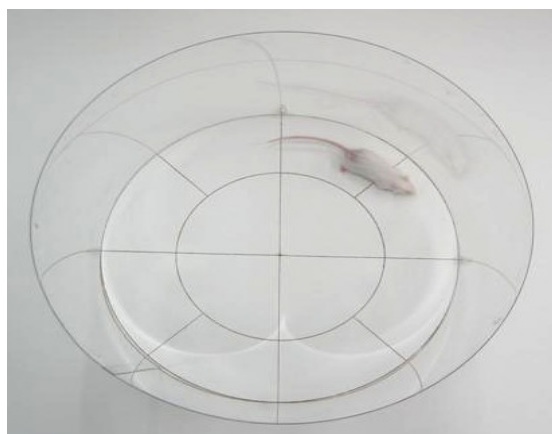


Figura 4 – Teste do Campo Aberto

Através dos estudos de Whimbey e Denenberg (1967), ficou demonstrado que no teste de campo aberto, havia uma forte correlação positiva entre o comportamento de deambulação e o comportamento exploratório do rato (exceto no primeiro dia de teste no campo aberto) e negativamente relacionado com o medo e a quantidade de bolos fecais expelidos durante o teste (apud GRAY, 1987). Outros parâmetros de avaliação foram sendo gradativamente acrescentados ao teste, sendo que atualmente, mais de 30 itens são listados neste teste (WALSH, 1976).

Em nosso laboratório, os parâmetros avaliados durante a realização do teste do campo aberto foram: a frequência dos comportamentos de exploração horizontal e vertical, em uma arena cilíndrica, de 40 cm de diâmetro, com paredes de acrílico translúcido, de 30 cm de altura, colocada sobre uma base de madeira recoberta de fórmica de cor branca, a qual é subdividida em 12 quadrantes de $104,7 \text{ cm}^2$ cada.

4.3 Análise Estatística

Os resultados obtidos por meio dos testes de comportamento foram analisados estatisticamente pelo “*software*” SigmaStat para Windows[®], na versão 2.0. Em todos os testes utilizados foram consideradas estatisticamente significantes as diferenças na qual o valor de p foi menor que 0,05.

A comparação entre os grupos experimentais, em relação às variáveis tempo de catalepsia, quadrantes percorridos e erguimentos, foi realizada por meio do teste ANOVA de uma via, seguido pelo pós-teste de Duncan. Já a comparação entre os momentos de análise, em relação ao tempo de catalepsia, foi realizada por meio do teste ANOVA de uma via de medidas repetitivas, seguido pelo pós-teste de Duncan. Em todos os testes realizados foi considerado um nível de significância de 5% (NORMAN, 1994; SHOTT, 1990).

5 RESULTADOS

Experimento 1

Os resultados referentes à análise da catalepsia e do campo aberto para os animais dos grupos do experimento I estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1: Resultados referentes ao tempo de permanência dos camundongos em catalepsia e campo aberto quanto à locomoção em exploração horizontal e vertical, apresentados em valor médio±erro padrão, observados em cada um dos grupos experimentais com administração de cafeína e de drogas antagonistas de dopamina e NOS.

Grupos	Catalepsia Tempos (Minutos)			Campo Aberto Exploração (cm)	
	30	60	90	Horizontal	Vertical
salina + salina	1,44±0,06	1,50±0,07	2,44±0,10	70,19±6,19	15,75±1,82
salina+cafeína 1mg	1,00±0,04	2,13±0,21	2,19±0,20	67,75±7,29	12,00±1,68
salina + cafeína 2mg	0,63±0,06	1,00±0,09	0,75±0,09	77,25±5,21	13,75±1,27
L-ARG + salina	2,44±0,23	10,06±2,00	2,00±0,14	53,56±8,39	10,69±2,49
L-ARG + cafeína 1mg	0,88±0,10	1,25±0,16	1,38±0,13	81,13±7,92	16,38±1,67
L-ARG + cafeína 2mg	1,63±0,23	0,63±0,09	1,00±0,12	72,50±11,30	17,62±4,16
haloperidol + salina	36,13±2,50	117,00±12,90	102,13±8,82	2,38±1,07	0,50±0,38
haloperidol + cafeína 1mg	70,38±5,64	34,88±2,35	146,50±16,34	0,38±0,18	0,00±0,00
haloperidol + cafeína 2mg	38,88±5,29	40,50±4,78	31,63±2,88	2,13±0,99	1,00±0,57
L-NOARG + salina	62,38±13,93	139,25±15,11	190,75±18,48	61,75±10,00	2,38±0,73
L-NOARG + cafeína 1mg	86,13±13,78	96,63±13,51	112,63±13,68	40,00±5,14	2,38±1,96
L-NOARG + cafeína 2mg	58,88±12,19	41,00±8,44	53,00±12,53	59,75±9,31	3,38±1,18
L-NAME + salina	6,25±0,34	12,13±1,40	17,25±2,49	31,63±4,96	3,38±1,02
L-NAME + cafeína1 mg	2,50±0,18	4,88±0,40	5,00±0,36	29,25±4,50	3,00±0,73
L-NAME + cafeína 2mg	2,00±0,12	4,00±0,47	2,38±0,25	35,25±7,04	3,38±1,49

Grupos controle:

Catalepsia:

Os animais do grupo sal+sal não apresentaram catalepsia em nenhum dos tempos analisados (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,17$).

Já os animais dos grupos sal+caf1 e sal+caf2 apresentaram, nos três momentos avaliados, um tempo médio de catalepsia que variou entre $0,63\pm 0,06$ segundos (média±erro padrão da média) e $2,19,13\pm 0,20$ segundos, sendo que não foi observada diferença significativa entre os três momentos de análise, para ambos os grupos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,34$ e $p=0,51$, respectivamente).

Campo Aberto:

Nos grupos controle sal+caf1, e sal+caf2, e L-Arginina+caf1 e L-Arginina+caf 2, constatou-se que a cafeína não alterou o comportamento de EH e EV (ANOVA de uma via, $p<0,001$).

Subexperimento I

Catalepsia:

Os animais do grupo L-Arg+sal não apresentaram catalepsia em nenhum dos tempos analisados (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,35$).

Os animais do grupo L-Arg+caf1 não apresentaram catalepsia em nenhum dos tempos analisados (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,72$).

Os animais do grupo L-Arg+caf2 não apresentaram catalepsia em nenhum dos tempos analisados (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,30$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 30 minutos, não houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p=0,58$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 60 minutos, não houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p=0,33$ pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 90 minutos, não houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p=0,58$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Campo Aberto:

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos L-arg+sal, L-arg+caf1 e L-arg+caf2, apresentaram uma média de distância percorrida de quadrantes que variou entre $81,13 \pm 7,92$ a $53,56 \pm 8,39$ (ANOVA de uma via, $p=0,159$). Em relação ao número de quadrantes percorridos não houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos L-arg+sal, L-arg+caf1 e L-arg+caf2 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $17,62 \pm 4,16$ a $10,69 \pm 2,49$ (ANOVA de uma via, $p=0,217$). Em relação à exploração vertical, não houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Subexperimento II

Catalepsia:

Os animais do grupo haldol+sal apresentaram catalepsia que variou entre $36,13 \pm 2,50$ e $117,00 \pm 12,90$ segundos, sendo que o tempo de catalepsia observada nos momentos 60 e 90 minutos foi maior do que aquele observado no momento 30 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,01$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Os animais do grupo haldol+caf1 apresentaram tempo de catalepsia que variou entre $34,88 \pm 2,35$ e $146,50 \pm 16,34$ segundos, sendo que o tempo de catalepsia observado no momento 90 minutos, foi maior do que aquele observado no momento 60 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,03$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Os animais do grupo haldol+caf2 apresentaram tempo de catalepsia que variou entre $31,63 \pm 2,88$ e $40,50$ segundos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,85$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais do grupo haldol+caf1 foi maior do que aquele observado

para os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2, haldol+sal e haldol+caf2. O tempo de catalepsia observado nos animais do grupo haldol+sal e haldol+caf2 foi maior que o observado nos grupos dos animais sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 (pós-teste de Duncan, $p < 0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p < 0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais do grupo haldol+sal foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2, haldol+caf1 e haldol+caf2. O tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos haldol+caf1 e haldol+caf2 foi maior que o observado nos animais dos grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 (pós-teste de Duncan, $p < 0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p < 0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos haldol+sal e haldol+caf1 foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2 e haldol+caf2. O tempo de catalepsia observado nos animais do grupo haldol+caf2 foi maior que o observado nos animais dos grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 (pós-teste de Duncan, $p < 0,05$).

Campo Aberto:

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos haldol+sal, haldol+caf1 e haldol+caf2, apresentaram uma média de distância percorrida de quadrantes que variou entre $2,38 \pm 1,07$ a $0,38 \pm 0,18$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação ao número de quadrantes percorridos, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1, e sal+caf2 percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos haldol+sal, haldol+caf1, haldol+caf2 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos haldol+sal, haldol+caf1 e haldol+caf2 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $1,00 \pm 0,57$ a $0,00 \pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 apresentaram mais

erguimentos do que os animais dos grupos haldol+sal, haldol+caf1 e haldol+caf2 (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Para os grupos haldol+caf1 e haldol+caf 2 a cafeína demonstrou não alterar o comportamento de EH e EV dos animais analisados. Observou-se que o haloperidol diminuiu ambos os comportamentos exploratórios e que esse não foi revertido pela ação da cafeína em ambas as doses (ANOVA de uma via, $p<0,001$)

Subexperimento III

Catalepsia:

Os animais do grupo L-NOARG+sal apresentaram catalepsia que variou entre $62,38\pm 13,93$ e $190,75\pm 18,48$ minutos, sendo que a catalepsia nos momentos 60 e 90 minutos maior do que aquela observada no momento 30 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,02$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

O grupo L-NOARG+caf1 apresentou catalepsia que variou entre $86,13\pm 13,78$ e $112,63\pm 13,68$ minuto, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,46$).

O grupo L-NOARG+caf2 apresentou catalepsia que variou entre $41,00\pm 8,44$ e $58,88\pm 12,19$ minutos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,78$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos grupos L-NOARG+sal, L-NOARG+caf1 e L-NOARG+caf2 foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos grupos L-NOARG+sal e L-NOARG+caf1 foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2. O tempo de catalepsia observado no grupo L-NOARG+caf2 foi maior que o observado nos grupos sal+sal e sal+caf2 (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia

(ANOVA de uma via, $p < 0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado no grupo L-NOARG+sal foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2 e L-NOARG+caf2. O tempo de catalepsia observado nos grupos L-NOARG+caf1 e L-NOARG+caf2 foi maior que o observado nos grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 (pós-teste de Duncan, $p < 0,05$).

Campo Aberto:

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos L-NOARG+sal, L-NOARG+caf1 e L-NOARG+caf2, apresentaram uma média de distância percorrida de quadrantes que variou entre $61,75 \pm 10,00$ a $40,0 \pm 5,14$ (ANOVA de uma via, $p = 0,029$). Em relação ao número de quadrantes percorridos, não houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais do grupo sal+caf2 percorreram mais quadrantes que os animais do grupo L-NOARG+caf1 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos L-NOARG+sal, L-NOARG+caf1 e L-NOARG+caf2, apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $3,38 \pm 1,18$ a $2,38 \pm 1,96$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 apresentaram mais erguimentos do que os animais dos grupos L-NOARG+sal, L-NOARG+caf1 e L-NOARG+caf2 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

Observou-se que nos animais dos grupos L-NOARG+caf1 e L-NOARG+caf2 que o L-NOARG diminuiu o comportamento de EH e EV dos animais avaliados, e que esse efeito não foi revertido pela ação da cafeína em nenhuma das doses empregadas (ANOVA de uma via, $p < 0,001$)

Subexperimento IV

Catalepsia:

O grupo L-NAME+sal apresentou catalepsia que variou entre $6,25 \pm 0,34$ e $17,25 \pm 2,49$ minutos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,27$).

O grupo L-NAME+caf1 apresentou catalepsia que variou entre $2,50 \pm 0,18$ e $5,00 \pm 0,36$ minutos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,06$).

O grupo L-NAME+caf2 apresentou catalepsia que variou entre $2,00 \pm 0,12$ e $4,00 \pm 0,47$ minutos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,12$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado no grupo L-NAME+sal foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2, L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2 (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado no grupo L-NAME+sal foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2 e L-NAME+caf2. O grupo L-NAME+caf2 apresentou tempo de catalepsia maior do que aquele observado nos grupos sal+sal e sal+caf1 (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado no grupo L-NAME+sal foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+caf1, sal+caf2, L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2. O tempo de catalepsia observado no grupo L-NAME+caf2 foi maior do que aquele observado no grupo sal+caf1 (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Campo Aberto:

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos L-NAME+sal, L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2, apresentaram uma média de distância percorrida de quadrantes que variou entre $35,25 \pm 7,04$ a $29,25 \pm 4,50$ (ANOVA de uma via, $p<0,001$). Em relação ao número de

quadrantes percorridos, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1, e sal+caf2 percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos L-NAME+sal, L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2 (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos L-NAME+sal, L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $3,38\pm 1,49$ a $3,00\pm 0,73$ (ANOVA de uma via, $p<0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal, sal+caf1 e sal+caf2 apresentaram mais erguimentos do que os animais dos grupos L-NAME+sal, L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2 (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Para os animais dos grupos L-NAME+caf1 e L-NAME+caf2 a cafeína demonstrou não alterar o comportamento de EH e EV dos animais analisados. Observou-se que o L-NAME diminuiu ambos os comportamentos exploratórios e que esse não foi revertido pela ação da cafeína em ambas as doses (ANOVA de uma via, $p<0,001$)

Experimento 2

Os resultados referentes à análise da catalepsia e do campo aberto para os animais dos grupos do experimento II estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Resultados referentes ao tempo de permanência dos camundongos em catalepsia e, campo aberto quanto à locomoção em exploração horizontal e vertical, apresentados em valor médio±erro padrão, observados em cada um dos grupos experimentais com administração de NECA e de drogas antagonistas de dopamina e NOS.

GRUPOS	CATALEPSIA			CAMPO ABERTO	
	Tempo (minutos)			Exploração	
	30	60	90	Horizontal	Vertical
salina + salina	1,44±0,06	1,50±0,07	2,44±0,10	70,19±6,19	15,75±1,82
salina + NECA 0,05mg	58,38±7,13	42, 63±5,67	36,25±4,36	1,63±0,32	0,00±0,00
sal + NECA 0,1mg	79,13±9,50	74,13±4,27	73,88±1,78	1,75±0,45	0,00±0,00
L-ARG + salina	2,44±0,23	10,06±2,00	2,00±0,14	53,56±8,39	10,69±2,49
L-ARG + NECA 0,05mg	59, 38±12,45	196,88±17,91	153,75±13,25	2,75±2,75	0,38±0,38
L-ARG + NECA 0,1mg	89,00±8,46	77,50±8,04	84,88±10,52	5,00±1,93	0,00±0,00
haloperidol + salina	36,13±2,50	117,00±12,90	102,13±8,82	2,38±1,07	0,50±0,38
haloperidol + NECA 0,05mg	292,75±2,56	300,00±0,00	300,00±0,00	0,13±0,13	0,00±0,00
haloperidol + NECA 0,1mg	270,50±8,02	270,75±10,34	280,88±6,76	0,00±0,00	0,00±0,00
L-NOARG + salina	62,38±13,93	139,25±15,11	190,75±18,48	61,75±10,00	2,38±0,73
L-NOARG + NECA 0,05mg	271,38±7,13	202,50±13,68	260,13±7,67	0,00±0,00	0,00±0,00
L-NOARG + NECA 0,1mg	223,13±10,66	266,88±11,71	258,25±8,05	0,00±0,00	0,00±0,00
L-NAME + salina	6,25±0,34	12,13±1,40	17,25±2,49	31,63±4,96	3,38±1,02
L-NAME + NECA 0,05mg	67,50±5,58	180,75±11,92	138,63±16,15	7,63±7,48	1,50±1,50
L-NAME + NECA 0,1mg	138,00±14,08	237,38±9,88	139,63±13,27	0,00±0,00	0,00±0,00

Grupos controle:

Catalepsia:

Os animais do grupo sal+sal não apresentaram catalepsia em nenhum dos tempos analisados (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,17$).

Já os animais dos grupos sal+NECA0,05 e sal+NECA0,1 apresentaram, nos três momentos avaliados, um tempo médio de catalepsia que variou entre $36,25±4,36$ segundos (média±erro padrão da média) e $79,13±9,50$ segundos, sendo que não foi observada diferença

significativa entre os três momentos de análise, para ambos os grupos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,59$ e $p=0,67$, respectivamente).

Campo Aberto:

Neste experimento observou-se que o grupo sal+sal não apresentou alteração significativa no comportamento de exploração horizontal (EH) e no de exploração vertical (EV) em nenhum dos grupos analisados (ANOVA de uma via $p<0,001$).

No grupo controle sal+NECA0,05 e sal+NECA0,1 o emprego do NECA diminuiu progressivamente o comportamento EH e EV (ANOVA de uma via $p<0,001$).

Subexperimento V

Catalepsia:

O grupo de animais L-Arg+sal não apresentou catalepsia em nenhum dos momentos avaliados (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,35$).

Os animais do grupo L-Arg+NECA0,05 apresentaram catalepsia que variou entre $59,38\pm 12,45$ segundos e $196,88\pm 17,91$ segundos, sendo que a catalepsia nos momentos 60 e 90 minutos foi maior do que aquela observada no momento 30 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,03$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

O grupo L-Arg+NECA0,1 apresentou catalepsia que variou entre $77,50\pm 8,04$ segundos e $89,00\pm 8,46$ segundos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,77$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1, foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal e L-Arg+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo aqueles dos grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre eles, em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia

observado nos animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1, foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal e L-Arg+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo aqueles dos grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre eles, em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1, foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal e L-Arg+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Campo Aberto:

Os resultados demonstraram que no grupo L-Arg+sal que a L-Arginina não alterou o comportamento de EH e EV (ANOVA de uma via, $p<0,001$).

Verificou-se que o NECA quando aplicado, em ambas as doses, causou diminuição da EH e EV cujo efeito não foi revertido pela L-Arginina (ANOVA de uma via, $p<0,001$).

Quanto a EV, a L-Arginina demonstrou não alterar o comportamento dos animais analisados (ANOVA de uma via, $p<0,001$).

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais do grupo L-Arg+sal, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1 apresentaram uma média de distância percorrida por quadrantes que variou entre $53,56\pm 8,39$ a $2,75\pm 2,75$ (ANOVA de uma via, $p<0,001$). Em relação ao número de quadrantes percorridos, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal e L-arg+sal percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1. O grupo L-Arg+sal percorreu mais quadrantes que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos L-arg+sal, L-arg+NECA0,05 e L-arg+NECA0,1 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $10,69\pm 2,49$ a $0,00\pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p<0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal e L-Arg+sal apresentaram mais

erguimentos do que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-Arg+NECA0,05 e L-Arg+NECA0,1.

Subexperimento VI

Catalepsia:

Os animais do grupo haldol+sal apresentaram catalepsia progressiva com o tempo que variou entre $36,13 \pm 2,50$ e $117,00 \pm 12,90$ segundos, sendo que o tempo de catalepsia nos momentos 60 e 90 minutos, foi maior do que aquele observado no momento 30 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,01$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Os animais do grupo haldol+NECA0,05 apresentaram catalepsia que variou entre $292,75 \pm 2,56$ e $300,00 \pm 0,0$ minutos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,39$).

Os animais do grupo haldol+NECA0,1 apresentaram catalepsia que variou entre $270,50 \pm 8,02$ e $280,88 \pm 6,76$, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,45$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo aqueles dos grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1 foi maior que nos animais dos grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e haldol+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre os grupos, em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste Já os animais do grupo sal+NECA0,1 apresentaram tempo de catalepsia menor que grupo de animais haldol+sal; enquanto os animais do grupo sal+NECA0,05 apresentaram tempo de catalepsia maior que os animais do grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$). momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1 foi maior que nos animais dos grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e haldol+sal. Além disso, o tempo de catalepsia nos animais dos grupos sal+NECA0,1 e haldol+sal foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal e sal+NECA0,05.

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo aqueles dos grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre os grupos, em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p < 0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1 foi maior do que aquele observado nos animais dos grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e haldol+sal. O tempo de catalepsia nos animais dos grupos sal+NECA0,1 e haldol+sal foi maior do que aquele apresentado dos animais dos grupos sal+sal e sal+NECA0,05; enquanto que o tempo de catalepsia dos animais do grupo sal+NECA0,05 foi maior do que o observado para os animais do grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p < 0,05$).

Campo Aberto:

O estudo demonstrou que nos grupos haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1 após a aplicação do haloperidol ocorreu diminuição significativa quanto ao comportamento de exploração horizontal (EH) e exploração vertical (EV) dos animais independentemente das doses do NECA utilizadas (ANOVA de uma via, $p < 0,001$).

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos haldol+sal, haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1, apresentaram uma média de distância percorrida por quadrantes que variou entre $2,38 \pm 1,07$ a $0,00 \pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação ao número de quadrantes percorridos, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais do grupo sal+sal percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, haldol+sal, haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos haldol+sal, haldol+NECA0,05 e haldol+NECA0,1 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $0,50 \pm 0,38$ a $0,00 \pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal apresentaram mais erguimentos do que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, haldol+sal, haldol+NECA0,05, haldol+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

Subexperimento VII

Catalepsia:

Os animais do grupo L-NOARG+sal apresentaram catalepsia progressiva com o tempo que variou entre $62,38 \pm 13,93$ e $190,75 \pm 18,48$ segundos, sendo o tempo de catalepsia nos momentos 60 e 90 minutos maior do que aquele observado no momento 30 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,02$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Os animais do grupo L-NOARG+NECA0,05 apresentaram catalepsia que variou entre $202,50 \pm 13,68$ e $271,38 \pm 7,13$ segundos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,15$).

Os animais do grupo L-NOARG+NECA0,1 apresentaram catalepsia que variou entre $223,13 \pm 10,66$ e $266,88 \pm 11,71$ segundos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,68$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os dos grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos L-NOARG+NECA0,05 e L-NOARG+NECA0,1 foi maior do que aquele encontrado para os animais dos grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e L-NOARG+sal. O tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos sal+NECA0,05 e sal+NECA0,1 foi maior que o observado nos grupos sal+sal e L-NOARG+sal, enquanto que o tempo de catalepsia dos animais do grupo L-NOARG+sal foi maior do que aquele apresentado nos animais do grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os dos grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais grupo L-NOARG+NECA0,1 foi maior do que aquele observado para os grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e L-NOARG+sal. O tempo de catalepsia observado no grupo L-NOARG+NECA0,05 foi maior que o observado nos grupos sal+sal e sal+NECA0,05; e o tempo de catalepsia dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e L-NOARG+sal maior do que aquele observado no grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p < 0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos L-NOARG+NECA0,05 e L-NOARG+NECA0,1 foi maior do que aquele observado para os animais dos grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e L-NOARG+sal. O tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos sal+NECA0,1 e L-NOARG+sal foi maior do que aquele observado nos animais dos grupos sal+sal e sal+NECA0,05, enquanto o tempo de catalepsia dos animais do grupo sal+NECA0,05 foi maior do que aquele observado nos animais do grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p < 0,05$).

Campo Aberto:

Neste experimento observou-se que a droga L-NOARG quando aplicada isoladamente (grupo L-NOARG+sal) não diminuiu significativamente o comportamento da EH, ao passo que o NECA quando associado, independentemente da dose, causou diminuição dos quadrantes percorridos (ANOVA de uma via, $p < 0,001$).

No entanto à análise dos resultados na EV as drogas L-NOARG e NECA, em ambas as doses, demonstraram diminuir significativamente o comportamento da EV em todos os grupos avaliados (ANOVA de uma via, $p < 0,001$).

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos L-NOARG+sal, L-NOARG+NECA0,05 e L-NOARG+NECA0,1, apresentaram uma média de distância percorrida de quadrantes que variou entre $61,75 \pm 10,00$ a $0,00 \pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação ao número de quadrantes percorridos houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais do grupo sal+sal e L-NOARG+sal percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-NOARG+NECA0,05 e L-NOARG+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos L-NOARG+sal, L-NOARG+NECA0,05 e L-NOARG+NECA0,1 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $2,38 \pm 0,73$ a $0,00 \pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do

grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal apresentaram mais erguimentos do que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-NOARG+sal, L-NOARG+NECA0,05 e L-NOARG+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Subexperimento VIII

Catalepsia:

Os animais do grupo L-NAME+sal apresentaram catalepsia que variou entre $6,25\pm 0,34$ e $17,25\pm 2,49$ segundos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise, em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,28$).

Os animais do grupo L-NAME+NECA0,05 apresentaram catalepsia que variou entre $67,50\pm 5,58$ e $180,75\pm 11,92$ segundos, sendo que o tempo de catalepsia no momento 60 minutos foi maior do que aquele observado no momento 30 minutos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,03$, pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Os animais do grupo L-NAME+NECA0,1 apresentaram catalepsia que variou entre $138,00\pm 14,08$ e $237,38\pm 9,88$ minutos, sendo que neste grupo não houve diferença entre os momentos de análise em relação à catalepsia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p=0,13$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 30 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1 foi maior do que aquele observado nos animais dos grupos sal+sal e L-NAME+sal. O tempo de catalepsia observado nos animais do grupo L-NAME+sal foi maior do que aquele observado nos animais do grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os grupos experimentais, incluindo os grupos controle, no momento 60 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos grupos L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1 foi maior do que aquele observado nos grupos sal+sal, sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-NAME+sal. O tempo de catalepsia observado do grupo sal+NECA0,1 foi maior do que aquele observado nos grupos sal+sal,

sal+NECA0,05 e L-NAME+sal, ao passo que o tempo de catalepsia observado do grupo L-NAME+sal foi maior que o observado no grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Na comparação entre os animais dos grupos experimentais, incluindo os animais dos grupos controle, no momento 90 minutos, houve diferença entre eles (grupos), em relação ao tempo de catalepsia (ANOVA de uma via, $p<0,001$), sendo que neste momento o tempo de catalepsia observado nos animais dos grupos L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1 foi maior do que aquele observado nos animais dos grupos sal+sal, sal+NECA0,05 e L-NAME+sal. O tempo de catalepsia observado nos animais do grupo sal+NECA0,1 foi maior do que aquele observado nos animais do grupo sal+sal e L-NAME+sal. Os animais dos grupos sal+NECA0,05 e L-NAME+sal apresentaram tempo de catalepsia maior do que aquele apresentado pelos animais do grupo sal+sal (pós-teste de Duncan, $p<0,05$).

Campo Aberto:

Observou-se que no grupo L-NAME+sal que a aplicação do L-NAME diminuiu significativamente o comportamento de EH e EV dos animais analisados, porém em menor intensidade do que NECA quando aplicado com salina ou de forma combinada com L-NAME isoladamente ou combinado (ANOVA de uma via, $p<0,001$).

Nos grupos L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1 verificou-se que o NECA potencializou o efeito do L-NAME progressivamente com o aumento da dose. Portanto, ressalta-se que L-NAME e NECA diminuíram o comportamento de EH e EV (ANOVA de uma via, $p<0,001$).

Em relação ao comportamento da exploração horizontal, mensurado pela quantificação da distância de quadrantes percorridos, os animais dos grupos L-NAME+sal, L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1, apresentaram uma média de distância percorrida de quadrantes que variou entre $31,63\pm 4,96$ a $0,00\pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p<0,001$). Em relação ao número de quadrantes percorridos houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais do grupo sal+sal percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-NAME+sal, L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1. Os animais do grupo L-NAME+sal percorreram mais quadrantes que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1 e L-NAME+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p<0,05$).

Em relação ao comportamento de exploração vertical, mensurado pela quantificação do número de erguimentos expressos pelos animais, os animais dos grupos L-NAME+sal, L-

NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1 apresentaram uma média de erguimentos que variou entre $3,38 \pm 1,02$ a $0,00 \pm 0,00$ (ANOVA de uma via, $p < 0,001$). Em relação à exploração vertical, houve diferença significativa entre os animais dos grupos analisados, incluindo os do grupo controle, sendo que os animais dos grupos sal+sal apresentaram mais erguimentos do que os animais dos grupos sal+NECA0,05, sal+NECA0,1, L-NAME+sal, L-NAME+NECA0,05 e L-NAME+NECA0,1 (pós teste de Duncan, $p < 0,05$).

6 DISCUSSÃO

A terapia de reposição de dopamina com L-3,4 dihidroxifenilalanina (L-DOPA) permanece como o mais efetivo tratamento para a doença de Parkinson (FAHN, 2008; OLANOW, 2008).

Nos últimos anos terapias não dopaminérgicas tem sido empregadas na melhora motora das complicações do L-DOPA (JENNER, 2008). De fato novos avanços para o tratamento das desordens dos movimentos baseadas na manipulação de sistemas não dopaminérgicos tais como glutamato, 5-hidroxitriptamine (5-HT), canabinóides, adenosina, adrenérgicos, histaminérgicos e opióides têm sido propostos (CHASE *et al.*, 2000; SILVERDALE *et al.*, 2003; BROTCHE, 2005; JENNER, 2008).

Neste estudo avaliou-se os efeitos de um agonista e um antagonista de receptores de adenosina (NECA e cafeína, respectivamente), agonistas e antagonistas de inibidores da sintase do óxido nítrico NOS (L-Arginina e L-NOARG, L-NAME, respectivamente) no comportamento motor de camundongos empregando os testes de catalepsia e campo aberto, após a inibição de receptores de dopamina com haloperidol.

Na presente investigação, os resultados obtidos na pesquisa demonstraram que o haloperidol, antagonista de D2 causou catalepsia e hipolocomoção nos animais analisados. Estes achados hipocinéticos são coerentes com experimentos anteriores, os quais constataram que a inibição de receptores de dopamina dos núcleos basais do encéfalo produzem catalepsia e hipocinesia.; sintomas semelhantes àqueles observados em pacientes com doença de Parkinson (DEL BEL *et al.*.,2002; HAUBER *et al.*, 2001).

A catalepsia e discinesia, induzidas pelo haloperidol, têm sido amplamente utilizadas nos estudos dos impedimentos motores de animais modelos com doença de Parkinson (BALDESSARINI, 1980, HAGINO *et al.*, 1988; GLAZER, 2000; JACKSON *et al.*, 2004; WANG *et al.*, 2005).

Estudos demonstraram a efetividade de antagonistas seletivos de adenosina como adjuvantes no tratamento da terapia com L-DOPA (FUXE *et al.*, 2008; GOTTWALD e AMINOFF, 2008; HAUSER *et al.*, 2008; JENNER, 2005; KASE *et al.*, 2003), e pesquisas com roedores mostram que antagonistas de A2A reduzem efetivamente a catalepsia e revertem a atividade motora suprimida pelos antagonistas de D2 (ANTONIOU *et al.*, 2005; CORREA *et al.*, 2004; MALEC, 1997; MOO-PUC *et al.*, 2003; SALAMONE *et al.*, 2008b).

Entretanto, ainda permanece de forma pouco evidente até onde os efeitos benéficos da manipulação de adenosina se estendem para equilibrar o antagonismo de um ou de ambos os tipos de receptores de adenosina (A1 ou A2A).

Outro neurotransmissor que pode estar envolvido na prevenção de discinesias induzidas pela administração repetida de L-DOPA é o óxido nítrico. Neste estudo, foi observado que o emprego do substrato para a formação do NO (L-Arginina) não causou alterações no comportamento motor dos animais em nenhum dos experimentos analisados. Porém, o uso do inibidor da NOS (L-NOARG) causou catalepsia e hipolocomoção. Notou-se ainda que o inibidor da NOS (L-NAME) nas doses utilizadas não alterou significativamente o comportamento motor dos animais analisados.

Estes eventos permitem correlacionar as interferências na formação do NO com a produção de déficits motores encontrados no comportamento motor de animais com Parkinson.

Corroboram com esses dados, estudos anteriores que constataram que os inibidores da NOS diminuem a locomoção e exploração vertical de camundongos no teste do campo aberto (DEL BEL *et al.*, 2002) e a atividade motora espontânea de ratos (HALCAK *et al.*, 2000).

O NO é uma molécula lipossolúvel de curta vida, gerada a partir do aminoácido L-Arginina, que pertence a família de enzimas chamadas de sintase do óxido nítrico (NOS). Embora a produção de interneurônios componha apenas 1%-2% da população de neurônios estriatais, evidências convincentes têm demonstrado que o NO controla o comportamento motor modulando a integração e informação processada pelos núcleos da base. Mecanismos nitrérgicos podem contribuir com a morte de neurônios de DA visto na doença de Parkinson (GOMES *et al.*, 2008). A modulação do NO libera vários neurotransmissores incluindo DA, 5- hidroxitriptamina (5-HT), acetilcolina e GABA (TRABACE e KENDRICK, 2000).

Tem sido proposto que o NO desempenha um papel pivô no controle homeostático no processo que fornece estabilidade ao sistema DA-nigral. O bombardeio de neurônios dopaminérgicos causa a liberação de NO a partir de interneurônios GABAérgicos estriatais (SAMMUT *et al.*, 2006) o qual por sua vez influencia a indução a longo prazo da depressão do estriato (CALABRESI *et al.*, 1999). A terapia com L-DOPA tem demonstrado causar um aumento marcante na produção de NO (ITOKAWA *et al.*, 2006).

Padovan-Neto *et al.* (2009) hipotetizaram que a redução endógena tônica de nitrérgicos induzida pelo tratamento com inibidores da NOS poderiam diminuir os movimentos involuntários anormais induzidos pela L-DOPA, em ratos com lesões

neurotóxicas da via dopaminérgica nigroestriatal. Observou-se que o inibidor seletivo da sintase do NO (Nnos)7-NI, aumentou a performance motora de ratos com discinesia. Diante destes resultados, apontando que os inibidores da sintase de NOS são capazes de reduzir as discinesias induzidas pela terapia com L-DOPA, estes pesquisadores sugerem que a hiperatividade do sistema nitrérgico está envolvida nesta desordem.

West e Grace (2000) sugeriram que o NO ocupa um papel modulatório no estriado, mudando sua relação “input-output” (entrada-saída) e produzindo um impacto funcional significativo nos neurônios alvos. Também pela influência ao longo prazo da depressão no estriado pela via NO/cGMP tem sido proposta no controle da conectividade corticoestriatal (CALABRESI *et al.*, 1999). O lançamento de NO a partir de interneurônios estriatais facilitam concomitantemente o lançamento de DA (WEST e GALLOWAY, 1998; TRABACE e KENDRICK, 2000; GRACE, 2008) e a produção de NO pelos interneurônios estriatais que são regulados pela transmissão fásica de DA (WEST e GRACE, 2000).

Os inibidores da NOS também são sintetizados dentro do organismo. Por exemplo, N(G)-monometil-L-arginina e o assimétrico dimetil L-arginina são metilizados pelos resíduos de arginina nas proteínas (LEIPER e VALLANCE, 1999). Uma vez sendo as proteínas discriminadas, metil l-arginina livre são lançadas dentro do citosol da célula e age como um inibidor competitivo na inibição de todos isoformas da NOS. Um novo avanço terapêutico poderá ser manipulado a nível dessa inibição endógena do NO. Eles são metabolizados para citrulina pela ação da dimetil l-arginina dimetilaminohidrolise (MACALLISTER *et al.*, 1996; MURRAY-RUST *et al.*, 2001). A inibição desta enzima leva a um acúmulo de metil l-argininas e portanto ao bloqueio da produção de NO.

Nesta pesquisa, os agonistas de receptores de adenosina (NECA) causaram catalepsia e hipolocomoção nos animais avaliados. Ao passo que os antagonistas de receptores de adenosina (cafeína) revertem catalepsia e hipolocomoção. Esses resultados são consistentes com muitos estudos que acreditam que antagonistas de A2A desempenham um efetivo método no qual a catalepsia pode ser reduzida (ANTONIOU *et al.*; 2005; KAFKA e CORBETT, 1996; MALEC, 1997; MOO-PUC *et al.*, 2003).

Corroboram ainda os resultados achados, pesquisas conduzidas por Trevitt *et al.*(2009), que demonstraram que a utilização de 3 tipos de antagonistas de adenosina (cafeína, CPT e SCH586210) foram capazes de reverter a catalepsia induzida por haloperidol em modelos de ratos com Parkinson. O estudo apontou que a cafeína utilizada em doses experimentais foi capaz de diminuir o tempo gasto na barra pelos animais para intervalos de tempo similares aqueles medidos no patamar inicial.

Uma explicação plausível para o aumento da efetividade motora consiste na seletiva co-localização do receptor A2A com o receptor D2 dos neurônios da via estriatopalidal. Em adição, tem sido achado que no cérebro de pacientes com Parkinson, que o número de receptores A2A aumenta também na substância negra pars (HURLEY *et al.*, 2000).

Bibbiani *et al.* (2003), afirmam que é possível que o bloqueio de receptores A2A no sistema nervoso, possa facilitar a produção e liberação de dopamina a partir de neurônios dopaminérgicos remanescentes.

Trevitt *et al.* (2009), obtiveram resultados inesperados e interessantes por meio de experimentos que avaliaram a locomoção. Entre eles, constatou-se que a administração da cafeína reverteu a supressão locomotora, entretanto este evento apenas foi visto na dose 20,0 mg/kg. Em adição, o antagonista de A2A não restaurou a locomoção, ao passo que o antagonista de A1 restaurou. Inicialmente, era esperado que o tratamento com receptores antagonistas de A2A fossem capaz de reestabelecer os movimentos dos animais. Este dado é contraditório, pois a revisão de literatura indica que outros pesquisadores encontraram que antagonistas de A2A reestabeleceram efetivamente a atividade locomotora (CORREA *et al.*, 2004; SALAMONE *et al.*, 2008 b). Além do mais, estudos apontam que a interação dopamina-adenosina sugere que o receptor A2A costuma afetar somente o subreceptor D2 e que este trabalha primariamente por meio da via estriato palidal (FERRE *et al.*, 1993).

Evidência indireta de que o receptor de adenosina A2A está envolvido na regulação do comportamento motor, também foi notada na melhora da mobilidade após tratamento com cafeína e teofilina, antagonistas não seletivos de receptores A1/A2. Calon *et al.* (2004), sugeriram que o tratamento a longo prazo com L-DOPA resulta na intensificação da síntese de receptores de A2A na via entre estriado e substância negra, e a ocorrência de discinesia em pacientes com Parkinson.

Até o momento, mudanças na quantidade de adenosina no cérebro de pacientes com Parkinson não foram detectadas. Somente alguns estudos sugerem mudanças na quantidade de receptores de adenosina nesta doença. Apesar de que, parece ser que a melhora na mobilidade de pacientes com Parkinson possa ser alcançada pela ativação simultânea de receptores dopaminérgicos D2 e inibição de receptores de A2A (CIÉSLAK *et al.*, 2008).

Para Ciésłak *et al.* (2008), os efeitos terapêuticos dependem não apenas na mudança da concentração ecto-adenosina ou na quantidade de receptores de adenosina, mas também podem estar ligados ao desequilíbrio na relação entre os níveis de adenosina e dopamina, sendo que o efeito terapêutico é alcançado pelo uso simultâneo de receptores antagonistas de A2A e receptores agonistas de D2.

Finalmente, os achados deste estudo corroboram os estudos anteriores que ressaltam que a modulação do comportamento motor é influenciada pela ação e interação de diversos neurotransmissores e que esta última vai além da ação da dopamina, nos núcleos da base do encéfalo

7 CONCLUSÕES

Os resultados observados neste estudo levam às seguintes conclusões:

a) O antagonismo de receptores de dopamina, com haloperidol, e a inibição da sintase do óxido nítrico (NOS), com L-NOARG, causaram catalepsia e hipolocomoção nos animais, sendo estas alterações do comportamento motor, parcialmente revertidas pela cafeína, um antagonista não seletivo de receptores de adenosina;

b) O agonista de receptores de adenosina, 5',N-Ethylcarboxamidoadenosine (NECA) levou a efeitos motores inversos àqueles observados pela aplicação de cafeína, causando por si só, catalepsia e hipolocomoção nos animais. Além disso, NECA potencializou a ação do haloperidol e do L-NOARG.

Todas estas observações corroboram com aquelas de estudos anteriores que ressaltam que a modulação do comportamento motor é influenciada pela ação e interação de diversos neurotransmissores e que ela vai além da ação da dopamina, nos núcleos da base do encéfalo. As observações deste estudo também corroboram com a hipótese da ação inibitória da adenosina sobre receptores D2 de dopamina e sugerem uma estreita interação entre dopamina, óxido nítrico e adenosina, nos núcleos da base do encéfalo. Por fim, novos estudos são necessários para confirmarem a interação entre estes neurotransmissores, não só para o entendimento da fisiologia dos núcleos da base, como também para o desenvolvimento de tratamentos eficazes a curto, médio e longo prazo para a doença de Parkinson, buscando implementar a qualidade de vida dos indivíduos acometidos por esta doença.

REFERÊNCIAS

- Abbracchio MP, Cattabeni F. Brain adenosine receptors as targets for therapeutic intervention in neurodegenerative diseases. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1999; 890:79-92.
- Albin RL, Young AB, Penney JB. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 1989 Oct; 12(10): 366-75.
- Antonίου K, Papadopoulou-Daifoti Z, Papathanasiou G, *et al.* A detailed behavioral analysis of the acute motor effects of caffeine in the rat: involvement of adenosine A1 and A2A receptors. *Psychopharmacol. (Berl)* 2005, 183: 154-62.
- Baldessarini RJ. Tardive dyskinesia: summary of a Task Force Report of the American Psychiatric Association. By the task force on late neurological effects of antipsychotic drugs. *Am J Psychiatry* 1980; 137: 1163-72.
- Barraco RA, *et al.* Adenosine A2a receptors in the nucleus accumbens mediate locomotor depression. *Brain Res.Bull* 1993; 31 (3-4): 397-404.
- Bibbiani F, Oh JD, Petzer JP, *et al.* A2A antagonist prevents dopamine agonist -induced motor complications in animal models of Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2003; 184: 285-94.
- Broad RM, Fallahi N, Fredholm BB. Nitric oxide interacts with oxygen free radicals to evoke the release of adenosine and adenine nucleotides from rat hippocampal slices. *J.Auton.Nerv.Syst.* 2000 Jul; 81(1-3): 82-6.
- Brotchie JM. Adjuncts to dopamine replacement: a pragmatic approach to reducing the problem of dyskinesia in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 1998 Nov; 13(6): 871-76.
- Brundege JM, Dunwiddie TV. Role of adenosine as a modulator of synaptic activity in the central nervous system. *Adv.Pharmacol.* 1997; 39: 353-91.
- Bujas-Bobanovic M, *et al.* Blockade of phencyclidine-induced effects by a nitric oxide donor. *Br.J.Pharmacol.* 2000 Jul: 130(5): 1005-12.
- Calabresi P, Gubellini P, Centoze D, *et al.* A critical role of the nitric oxide/cGMP pathway in corticostriatal long-term depression. *J Neurosci.* 1999; 19(7): 2489-99.
- Calon F, Dridi M, Homykiewicz O, *et al.* Increased adenosine A2A receptors in the brain of Parkinson's disease patients with dyskinesias. *Brain.* 2004; 127: 1075-84.

- Cavas M, Navarro JF. Coadministration of L-NOARG and tiapride: effects on catalepsy in male mice. *Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry* 2002 Jan; 26(1): 69-73.
- Chase TN; Oh JD, Konitsiotis S. Influence of the therapy with pergolide mesylate plus L-DOPA and with L-DOPA alone on serum cGMP level in PD patients. *Pol J Pharmacol.*2000; 56: 647-50.
- Cieslak M, Komoszynski M, Wojtczak A. Adenosine A2A receptors in Parkinson's disease treatment. *Purinerg Signall.* 2008: 4: 305-12.
- Clarke KA, Still J. Gait analysis in the mouse. *Physiol Behav.* 1999 Jul; 66(5): 723-29.
- Correa M, Wisniecki A, Betz A, *et al.* The adenosine A2A antagonist KF17837 reverses the locomotor suppression and tremulous jaw movements induced by haloperidol in rats: possible relevance to parkinsonism . *Behav Brain Res.* 2004; 148: 47-54.
- Del Bel EA, Da Silva CA, Guimarães FS. Catalepsy induced by nitric oxide synthase inhibitors. *Gen.Pharmacol.* 1998 Feb; 30(2): 245-48.
- Del Bel EA, da Silva CA, Guimaraes FS, *et al.* Catalepsy induced by intrastriatal administration of nitric oxide synthase inhibitors in rats. *Eur.J.Pharmacol.* 2004 Feb; 485: 175-81.
- Del Bel EA, *et al.* Motor effects of acute and chronic inhibition of nitric oxide synthesis in mice. *Psychopharmacol.* 2002 Apr; 161: 32-7.
- Durcan MJ, Morgan PF. NECA-induced hypomotility in mice: evidence for a predominantly central site of action. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 1989 Feb; 32(2): 487-90.
- Ekman LL. *Neurociência: fundamentos para a reabilitação.*Guanabara Koogan S.A. 2000. Rio de Janeiro, R. J.
- Fallahi N, *et al.* Release of adenosine from rat hippocampal slices by nitric oxide donors. *J.Neurochem.* 1996, 67(1):186-93.
- Fahn S. The history of dopamine and levodopa in the treatment of Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2008; 23:S497-508.
- Faradji H. *et al.* Sleep and epilepsy: A key role for nitric oxide? *Epilepsia.* 2000 Jul; 41(7):794-801.

Fenu S, Pinna A, Ongini E, *et al.* Adenosine A2A receptor antagonism potentiates L-DOPA-induced turning behaviour and c-fos expression in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Eur.J.Pharmacol.* Feb. 1997; 321(2): 143-7.

Ferré S, Freidholm BB, Morelli M, *et al.* Adenosine-dopamine receptor-receptor interactions as an integrative mechanism in the basal ganglia. *Trends Neurosci.* Oct. 1997; 20(10): 482-7.

Ferré S, O' Connor WT, Fuxe K. The striopallidal neuron: a main locus for adenosine-dopamine interactions in the brain. *J Neurosci.* 1993; 13: 5402-06.

Ferré S, Fuxe K, von Euler G, *et al.* Adenosine-dopamine interactions in the brain. *Neurosci.* 1992 Dec; 51(3): 501-12.

Ferré S, Marschitz MH, Andén MG, *et al.* Postsynaptic dopamine/adenosine interaction: II. Postsynaptic dopamine agonism and adenosine antagonism of methylxanthines in short-term reserpinized mice. *Eur.J.Pharmacol.* 1991a Jan; 192(1): 31-7.

Ferre S, *et al.* Postsynaptic dopamine/adenosine interaction: I. Adenosine analogues inhibit dopamine D2-mediated behaviour in short-term reserpinized mice. *Eur.J.Pharmacol.* 1991 b Jan; 192(1): 25-30.

Ferré S, Popoli P, Gimenez-Llort L, Rimondini R, *et al.* Adenosine/dopamine interaction: implications for the treatment of Parkinson's disease. *Parkinsonism.Relat Disord.* 2001 Jul; 7(3): 235-41.

Fink JS, Weaver DR, Rivkees SA *et al.* Molecular cloning of the rat A2 adenosine receptor: selective co-expression with D2 dopamine receptors in rat striatum. *Brain Res.Mol.Brain Res.* 1992. Jul; 14(3): 186-95.

Florio C, *et al.* Inhibitory and excitatory effects of adenosine antagonists on spontaneous locomotor activity in mice. *Life Sci.* 1997; 60(17): 1477-86.

Fredholm BB, *et al.* Nomenclature and classification of purinoceptors. *Pharmacol.Rev.* 1994 Jun; 46(2): 143-56.

Fredholm BB, *et al.* Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol.Rev.* 1999 Mar; 51(1): 83-133.

Fuxe K, *et al.* Receptor-receptor interactions within receptor mosaics. Impact on neuropsychopharmacology. *Brain Res Rev.* 2008;58:415-52.

- Glazer WM. Extrapyramidal side effects, tardive dyskinesia, and the concept of atypicality. *J.Clin Psychiatry*. 2000; .61: 16-21.
- Gomes MZ, *et al*. A nitric oxide synthase inhibitor decreases 6-OHDA effects on tyrosine hydroxylase and neuronal nitric oxide synthase in the rat nigrostriatal pathway. *Brain Res*. 2008; 1203: 160-69.
- Gootwald MD, *et al*. New frontiers in the pharmacological management of Parkinson's disease. *Drugs of Today (Barc)*. 2008; 44:531-45.
- Grace AA. Physiology of the normal and dopamine-depleted basal ganglia: Insights into levodopa pharmacotherapy. *Mov Disord*. 2008; 23: 560-69.
- Gray JA. The inheritance of fear. *The psychology of fear and stress*. [4], 57-85. 1987. Cambridge, Press Syndicate of the University of Cambridge. Ref Type: Book Chapter
- Hagino H, *et al*. Effects of D₂ receptor agonist and antagonist on brain activity in the rat assessed by functional magnetic resonance imaging. *Brain Res*. 1998; 813: 367-73.
- Halcaek L, *et al*. Inhibition of NO synthase activity in nervous tissue leads to decreased motor activity in the rat. *Physiol Res*. 2000; 49(1): 143-49.
- Hallet M. Physiology of basal ganglia disorders. An overview. *Can. J. Neurol. Sci*. 1993; 20:177-83.
- Handley SL, MITHANI S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch.Pharmacol*. 1984 Aug; 327(1): 1-5.
- Hauber W, *et al*. Motor effects induced by a blockade of adenosine A2A receptors in the caudate-putamen. *Neuroreport*. 1998 Jun; 9(8): 1803-06.
- Hauber W, *et al*. Catalepsy induced by a blockade of dopamine D1 or D2 receptors was reversed by a concomitant blockade of adenosine A(2A) receptors in the caudate-putamen of rats. *Eur.J.Neurosci*. 2001 Oct; 14(8): 1287-93.
- Hauser RA, *et al*. Study of istradefylline in patients with Parkinson's disease on levodopa with motor fluctuations. *Mov Disord*. 2008; 23: 2177-85.
- Hruska RE, Kennedy S, Silbergeld EK. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. *Life Sci*. 1979, Jul; 25(2): 171-79.

- Hurley MJ, *et al.* Adenosine A(2A) receptor mRNA expression in Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2000; 291: 54-8.
- Iadecola C, *et al.* Delayed reduction of ischemic brain injury and neurological deficits in mice lacking the inducible nitric oxide synthase gene. *J.Neurosci.* 1997 Dec; 17(23):9157-64.
- Itokawa K, *et al.* Effect of L-DOPA on nitric oxide production in striatum of freely mobile mice. *Neurosci Lett.* 2006; 402: 142-44.
- Jackson ME, Homayoun H, Moghaddam B. NMDA receptor hypofunction produces concomitant firing rate potentiation and burst activity reduction in the pre-frontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 8467-72.
- Jain N, *et al.* Anxiolytic activity of adenosine receptor activation in mice. *Br.J.Pharmacol.* 1995 Oct; 116(3): 2127-33.
- Jankovic J. Levodopa strengths and weaknesses. *Neurology.* 2002 Feb; 58(4) Suppl 1: S19-32.
- Jenner P. Pathophysiology and biochemistry of dyskinesia: clues for the development of non-dopaminergic treatments. *J.Neurol.* 2000 Apr; 247 Suppl 2: II43-50.
- Jenner P. A2A antagonists as novel non-dopaminergic therapy for motor dysfunction in PD. *Neurology.* 2003 Dec; 61 (11 Suppl 6): S32-38.
- Jenner P. Istradefylline, a novel adenosine A2A receptor antagonist, for the treatment of Parkinson's disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2005; 14, 729-38.
- Jenner P. Molecular mechanisms of L-DOPA-induced dyskinesia. *Nat Rev Neurosci* 9 2008: 9665-77.
- Johansson C, Jackson DM, Svensson L. Nitric oxide synthase inhibition blocks phencyclidine-induced behavioural effects on prepulse inhibition and locomotor activity in the rat. *Psychopharmacology (Berl).* 1997 May; 131(2):167-73.
- Kafka SH, Corbett R. Selective adenosine A2A receptor/dopamine D2 receptor interactions in animal models of schizophrenia. *Eur J Pharmacol.* 1996, 295: 147-54.
- Kanda T, *et al.* KF17837: a novel selective adenosine A2A receptor antagonist with anticataleptic activity. *Eur.J.Pharmacol.* 1994 May 256(3): 263-268.
- Kanda T, *et al.* Adenosine A2A receptors modify motor function in MPTP-treated common marmosets. *Neuroreport.* 1998 Aug; 9(12): 2857-60.

- Kase H. New aspects of physiological and pathophysiological functions of adenosine A2A receptor in basal ganglia. *Biosci.Biotechnol.Biochem.* 2001 Jul; 65(7): 1447-57.
- Kase H, *et al.* Progress in pursuit of therapeutic A2A antagonists: the adenosine A2A receptor selective antagonist KW6002: research and development toward a novel nondopaminergic therapy for Parkinson's disease. *Neurology.* 2003; 61: S97-100.
- Khisti RT, Chopde CT, Abraham E. GABAergic involvement in motor effects of an adenosine A(2A) receptor agonist in mice. *Neuropharmacology.* 2000 Apr; 39(6): 1004-15.
- Kiss JP, Vizi ES. Nitric oxide: a novel link between synaptic and nonsynaptic transmission. *Trends Neurosci.* 2001 Apr; 24(4): 211-15.
- Kunkel-Bagden E, Dai HN, Bregman BS. Methods to assess the development and recovery of locomotor function after spinal cord injury in rats. *Exp.Neurol.* 1993 Feb; 119(2): 153-64.
- Lancaster JR. A tutorial on the diffusibility and reactivity of free nitric oxide. *Nitric.Oxide.* 1997 Feb; 1(1):18-30.
- Leiper J, Vallance P. Biological significance of endogenous methylarginines that inhibit nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 1999; 43: 542-48.
- Lowdon IM, Seaber AV, Urbaniak JR. An improved method of recording rat tracks for measurement of the sciatic functional index of de Medinaceli. *J.Neurosci. Methods* 1988 Jul; 24(3): 279-81.
- MaCallister RJ, *et al.* Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylamino hydrolase. *Br J Pharmacol.* 1996; 119: 1533-40.
- Malec D. Haloperidol-induced catalepsy is influenced by adenosine receptor antagonists. *Pol J Pharmacol.* 1997; 49: 323-27.
- Moo-Puc RE, *et al.* Caffeine and muscarinic antagonists act in synergy to inhibit haloperidol-induced catalepsy. *Neuropharmacology.* 2003; 45: 493-503.
- Marras RA, *et al.* L-NOARG, an inhibitor of nitric oxide synthase, induces catalepsy in mice. *Neuroreport.* 1995 Dec, 7(1): 158-60.
- Morelli M, *et al.* Adenosine A2 receptors interact negatively with dopamine D1 and D2 receptors in unilaterally 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Eur.J.Pharmacol.* 1994 Jan; 251(1): 21-5.

- Morris BJ, *et al.* Dynamic changes in NADPH-diaphorase staining reflect activity of nitric oxide synthase: evidence for a dopaminergic regulation of striatal nitric oxide release. *Neuropharmacology*. 1997 Nov; 36(11-12): 1589-99.
- Murray-Rust J, *et al.* Structural insights into the hydrolysis of cellular nitric oxide synthase inhibitors by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Nat Struct Biol*. 2001; 8: 679-83.
- Mullenix P, Norton S, Culver B. Locomotor damage in rats after x-irradiation in utero. *Exp.Neurol*. 1975 Aug; 48(2): 310-24.
- Norman GR, Streiner D L. *Biostatistics the bare essentials*. London: Mosby, 1994.
- Obeso JA, Olanow CW, Nutt JG. Levodopa motor complications in Parkinson's disease. *Trends Neurosci*. 2000 Oct; 23(10): Suppl S2-7.
- Oertel WH. Parkinson's disease: epidemiology, (differential) diagnosis, therapy, relation to dementia. *Arzneimittelforschung*. 1995; 45: 386-89.
- Olanow CW. Levodopa/dopamine replacement strategies in Parkinson's disease: future directions. *Mov Disord*. 2008; 23: 613-22.
- Ongini E, Fredholm BB. Pharmacology of adenosine A2A receptors. *Trends Pharmacol.Sci*. 1996 Oct; 17(10): 364-72.
- Padovan-Neto FE, *et al.* Nitric oxide synthase inhibition attenuates L-DOPA-induced dyskinesias in a rodent model of Parkinson's disease. *Neuroscience*. 2009; 159, 927-35.
- Pellow S, *et al.* Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J.Neurosci.Methods*. 1985 Aug; 14(3), 149-67.
- Pinna A, *et al.* Blockade of A2a adenosine receptors positively modulates turning behaviour and c-Fos expression induced by D1 agonists in dopamine-denervated rats. *Eur.J.Neurosci*. 1996 Jun; 8(6), 1176-81.
- Pollack AE, Fink JS. Synergistic interaction between an adenosine antagonist and a D1 dopamine agonist on rotational behavior and striatal c-Fos induction in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Brain Res*. 1996 Dec; 743(1-2), 124-30.
- Popoli P, Reggio R, Pezzola A. Effects of SCH 58261, an adenosine A(2A) receptor antagonist, on quinpirole-induced turning in 6-hydroxydopamine-lesioned rats. Lack of tolerance after chronic caffeine intake. *Neuropsychopharmacol*. 2000 May; 22(5),522-29.

- Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Prog.Neurobiol.* 2001 May; 64(1), 51-68.
- Quinn NP. Classification of fluctuations in patients with Parkinson's disease. *Neurology.* 1998 Aug; 51(2) Suppl 2, S25-29.
- Ralevic V, Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines. *Pharmacol.Rev.* 1998 Sep; 50(3), 413-92.
- Rosenberg PA, *et al.* Nitric oxide-stimulated increase in extracellular adenosine accumulation in rat forebrain neurons in culture is associated with ATP hydrolysis and inhibition of adenosine kinase activity. *J.Neurosci.* 2000 Aug; 20(16), 6294-301.
- Salamone JD, Ishiwari K, Betz AJ, *et al.* Dopamine/adenosine interactions related to locomotion and tremor in animal models: possible relevance to parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008, 14, S130-134.
- Sammut S, Dec A, Mitcheli D, Linadarkis J, *et al.* Phasic dopaminergic transmission increases NO efflux in the rat dorsal striatum via a neuronal NOS and a dopamine D-1/5 receptor-dependent mechanism. *Neuropsychopharmacology.* 2006; 31, 493-505.
- Sanberg PR, *et al.* The catalepsy test: its ups and downs. *Behav.Neurosci.* 1988 Oct, 102(5), 748-59.
- Schiffmann SN, *et al.* Distribution of adenosine A2 receptor mRNA in the human brain. *Neurosci.Lett.* 1991 Sep, 130(2), 177-81.
- Shiozaki S, Ichikawa S, Nakamura J, *et al.* Actions of adenosine A2A receptor antagonist KW-6002 on drug-induced catalepsy and hypokinesia caused by reserpine or MPTP. *Psychopharmacology* 1999 Nov; 147(1): 90-95.
- Shott S. *Statistics for health professionals.* London 1990. W.B. Saunders Company.
- Silverdale MA, Fox TH, Crossman AR, *et al.* Potential nondopaminergic drugs for Parkinson's disease. *Adv Neurol* 2003; 91: 273-291.
- Starr MS, Starr BS. Do NMDA receptor-mediated changes in motor behaviour involve nitric oxide? *Eur.J.Pharmacol.* 1995 Jan; 272(2-3): 211-17.
- Stromberg I, Popoli P, Muller CE, *et al.* Electrophysiological and behavioural evidence for an antagonistic modulatory role of adenosine A2A receptors in dopamine D2 receptor regulation in the rat dopamine-denervated striatum. *Eur.J.Neurosci.* 2000 Nov; 12: 4033-37.

- Svenningsson P, Le Moine C, Fisone G, *et al.* Distribution, biochemistry and function of striatal adenosine A2A receptors. *Prog. Neurobiol.* 1999, 59 (4): 355-96.
- Trabace L, Kendrick KM. Nitric oxide can differentially modulate striatal neurotransmitter concentrations via soluble guanylate cyclase and peroxynitrite formation. *J Neurochem.* 2000; 75: 1664-74.
- Trevitt J, Vallance C, Harris A, *et al.* Adenosine antagonists reverse the cataleptic effects of haloperidol: Implications for the treatment of Parkinson's disease. *Pharmacol Biochem and Beh.* 2009; 92: 521-27.
- Walsh R, Cummins RA. The open-field test: A critical review. *Psychological Bulletin.* 1976; 83(3): 482-504.
- Wang S, Hu LF, Yang Y, *et al.* Studies of ATP-sensitive potassium channels on 6-hydroxydopamine and haloperidol rat models of Parkinson's disease: implications for treating Parkinson's disease? *Neuropharmacology.* 2005, 48: 984-92.
- West AR, Grace AA. Striatal nitric oxide signaling regulates the neuronal activity of midbrain dopamine neurons in vivo. *J Neurophysiol.* 2000; 83: 1796-1808.
- West AR, Galloway MP. Nitric Oxide and potassium chloride facilitated striatal dopamine efflux in vivo: role of calcium-dependent release mechanisms. *Neurochem Int.* 1998, 33: 493-501.
- Whimbey AE, Denenberg VH. Two independent behavioral dimensions in open-field performance. *J. Comp Physiol Psychol.* 1967 Jun; 63(3), 500-04.
- Zarrindast MR, Modabber M, Sabetkasai M. Influences of different adenosine receptor subtypes on catalepsy in mice. *Psychopharmacology* 1993, 113(2): 257-261.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.