

Biologia Geral e Experimental

Universidade Federal de Sergipe

São Cristóvão, SE 1 (1): 25 – 32

27.x.2000

EFEITOS DIFERENCIAIS DO CHUMBO E ZINCO SOBRE A FORMAÇÃO DE MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS

Fábio Sales de Oliveira¹
Murilo Marchioro¹

RESUMO

Nesse trabalho avaliamos os efeitos da intoxicação crônica pelos metais pesados chumbo (Pb^{2+}) e zinco (Zn^{2+}) sobre a formação de memória em camundongos. Os animais foram intoxicados através da água de beber durante os períodos pré e pós-natal e a seguir testados no modelo de memória da esQUIVA passiva inibitória durante 4 semanas. A intoxicação crônica pelo Pb^{2+} (0,1%) no período pós-natal não produziu efeito sobre a latência registrada durante as 4 semanas do teste. Entretanto, o grupo submetido ao Pb^{2+} durante o período pré-natal apresentou latências significativamente menores em relação ao grupo controle durante as 4 semanas de teste. Apesar da intoxicação crônica pós-natal pelo Zn^{2+} (1%) não ter produzido efeitos significativos sobre a aquisição da memória durante o teste de 24 horas, houve uma diminuição gradual da mesma ao longo das 4 semanas de teste. Tal efeito não foi observado para os grupos controle e Pb^{2+} pré ou pós-natal. Nossos resultados sugerem um efeito deletério do Pb^{2+} , quando exposto durante a fase de neurogênese, sobre os processos de formação de memória. O Zn^{2+} parece ter uma ação específica sobre o comportamento de extinção pavloviana.

Palavras-chave: Chumbo; zinco; aprendizagem e memória; esQUIVA passiva inibitória.

ABSTRACT

In this work, we studied the effects of chronic intoxication of mice by the heavy metals lead (Pb^{2+}) and zinc (Zn^{2+}) on the mechanisms of memory formation. The animals were intoxicated through drinking water during pre- and post-weaning periods and then tested in the inhibitory passive avoidance memory model. The post-weaning chronic intoxication by Pb^{2+} did not change the latencies recorded during the 4 weeks of the test. By contrast, mice intoxicated during the pre-weaning period showed significantly reduced latencies when compared to the control group during the 4 weeks of the test. Although the chronic post-weaning intoxication by Zn^{2+} did not alter the acquisition of memory (test of 24 hours), we noticed a gradual decreasing of the latencies during the 4 weeks tested. Such an effect was not observed in the control nor in the Pb^{2+} -treated groups. Our results suggest an impairment of the memory processes by Pb^{2+} when exposed at the critical period of neurogenesis. Zn^{2+} appears to interfere mainly with the pavlovian behavior of extinction.

Key words: Lead; zinc; learning and memory; inhibitory passive avoidance.

INTRODUÇÃO

Os metais pesados chumbo (Pb^{2+}) e zinco (Zn^{2+}) são poluentes comumente encontrados no meio ambiente. Embora, até o momento, não se tenha demonstrado nenhuma função fisiológica para o Pb^{2+} no organismo, dados recentes obtidos nos Estados Unidos da América demonstraram que mais

de 50% das crianças negras pobres e 17% de todas as crianças independentemente de raça ou status sócio-econômico, exibem níveis de Pb^{2+} que excedem o valor de 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de sangue. Este nível é considerado pelo Centro de Controle de Doenças (CDC) americano como o limiar acima do qual alterações dos processos cognitivos e de aprendizagem e memória são detectadas (Swanson

¹ Laboratório de Neurofisiologia, Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe. Av. Marechal Rondon, s/n; São Cristóvão, SE. 49100 – 000.

et al., 1997). Estima-se que para cada μg de Pb^{2+} /dl de sangue haja uma perda de 0,25 unidades no Coeficiente de Inteligência (QI) (Swanson *et al.*, 1997). Nos últimos anos, o Laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Sergipe vem monitorando a presença destes metais nas águas e sedimentos dos principais estuários do Estado de Sergipe (Alves, 1997). Estes trabalhos têm demonstrado uma concentração aumentada, especialmente dos metais pesados Pb^{2+} e Zn^{2+} nos sedimentos das áreas estudadas em relação ao esperado para a região.

Diferente do Pb^{2+} , o Zn^{2+} é um metal que participa de diversos processos fisiológicos no organismo, tendo um papel importante na modulação de algumas funções no Sistema Nervoso Central (SNC). Nesse sistema, o Zn^{2+} localiza-se principalmente em vesículas sinápticas nos terminais nervosos, das quais pode ser liberado em resposta à estimulação, atingindo concentrações de até centenas de micromolares na fenda sináptica (Assaf & Chung, 1984). Assim, esse metal exerce uma variedade de interações com os sistemas de neurotransmissores inibitórios (gabaérgico) e excitatórios (glutamatérgico) do cérebro (Smart *et al.*, 1994). Além disso, trabalhos recentes têm demonstrado efeitos neurotóxicos do Zn^{2+} quando exposto em altas concentrações em cultura de neurônios (Manev *et al.*, 1997; Dansher *et al.*, 1997; Slomianka & Geneser, 1997) ou alterações cognitivas quando a concentração deste metal no cérebro torna-se menor que os níveis fisiológicos (Petit & LeBoutillier, 1986; Golub *et al.*, 1983). É importante ressaltar ainda as evidências recentes que associam o Zn^{2+} à etiologia da Doença de Alzheimer (Aripse *et al.*, 1996), um estado patológico que leva à degeneração de certas áreas do cérebro com profundas alterações cognitivas do paciente.

Diversos trabalhos tem demonstrado que o Pb^{2+} interfere com os processos de aprendizagem e memória, em modelos animais (Rice, 1993), incluindo a espécie humana (Bellinger *et al.*, 1987;

McMichael *et al.*, 1988). Estudos epidemiológicos sugerem que as crianças são mais suscetíveis aos efeitos neurotóxicos do chumbo, o que se evidencia principalmente pelo seu baixo rendimento escolar e mau desempenho em testes específicos de inteligência (Bellinger & Dietrich, 1994). Esta alta suscetibilidade das crianças ao Pb^{2+} em parte pode ser explicada pela incapacidade do SNC responder a injúrias causadas em períodos críticos do seu desenvolvimento, embora os mecanismos envolvidos nesse efeito sejam ainda desconhecidos. A formação hipocampal desempenha um papel importante nos processos de aprendizagem e memória e o Pb^{2+} , quando exposto em baixas doses, parece acumular-se preferencialmente nesta área cerebral (Fjerdingstad *et al.*, 1974; Collins *et al.*, 1982; Kala & Jadhav, 1995). Coincidentemente, é na via perfurante do hipocampo onde se encontram também as maiores concentrações de Zn^{2+} (Assaf & Chung, 1984), o que nos levou a postular uma possível interação entre estes dois metais no SNC (Swanson *et al.*, 1997).

A potencialização de longo termo (LTP) é um aumento da eficiência sináptica em uma determinada via neural, quando esta é frequentemente ativada, levando a acreditar que este fenômeno represente um dos substratos celulares dos mecanismos de aprendizagem e memória (Bliss & Collindridge, 1993), embora não se tenha provas diretas desta correlação (Izquierdo & Medina, 1995). Uma maneira de abordar a questão, são os experimentos farmacológicos que visam demonstrar similaridades entre a LTP e a memória através da utilização de modelos comportamentais bem estabelecidos. Entre esses, a esQUIVA passiva inibitória tem sido bastante utilizada (Quillfeldt *et al.*, 1996; Fin *et al.*, 1995; Izquierdo *et al.*, 1993) e os autores propõem que esse tipo de memória depende basicamente da ativação de circuitos neuronais no Sistema Límbico, particularmente, do hipocampo, da amígdala e do septo medial.

O Pb^{2+} interfere na ativação dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA de neurônios

hipocampais, sem afetar de maneira significativa os receptores dos tipos AMPA e kainato (Alkondon *et al.*, 1990; Ujihara & Albuquerque, 1992; Guilarte & Micelli, 1992; Ishihara *et al.*, 1995; Marchioro *et al.*, 1996). Por modularem os mecanismos de plasticidade sináptica, os receptores glutamatérgicos do tipo NMDA parecem estar envolvidos nos processos de aprendizagem e memória (Petit, 1988; Collindridge & Lester, 1989). De fato, têm-se demonstrado que a ativação destes receptores é essencial para a deflagração do fenômeno da LTP no hipocampo (Bliss & Collindridge, 1993). Além disso, um crescente número de evidências apontam esse fenômeno como o responsável por diferentes tipos de memória (Izquierdo & Medina, 1995).

Em face das evidências de uma ação diferencial do Pb^{2+} e Zn^{2+} sobre o desenvolvimento neuronal, o objetivo desse trabalho foi o de avaliar os efeitos de intoxicações crônicas por esses metais durante os períodos pré e pós-natal, utilizando o modelo da esQUIVA passiva inibitória do tipo “step-through”.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 49 camundongos machos e fêmeas da linhagem Swiss, pesando entre 20 e 30 g, fornecidos pelo Biotério Central da UFS. Os animais foram distribuídos em 4 grupos experimentais e durante todo o experimento foram mantidos a uma temperatura constante de 25⁰ C, tendo livre acesso a água e comida.

Intoxicação crônica

Os camundongos foram intoxicados cronicamente por Pb^{2+} (0,1%) através da água de beber em duas fases distintas do desenvolvimento neuronal. Na intoxicação pré-natal foi administrada a um grupo de 5 fêmeas uma solução de 0,1% de acetato de Pb^{2+} , do 11^o dia de gravidez (E11) à quarta semana pós-parto (P28), de modo que neste período os filhotes (n=15) foram intoxicados pelo

metal pesado através do leite materno (Grupo chumbo pré-natal, PbPRE) (Cory-Slechta, 1995). Na intoxicação pós-natal o acetato de Pb^{2+} na mesma concentração foi administrado, através da água de beber, a um grupo de 13 camundongos a partir do segundo mês de vida durante 60 dias (Grupo chumbo pós-natal, PbPOS). A intoxicação pré-natal por acetato de Zn^{2+} (1%) interferiu deletariamente no processo de gestação, portanto apenas os animais expostos ao Zn^{2+} no período pós-natal (n=9) foram avaliados no teste da esQUIVA passiva inibitória (Grupo zinco pós-natal, ZnPOS). Ao grupo controle (n=12, CON) foi fornecida apenas água de torneira. No início dos experimentos todos os camundongos tinham 3 meses de idade.

EsQUIVA passiva inibitória

Para o estudo dos efeitos do Pb^{2+} e Zn^{2+} sobre os mecanismos de memória, utilizamos o método comportamental da esQUIVA passiva inibitória do tipo “step-through” (Lorenzini *et al.*, 1998). Em conformidade com esse método, os animais foram treinados em uma gaiola para esQUIVA passiva inibitória (FUNBEC, Brasil), com uma câmara clara (44 X 15 X 22 cm) iluminada por uma lâmpada de 60 W localizada no teto da gaiola, a 20 cm do assoalho e outra escura (44 X 15 X 22 cm) separada por uma abertura que permitia os animais transitarem pelas duas câmaras. O assoalho da gaiola consistia de uma grade de barras metálicas com 1 mm de espessura espaçadas de 0,5 cm entre si. Na sessão de treinamento, os animais eram colocados na câmara clara e registrada a latência (medida em segundos) de entrada na câmara escura. No momento em que eles entravam na câmara escura, uma voltagem de 50 V DC era aplicada, nas suas patas, com duração de 2 s (GOULD, EUA), sendo a seguir retirados da gaiola. A sessão de teste (retenção da memória) era feita 48 horas após o treinamento, repetindo-se o procedimento anterior, com a exceção de que neste caso o choque elétrico era omitido. As diferenças estatísticas entre as latências na sessão de treinamento e na de teste

foram utilizadas como parâmetros indicadores da aquisição de memória. Com o objetivo de avaliar o padrão de extinção da aprendizagem, o mesmo teste de retenção foi repetido uma vez por semana durante um mês para os 4 grupos experimentais.

Análise estatística

Os valores das latências durante a sessão de treinamento e as sessões de teste (1, 7, 14, 21, e 28 dias) dos vários grupos experimentais foram comparados pela análise de variância de um fator (ANOVA) seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey. As mesmas foram consideradas significativamente diferentes para valores de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

A análise de variância (Tabela 1) mostrou que não houve diferenças entre as latências de entrada na câmara escura para os 4 grupos experimentais (Dia 0: $F_{(3, 45)}=0,93$, $p>0,4$), indicando que a intoxicação crônica com os metais Pb^{2+} e Zn^{2+} não interferiu com o comportamento exploratório dos animais. O mesmo teste aplicado separadamente para cada grupo revelou diferenças significativas entre as latências obtidas nos dias de treino (Dia 0) e teste (Dias 1 a 28) (CON: $F_{(5, 66)}=9,40$, $p<0,01$; PbPRE: $F_{(5, 78)}=2,98$, $p<0,05$; PbPOS: $F_{(5, 71)}=5,25$, $p<0,01$ e ZnPOS: $F_{(5, 48)}=5,31$, $p<0,01$), indicando que os camundongos aprenderam a evitar a câmara escura após terem recebido o choque elétrico.

Tabela 1. Latências de entrada na câmara escura (média \pm EPM) dos grupos controle (CON), chumbo pré-natal (PbPRE), chumbo pós-natal (PbPOS) e zinco pós-natal (ZnPOS).

DIAS	COM	PbPRE	PbPOS	ZnPOS
0	21,58 \pm 4,33 ⁺⁺	22,13 \pm 4,64 ⁺⁺	16,61 \pm 4,04 ⁺⁺	29,11 \pm 7,37 ⁺⁺
1	246,83 \pm 28,74	120,60 \pm 28,90 [*]	186,53 \pm 29,17	246,66 \pm 24,59
7	242,00 \pm 26,75	111,73 \pm 28,23 [*]	163,15 \pm 34,24	204,22 \pm 41,02
14	243,11 \pm 35,36	83,80 \pm 24,32 [*]	191,00 \pm 31,68	182,44 \pm 47,31
21	224,83 \pm 35,50	104,66 \pm 27,16 [*]	180,30 \pm 30,70	142,44 \pm 34,95 [@]
28	201,33 \pm 32,76	35,13 \pm 17,25 [*]	154,33 \pm 34,85	95,44 \pm 34,55 [@]

++ Diferente das sessões seguintes (ANOVA 1 fator, $p<0,01$); * Diferente do respectivo grupo controle (Tukey, $p<0,05$); @ Diferente do primeiro dia de teste (Teste t, $p<0,05$).

A ANOVA revelou ainda diferenças significativas nos índices de retenção da memória entre os 4 grupos experimentais e em todos os dias testados (Dia 1: $F_{(3, 45)}=4,55$, $p<0,01$; Dia 7: $F_{(3, 45)}=3,45$, $p<0,05$; Dia 14: $F_{(3, 45)}=4,80$, $p<0,01$; Dia 21: $F_{(3, 45)}=2,81$, $p<0,05$ e Dia 28: $F_{(3, 44)}=6,73$, $p<0,01$). A partir desses resultados utilizamos o teste de comparações múltiplas de Tukey para verificar os efeitos específicos da intoxicação pelo Pb^{2+} e Zn^{2+} . As latências registradas para o grupo

PbPRE durante os dias 1 a 28 mostraram-se menores que aquelas do grupo CON (Dia 1: $q_{(45, 4)}=4,62$, $p<0,05$; Dia 7: $q_{(45, 4)}=4,42$, $p<0,05$; Dia 14: $q_{(45, 4)}=5,65$, $p<0,05$; Dia 21: $q_{(45, 4)}=3,96$, $p<0,05$ e Dia 28: $q_{(45, 4)}=6,09$, $p<0,05$). O mesmo não foi verdadeiro quando comparamos o grupo CON com os grupos PbPOS (Dia 1: $q_{(45, 4)}=2,19$, NS; Dia 7: $q_{(45, 4)}=2,59$, NS; Dia 14: $q_{(45, 4)}=1,89$, NS; Dia 21: $q_{(45, 4)}=2,37$, NS e Dia 28: $q_{(45, 4)}=3,40$, NS) e ZnPOS ((Dia 1: $q_{(45, 4)}=0,005$, NS; Dia 7: $q_{(45, 4)}$

$q_{(45, 4)}=1,12$, NS; Dia 14: $q_{(45, 4)}=1,89$, NS; Dia 21: $q_{(45, 4)}=2,37$, NS e Dia 28: $q_{(45, 4)}=3,40$, NS). Esses resultados mostraram que apenas a intoxicação crônica pelo Pb^{2+} no período pré-natal afeta a retenção da memória.

Finalmente, com o objetivo de verificar o padrão de extinção da aprendizagem, avaliamos separadamente para cada grupo a evolução das latências durante as sessões de teste. As diferenças das latências não foram significativas entre os grupos CON ($F_{(4, 55)}=0,37$, $p>0,5$), PbPRE ($F_{(4, 70)}=1,78$, $p>0,14$) e PbPOS ($F_{(4, 59)}=0,29$, $p>0,87$). Entretanto, para o grupo ZnPOS houve diferença significativa entre as mesmas ($F_{(4, 40)}=3,13$, $p<0,05$). As latências registradas nos dias 21 ($t_{(0,05; 16)}=2,43$; $p=0,026$) e 28 ($t_{(0,05; 16)}=3,56$; $p=0,0026$) foram menores que aquela obtida no primeiro dia de teste (Tabela 1), sugerindo um efeito do Zn^{2+} sobre o mecanismo de extinção da aprendizagem.

DISCUSSÃO

Nossos resultados revelaram uma ação inibitória do Pb^{2+} , quando exposto cronicamente no período pré-natal, sobre os mecanismos de memória. Por outro lado, a exposição crônica ao Zn^{2+} acelerou o processo de extinção da aprendizagem nesse modelo experimental.

A esQUIVA passiva inibitória tem-se mostrado um modelo bastante atrativo nos estudos sobre as bases neurais da aprendizagem e memória (Lorenzini *et al.*, 1998). É um comportamento facilmente aprendido, pois apenas uma sessão de treino é suficiente para a formação de uma memória de longa duração. Neste teste, o animal apenas suprime um comportamento natural (evita o ambiente escuro), não necessitando portanto adquirir novas habilidades motoras.

Estudos recentes têm demonstrado que a formação de uma nova memória é um processo dinâmico, envolvendo diferentes etapas as quais apresentam características temporais e espaciais

bem definidas (Izquierdo *et al.*, 1993). A primeira delas é a aquisição, seguida pela fase de consolidação, armazenamento e recuperação. O suporte experimental para essa classificação está no efeito seletivo de diversas substâncias aplicadas de maneira sistêmica ou diretamente no cérebro, sobre cada uma dessas fases do processamento da memória (Izquierdo *et al.*, 1993).

No presente trabalho, o Pb^{2+} foi administrado cronicamente através da água de beber, antes da fase de aquisição da memória. Portanto, com esse protocolo não podemos avaliar com precisão qual das etapas do processo de formação de memória está sendo afetada nem a área específica do cérebro. Entretanto, o Pb^{2+} quando administrado a partir do período pós-natal não mostrou qualquer interferência significativa nas latências em relação aos animais do grupo controle, o que demonstra que o cérebro maduro é insensível aos efeitos deletérios desse metal. Além disso, outros resultados obtidos em nosso laboratório mostraram que a administração aguda do Pb^{2+} (i.p.) nas diferentes fases de formação da memória também mostrou-se ineficaz. Por outro lado, quando esse mesmo metal foi administrado a partir do período de gestação, notamos um comprometimento significativo no processo de formação da memória, revelando uma maior sensibilidade do sistema nervoso ao Pb^{2+} nas primeiras etapas do desenvolvimento do cérebro. Essa observação está de acordo com os efeitos do Pb^{2+} sobre a ativação de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA em neurônios hipocámpais mantidos em cultura (Ujihara & Albuquerque, 1992). Nesse trabalho os autores demonstraram um efeito inibitório preferencial do Pb^{2+} sobre receptores do NMDA presentes em neurônios imaturos. Além disso, outros trabalhos têm sugerido a importância desses receptores nos mecanismos de formação de sinapses nas primeiras fases do desenvolvimento neuronal (Brewer & Cotman, 1989). O Pb^{2+} por interferir com a formação de sinapses em fases críticas do desenvolvimento, estaria compro-

metendo de maneira irreversível os mecanismos de formação de memória.

A administração crônica de Zn^{2+} no período pós-natal não interferiu com a etapa de aquisição da memória, entretanto observamos uma diminuição gradativa das latências registradas ao longo das 4 semanas testadas. Essa diminuição gradual na latência (resposta condicionada) representa o processo de extinção pavloviana, uma vez que nas sucessivas sessões de teste, o choque elétrico (estímulo não-condicionado) deixou de ser aplicado. Portanto, o efeito do Zn^{2+} seria acelerar a extinção da aprendizagem quando comparado com o grupo controle, já que nesse caso durante as 4 semanas de teste não houve diferença significativa nas latências registradas para esse grupo (Tabela 1). Para Pavlov extinção não é um fenômeno passivo de esquecimento, mas sim a aquisição de um novo comportamento, que se contrapõe a outro já existente (Christoffersen *et al.*, 1998). Prado-Alcalá *et al.* (1994), utilizando o modelo da esQUIVA passiva inibitória, demonstraram que a extinção representa uma forma de aprendizado dependente de vias colinérgicas, uma vez que é suprimida pela aplicação i.p. do antagonista muscarínico escopolamina. Portanto, a escopolamina estaria bloqueando a aquisição do comportamento de extinção. Em nosso caso, o metal pesado Zn^{2+} , ao contrário, acelerou o processo de extinção, o que, de acordo com essa linha de raciocínio, pode ser interpretado como uma interferência com a fase de recuperação da memória. A confirmação dessa hipótese seria feita pela aplicação de Zn^{2+} no período pós-consolidação da memória (fase de recuperação).

Diversos trabalhos recentes têm sugerido a formação hipocampal como o principal alvo cerebral para os metais Pb^{2+} e Zn^{2+} , embora nenhuma evidência direta tenha sido apresentada até o momento. Assaf & Chung (1984) sugeriram que o Zn^{2+} é liberado juntamente com o neurotransmissor excitatório glutamato por neurônios do hipocampo,

atingindo concentrações de até 300 μM na fenda sináptica. Outros trabalhos sugerem que o Pb^{2+} , a exemplo do Zn^{2+} , acumula-se preferencialmente nessa mesma área cerebral (Fjordingstad *et al.*, 1974; Collins *et al.*, 1982; Kala & Jadhav, 1995; Swanson *et al.*, 1997). Uma forma direta de verificar os alvos celulares do Pb^{2+} e Zn^{2+} no cérebro de roedores seria a microinjeção desses metais no hipocampo através da técnica de canulação estereotáxica (Fregoneze *et al.*, 1998). Tais experimentos, aliados ao modelo da esQUIVA passiva inibitória, estão sendo desenvolvidos atualmente em nosso laboratório.

Em resumo, nossos resultados demonstram efeitos diferenciais dos metais pesados Pb^{2+} e Zn^{2+} sobre o sistema nervoso central de mamíferos. Estes efeitos, pelo menos no caso da intoxicação pelo Pb^{2+} são mais evidentes durante as fases de maturação neuronal e sinaptogênese. Uma interferência nesses mecanismos pode levar a alterações irreversíveis das funções cognitivas do animal, como foi aqui observado através do uso do modelo da esQUIVA passiva inibitória. Os resultados mostram ainda que concentrações elevadas desses metais nos principais estuários do estado de Sergipe (Alves, 1997) representam um risco para a população ribeirinha que tem nesse ambiente sua principal fonte de sobrevivência.

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de uma bolsa de iniciação científica ao autor Fábio Sales de Oliveira; ao Dr. Celso Morato do Departamento de Biologia/UFS e ao Dr. Silvio Morato pela análise crítica dos resultados apresentados neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Alkondon, M.; A.C.S. Costa; V. Radhakrishnan; R.S. Aronstam & E.X. Albuquerque. 1990. Selective blockade of the NMDA-activated channel currents

- may be implicated in learning deficits caused by lead. **FEBS Letters** 261: 124-130.
- Alves, J.P.H. 1997. **Metais pesados no estuário do rio Japarutuba, SE**. Relatório Convênio MMA/FNMA # 024/96.
- Aripse, N.; H.B. Pollard & E. Rojas. 1996. Zn²⁺ interaction with Alzheimer amyloid beta protein calcium channels. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 93: 1710-1715.
- Assaf, S.Y. & S.H. Chung. 1984. Release of endogenous zinc from brain tissue during activity. **Nature** 308: 734-736.
- Bellinger, D.; E. Levinton; C. Watternaux; H. Needleman & M. Rabinowitz. 1987. Longitudinal analysis of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive development. **New England Journal of Medicine** 316: 1037-1043.
- Bellinger, D. & K.N. Dietrich. 1994. Low lead exposure and cognitive function in children. **Pediatric Annals** 23: 600-605.
- Bliss, T.V.P. & G.L. Collindridge. 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. **Nature** 361: 31-39.
- Brewer, G.J. & C.W. Cotman. 1989. NMDA receptor regulation of neuronal morphology in cultured hippocampal neurons. **Neuroscience Letters** 99: 268-273.
- Christoffersen, G.R.J.; A. Kemp & G. Örylgdottir. 1998. Piracetam inhibits Pavlovian extinction and reversal learning in a spatial task for rats. **Neuropharmacology** 37: 815-825.
- Collindridge, G.L. & R.A.J. Lester. 1989. Excitatory amino acid receptors in the vertebrate central nervous system. **Pharmacological Reviews** 40: 143-210.
- Collins, M.F.; P.D. Herdina; E. White & R.L. Singhal. 1982. Lead in blood and brain regions of rats chronically exposed to low doses of the metal. **Toxicology and Applied Pharmacology** 65: 314-322.
- Cory-Slechta, D. 1995. MK-801 subsensitivity following postweaning lead exposure. **Neurotoxicology** 16: 83-96.
- Dansher, G.; K.B. Jensen; C.J. Frederckson; K. Kemp; A. Andreassen; S. Juhl; M. Stoltenberg & R. Ravid. 1997. Increased amount of zinc in the hippocampus and amygdala of Alzheimer's diseased brains: A proton-induced X-ray emission spectroscopic analysis of cryostat sections from autopsy material. **Journal of Neuroscience Methods** 76: 53-59.
- Fin, C.; C. Da Cunha; E. Bromberg; P.K. Schmitz; M. Bianchin; J.H. Medina & I. Izquierdo. 1995. Experiments suggesting a role for nitric oxide in the hippocampus in memory process. **Neurobiol. Learn. Mem.** 63: 113-115.
- Fjerdingstad, E.J.; G. Dansher & E. Fjerdingstad. 1974. Hippocampus: Selective concentration of lead in the normal rat brain. **Brain Research** 80: 350-354.
- Fregoneze, J.B.; C.P. Luz; C. Sarmiento; V. Gonzalez; P. Oliveira; P. Santana Jr.; C.A. Marinho; L. Castro; T. Nascimento; S. De Paula; A.K.S. Lima; I.R. De Oliveira & E. De Castro-e-Silva. 1998. Central lead administration induces natriuretic and kaliuretic effects in rats. **Physiology & Behavior** 65 (2): 321-326.
- Golub, M.S.; M.E. Gershwin & V.K. Vijayan. 1983. Passive avoidance performance of mice fed arginally or severely zinc deficient diets during post-embryonic brain development. **Physiology & Behavior** 30(3): 409-413.
- Guilarte, T.R. & R.C. Micelli. 1992. Age-dependent effects of lead on [³H] MK-801 binding to the NMDA receptor-gated channel ionophore: in vitro and in vivo studies. **Neuroscience Letters** 148: 27-30.
- Ishihara, K.; M. Alkondon; J.G. Montes & E.X. Albuquerque. 1995. Ontogenetically related properties of N-Methyl-D-Aspartate receptors in rat hippocampal neurons and the age-specific sensitivity of developing neurons to lead. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 273: 1459-1470.
- Izquierdo, I.; J.H. Medina; M. Bianchin; R. Walz; M.S. Zanatta; R. Da Silva; M.B.E. Silva; C. Ruschel & N. Paczko. 1993. Memory processing by the limbic

- system: role of specific neurotransmitter systems. **Beh. Brain Res.** 58: 91-98.
- Izquierdo, I. & J.H. Medina. 1995. Correlation between the pharmacology of long-term potentiation and the pharmacology of memory. **Neurobiol. Learn. Mem.** 63: 19-32.
- Kala, S.V. & A.L. Jadhav. 1995. Region-specific alterations in dopamine and serotonin metabolism in brains of rats exposed to low levels of lead. **Neurotoxicol.** 16: 297-308.
- Lorenzini, C.G.A.; E. Baldi; C. Bucherelli; B. Sacchetti & G. Tassoni. 1998. Temporal characterization of subcortical nuclei in mnemonic processes: Results of tetrodotoxin reversible inactivation studies in the rat. **Archives Italiennes de Biologie** 136: 279-296.
- McMichael, A.J.; P.A. Baghurst; N.R. Wigg; G.V. Vimpani; E.F. Robertson & R.J. Roberts. 1988. Port Pirie cohort study: Environmental exposure to lead and children's ability at the age of four years. **N. Eng. J. Med.** 319: 468-475.
- Marchioro, M.; K.L. Swanson; Y. Aracava & E.X. Albuquerque. 1996. Glycine- and calcium-dependent effects of lead on n-methyl-D-aspartate receptor function in rat hippocampal neurons. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 279: 143-153.
- Manev, H.; E. Kharlamov; T. Uz; P. Manson & C.M. Cagnoli. 1997. Characterization of Zinc-induced neuronal death in primary cultures of rat cerebellar granule cells. **Exp. Neurol.** 146: 171-178.
- Petit, T.L. 1988. The neurobiology of learning and memory: elucidation of the mechanisms of cognitive dysfunction. **Neurotoxicol.** 9: 413-428.
- Petit, T.L. & J.C. LeBoutillier. 1986. Zinc deficiency in the postnatal rat: implications for lead toxicity. **Neurotoxicol.** 7(1): 237-246.
- Prado-Alcalá, R.A.; M. Hajek; S. Rivas; G. Roldan-Roldan & G.L. Quirarte. 1994. Reversal of extinction by scopolamine. **Physiology and Behavior** 56 (1): 27-30.
- Quillfeldt, J.A.; M.S. Zanatta; P.K. Schmitz; J. Quevedo; E. Schaffer; J.B. De Lima; J.H. Medina & I. Izquierdo. 1996. Different brain areas are involved in memory expression at different times from training. **Neurobiol. Learn. Mem.** 66: 97-101.
- Rice, D. 1993. Lead-induced changes in learning: Evidence for behavioral mechanisms from experimental animal studies. **Neurotoxicology** 14: 167-178.
- Slomianka, L. & F.A. Geneser. 1997. Postnatal development of zinc-containing cells and neuropil in the hippocampal region of the mouse. **Hippocampus** 7: 321-340.
- Smart, T.G.; X. Xie & B.J. Krishek. 1994. Modulation of inhibitory and excitatory amino acid receptor ion channels by zinc. **Prog. Neurobiol.** 42: 393-441.
- Swanson, K.L.; M. Marchioro; K. Ishihara; M. Alkondon & E.X. Albuquerque. 1997. Neuronal targets of lead in the hippocampus: Relationship to low level lead intoxication. **Comprehensive Toxicology** 11: 470-491.
- Ujihara, H. & E.X. Albuquerque. 1992. Developmental change of the inhibition by lead of NMDA-activated currents in cultured hippocampal neurons. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 263: 868-875.