

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOTERAPIA**

**INFLUÊNCIA DA NICOTINA E DA MECAMELAMINA EM
TESTE DE PREFERÊNCIA CONDICIONADA POR LUGAR
EM PEIXES DA ESPÉCIE *CARASSIUS auratus***

Olga Sueli Moreira Brasileiro

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de São
Carlos como parte das
exigências para a obtenção do
título de Mestre em Fisioterapia.
Área: processos de avaliação e
intervenção em fisioterapia**

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rosana Mattioli

**SÃO CARLOS – SP
2003**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

B823in

Brasileiro, Olga Sueli Moreira.

Influência da nicotina e da mecamelamina em teste de preferência condicionada por lugar em peixes da espécie *Carassius auratus* / Olga Sueli Moreira Brasileiro. -- São Carlos : UFSCar, 2003.

82 p.

Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal de São Carlos, 2003.

1. Peixe. 2. *Carassius auratus*. 3. Aprendizagem. 4. Memória. I. Título.

CDD: 597 (20^a)

A parte experimental desse trabalho foi desenvolvida no laboratório de Neurociências do Departamento de Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos, sob orientação da Profª Drª Rosana Mattioli. Os créditos referentes às disciplinas foram obtidos junto ao programa de pós-Graduação em Fisioterapia. Esse trabalho contou com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq).

*Ó profundidade das riquezas, tanto da sabedoria,
como da ciência de Deus!
Quão insondáveis são os teus juízos,
e quão inescrutáveis os teus caminhos!
Pois, quem jamais conheceu a mente do Senhor?
Ou quem se fez seu conselheiro?
Ou quem lhe deu primeiro a ele,
para que lhe seja recompensado?
Porque dele, e por ele, e para ele são todas as coisas;
glória, pois, a ele eternamente. Amém.*

Romanos: 11: 33-36

O poder pode fazer qualquer coisa, menos a mais importante: não consegue controlar o amor...Ninguém pode nos ensinar a odiar...Dentro de nós somos livres....É uma questão de decisão...Essa é a verdadeira essência da liberdade humana.

Olga Brasileiro

**À Deus, razão da minha existência e autor da minha fé.
À minha mãe, pelo seu inexplicável, amor incondicional;
e a minha filha, pela benção de me fazer uma mãe feliz,**

dedico

AGRADECIMENTOS

À professora Dr.a Rosana Mattioli pela orientação e idéia inicial desse trabalho e por sua valiosa contribuição em minha formação científica e profissional.

Aos professores doutores: Tânia de Fátima Salvini, Azair Liane M. C. Souza, Ricardo Nunes de Souza e Dirceu Costa pela leitura atenciosa e valiosas contribuições na elaboração final desta dissertação.

A toda minha família, especialmente a minha amada mãe pela grandeza de sua devoção à família, por ter orientado os filhos sobre a importância das atividades intelectuais, pelo apoio e amor constantes em todos os momentos da minha vida.

A minha filha pela aceitação e pelo entendimento de precisar suportar temporariamente a minha distância para que essa importante meta na minha vida fosse cumprida.

Ao meu irmão João Câmara por ter acolhido minha filha em seus braços, dando apoio e amor durante minha passagem em São Carlos.

Ao meu irmão Cláudio Vinicius pela compreensão nos momentos difíceis, estendendo suas mãos sempre que precisei de ajuda.

Aos companheiros de laboratório, João, Fabiana, Flávia, Aline, Érika, Luciana, Fernanda, Lígia... E muito especialmente à Carla Medalha pelo suporte na realização desse trabalho e pela ajuda nos momentos mais difíceis.

As minhas amigas e companheiras do lar Eliane Coutinho e Patrícia Carrinho, pelo privilégio de podermos formar uma união sólida e vivenciarmos momentos como família sem os quais a nossa jornada teria sido muito difícil. Vocês foram muito importantes na minha vida...Especialmente agradeço a Eli que sempre me acolheu e me ouviu nos momentos mais difíceis. Nessa vida, ter amigos como você é um grande privilégio.

À Paulinha pelo eficiente trabalho desenvolvido na secretaria e aos demais funcionários da pós-graduação.

À CAPES pelo apoio financeiro, sem o qual a realização desse trabalho não seria possível.

A todos colegas e professores da pós-graduação em fisioterapia, meu profundo carinho.

A todos que contribuíram para que esse trabalho viesse à existência, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 NEUROPLASTICIDADE	1
1.2 APRENDIZAGEM E MEMÓRIA	3
1.2.1 ESTÁGIOS DA APRENDIZAGEM E MEMÓRIA	6
1.2.2 CONSOLIDAÇÃO DA MEMÓRIA	7
1.3 NICOTINA	9
1.3.1 FARMACOLOGIA DA NICOTINA	10
1.4 SISTEMA COLINÉRGICO	12
1.4.1 ANATOMIA DO CÉREBRO DE TELEÓSTEOS	13
1.4.2 SISTEMA COLINÉRGICO EM TELEÓSTEOS	15
1.4.3 FUNÇÕES DO SISTEMA COLINÉRGICO	17
1.4.4 SUBSTRATOS NEUROBIOLÓGICOS DA AÇÃO DA NICOTINA NO MECANISMO DE APRENDIZAGEM E MEMÓRIA	18
1.4.5 SUBSTRATOS NEURAIIS DA AÇÃO DA NICOTINA NO COMPORTAMENTO LOCOMOTOR	21
1.4.6 SUBSTRATOS NEURAIIS DA AÇÃO DA NICOTINA SOBRE O MECANISMO DE FOME E SACIEDADE	24
2. OBJETIVO	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 SUJEITOS	29
3.2 AQUÁRIO EXPERIMENTAL	30
3.3 DROGAS E TRATAMENTO	31
3.4 PROCEDIMENTOS	33
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5. RESULTADOS	37
5.1 GRUPOS IMEDIATOS	37
5.1.1 TEMPO DE PERMANÊNCIA	37
5.1.2 LATÊNCIA	39
5.1.3 NÚMERO DE CRUZAMENTOS	40
5.2 GRUPO TRÊS HORAS	41
5.2.1 TEMPO DE PERMANÊNCIA	41
5.2.2 LATÊNCIA	43
5.2.3 NÚMERO DE CRUZAMENTOS	44
6. DISCUSSÃO	46
7. CONCLUSÃO	57
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
9. ANEXOS	71

RESUMO

A nicotina é um neuromodulador do sistema nervoso central que produz ampla variedade de efeitos comportamentais. A proposta deste estudo foi investigar o papel da nicotina e da mecamelamina sobre o mecanismo de aprendizagem e memória, através de condicionamento por reforço positivo, em peixes da espécie *Carassius auratus*. Foram utilizados 158 animais; um aquário retangular, com dimensões de 30 cm de comprimento, 10 cm de largura e 17 cm de altura, dividido ao meio em dois compartimentos, um preto e outro branco. O experimento foi realizado em cinco dias: dia I-habituação; dia II-registrou-se a preferência natural do animal; dia III-treino 1, os animais receberam o reforço no compartimento branco; dia IV-treino 2, os animais receberam o reforço no compartimento branco e em seguida foram injetados; dia V-teste, foi observada a preferência do animal entre os dois compartimentos. Oito grupos de animais foram formados de acordo com a droga administrada. Quatro grupos injetados imediatamente no pós-treino: veículo (n=25); nicotina 2,0mg/kg (n=24); mecamelamina 1mg/kg (n=25); mecamelamina 2,0mg/kg (n=24); e quatro grupos injetados três horas após o treino: veículo (n=15); nicotina 2,0mg/kg (n=15); mecamelamina 1,0mg/kg (n=15); mecamelamina 2,0mg/kg (n=15). A análise estatística foi feita através do ANOVA de 2 vias seguida do teste Student-Newman-Keuls ou através do teste Friedman. As variáveis submetidas à análise foram o tempo de permanência (TP) em cada compartimento, a latência (L); e o número de cruzamentos (CZ). Os resultados mostram que nos grupos injetados imediatamente no pós-treino, os animais de todos os grupos tratados exibiram preferência natural pelo ambiente escuro. No pós-treino, os grupos veículo e mecamelamina 1mg/kg reduziram a preferência pelo compartimento preto, permitindo inferir aprendizagem. No grupo nicotina houve diferença significativa ($p < 0,01$) entre a permanência nos compartimentos preto e branco, porém os animais mantiveram a preferência pelo ambiente escuro. No grupo mecamelamina 2mg/kg, os animais inverteram a preferência entre os compartimentos, indicando facilitação da aprendizagem em relação ao grupo veículo. Em relação à L, nos animais dos grupos veículo, mecamelamina 1,0mg/kg e 2,0mg/kg, a redução significativa ($p < 0,05$) da L entre os dias indica que os animais aprenderam por reforço positivo e retiveram a tarefa no dia do teste. Nos animais do grupo nicotina, houve diferença significativa ($p < 0,05$) da latência apenas entre os dias T2 e o Teste. Quanto ao número de CZ, não houve diferença significativa entre os grupos tratados, sugerindo que as drogas não exerceram efeito sobre a atividade locomotora dos animais. Nos grupos injetados após três horas (animais injetados três horas após o treino), a análise do TP no pós-treino indica que os animais continuaram preferindo o compartimento preto, indicando que não houve efeito pró-ativo das drogas sobre o processo de consolidação da memória. Quanto à L, nossos resultados sugerem que provavelmente, houve ações das drogas colinérgicas sobre sistemas neurais inespecíficos. Em relação ao número de CZ, não houve diferença significativa entre os grupos tratados, indicando que as drogas não exerceram efeito sobre a atividade locomotora do animal. Assim, sugere-se que nesse modelo, nos grupos imediatos, houve efeito da mecamelamina sobre a aprendizagem.

Palavras-chaves: *Carassius auratus*, aprendizagem, memória, nicotina, mecamelamina, comportamento, preferência.

ABSTRACT

Nicotine is a neuromodulator of the central nervous system, which has a wide variety of behavioural effects. The aim of this study is to investigate the role of nicotine and mecamlamine on the learning and memory mechanism through conditioning by a positive reinforcement process in 158 fish of the species *Carassius auratus*. For this purpose a rectangular aquarium was used (30×10×17 cm for total length, width and height, respectively). The aquarium was divided into two compartments, one black and one white. The experiment was done in five days: on the first day: habituation; on the second day: the natural preference of the animal was registered; on the third day: training session number 1 (T1), the animals were subjected to reinforcement in the white compartment; on the fourth day: training session number 2 (T2), the animals were subjected to reinforcement in the white compartment and were injected immediately after training; on the fifth day: test, the preference of the animals between the two compartments was registered once more. The animals were divided into eight groups according to the treatment. Four groups were injected immediately after training: vehicle (n=25); nicotine 2.0mg/kg (n=24); mecamlamine 1.0mg/kg (n=25); mecamlamine 2.0mg/kg (n=24); and four groups were injected three hours after training: vehicle (n=15); nicotine 2.0mg/kg; mecamlamine 1.0mg/kg (n=15); mecamlamine 2.0mg/kg (n=15). The statistical analysis was carried out using a two-way analysis of variance (ANOVA) followed by the Student-Newman-Keuls test or the Friedman test. The variables submitted to the analysis were: the time spent in each compartment; the latency and the number of times the fish crossed from one compartment to the other. The results show that in the groups, which were injected immediately the animals, showed a natural preference for the black compartment before training. In the post-training, the vehicle and mecamlamine 1,0mg/kg groups showed less preference for the black compartment, indicating learning. In the nicotine group there was a significant difference ($P<0.01$) between the time spent in the black and white compartments, however the animals of this group maintained the preference for the dark environment. In the mecamlamine 2.0mg/kg group, the animals changed the preference between the compartments showing facilitation of the learning process. In relation to latency the animals of the vehicle, mecamlamine 1.0 mg/kg and 2.0mg/kg groups, presented a significant reduction ($P<0.05$) of the L between the days showing that the animals learned by positive reinforcement and retained the task on the day of the test. In the animals of the nicotine group, there was a significant difference ($P<0.05$) of latency just between the T2 and the test days, showing a slower learning process. In relation to the number of times the fish crossed from one compartment to the other there was not a significant difference between the groups treated, suggesting that the drugs had no effect on the locomotor activity of the animals. In the groups injected after three hours, the animals still preferred the black compartment, showing that there was not any pro-active effect of the drugs on the memory consolidation process. With regards to latency, our results suggest that there was cholinergic drug action on unspecific neural systems. Thus, it suggests that concerning the immediate groups in this model there was an effect on the learning process.

Key words: *Carassius auratus*, learning, memory, nicotine, mecamlamine, behavior, preference.

1- INTRODUÇÃO

1.1 - Neuroplasticidade

A plasticidade neural é uma resposta adaptativa do cérebro frente às necessidades impostas pela vida de relação, ou seja, a organização anatômica de áreas específicas do cérebro pode ser modificada pela experiência resultante do fornecimento de estímulos intrínsecos (novos sinais neurais) e extrínsecos (novas experiências sensoriais e motoras) à áreas cerebrais específicas. Alterações funcionais e estruturais nas sinapses modificam a eficiência sináptica, através do aumento ou diminuição da transmissão dos impulsos nervosos, provocando dessa forma, a modulação do comportamento (Brandão, 2001).

O termo plasticidade é usado para referir mudanças tanto na rede celular (plasticidade neural) como a nível comportamental (plasticidade comportamental). Embora a relação causal entre plasticidade neural e plasticidade comportamental não seja conhecida, os mecanismos subjacentes da plasticidade neural são múltiplos e incluem alterações bioquímicas, estruturais e funcionais (Brandt et al., 1997).

A formação da memória, as alterações comportamentais e outras alterações plásticas são resultantes de mudanças persistentes na comunicação entre os neurônios vizinhos e de modificações na eficiência sináptica que ocorrem como resultado dessas alterações estruturais, funcionais e bioquímicas (Sycová, 1997).

A neuroplasticidade constitui a principal descoberta das últimas décadas em relação à capacidade de reorganização estrutural do cérebro de mamíferos adultos. Durante muitos anos o sistema nervoso foi concebido como uma estrutura fixa e imutável. No entanto, estudos mostram que mudanças persistentes na arquitetura do sistema nervoso central

(SNC) ocorrem não apenas durante o desenvolvimento, em resposta à trauma e após morte celular, mas também durante atividade neural progressiva (Syková, 1997). O rápido aumento na compreensão da fisiologia sináptica entre 1945 e 1960 forneceu bases para discordar da idéia do cérebro adulto como uma estrutura imutável (Goldman e Plum, 1997).

Uma característica importante dos neurônios do neocórtex de mamíferos é a habilidade para modificar suas propriedades de resposta em decorrência de alterações prolongadas na atividade dos impulsos aferentes. Esta forma de plasticidade neuronal é principalmente observada nas áreas corticais sensoriais, especialmente durante o período de vida pós-natal. Um vasto número de estudos realizado ao longo das últimas quatro décadas tem proporcionado amplas evidências que o córtex cerebral é susceptível a uma variedade de forças epigenéticas que influenciam a organização bioquímica, funcional e anatômica. Os mecanismos celulares e moleculares subjacentes à plasticidade cortical começaram ser elucidados. Vários sistemas neurotransmissores tais como acetilcolínico, noradrenérgico, serotoninérgico, dopaminérgico, e histaminérgico têm sido identificados como tendo um importante papel na plasticidade cortical (Gu, 2002). Estes sistemas interagem entre si e agem na modulação do comportamento (Fig 1).

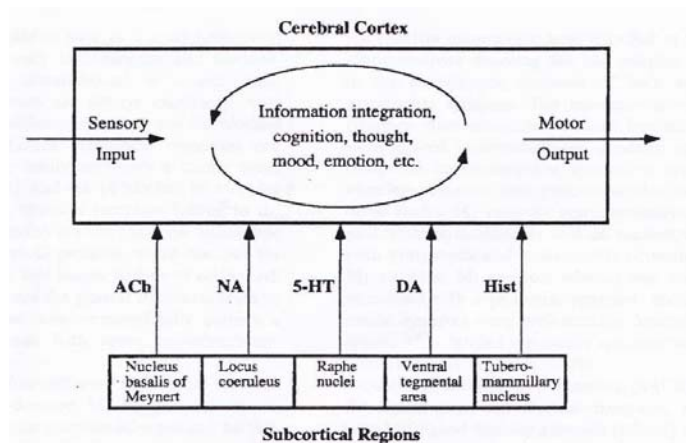


Fig 1: Neurotransmissores envolvidos na modulação do comportamento e das funções cognitivas. Fonte: Adaptado de Q. GU Neuromodulatory transmitter systems in the córtex and their role in cortical plasticity. Neuroscience, 2002.

Estudos realizados em diferentes modelos experimentais, utilizando animais de laboratório demonstraram o efeito de drogas sobre a modulação do comportamento e das funções cognitivas tais como aprendizagem e memória (Duran et al., 1994; Spieler et al., 1999; Trauth et al., 2000). Diversos sistemas neuroquímicos como o histaminérgico, Spérgico (substância P), dopaminérgico e colinérgico têm sido investigados em modelos experimentais que avaliam a facilitação ou a inibição dos mecanismos de aprendizagem e memória, através de reforço positivo e negativo (Boix et al., 1992; Boix et al., 1993; Mattioli et al., 1997; Levin et al., 1997; Spieler et al., 1999; Bancroft et al., 2000; Brown et al., 2001).

Fatores neurotróficos tais como o fator de crescimento insulínico-I (IGF-1), fator de crescimento neuronal (NGF), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), fator- β de crescimento (TGFB), fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), e outros fenômenos tais como neurogênese, sinaptogênese, axonogênese compensatória, brotamento neurítico colateral são relacionados com fenômenos neuroplásticos do SNC (Fuxe et al., 1996; Goldman et al., 1997; Gomide et al., 1999).

1.2 - Aprendizagem e Memória

Definir aprendizagem e memória não é fácil porque em geral, estes processos são inferidos a partir de alterações comportamentais e não podem ser medidos de forma direta. A aprendizagem é uma mudança relativamente duradoura no comportamento, produzida pela experiência e abrange um conjunto de atividades e habilidades que animais e homens adquirem através do contato com seu meio. Portanto, corresponde à aquisição de novos

conhecimentos e, como resultado desta experiência, ocorre modificação do comportamento, enquanto que a memória é a retenção deste conhecimento (Brandão, 2001). A memória pode ser conceituada como a habilidade dos organismos adquirirem, reterem e usarem informações e conhecimentos e está intimamente relacionada à aprendizagem (Tulving, 1987). A aprendizagem pode ser facilitada através de condicionamento que consiste no aumento da frequência de uma resposta que foi, recentemente, associada a um reforçador positivo (Brandão, 2001).

De maneira geral, os mecanismos cerebrais da aprendizagem e memória estão bem associados aos processos neurais responsáveis pela atenção, percepção, motivação, pensamento de forma que a perturbação em qualquer um deles tende a afetar, indiretamente a aprendizagem e a memória. O crescimento do corpo e do SNC facilita a mudança de comportamento, cujas reações que dependem da maturação aparecem em épocas previsíveis do desenvolvimento e não demandam treinamento específico (Brandão, 2001).

Em modelos experimentais, o sistema da aprendizagem e memória é mais elementar (Hoar e Randall, 1971). Segundo Brandão (2001) a aprendizagem pode ser classificada de acordo com as respostas dos procedimentos experimentais de laboratório em condicionamento clássico, condicionamento operante, habituação e sensibilização.

Dentre essas formas de aprendizagem, duas interessam ao entendimento desse trabalho: a habituação e o condicionamento operante.

A habituação é a forma mais elementar de aprendizagem não associativa na qual o indivíduo ou o animal aprende acerca das propriedades de um estímulo novo, em geral, inócuo. Após repetidas apresentações o estímulo perde a sua característica de novidade e o indivíduo reage com respostas progressivamente mais fracas. Através da habituação os

animais, incluindo os seres humanos, aprendem a ignorar os estímulos que perderam o significado ou a característica de novo.

O condicionamento operante baseia-se na probabilidade de ocorrência futura de uma resposta quando ela é seguida de um reforço. O reforço positivo (recompensa - quando ocorre a procura por alimento na ocorrência de fome) aumenta essa probabilidade; e o reforço negativo (punição – estímulo aversivo contingente a uma resposta) diminui essa probabilidade. Então, o condicionamento operante consiste na associação entre o estímulo e o comportamento do animal (Brandão, 2001).

A rapidez da aprendizagem dos peixes e a similaridade geral dessa aprendizagem com a sofisticada aprendizagem dos mamíferos têm sido investigada por alguns pesquisadores (Gleitman e Rozin, 1971). Os peixes são capazes de desenvolver formas especializadas de aprendizagem adaptativa, tais como a migração (Gleitman e Rozin, 1971). Possivelmente, o primeiro experimento formal sobre aprendizagem em peixes foi realizado por Morbius em 1873 e repetido por Triplett em 1901.

Pesquisas sobre a capacidade de aprendizagem e memória dos peixes têm seguido duas tradições separadas: a biológica ou naturalística, e as experimentais em laboratório. A primeira investiga a aprendizagem na vida natural dos peixes, observando problemas funcionais, tais como o comportamento alimentar e a migração; a segunda, é direcionada à psicologia comparativa da aprendizagem que investiga entre outros aspectos, o papel das estruturas cerebrais na aprendizagem e memória (Gleitman e Rozin, 1971).

É evidente o desempenho dos peixes em muitas tarefas de aprendizagem, tradicionalmente preservadas em pássaros e outros mamíferos inferiores (López et al., 2000). Tipicamente, são tarefas que envolvem processos simples de aprendizagem como a habituação, o condicionamento clássico e o condicionamento operante. Não existem

evidências que sugerem que, levando em consideração as diferenças sensoriais e motoras, e as condições motivacionais, o fenômeno básico que usualmente caracteriza essas categorias de aprendizagem em ratos ou pássaros, é diferente nos peixes (Hoar e Randall, 1971).

Os peixes podem ser instrumentalmente condicionados para desempenhar uma resposta frente a um estímulo reforçador ou em situações aversivas. Pesquisas em peixes da espécie *Carassius auratus* mostram que os processos de facilitação da aprendizagem e memória ocorrem em resposta a um estímulo reforçador positivo e em resposta a estímulos que apresentam propriedades aversivas (Mattioli et al., 1997; Medalha et al., 2000).

1.2.1- Estágios da Aprendizagem e Memória

A aprendizagem e a memória são processos que ocorrem em estágios. Os traços de memória são inicialmente recebidos pela memória sensorial ou memória imediata que se esgotam em fração de segundos. Os traços de memória a serem armazenados são transferidos para a memória primária que representa a memória de curto prazo. Sua duração é pequena, da ordem de alguns segundos, podendo ser prolongada por minutos, horas ou dias pelo processo de memorização. Através do processo de memorização, isto é, pela repetição mental do conteúdo da informação ou pela apresentação repetida de um estímulo, ocorre a transferência para um sistema duradouro de armazenamento, a memória a longo prazo.

A memória a longo prazo pode ser subdividida em memória secundária e terciária. Os eventos estocados na memória secundária (duração variável de minutos a anos), uma vez localizados pelo sistema de busca são trazidos à consciência. A leitura periódica dessas

informações permite que elas sejam alteradas ou, então, que novas informações relacionadas à aprendizagem inicial sejam acrescentadas ao sistema. Esse processo é chamado consolidação (Brandão, 2001). Na memória terciária são armazenadas as informações relativas às funções básicas da vida cotidiana que se constitui nos traços de memória ou engramas correspondentes à fala, à escrita, à atividade motora e outras atividades essenciais (Brandão, 2001).

1.2.2 - Consolidação da Memória

A hipótese da consolidação da memória proposta há 100 anos atrás por Muller e Pilzecker continua guiando pesquisas sobre o mecanismo da memória (McGaugh, 2000). Ignorada por quase metade de um século, essa hipótese foi revigorada em 1949, quando pesquisadores relataram que choque eletroconvulsivo induzia amnésia retrógrada em roedores (Duncan, 1949).

Evidências de consolidação da memória são encontradas em algumas espécies de animais, tais como ratos (Sandi e Rose, 1994) peixes (Spieler et al., 1999). As habilidades motoras e cognitivas requerem rápido acesso às novas informações armazenadas e, provavelmente, existem mecanismos biológicos tais como, alterações celulares e moleculares, responsáveis pela rápida consolidação. Diferentes regiões do cérebro de ratos tais como hipocampo e o núcleo estriado processam diferentes formas de memória; a amígdala modula a consolidação, regulando o processamento nessas regiões do cérebro (McGaugh, 2000).

O hipocampo pode desenvolver um importante papel na formação da memória a longo prazo, bem como na consolidação da memória. Essa consolidação pode envolver extensa interação entre o hipocampo, o córtex e o neocórtex; outras regiões do cérebro servem para conectar áreas capazes de fortalecer e reorganizar as informações que estão sendo consolidadas (Squire e Alvarez, 1995). A amígdala realiza a modulação da consolidação em outras regiões do cérebro. Em humanos o núcleo basolateral da amígdala media a influência das drogas e dos hormônios sobre a consolidação da memória no hipocampo (McGaugh, 2000).

Diversos neurotransmissores e hormônios estão envolvidos no processo de formação da memória em humanos. A epinefrina parece modular a consolidação através da ativação de receptores β -adrenérgicos localizados periféricamente, os quais influenciam os núcleos do trato solitário no tronco cerebral, através de projeções aferentes vagais. Projeções noradrenérgicas dessas regiões influenciam a atividade neuronal de outras regiões do cérebro, incluindo a amígdala. Hormônios glicocorticoides que são liberados pelo córtex da adrenal são transportados para o cérebro e ativam receptores glicocorticoides intracelulares que associados às ações da epinefrina, ativam a amígdala que é importante para mediar a influência desses hormônios sobre a modulação da consolidação da memória (McGaugh, 2000).

Estudos mostram que os diferentes estágios da memória são baseados em processos paralelos, porém independentes. Um estudo, utilizando facilitação sináptica na *Aplysia* indica que a facilitação a curto prazo (FCP) e a facilitação longo prazo da memória (FLP), não estão necessariamente ligadas. Drogas e outros recursos que bloqueiam a FCP não bloquearam a expressão da FLP, indicando que como ocorre com outras formas de plasticidade e memória, apenas a FLP requereu síntese protéica (Emptage e Carew, 1993).

Adicionalmente, a infusão de drogas no hipocampo e no córtex entorrinal pós-treino, bloqueou a memória a curto prazo sem afetar a memória a longo prazo, evidenciando que os processos ocorrem de forma independente (Izquierdo et al., 1998).

Portanto, a consolidação da memória é um fenômeno neuroplástico que envolve interações entre sistemas neurais e alterações celulares e moleculares dentro de sistemas específicos que estão relacionados com essa função (McGaugh, 2000).

Pesquisas em ratos e em peixes *Carassius auratus* mostram que drogas com efeitos estimulante, administradas minutos ou horas no pós-treino, influenciam a consolidação da memória (Mattioli et al., 1998; Brown et al., 2001). O uso de drogas administradas imediatamente no pós-treino para diminuir ou aumentar a memória, constitui um método efetivo para investigar a consolidação sem afetar o mecanismo de aquisição ou a memória retrógrada (McGaugh, 1989).

1.3 – Nicotina

Embora, inicialmente, introduzida na Europa como tabaco, na forma de planta para fins medicinais, a nicotina tornou-se prejudicial à sociedade moderna (Costa et al., 2001). Estudada como agente farmacológico primário do tabaco, possui um amplo espectro de influências comportamentais (Mohammed, 2000). Os efeitos fisiológicos da nicotina são variados, afetando o sistema nervoso periférico (SNP) - cardiovascular e neuromuscular - e o SNC (Feldman et al., 1996). Entre as ações da nicotina, são citadas melhoria no desempenho de tarefas cognitivas em ratos, macacos e humanos (Levin et al., 1992), produção de efeito ansiolítico (Gäddnäs et al., 2000) e ansiogênico (Zarrindast et al., 2000),

diminuição do consumo alimentar (Winders e Grundberg, 1990) e analgesia em ratos (Damaj et al., 1999). A nicotina tem sido relacionada com o aumento do desempenho da aprendizagem e da memória em uma variedade de estudos experimentais em animais e humanos (Bancroft e Levin, 2000).

1.3.1 – Farmacologia da Nicotina

A nicotina, amina terciária que consiste de piridina e um anel de pirrolidina (Fig 2), é um alcalóide líquido que apresenta efeito psicoestimulante e atua como potente modulador de várias funções do SNC (Zevin et al., 1998; Brown, 2001).

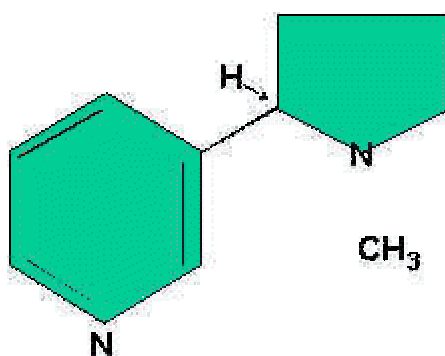


Fig 2 Fórmula estrutural da nicotina

A nicotina produz ampla variedade de efeitos comportamentais tais como, produção de efeito ansiolítico, melhoria do humor e do desempenho de tarefas cognitivas, diminuição do consumo alimentar, fato que pode estar relacionado à variedade de receptores nicotínicos (Changeux et al., 1998; Costa et al., 2001; Shoaib et al., 2002). Existem aproximadamente 12 subunidades de receptores nicotínicos, formando uma estrutura

pentamérica associada à amplo espectro de funções fisiológicas e farmacológicas (Corringer et al., 2000). A nicotina age através desses receptores colinérgicos que são encontrados em diferentes regiões do cérebro, gânglios autonômicos, e junções neuromusculares. Existem duas subclasses de receptores nicotínicos: musculares e neuronais. Os receptores nicotínicos neuromusculares têm sido bem caracterizados, sendo compostos de cinco subunidades ($\alpha 2\beta\gamma\delta$ ou $\alpha 2\beta\epsilon\delta$) que operam como ligantes que abrem canais iônicos. Os receptores nicotínicos neuronais são compostos de subunidades α e β . Uma variedade de diferentes subunidades, $\alpha 2$ e $\alpha 9$ e $\beta 2$ e $\beta 4$, têm sido identificadas, evidenciando a existência de diferentes tipos de receptores nicotínicos neuronais (McGehee e Role, 1995).

A ativação dos receptores nicotínicos causa a liberação de outros neurotransmissores, incluindo, acetilcolina (ACh), noradrenalina (NA), glutamato e serotonina (5-HT). A propriedade reforçadora da nicotina está fortemente ligada à liberação de dopamina (DA) (Zevin, 1998). Vários estudos mostram que a estimulação do sistema dopaminérgico mesolímbico (DA mesolímbico), apresenta grande importância no mecanismo de reforço e nas propriedades estimulatórias da nicotina (Nissel et al., 1996). Injeções sistêmicas de nicotina aumentam a liberação (Imperato et al., 1986), síntese e o metabolismo da DA (Grenhoff e Svensson, 1988) preferencialmente no núcleo accumbens (Nac), a maior área de projeção do sistema DA mesolímbico (Panagis et al., 1996). A propriedade de recompensa psicológica tem sido fortemente ligada à liberação de DA (Corrigall et al., 1994) mas a liberação de outros neurotransmissores provavelmente também contribuem (Zevin et al., 1998).

Em humanos, a administração de nicotina parece desempenhar um papel no mecanismo de reforço positivo e negativo. Os efeitos de reforço positivo incluem relaxamento, melhoria das funções cognitivas, e do humor, enquanto que os efeitos de reforço negativo são aqueles evidenciados pelos sintomas da abstinência, incluindo nervosismo, irritabilidade, ansiedade, diminuição da concentração, e das funções cognitivas (Hughes e Hatsukami, 1986).

1.4 - Sistema Colinérgico

Em humanos, o sistema colinérgico é um sistema neuroquímico que se origina no núcleo cuneiforme mesencefálico. Desse núcleo partem fibras contendo colinesterase que se projetam para o tecto mesencefálico, área pré-tectal, corpos geniculados e tálamo, com algumas fibras atingindo o globo pálido e a substância negra (pars compacta), formando a via tegmental dorsal (Aires, 1991).

Outro grupo de fibras forma a via tegmental ventral (de Tsai) no mesencéfalo anterior. Estas fibras passam pela zona incerta, região supramamilar e área hipotalâmica lateral (onde existem muitas células contendo acetilcolinesterase) para fazer sinapses com células colinérgicas do núcleo entopeduncular, globo pálido e área pré-óptica lateral. Da região anterior dessa via tegmentar ventral – em especial, da área pré-óptica lateral e do globo pálido – partem projeções colinérgicas para todas as áreas corticais telencefálicas.

Todas as etapas celulares dessa via tegmentar ventral são representadas por células no diencéfalo e no telencéfalo basal e apresentam características semelhantes às dos neurônios da formação reticular, onde ocorre a origem da maior parte do sistema

colinérgico. Entretanto, os territórios que circundam o feixe medial do prosencéfalo são considerados como extensões da formação reticular e formam o sistema reticular colinérgico ascendente. Além desse sistema reticular, existe outro sistema colinérgico chamado sistema límbico colinérgico que está intimamente relacionado ao hipocampo (Aires, 1991).

As projeções colinérgicas para neurônios do hipotálamo são provenientes de fontes intrínsecas e extrínsecas. Os neurônios colinérgicos intrínsecos para o hipotálamo, identificados por imunoreatividade positiva à colina acetiltransferase (ChAT) ou a transportador vesicular para Ach (VAChT), estão presentes no núcleo arqueado e espalhados nos núcleos paraventricular, periventricular, posterior e lateral hipotalâmicos e substância innominata. As projeções colinérgicas extrínsecas para o hipotálamo são provenientes principalmente dos grupos celulares ponto-mesencefálicos [pedunculopontino e núcleos tegmentallátero-dorsal (Jo et al., 2002)].

1.4.1- Anatomia do Cérebro dos Teleosteos

Nos teleósteos, dois núcleos têm sido identificados no pré-tectum que se dirigem para a região periventricular central: o núcleo pré-tectal, o qual dirige-se lateralmente para a comissura posterior; e o núcleo da comissura posterior, o qual dirige-se ventralmente para o núcleo pré-tectal. Os núcleos pré-tectal recebem substancial projeção da retina. O núcleo pré-tectal nessas espécies são mais numerosos. Essa marcada hipertrofia das regiões pré-tectal e tubercular posterior é uma das mais importantes características dos teleósteos (Butler e Hodos, 1996).

A zona pré-tectal periventricular contém dois núcleos: o núcleo pré-tectal periventricular ventral (PPv), e o núcleo pré-tectal periventricular dorsal (PPd). O PPd é frequentemente chamado de núcleo óptico da comissura posterior. Em alguns teleósteos, incluindo ostariophysans e percomorphs, um terceiro núcleo pré-tectal periventricular está presente: o núcleo paracomissural. Quando presente, se dirige dorsalmente para o núcleo pré-tectal periventricular dorsal (Butler e Hodos, 1996).

A zona pré-tectal central é uma área formada por células espalhadas denominadas núcleo pré-tectal central (PC). Os limites desses núcleos não frequentemente difíceis de serem distinguidos e ambos o núcleo central e a zona pré-tectal periventricular nos teleósteos são similares àquelas de outros peixes.

A zona pré-tectal superficial é marcadamente expandida nos teleósteos, sendo formada por vários núcleos. Os mais rostrais desses núcleos são os núcleos parvocelulares pré-tectal superficial (PSp). Estes núcleos fazem conexão com o ponto de bifurcação do trato óptico e penetram dentro do trato óptico dorsal e ventral e recebem projeções da retina e do tecto (Butler e Hodos, 1996).

A zona superficial do pré-tecto em teleósteos também contém núcleos pré-tectais magnocelular superficial (PSm), os quais recebem projeções do tecto; e os núcleos corticais (NC), que recebem projeções da retina e, provavelmente, projeções tectais. O terceiro dos quatro grupos de núcleos dos peixes teleósteos, são os núcleos pré-tectal posterior (PO). Nos euteleósteos, dois núcleos adicionais estão presentes e são chamados núcleos pré-tectais superficial intermediário (Psi) e núcleos glomerulosos (G).

Informações visuais são revezadas através de alguns desses núcleos pré-tectais superficiais para parte do hipotálamo. É provável que essas vias estejam envolvidas na orientação do corpo do peixe no espaço para localização de alimento. Em euteleósteos, os

núcleos pré-tectais superficiais parvocelulares e os núcleos corticais projetam-se para os núcleos pré-tectais superficiais intermediários, os quais, por sua vez se projetam sobre os núcleos glomerulosos que se projetam sobre o lobo inferior do hipotálamo. Os núcleos pré-tectais superficiais parvocelulares também possuem projeções diretas para estruturas do sistema motor, incluindo núcleo troclear (IV) e raphe inferior (IR), que se projetam para a medula espinhal (Butler e Hodos, 1996). Como em ratos, o sistema colinérgico interage com outros sistemas neurotransmissores, é provável que em peixes, os sinais neuroquímicos de algumas dessas conexões sejam transmitidos ou modulados por vias colinérgicas.

1.4.2 – Sistema Colinérgico em Teleósteos

O sistema colinérgico de algumas espécies de peixes, em particular nos teleósteos é vinculado ao sistema nervoso autônomo (Fig 3) A organização e a função do sistema nervoso autônomo em peixes é proveniente de investigações anatômicas detalhadas realizadas no século XIX (Stannius, 1849; Chevrel, 1889). Os estudos realizados por Jonh Young em 1931 e 1936, usando drogas agonistas e antagonistas no sistema colinérgico foram pioneiros, tendo continuidade em vários laboratórios. Estudos em peixes, especialmente em teleósteos, são notavelmente consistentes com as funções observadas no sistema nervoso autônomo de mamíferos (Evans, 1993).

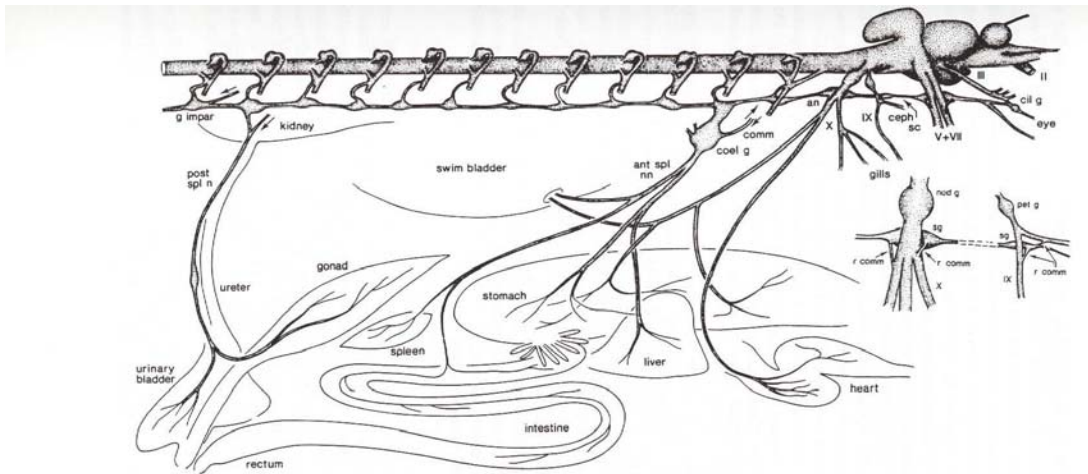


Fig 3: Sistema nervoso autônomo dos teleostesos.

Fonte: Adaptado de Evans, D. H. The physiology of fishes. Marine Science Series. 1993.

A Ach foi por muito tempo considerada o único neurotransmissor de todos os neurônios pré-ganglionares e pós-ganglionares em todos os grupos vertebrados (Nilson, 1983). No entanto, esta visão foi modificada a partir da descoberta de vários outros neurotransmissores que agem simultaneamente com a acetilcolina nestes neurônios (Furness e Costa, 1987; Gibbins, 1989).

A Ach é formada a partir da acetil-coenzima A e colina pela ação da enzima colina acetiltransferase (ChAT). A ChAT é restrita aos neurônios colinérgicos e pode ser identificada por vários métodos bioquímicos. É provável que neurotransmissores peptidérgicos coexistam com a Ach em peixes (Evans, 1993).

Estudos farmacológicos mostram que agonistas de receptores nicotínicos melhoram funções cognitivas como a memória, em humanos e em outros mamíferos (Grottick et al., 2001; Brown, 2001). Por outro lado, drogas antagonistas como mecamelamina e escopolamina podem causar prejuízo em teste de aprendizagem (Blokland, 1996; Levin et al., 1998). A melhora das funções cognitivas, incluindo aprendizagem, memória e atenção

pode ser induzida pela nicotina e tem sido documentada em várias espécies tais como ratos, macacos, peixes e em humanos (Levin et al., 1998; Santangelo e Mattioli, 2002).

1.4.3 - Funções do Sistema Colinérgico

O sistema colinérgico está envolvido com vários aspectos importantes das funções cognitivas incluindo atenção, aprendizagem e memória (Ankarberg et al., 2001). Essas funções são altamente dependentes da neurotransmissão colinérgica central a qual atua em associação com outros neurotransmissores do SNC (Hagan e Morris, 1988). Em roedores, a ontogênese do sistema colinérgico prevalece durante as primeiras 3-4 semanas após o nascimento (Davison e Dobbing, 1968) e é durante esse período que esses animais adquirem as funções motoras e sensoriais (Bolles e Woods 1964) e a maturidade no comportamento espontâneo (Campbell et al., 1969).

Os receptores colinérgicos são localizados em muitas regiões do cérebro, incluindo áreas importantes para funções cognitivas, tais como hipocampo e córtex frontal. Existem basicamente duas classes principais de receptores colinérgicos: os receptores nicotínicos e os receptores muscarínicos.

Os receptores nicotínicos são excitatórios, rápidos (disparam em poucos milissegundos), são ativados pela nicotina e podem ser bloqueados pela d-tubocurarina (Gu, 2002) e mecamelamina (Changeux, 1998). Esses receptores fazem parte da superfamília de receptores que se ligam a canais iônicos (Gu, 2002). Algumas subclasses de receptores também têm sido descritas. O receptor nicotínico foi o primeiro neuroreceptor isolado, purificado, e quimicamente definido por métodos de genética molecular. Esses

receptores são os únicos encontrados na placa motora terminal dos músculos esqueléticos dos vertebrados (Changeux, 1998).

Os receptores muscarínicos, podem ser excitatórios ou inibitórios, possuem um período de latência mais longo para iniciar o disparo (100 ms aproximadamente), são ativados pela muscarina e podem ser bloqueados pela atropina, pirenzepina e escopolamina (Gu, 2002). Esses receptores são acoplados à proteína-G, fato que explica a diversidade de seus efeitos e a latência mais longa para o disparo. São encontrados nos músculos lisos e nas células glandulares e, com receptores nicotínicos, nas células dos gânglios autonômicos e neurônios do SNC (Changeux, 1998).

A ACh foi o primeiro neurotransmissor a ser descoberto (Mesulan, 1998). É um neurotransmissor e neuromodulador (Gu, 2002) que é sintetizado e liberado por neurônios colinérgicos. A ChAT e acetilcolinesterase (AChE) são enzimas sintetizadas pelo corpo celular dos neurônios colinérgicos. Estas enzimas são transportadas para as terminações nervosas e nessas regiões terminais, a acetilcoenzima A e colina são combinadas pela atividade enzimática da ChAT para formar a molécula de ACh que é armazenada dentro das vesículas sinápticas e no citoplasma, sendo liberada em resposta a um potencial de ação. A ACh liberada, ativa os receptores pós-sinápticos e pré-sinápticos e é hidrolizada em colina e acetato pela ação da AChE. Em seguida, a colina é recaptada da fenda sináptica para o terminal colinérgico, sendo reutilizada na síntese de nova ACh (Mesulan, 1998).

A mecamelamina é uma amina secundária e um antagonista não competitivo dos receptores acetilcolínicos nicotínicos que age nos canais iônicos, sendo utilizada em várias pesquisas que investigam o sistema colinérgico no mecanismo de facilitação e inibição das funções cognitivas (Zevin et al., 1998).

1.4.4 - Substratos Neurobiológicos da Ação da Nicotina no Mecanismo de Aprendizagem e Memória

Os substratos neurais da ação da nicotina nas funções cognitivas envolvem provavelmente áreas específicas do cérebro, receptores específicos e interações nicotínicas com outros sistemas neurotransmissores.

O hipocampo, córtex frontal e o núcleo dopaminérgico mesencefálico são áreas reconhecidas como importantes sítios de ação da nicotina relacionadas com a função da memória. Outras áreas que apresentam receptores nicotínicos são o núcleo basal magnocelular e o núcleo basal de Meynert, ambas relacionadas com as funções cognitivas. O sistema colinérgico é amplamente distribuído no cérebro. Diferentes caminhos podem ser distinguidos com projeções para o córtex, bulbo olfatório, hipocampo e ou amígdala (Mesulan et al., 1983) e estes caminhos podem apresentar diferenças qualitativas nas funções psicológicas (Hasselmo, 1995).

As ações da nicotina no SNC são diversas, e os mecanismos subjacentes dos efeitos dessa droga no comportamento são complexos (Brown et al., 2001). A nicotina não influencia apenas o sistema colinérgico. Pesquisas têm demonstrado que a nicotina interage com outros sistemas neurotransmissores tais como acetilcolínico muscarínico, dopaminérgico, norepinefrínico, serotoninérgico, glutamatérgico e gabaérgico para modular o comportamento e as funções cognitivas (Levin, 1992; Brown et al., 2001).

Tem sido observado que a estimulação dos receptores pré-sinápticos nicotínicos produz um aumento na liberação de dopamina e glutamato dos terminais pré-sinápticos através do aumento do influxo de cálcio (Gray et al., 1996; Brown, 2001). O aumento na

liberação de dopamina provavelmente é a base do efeito de reforço da nicotina. Em relação ao efeito glutamatérgico, é provável que a nicotina aumente a liberação de glutamato e facilite sua ligação com os receptores N-metil-D-aspartato (NMDA). Este pode ser um mecanismo não colinérgico de facilitação da memória (Gray et al., 1996; McGehee e Role, 1995).

Não existe consenso em relação aos efeitos da nicotina na aquisição e retenção de novas informações (Gould et al., 1999). Estudos mostram que a administração de drogas colinérgicas no hipocampo prejudicou o desempenho de tarefas (Tizabi et al., 2000) e o desempenho da aprendizagem e memória em ratos (Blokland et al., 1992). Estes mesmos autores observaram uma redução nos receptores $\alpha 7$ nicotínicos no hipocampo e associaram essa redução à perda neuronal e sináptica induzida pela administração pré-natal de nicotina. Os receptores $\alpha 7$ nicotínicos são abundantes no hipocampo e apresentam funções relacionadas à sinaptogênese e desenvolvimento neuronal. A redução nesse tipo de receptor causa déficit atencional e cognitivo em ratos (Acri et al., 1995) e em humanos (Adler et al., 1998). Outros estudos evidenciam que a nicotina não induz melhora no desempenho em ratos (Mundy e Iwamoto, 1988), e outros mostram que a nicotina induz significativo déficit nas funções cognitivas em humanos (Dunne, 1986; Peters, 1982). No entanto, a maior parte da literatura informa que a administração de nicotina proporciona melhora nas funções cognitivas (Ernest et al., 2001; Di Chiara, 2000; Newhouse e Kelton, 2000).

A mecamelamina tem sido usada para avaliar as funções cognitivas. Estudos em ratos mostram que a administração sistêmica de mecamelamina bloqueia o efeito de reforço induzido pela nicotina administrada por via intravenosa, indicando que a ativação de

receptores acetilcolínicos está envolvida nas ações de reforço da nicotina (Watkins et al., 1999). Outros autores afirmam que a mecamelamina apresenta efeito negativo sobre o desempenho da aprendizagem e memória (Blokland, 1996).

Estudos com agonistas nicotínicos em roedores e em primatas não humanos mostram um aumento no desempenho da memória (Levin et al., 1998). O tratamento com drogas agonistas pode melhorar a atenção, aprendizagem e a memória enquanto que antagonistas nicotínicos como a mecamelamina causam déficit nas funções cognitivas (Levin et al., 1998; Brown et al., 2000; Brown et al., 2001).

Modificações na plasticidade cerebral podem ser induzidas pela nicotina. Foram observadas alterações na morfologia dendrítica do córtex pré-frontal e do núcleo accumbens de ratos, incluindo aumento na largura e no comprimento dendrítico, bem como aumento na densidade das espinhas dendríticas em ambas áreas do cérebro desses animais (Brown et al., 2001). Assim, as mudanças na morfologia dendrítica no córtex frontal pode ser um mecanismo subjacente ao aumento da memória induzida pela nicotina. É provável que essas alterações ocorram também em outras áreas do cérebro (Brown et al., 2001). Outros estudos mostram que a nicotina produz um aumento na liberação de fatores de crescimento no estriado (Maggio et al., 1997) no hipocampo (French et al., 1999), sendo que isto pode ser o mecanismo subjacente das alterações morfológicas dendríticas.

Pesquisas mostram que a nicotina pode melhorar a função da memória através de sinapses colinérgicas. A nicotina é um agonista acetilcolinérgico no receptor nicotínico e, assim sendo, produz aumento na liberação de acetilcolina dos terminais pré-sinápticos bem como auto-regulação dos receptores nicotínicos (Abdula et al., 1993). As ações da nicotina no SNC são diversas, e os mecanismos subjacentes dos efeitos dessa droga no comportamento são complexos.

1.4.5 - Substratos Neurais da Ação da Nicotina no Comportamento

Locomotor

Os efeitos da nicotina sobre a atividade locomotora são controversos. A nicotina pode exercer um efeito estimulante ou depressor da atividade locomotora, dependendo da dosagem administrada, da duração da exposição e do procedimento de administração (Ericson et al., 2000; Domino, 2001). Tem sido observado que baixas doses de nicotina administrada de forma aguda, aumenta a atividade locomotora em ratos (Benwell e Balfour, 1992). Por outro lado altas doses ($> 0,6\text{mg/kg}$), inicialmente, diminui a atividade locomotora (Clarke e Kumar, 1983). Estudos em ratos mostram que houve um aumento significativo da atividade locomotora quando os animais foram submetidos a um pré-tratamento crônico com essa droga (Nisell et al., 1996). Alterações bioquímicas evocadas pela exposição à nicotina em ratos adolescentes provocaram modificações no comportamento locomotor dos animais. Foi observado que após duas semanas da retirada da nicotina, esses animais, especialmente as fêmeas, exibiram redução da atividade locomotora (Trauth et al., 2000).

Outros estudos mostram que a nicotina interage com outros sistemas neurotransmissores para modular o comportamento locomotor. Várias linhas de evidências indicam que a administração de nicotina aguda altera a liberação das monoaminas cerebrais, incluindo DA, NA, e 5-HT. O efeito estimulante da nicotina sobre o sistema locomotor tem sido relacionado a uma ação estimulante dessa droga sobre o do sistema DA mesolímbico em ratos (Benwell e Balfour, 1992; Corrigan et al., 1992). Tem sido relatado que uma diminuição nas concentrações de DA do núcleo accumbens e estriado, resultantes

da retirada da nicotina, causou redução da atividade locomotora em ratos (Fung et al., 1996).

Alterações funcionais nos sistemas dopaminérgico nigroestriatal e mesolímbico de descendentes de ratas tratadas no período pré-natal com nicotina, foram relacionadas ao desenvolvimento de hiperatividade (Richardson e Tizabi, 1994). A hiperatividade nos descendentes induzida pela exposição pré-natal à nicotina foi associada a um aumento dos receptores nicotínicos no córtex e possivelmente no estriado (Tizabi et al., 1997). É provável que a indução da sensibilização locomotora resulte da ativação de receptores nicotínicos na área tegmental ventral que ocorre sem envolvimento do núcleo accumbens (Nisell et al., 1996).

Foi observado que o tratamento subcrônico com mecamelamina, antagonista do receptor nicotínico terciário, associado com a nicotina, preveniu a sensibilização locomotora à nicotina em ratos; enquanto que o tratamento subcrônico isolado com o antagonista, não alterou a hiperatividade locomotora que ocorreu após administração de nicotina (Ericson et al., 2000). Por outro lado, estudos mostram que a nicotina induz efeito depressor da atividade locomotora o qual foi atenuado pela administração de mecamelamina (Stolerman et al., 1995).

Pesquisas mostram que o efeito estressor de ambientes novos sobre o aumento da atividade locomotora é mediado por atividade hormonal. Ratos expostos a ambientes pequenos e inescapáveis tornam-se mais ativos quando o ambiente é novo, que quando o ambiente é familiar (Menzaghi et al., 1994). Os ratos expostos a ambientes novos e inescapáveis, exibiram aumento nos níveis plasmáticos de corticosterona, considerado “hormônio estressor”, e aumento da atividade locomotora (Piazza et al., 1989).

Um estudo foi desenvolvido para avaliar a atividade locomotora e a densidade do subtipo receptor alfa7 em várias regiões do cérebro de ratos. Os animais desse estudo foram expostos aos efeitos da nicotina no período pré-natal. Os resultados mostraram que houveram alterações comportamentais manifestadas por um aumento dos movimentos verticais; e mudanças neuroquímicas, manifestadas pela redução do subtipo receptor nicotínico alfa 7 (Tizabi et al., 2000). Esse receptor regula a liberação de uma variedade de neurotransmissores e provavelmente desempenha um importante papel na sinaptogênese e no desenvolvimento neuronal (Shacka e Robinson, 1998).

Estes estudos mostram que o sistema colinérgico nicotínico, associado às ações de outros mecanismos neurotransmissores e hormonais, desempenha um papel proeminente no controle da atividade locomotora em modelos experimentais. No entanto, não existe consenso em relação aos efeitos precisos da nicotina sobre a atividade locomotora fato que contribui para a continuidade das investigações.

1.4.6 - Substratos Neurais da Ação da Nicotina sobre o Mecanismo de Fome e Saciedade

Embora existam aproximadamente 4000 compostos presentes no cigarro, a nicotina, o mais ativo alcalóide do tabaco (Liu et al., 2003), é conhecida por induzir alterações no metabolismo (Hofstetter et al., 1986; Sanigorski et al., 2002), reduzir o peso corporal (Zhang et al., 2001) e diminuir o consumo alimentar (Winders e Grundberg, 1990). Vários estudos têm relatado que o uso da nicotina causa hipofagia e aumenta o consumo energético

(Mucha, 1997; Corrigan et al., 1989). Por outro lado, a retirada da nicotina têm sido associada com hiperfagia e ganho de peso (Jang et al., 2003).

A administração sistêmica ou central de nicotina exerce influência sobre às concentrações de diversos neurotransmissores cerebrais, entre eles a DA, 5-HT, Ach, bem como afeta a regulação de neuropeptídeos como o neuropeptídeo Y (NPY), a oxerina A e B, e o hormônio de concentração da melanina (HCM) (Jo et al., 2002).

A liberação de DA e 5-HT do hipotálamo mediada pela nicotina exerce um papel crítico no controle do mecanismo fome/saciedade. A DA que encontra-se aumentada no início das refeições, levando a um aumento do apetite e conseqüentemente a uma maior ingestão alimentar, está relacionada com mecanismo da fome. Por outro lado, a 5-HT, que é aumentada durante a alimentação, provocando a inibição da ingestão alimentar, está relacionada com o mecanismo de saciedade (Jo et al., 2002).

Estudos, utilizando a infusão de nicotina no hipotálamo de ratos, sugerem que a ativação de receptores acetilcolínicos nicotínicos que agem sobre projeções serotoninérgicas do hipotálamo lateral, podem contribuir para o efeito anorético da nicotina (Miyata et al., 1999; Yang et al., 1999; Meguid et al., 2000). A administração contínua de nicotina no hipotálamo lateral induziu aumento na liberação de 5-HT, mantendo a supressão alimentar nos animais tratados (Miyata et al., 1999). Outra relação entre as ações da nicotina e da serotonina observadas na regulação do apetite, foi observada a partir da administração sistêmica de nicotina (Schwid et al., 1992) e de bloqueadores de recaptção de serotonina (Wurtman e Wurtman, 1979) que causou perda de peso por diminuição da ingestão alimentar, especialmente carboidratos (Mihailescu et al., 1998).

Os efeitos anoréticos da nicotina podem envolver a regulação de adipócitos, que são sinalizados pela leptina. A leptina é um hormônio peptídeo que regula a síntese e a

liberação de adipócitos durante o estado de saciedade (Ahima et al., 2000). A ativação dos receptores da leptina no SNC e SNP diminui o apetite e aumenta o consumo energético, funcionando como um componente aferente chave do circuito de feedback negativo que estabiliza a massa de tecido adiposo. A nicotina, como um agente supressor do apetite, pode diminuir a ingestão alimentar através do aumento dos níveis de leptina e/ou através do aumento da sinalização dos receptores desse hormônio através de um fenômeno em cascada (Jo et al., 2002).

Vários estudos têm relatado o papel da leptina e de vários neuropeptídeos na regulação do apetite. O NPY é um potente fator orexigênico, enquanto que a leptina, é anorexigênica (Zhang et al., 2001; Jang et al., 2003). O neuropeptídeo Y e a leptina possuem efeitos opostos no hipotálamo. Uma pesquisa desenvolvida em ratos para analisar a imunoreatividade dos NPY e da leptina nos núcleos arqueado e paraventricular do hipotálamo, concluiu que a inanição provocou aumento nos níveis de NPY e diminuiu os receptores para leptina nesses núcleos, enquanto que a administração de nicotina resultou na diminuição dos níveis de NPY e aumento dos níveis de leptina (Jang et al., 2002).

É provável que o tratamento com nicotina possa suprimir a expressão do NPY ou os receptores desses neuropeptídeos, causando hipofagia. Frankish et al. (1995) afirmam que a administração de nicotina aguda (24-h), reduziu a ingestão alimentar em torno de 30% e diminuiu os níveis de NPY e RNAm do NPY no núcleo arqueado de ratos. Segundo Evans (1993), é provável que neurotransmissores peptidérgicos coexistam com a acetilcolina em peixes. Sendo assim, é possível que exerçam controle no mecanismo fome/saciedade nesses animais.

As concentrações séricas de leptina significativamente mais elevadas em fumantes em relação aos não fumantes são consistentes com a hipótese de que a nicotina funciona

como um mediador químico no mecanismo de fome e saciedade (Eliasson e Smith, 1999; Nicklas et al., 1999). A ação da leptina e de outros mediadores químicos, como a nicotina, que provavelmente agem no mecanismo de fome/saciedade, ainda não foram testadas em peixes da espécie *Carassius auratus*, em modelos que avaliem o comportamento alimentar desses animais e suas relações com a atividade locomotora. Portanto, seria interessante testar essa hipótese, observando a interferência da leptina e da nicotina no mecanismo fome/saciedade e suas relações com o comportamento locomotor nesses modelos experimentais.

De acordo com o que foi exposto, as ações da nicotina sobre a modulação das funções cognitivas são controversas. Sendo assim, a proposta dessa pesquisa foi investigar o papel da nicotina e da mecamelamina administrada no pós-treino, no mecanismo de aprendizagem e memória em peixes da espécie *Carassius auratus*.

2 – OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi investigar o papel desenvolvido pela nicotina e pela mecamelamina no mecanismo de aprendizagem e memória, em um modelo experimental que permite avaliar a plasticidade dessas funções e a plasticidade comportamental, através de condicionamento operante com reforço positivo em peixes da espécie *Carassius auratus*.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Sujeitos

A pesquisa foi desenvolvida, utilizando 158 peixes da espécie *Carassius auratus* (Fig 4) não identificados quanto ao sexo, com peso corporal, variando entre 2,53 – 11,30 g, provenientes de uma única fonte comercial. Os sujeitos foram caracterizados a partir de diferenças individuais como cor, tamanho, formato da calda e presença de manchas corporais. Antes do início do experimento, os peixes foram mantidos no laboratório em aquários de 30 l (aproximadamente 15 por aquário), durante um período mínimo de uma semana, para adaptação ao ambiente do laboratório, treinamento de alimentação nos comedouros e controle de doenças. Os animais foram mantidos em uma sala com iluminação natural e temperatura ambiente, sendo a água continuamente filtrada e oxigenada. Os aquários foram equipados com um termostato para manutenção da temperatura da água a 23°C. Os peixes foram alimentados entre 7:30 e 8:30 h, uma vez ao dia com ração específica para peixes - Fast Color Gold fish (HAI FENG FAST COLOR, Brasil). Todos os animais foram privados de alimento 48 horas antes de serem injetados com as drogas.

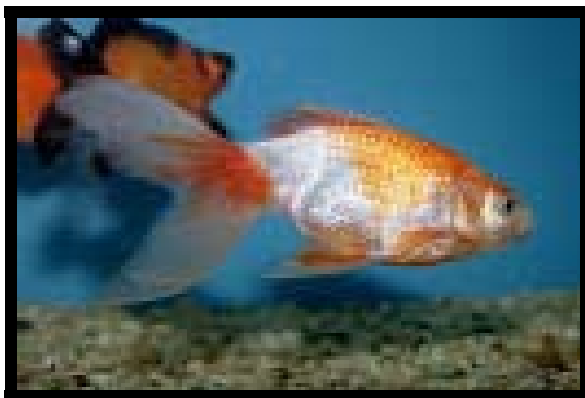


Fig 4. Peixe *Carassius auratus*

3.2 - Aquário experimental

Foi utilizado um aquário retangular, de vidro, com dimensões de 30cm de comprimento, 10 cm de largura e 17 cm de altura, sendo dividido ao meio em dois compartimentos cada um com 15 cm de comprimento (Fig 5) O compartimento esquerdo do aquário foi forrado com filme auto adesivo preto, para ficar escuro, enquanto o compartimento direito foi forrado com filme auto adesivo branco, para ficar claro.

Foram colados dois comedouros, um no compartimento escuro e o outro no compartimento claro. Os compartimentos internos do aquário foram separados por duas portas tipo guilhotina, uma escura que fechava o compartimento preto (CP), e outra clara que fechava o compartimento branco (CB). Essas portas delimitavam um compartimento inicial de 10 cm e quando removidas, o acesso do animal aos dois compartimentos era permitido. A água do aquário experimental era constantemente filtrada, oxigenada e mantida com a mesma temperatura dos aquários de manutenção.

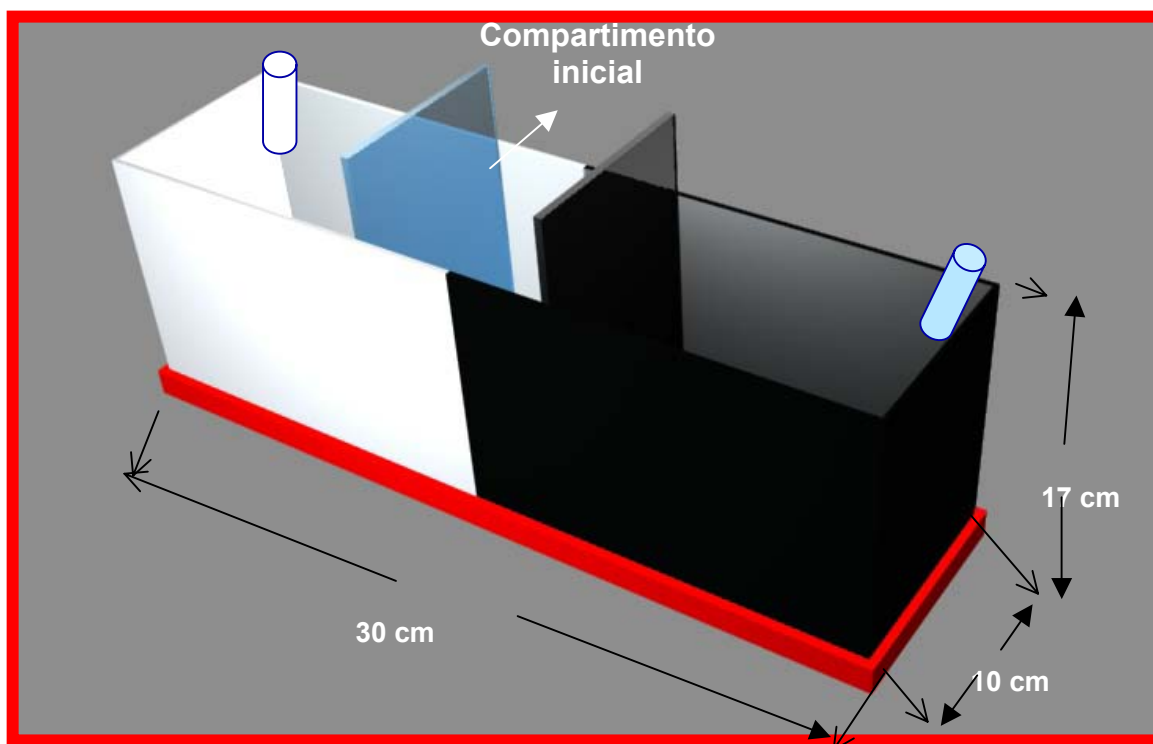


Fig 5. Aquário experimental

3.3 - Drogas e Tratamento

A nicotina dissolvida em solução fisiológica estéril (0,9%w/v) numa concentração de 2,0mg/ml foi administrada numa dosagem de 2,0mg/kg de peso corporal, sendo previamente diluída em 2uL de solução salina estéril.

A mecamelamina dissolvida em solução fisiológica estéril (0,9%w/v) nas respectivas concentrações de 1,0mg/ml e 2,0mg/ml foi administrada nas dosagens de 1,0mg/kg e 2,0 mg/kg de peso corporal. A solução salina estéril foi utilizada como veículo controle.

O procedimento de injeção foi realizado por via intraperitoneal a um volume de 1µl/g. Para a injeção foi utilizada uma seringa Hamilton de 100 µl, com uma cânula de polietileno adaptada a uma agulha dental. As drogas previamente diluídas foram colocadas em tubos Eppendorff, mantidas sob refrigeração e codificadas de forma que o experimentador não tinha conhecimento da droga e dosagem injetada em cada grupo.

Oito grupos de animais foram formados nesse experimento de acordo com a droga administrada:

Grupo Veículo ⇒ Os peixes foram tratados com solução salina imediatamente pós-treino (n=25).

Grupo Nicotina 2,0mg/kg ⇒ Os peixes foram tratados com nicotina na dosagem de 2,0mg/kg imediatamente no pós-treino (n=24).

Grupo Mecamelamina 1,0mg/kg ⇒ Os peixes foram tratados com mecamelamina na dosagem 1,0mg/kg, imediatamente no pós-treino (n=25).

Grupo Mecamelamina 2,0mg/kg ⇒ Os peixes foram tratados com mecamelamina na dosagem de 2,0mg/kg, imediatamente no pós-treino (n=24).

- **Grupo - 3Horas (Hs)** ⇒ A finalidade deste grupo foi investigar se houveram alterações no comportamento dos animais em decorrência de prováveis efeitos das drogas sobre outros sistemas uma vez que a consolidação da memória ocorre uma hora após o animal sofrer o efeito do estímulo reforçador.

Grupo Veículo – 3Hs⇒ Os peixes foram tratados com solução salina três horas após o treino (n=25).

Grupo Nicotina 2,0mg/kg - 3Hs ⇒ Os peixes foram tratados com nicotina 2,0mg/kg três horas após o treino (n=24).

Grupo Mecamelamina 1,0mg/kg - 3Hs ⇒ Os peixes foram tratados com mecamelamina na dosagem de 1,0mg/kg, 3 horas após o treino (n=25).

Grupo Mecamelamina 2,0mg/kg - 3H ⇒ Os peixes foram tratados com mecamelamina na dosagem de 2,0mg/kg, 3 horas após o treino (n=25).

3.4 - Procedimentos

O experimento foi realizado em cinco dias:

Dia I → Habituação ao aquário experimental. O animal foi colocado no compartimento inicial com as portas guilhotina fechadas. A partir da colocação do animal na água, foram cronometrados 30 segundos para amenizar o estresse do animal. Em seguida, as portas foram removidas, permitindo a saída do animal para desenvolver atividade exploratória do ambiente por 10 minutos.

Dia II → Preferência natural do animal pelos ambientes. O animal foi colocado no compartimento inicial com as portas guilhotina fechadas. Após 30 segundos, as portas foram removidas, permitindo a saída do animal para desenvolver atividade exploratória do ambiente por 10 minutos. Durante esse período foi registrado o tempo que o animal permaneceu em cada compartimento, a latência e o número de cruzamentos.

Dia III → Treino I. Três unidades do alimento foram colocadas no compartimento claro. Em seguida, o animal foi colocado no compartimento inicial por trinta segundos, com as portas guilhotina fechadas. Após esse período, as portas foram removidas, permitindo a saída do animal para nado livre no aquário. Um minuto após encontrar o alimento no comedouro, o animal foi retirado do aquário experimental e devolvido ao aquário de

manutenção. O comportamento do animal foi observado em termos de preferência pelo ambiente, latência, e atividade locomotora.

Dia IV → Treino II. Três unidades do alimento foram colocadas no compartimento claro. O animal foi colocado no compartimento inicial por trinta segundos, com as portas guilhotina fechadas. Após esse período, as portas foram removidas, permitindo a saída do animal para nadar livremente no aquário. Um minuto após encontrar o alimento no comedouro, o animal foi retirado do aquário experimental e injetado com uma dose da droga que era administrada de acordo com o peso corporal. Em seguida, foi devolvido ao aquário de manutenção. O comportamento do animal foi observado em termos de preferência pelo ambiente, latência, e atividade locomotora.

Dia V → Teste. O animal foi colocado no compartimento inicial com as portas guilhotina fechadas. Após 30 segundos, as portas foram removidas, permitindo a saída do animal para desenvolver atividade exploratória do ambiente por 10 minutos. O comportamento do animal foi observado em termos de preferência pelo ambiente, latência, e atividade locomotora.

Em nosso experimento, a aprendizagem foi avaliada através da capacidade do animal em relação à aquisição de novas informações que eram fornecidas pela tarefa proposta. Para análise da memória foi investigada a capacidade do animal em reter novas informações. A avaliação desses parâmetros foi realizada através das análises do tempo de permanência (TP) em cada compartimento; da latência (L) período de tempo para o animal encontrar o alimento na fonte; e do número de cruzamentos (CZ). A análise do TP avalia a preferência natural do animal e a preferência induzida pelo alimento (reforço) em relação aos ambientes do aquário. A L consiste no tempo gasto para o animal encontrar o alimento

na fonte a partir do início da atividade exploratória no aquário experimental; uma redução da latência no dia do treino 2 em relação ao treino 1 foi considerada para inferir aprendizagem. A latência do dia do teste foi utilizada como parâmetro de memória. O número de CZ avalia a atividade locomotora do animal.

Uma câmera de vídeo (gradiente GCP 165-CR) foi colocada com auxílio de um tripé a uma altura de 70 cm da base do aquário experimental. As imagens do aquário eram vistas pelo observador através de um monitor de TV (Philco Hitachi 20"). Todas as etapas do procedimento experimental foram registradas para posterior análise que foi realizada pelo observador através de um vídeo tape (Mitsubishi HS X-50).

4 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis submetidas à análise estatística foram o tempo de permanência do animal em cada compartimento no pré-treino e no pós-treino; a latência que avaliou o tempo transcorrido entre a saída do animal do compartimento inicial e o encontro do alimento no comedouro; e o número de cruzamentos do animal entre os compartimentos preto e branco. O tempo de permanência foi analisado através do teste de análise de variância ANOVA de duas vias seguido do teste de comparações múltiplas Student-Newman-Keuls. A latência foi analisada usando o teste Friedman seguida pelo teste de comparações múltiplas Student-Newman-Keuls. O número de cruzamentos foi analisado utilizando, ANOVA de duas vias entre o fator A, tratamento e B, dias.

5 – RESULTADOS

5.1- Grupos “Imediatos”

Os animais desse grupo receberam a administração das drogas imediatamente após o treino II.

5.1.1 - Tempo de Permanência (TP)

Uma análise de variância entre os tratamentos e os compartimentos mostra que não houve diferença significativa ($p= 0,9968$) em relação ao fator tratamento. No entanto, houve diferença entre o fator permanência nos compartimentos.

A análise do TP dos animais dos grupos salina, nicotina 2,0mg/kg, mecamelamina 1,0mg/kg e 2,0mg/kg no pré-treino (inicial CP e CB) mostra que houve diferença significativa ($P<0,01$) entre os compartimentos preto e branco, indicando que houve uma preferência natural dos animais desses grupos pelo ambiente escuro.

No pós-treino (final CP e CB) os grupos veículo e mecamelamina 1,0mg/kg não apresentaram diferença significativa ($P=0,16815$) e ($P=0,24813$) respectivamente, entre os compartimentos P e B, indicando a redução da preferência natural, o que permite inferir aprendizagem por associação alimento-compartimento branco.

Em relação ao grupo nicotina no pós-treino, houve diferença significativa ($p<0,01$) entre a permanência nos compartimentos preto e branco. Porém, a preferência dos animais

desse grupo continuou sendo pelo compartimento preto, indicando que não houve associação entre alimento e compartimento branco.

O grupo administrado com mecamelamina 2,0mg/kg, apresenta diferença significativa ($p < 0,05$), invertendo a preferência entre os compartimentos. Esta inversão indica uma facilitação na aprendizagem em relação ao grupo veículo (Fig. 5).

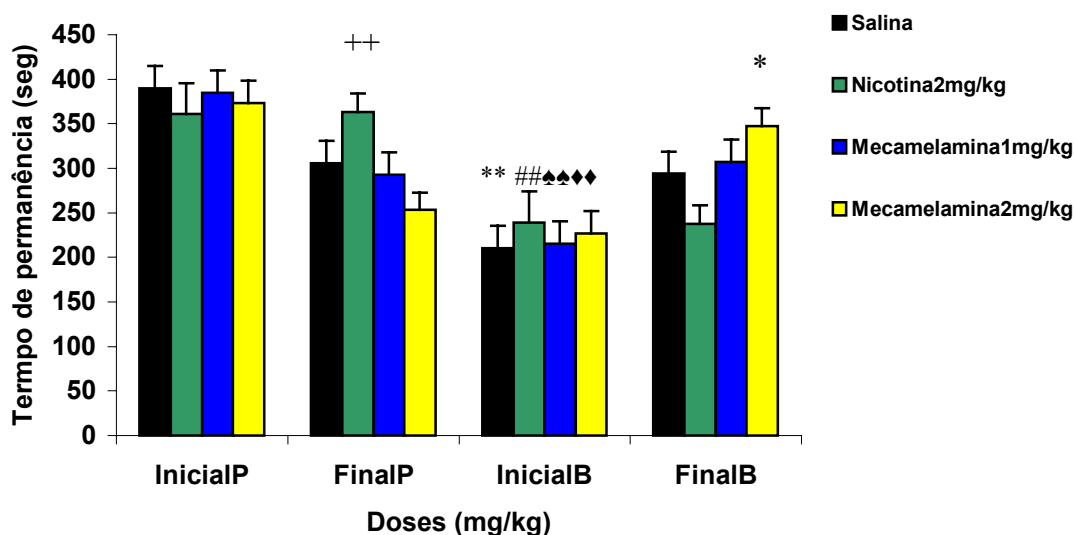


Fig 5: Média (+EPM) do tempo de permanência no pré-treino (inicial P e B) e pós-treino (final P e B), com salina (n=25), nicotina 2,0 (n=24), mecamelamina 1,0 (n=25) e mecamelamina 2,0 (n=24) mg/kg em cada compartimento. ANOVA de 2 Vias (dias X compartimento para cada tratamento) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls.

** ($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pré-treino (Inicial P e Inicial B)

($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pré-treino (Inicial P e Inicial B)

♣♣ ($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pré-treino (Inicial P e Inicial B)

♦♦ ($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pré-treino (Inicial P e Inicial B)

* ($P < 0,05$) = quando os compartimentos foram comparados no pós-treino (Final P e Final B)

++ ($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pós-treino (Final P e Final B)

5.1.2 – Latência

A diminuição da latência entre os dias T1 e T2 foi considerado como parâmetro de aprendizagem por reforço positivo (aquisição); e entre os dias T2 e o teste (Ts), foi considerado como parâmetro de memória (retenção).

Em relação ao grupo salina, houve redução significativa ($P < 0,05$) da latência entre os dias no treino 1 (T1) e no treino 2 (T2), demonstrando que os animais aprenderam por reforço positivo e que não houve alteração entre T2 e Ts indicando que os sujeitos retiveram a tarefa.

O grupo mecamelamina 1,0mg/kg apresentou redução significativa ($P < 0,05$) entre os dias no T1 e no T2, indicando que os animais aprenderam com o reforço positivo e retiveram a informação no dia do teste.

No grupo mecamelamina 2,0mg/kg houve redução significativa ($P < 0,05$) entre os dias T1 e T2, sugerindo que os animais aprenderam; e entre os dias T2 e o Ts, indicando um efeito facilitador da mecamelamina na dosagem de 2,0mg/kg sobre a memória.

No grupo nicotina 2,0mg/kg houve diferença significativa ($P < 0,05$) da latência entre os dias T2 e o Ts, indicando que houve retenção da tarefa apesar de não haver diferença entre T1 e T2. O comportamento da latência dos animais desse grupo mostra que os animais aprenderam de forma mais lenta (Fig 6).

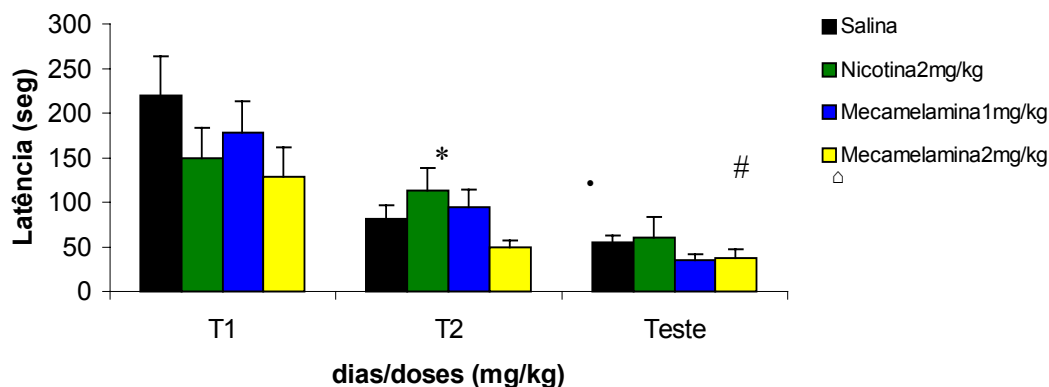


Fig 6: Média (+EPM) da latência nos treinos 1 (T1), 2 (T2) e teste nos grupos tratados com salina (n=25), nicotina 2,0 (n=24), mecamelamina 1,0 (n=25) e mecamelamina 2,0 (n=24) mg/kg. ANOVA 2 Vias seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. ($p < 0,05$) = quando comparados as latências entre os dias T1 e T2 do grupo salina*; T2 e Teste[#], do grupo nicotina; T1 e T2[•], e T2 e Teste[△] do grupo mecamelamina-2,0 mg/kg.

5.1.3 – Número de Cruzamentos

A análise de variância do número de cruzamentos mostra que não houve diferença significativa entre os grupos tratados, demonstrando que as drogas não apresentaram efeito sobre a atividade locomotora do animal (Fig 7).

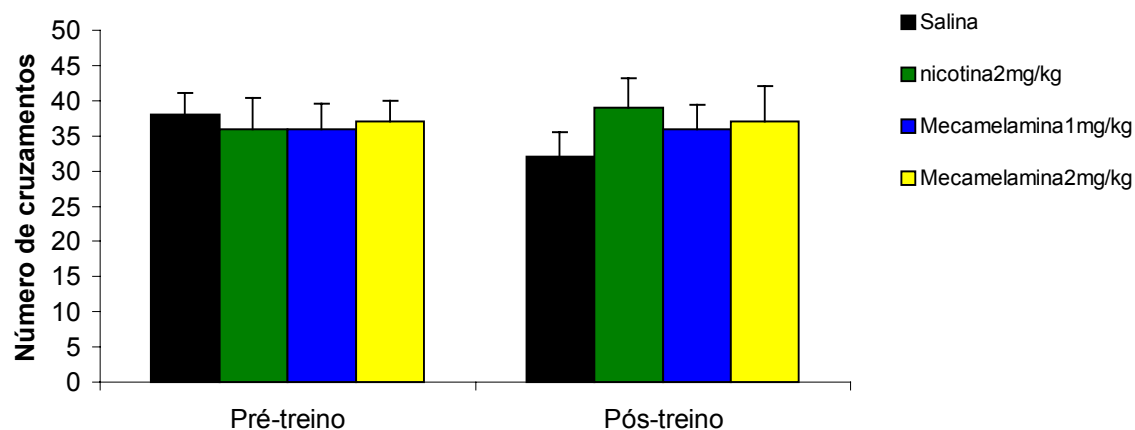


Fig 7: Média (+EPM) do número de cruzamentos no pré e pós treino, com veiculo (n=25), nicotina 2,0 (n=24), mecamelamina 1,0 (n=25) e mecamelamina 2,0 (n=24) mg/kg.

5.2 - GRUPOS TRÊS HORAS

Os animais desse grupo receberam a administração das drogas três horas após o treino II.

5.2.1 – Tempo de Permanência

A análise de variância entre os tratamentos e os compartimentos mostra que não houve diferença significativa ($P=1,000$) em relação ao fator tratamento. No entanto, houve diferença em relação ao fator permanência nos compartimentos.

A análise do TP dos animais dos grupos salina ($P=4,74456$); nicotina 2,0mg/kg ($P=4,1836$); e mecamelamina 1,0mg/kg ($P=1,76404$) no pré-treino (inicial CP e CB) mostra que não houve diferença significativa entre os compartimentos preto e branco. No entanto, os animais do grupo mecamelamina 2,0mg/kg apresentaram diferença significativa ($P<0,01$) entre os compartimentos P e B, mostrando que houve uma preferência natural dos animais desse grupo pelo ambiente escuro.

No pós-treino (final CP e CB) os animais dos grupos nicotina 2,0mg/kg ($P=5,32634$) e mecamelamina 2,0mg/kg ($P=5,49929$) não apresentaram diferença significativa, indicando que os animais desse grupo não associaram o alimento ao

compartimento branco. Por outro lado, os animais dos grupos salina ($P < 0,05$) e mecamelamina 1,0mg/kg ($P < 0,01$) mostram que houve diferença significativa entre a permanência nos compartimentos preto e branco. No entanto, a preferência dos animais desses grupos continuou sendo pelo compartimento preto, indicando que não houve associação entre o alimento e o compartimento branco (Fig 8).

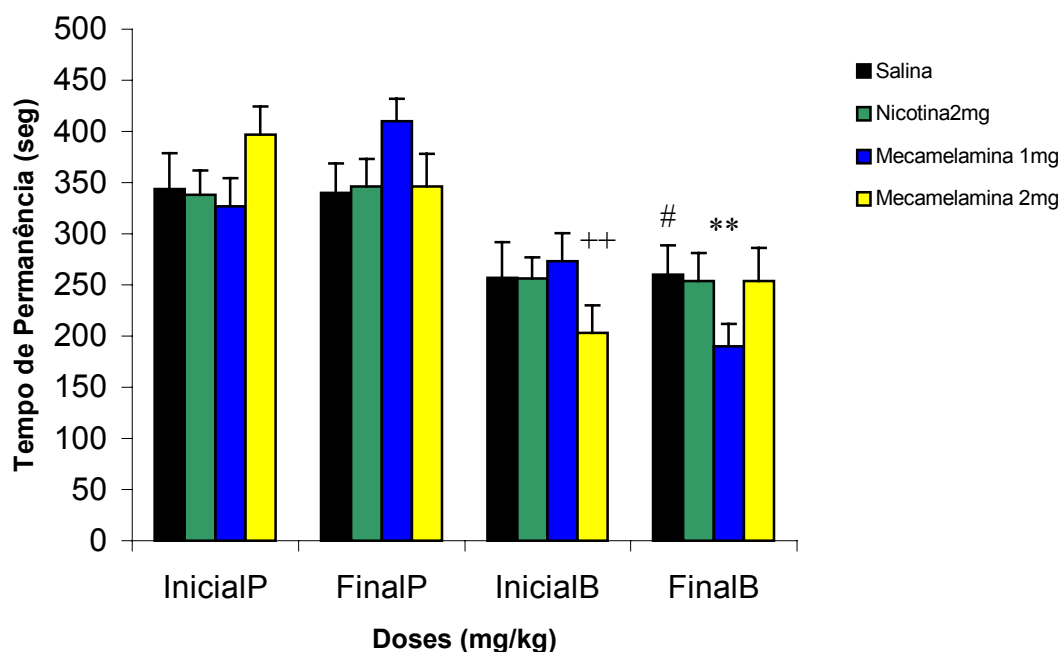


Fig 8: Média (+EPM) do tempo de permanência no pré-treino (inicial P e B) e pós-treino (final P e B), com salina (n=15), nicotina 2,0 (n=15), mecamelamina 1,0 (n=15) e mecamelamina 2,0 (n=15) mg/kg em cada compartimento. ANOVA de duas vias (dias X compartimento para cada tratamento) seguida pelo teste de Student-Newman-Kuels.

++ ($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pré-treino

** ($P < 0,01$) = quando os compartimentos foram comparados no pós-treino

($P < 0,05$) = quando os compartimentos foram comparados no pós-treino

5.2.2 – Latência

A análise de variância mostra que houve diferença significativa ($P < 0,05$) da latência entre os dias nos grupos tratados com salina, nicotina 2,0mg/kg, e mecamelamina 2,0mg/kg. O grupo tratado com mecamelamina 1,0 mg/kg não mostrou diferença significativa ($P = 0,268$).

Em relação ao grupo salina, houve redução significativa ($P < 0,05$) da latência entre os dias no treino 1 (T1) e no treino 2 (T2), e não houve alteração entre T2 e o Ts.

Em relação ao grupo nicotina 2,0mg/kg, houve diferença significativa entre os dias T1 e T2 ($P < 0,01$) e entre os dias T2 e o Ts ($P < 0,05$).

O grupo mecamelamina 1,0mg/kg não apresentou diferença significativa ($P = 1,2483$) da latência entre os dias T1 e T2. No entanto, houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os dias T2 e o Ts, evidenciada por um aumento da latência no dia do Ts.

No grupo mecamelamina 2,0 mg/kg houve redução significativa ($P < 0,01$) da latência entre os dias T1 e T2. No entanto, observa-se que houve aumento significativo ($P < 0,01$) da latência entre os dias T2 e Ts.

Esses resultados podem sugerir que houve um efeito pró-ativo inespecífico das drogas sobre o comportamento do animal (Fig 9).

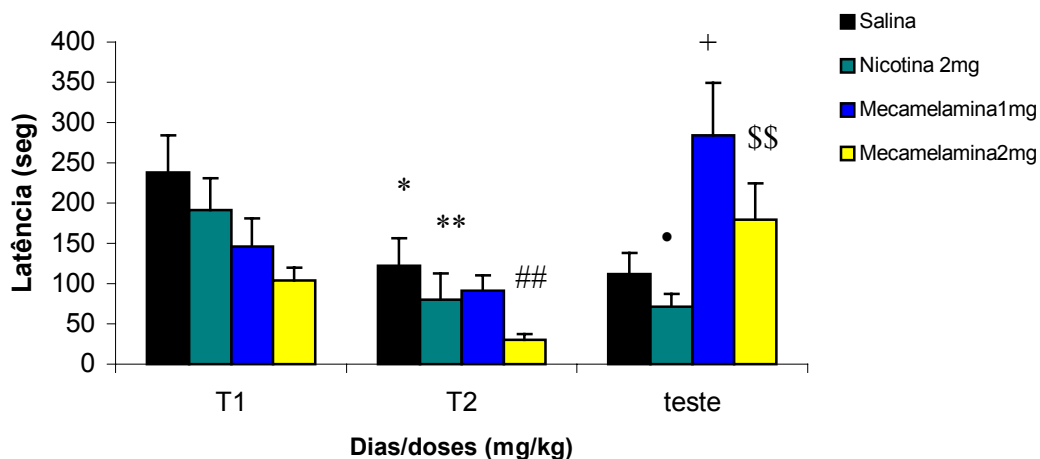


Fig 9: Média (+EPM) da latência nos treinos 1 (T1), 2 (T2) e teste, nos grupos tratados com salina (n=15), nicotina 2,0 (n=15), mecamelamina 1,0 (n=15) e mecamelamina 2,0 (n=15) mg/kg. ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls.

* (P<0,05) = quando comparados T1 e T2

+ (P<0,05) = quando comparados T2 e Teste

** (P<0,01) = quando comparados T1 e T2

\$\$ (P<0,01) = quando comparados T2 e Teste

(P < 0,01) = quando comparados T1 e T2

• (P< 0,05) = quando comparados T2 e Teste

5.2.3 – Número de Cruzamentos

A análise de variância do número de cruzamentos mostra que não houve diferença significativa entre os grupos tratados, demonstrando que as drogas não apresentaram efeito sobre a atividade locomotora do animal (Fig 10).

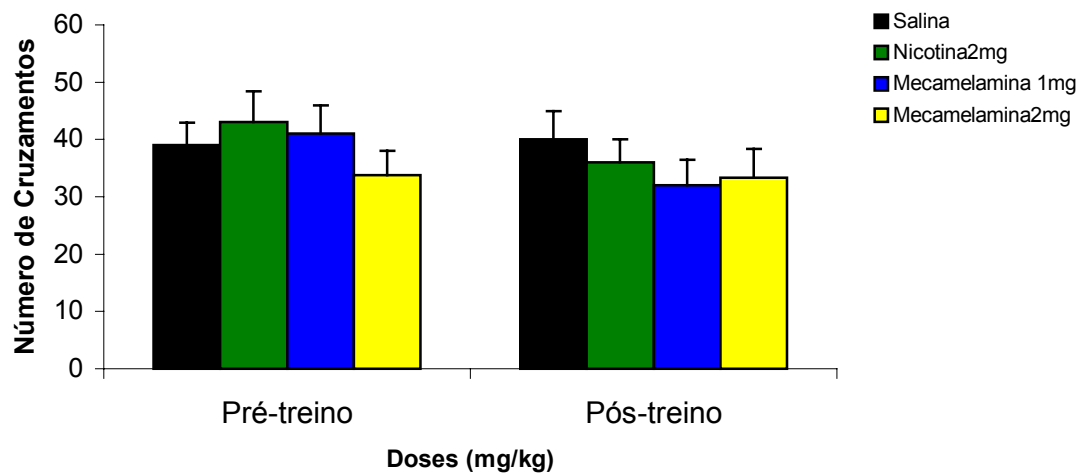


Fig 10: Média (+EPM) do número de cruzamentos no pré-treino e pós treino, com salina (n=15), nicotina 2,0 (n=15), mecamelamina 1,0 (n=15) e mecamelamina 2,0 (n=15) mg/kg.

6 – DISCUSSÃO

O condicionamento por reforço positivo em peixes da espécie *Carassius auratus* é um modelo adequado para o estudo dos processos de aprendizagem e memória. Este modelo tem sido testado nesse laboratório, em estudos anteriores e tem mostrado o efeito reforçador do alimento na facilitação da aprendizagem (Mattioli et al., 1997).

Segundo Santangelo et al (1999), os animais da espécie *Carassius auratus* apresentam preferência natural por compartimentos escuros em relação aos claros. No modelo de aprendizagem utilizado nesse estudo, os animais deveriam associar o estímulo apetitivo ao compartimento branco do aquário, aumentando cada vez mais o tempo de permanência nesse compartimento na medida em que recebiam o reforço. Em consequência, a latência para os animais encontrarem o alimento deveria diminuir, o TP do animal no CB e o número de CZ deveriam aumentar. Sendo assim, o aumento no TP no CB; a redução da L no dia do teste (Ts) em relação aos dias do T1 e do T2, foram considerados como parâmetros de aprendizagem e memória. O número de Cz avaliou a atividade locomotora dos animais.

Ao final desse estudo observou-se em relação à variável TP que o treinamento facilitou o mecanismo de aprendizagem e memória nos animais dos grupos tratados com veículo, mecamelamina 1,0 e 2,0mg/kg. No grupo tratado com nicotina 2,0mg/kg, evidenciou-se um processo mais lento de aprendizagem. Existem controvérsias sobre os efeitos da nicotina em relação à função da memória em humanos e em animais experimentais. Alguns estudos em humanos têm documentado que a nicotina induz

melhoras nas funções cognitivas (Peeke e Peeke, 1984; Warburton, 1992); outros mostram que a nicotina causa déficits, ausência de facilitação, ou efeitos variados sobre as funções cognitivas (Peters e Mcgee, 1982; Williams, 1980), e alguns estudos têm sugerido que a administração de nicotina reduz o apetite e o peso corporal, enquanto que a cessação causa hiperfagia e ganho de peso (Zhang et al., 2001.; Miyata et al., 2001; Jo et al., 2002; Sanigorski et al., 2002; Jang et al., 2003).

Um estudo que utilizou o modelo alimentar que avaliava a relação entre o número de refeições e o tamanho das refeições com o ciclo de estrógeno em ratas fêmeas, foi fortemente influenciado pelo ciclo de estrógeno. Tem sido observado que o pico de concentração do hormônio estradiol no sangue o qual ocorre na fase proestrogênica 4-5 dias do ciclo (Butcher et al., 1974), está associado a uma diminuição no tamanho das refeições e a um aumento recíproco compensatório do número das refeições para manter a constância relativa da ingestão alimentar diária. Existe uma relação entre o tamanho das refeições e o número das refeições que é: $IA=TR \times NR$, onde IA=ingestão alimentar; TR=tamanho das refeições; e NR=número das refeições. Tem sido observado que a infusão sistêmica e crônica de nicotina, em ratas, afetou o IA, reduzindo o TR sem provocar aumento compensatório no NR. Nesse mesmo experimento, a retirada da nicotina provocou hiperfagia devido ao aumento no TR acompanhada de parcial diminuição compensatória do NR (Miyata et al., 2001). Estes resultados corroboram com os nossos, indicando ser provável que os animais do grupo nicotina tenha evidenciado aprendizagem mais lenta em virtude de uma ação hipofágica da nicotina.

Segundo Jo et al. (2002), a nicotina reduz o apetite e altera o comportamento alimentar, aumentando a atividade anorética. O efeito anorético da nicotina provavelmente está relacionado a um aumento dos níveis do hormônio leptina, ou a um aumento da

atividade dos receptores desse hormônio. A leptina, regula a síntese e liberação de adipócitos durante o estado de saciedade e pode estar relacionado a um aumento da atividade anorética (Zhang et al., 1994; Ahima, et al., 2000 In: Jo, et al., 2002). A ativação de receptores da leptina no SNC e SNP diminui o apetite e aumenta o consumo de energia. De acordo com nossos resultados é provável que um efeito anorético tenha causado redução da ingestão alimentar nos animais do grupo tratado com nicotina, prejudicando a aprendizagem.

Segundo Winders et al (1990) In: Mohammed, (2000) a nicotina diminui o consumo alimentar. Mohammed (2000) e Miyata et al., (2001) afirmam que a hipofagia induzida pela nicotina pode ser mediada através da liberação de dopamina e serotonina no hipotálamo lateral. O sistema dopaminérgico hipotalâmico regula não apenas hormônios gonadotróficos, mas também influencia a atividade alimentar.

Estudos sugerem que a injeção de serotonina dentro do núcleo ventromedial do hipotálamo de ratos reduz o tamanho das refeições e o número das refeições (Leibowitz et al., 1993 In: Miyata et al., 2001). Outra pesquisa mostrou que a infusão de nicotina na área hipotalâmica lateral de ratos machos aumentou os níveis de dopamina e serotonina hipotalâmica, enquanto que a retirada da nicotina diminuiu a liberação de ambos neurotransmissores, induzindo hiperfagia (Miyata et al., 1999 In: Miyata et al., 2001). Pode-se sugerir que o efeito da administração de nicotina sobre o comportamento alimentar de ratos pode ser parcialmente devido a alterações funcionais nos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico no hipotálamo.

Os nossos resultados indicam, em relação ao TP no pré-treino, que quando os animais foram colocados no aquário experimental a tendência natural era permanecerem no compartimento preto. Por outro lado, no pós-treino (Ts), os animais tratados com veículo,

mecamelamina 1,0 e 2,0mg/kg, apresentaram um aumento do TP no compartimento branco, fato que pode estar relacionado a um aumento na aprendizagem por reforço positivo uma vez que os animais associaram esse compartimento ao alimento. Em relação ao TP do grupo tratado com nicotina 2,0mg/kg, observa-se que os animais continuaram preferindo o compartimento preto. Portanto, se nesse modelo, for levado em consideração como parâmetro de aprendizagem, apenas o comportamento dos animais que associaram o alimento ao compartimento branco, nossos resultados não estão consistentes com alguns dados da literatura os quais afirmam que a nicotina é um agente facilitador, e a mecamelamina, inibidor das funções cognitivas (Levin e Bárbara, 1998; Newhouse et al., 2000; Bancroft, et al., 2000; Brown et al., 2000; Brown et al., 2001). No entanto, como a nicotina exerce ação anorética é provável que essa droga tenha influenciado no comportamento alimentar dos animais, desenvolvendo hipofagia fato que pode ter interferido na propriedade do reforço como instrumento para avaliar a aprendizagem.

Apesar de existirem evidências na literatura de efeitos facilitadores da nicotina em relação à atenção em humanos (Stolerman et al., 2000; Grottick et al., 2000; Ernst et al., 2001) e no mecanismo de aprendizagem e memória em diversas espécies (Levin et al., 1998), no presente modelo os resultados do grupo tratado com nicotina 2,0mg/kg apresentaram em relação à latência, um processo de aprendizagem mais lento, provavelmente por haver interferência das ações colinérgicas no mecanismo de fome e saciedade.

Analisando os resultados obtidos em relação à latência entre os dias T1, T2 e o Ts, observamos que houve redução significativa das latências entre os dias T1 e T2 tanto nos animais tratados com veículo como nos animais que foram tratados com mecamelamina 1,0mg/kg. No grupo tratado com mecamelamina 2,0mg/kg houve redução da latência entre

os dias T1 e T2 e entre T2 e Ts enquanto que o grupo tratado com nicotina 2,0mg/kg, houve redução da latência apenas entre os dias T2 e Ts. Esses resultados sugerem facilitação da aprendizagem e da memória uma vez que os animais, em todos os grupos tratados, foram capazes de associar o reforço ao ambiente aversivo.

Em relação à latência dos animais do grupo nicotina, nossos resultados sugerem um processo de aprendizagem mais lento uma vez que não houve redução significativa da latência entre os dias T1 e T2, evidenciando retardo na aquisição da tarefa que provavelmente ocorreu entre os dias T2 e Ts. Este resultado pode ter ocorrido tanto pela interferência das ações colinérgicas no mecanismo de fome e saciedade como em decorrência da dose de nicotina administrada.

Pesquisas mostram que altas doses de nicotina podem provocar um efeito prejudicial em decorrência da super estimulação (hipersensibilização dos receptores) do sistema colinérgico (Gould et al., 1999). Foi demonstrado que baixas doses de nicotina facilita a atenção em camundongos C57BL/6, enquanto que altas doses podem interferir com o processo atencional/aprendizagem. Um estudo feito por Gould et al (1999) em C57BL/6 mostrou que a administração de nicotina na dose de 0,5mg/kg aumentou a aprendizagem durante o treino e o teste experimental. No entanto, em contraste com o efeito encontrado com 0,5 mg/kg de nicotina, a dose de nicotina de 1,0mg/kg (dose mais alta), no dia do treino, produziu déficit na aprendizagem contextual manifestada por uma inabilidade para explorar o ambiente). Nesse mesmo estudo, as doses de 0,1 e 0,25 mg/kg não apresentaram efeitos sobre a aprendizagem contextual, sugerindo que dosagens muito baixas não apresentam efeitos facilitadores sobre a aprendizagem. Em nosso experimento, os animais do grupo nicotina tratados com a dose de 2,0mg/kg (dose alta) apresentaram queda na aprendizagem. É provável que essa alta dosagem tenha interferido na

aprendizagem dos animais desse grupo, resultando num processo mais lento de aquisição e retenção da tarefa.

Apesar de existirem evidências na literatura que a nicotina pode aumentar a média de resposta operante ao condicionamento por reforço (Risner et al., 1985; Goldberg et al., 1989; Gould et al., 1999; Brown et al., 2000; Brown et al., 2001), nossos resultados em relação à latência do grupo mecamelamina 2,0mg/kg, mostram que a droga antagonista provocou facilitação na aprendizagem. Portanto, de acordo com os dados da literatura, não é possível obter uma completa explicação sobre os efeitos da droga antagonista sobre a preferência condicionada por lugar dos animais tratados com mecamelamina.

Em relação ao comportamento locomotor, os efeitos da nicotina são controversos. Pesquisas indicam que a nicotina pode estimular ou deprimir a atividade locomotora em ratos, dependendo da dosagem, duração da exposição, e procedimento de administração. Benwell e Balfour 1992 In: Ericson et al., 2000, afirmam que a nicotina administrada de forma aguda, com baixas doses, aumenta a atividade locomotora; enquanto que com altas doses ($>0,6\text{mg/kg}$), a atividade locomotora é inicialmente diminuída, podendo desenvolver comportamento estereotipado (Clarke e Kumar, 1983 In: Ericson et al., 2000).

Apesar de existirem evidências na literatura de que a nicotina aumenta a atividade locomotora (Tizabi et al., 1997; Gäddnäs et al., 2000), a análise dos nossos resultados indica que não houve alteração no comportamento locomotor dos animais em todos os grupos tratados, indicando que nem a redução da L nem o aumento no TP no compartimento branco foram devidos à alteração no comportamento locomotor dos animais.

Uma pesquisa desenvolvida para avaliar o efeito comportamental na performance da aprendizagem de ratos adultos tratados no período neonatal com nicotina mostrou que diferentes doses de nicotina induzem a diferentes efeitos quando administrada em animais adultos. A exposição neonatal a diferentes doses de nicotina causou alterações no comportamento locomotor. Os resultados desse estudo mostraram que ratos adultos tratados no período neonatal com nicotina (66mg/kg) apresentaram no décimo dia do período pós-natal, baixa atividade locomotora. Os ratos adultos tratados no período neonatal com dose baixa (3,3 mg/kg), exibiram elevada atividade locomotora que permaneceu até o quarto mês de vida desses animais (Ankarberg et al., 2001). Esses resultados sugerem que a atividade locomotora de ratos varia com o tipo de dose de nicotina. Ou seja, quanto mais elevada a dose menor a atividade locomotora. Desta forma, é provável que nossos resultados em relação à atividade locomotora, sejam uma consequência da dose de nicotina administrada.

Pesquisas têm mostrado que o tratamento agudo com nicotina pode suprimir a atividade locomotora em ratos (Stolerman et al., 1973; Stolerman et al., 1995). Outros estudos também têm demonstrado que a exposição de ratos a ambientes novos causou hiperatividade locomotora em decorrência do aumento dos níveis plasmáticos de um hormônio estressor denominado corticosterona (Oitzl, et al., 1997). Nesse experimento, os ratos mais ativos (aqueles com aumento da atividade locomotora) em decorrência da exposição ao ambiente novo foram denominados altos respondedores (HR). Estes animais exibiram maior aumento nos níveis de corticosterona e conseqüentemente, maior nível de estresse. Os animais que foram menos reativos ao ambiente novo foram denominados baixos respondedores (LR) e exibiram menor aumento dos níveis de corticosterona. Também foi observado que os ratos mais ativos (HR) em decorrência do efeito estressante do ambiente novo, foram aqueles mais sensíveis ao efeito supressor da nicotina,

provavelmente porque o nível de atividade nesses sujeitos foi inicialmente mais alto; enquanto que os animais menos ativos (LR) pelo ambiente novo, foram mais sensíveis ao efeito estimulante da nicotina porque seu nível de atividade foi inicialmente mais baixo.

Em muitas espécies de roedores, incluindo camundongos C57, a administração de 1,0mg/kg de nicotina reduziu a atividade locomotora, relacionada com a habilidade para explorar o ambiente, prejudicando assim a aprendizagem contextual. De acordo com esses resultados poderia se sugerir que a dose de 2,0mg/kg de nicotina administrada aos animais do grupo nicotina desse experimento, poderia ter suprimido a atividade locomotora dos animais tratados. Entretanto, como o número de cruzamentos foi semelhante ao grupo veículo, essa hipótese foi descartada .

Os resultados do grupo três horas mostram em relação ao TP no pré-treino e no pós-treino, que houve uma preferência natural dos animais de todos os grupos tratados pelo compartimento escuro e que o treinamento não facilitou a aprendizagem e a memória uma vez que os animais não associaram o alimento ao compartimento branco. Este resultado está de acordo com os dados da literatura que afirma que as drogas devem ser administradas dentro de um prazo aproximado de 1 hora após o treino para que ocorra a consolidação da memória. McGaugh e Petronovich (1965) afirmaram que as drogas que possuem efeito estimulante tais como nicotina, anfetamina, cafeína, metrazol, estricnina, e drogas, com efeito, depressivo tais como clorpromazina e fenobarbital modificam a memória através de seus efeitos sobre as sinapses neuronais. Em ratos, tem sido observado que drogas com efeito estimulante facilita, enquanto que drogas com efeito depressivo inibe a consolidação da memória. Segundo Liu e Braud (1974), esse efeito é mais intenso quando a droga é administrada num período de tempo mais curto em relação ao final do treino. Se o tratamento for feito após o período de tempo necessário, (aproximadamente 1 hora) após o

treino, para consolidação da memória, a droga administrada não influenciará na retenção da tarefa.

Liu e Braud (1974) investigaram o efeito de picrotoxina, droga que possui ação estimulante sobre o SNC, e observaram que o tempo limite para exercer seu efeito foi aproximadamente 1 hora. McGaugh e Krivanek (1970), utilizaram a estriçnina para avaliar a janela temporal da ação dessa droga e sugeriram que o tempo limite para o tratamento exercer o efeito foi aproximadamente uma hora. De acordo com Liu e Braud (1974), o período de tempo para consolidação da memória é muito mais longo para drogas que exercem efeito estimulante do que para drogas que apresentam efeito depressivo.

Agranoff (1971) verificou que a injeção de puromicina, droga que possui efeito depressivo, pode bloquear o processo de consolidação da memória em peixes, se os animais forem injetados antes ou imediatamente após o treino. No entanto, se houver um retardo na administração, que chegue a ultrapassar 30 minutos, a droga torna-se inefetiva.

Os nossos resultados estão de acordo com os descritos acima, pois os animais desse experimento foram injetados três horas após o treino, sugerindo que as drogas não exerceram efeito sobre a aquisição e retenção da informação, provavelmente pelo fato dos animais desse grupo terem sido injetados após o período de tempo no qual ocorreria o processo de consolidação da memória.

Em relação à latência entre os dias T1, T2 e Ts, os resultados obtidos indicam que houve redução significativa das latências entre os dias T1 e T2 para os animais do grupo salina, nicotina 2,0mg/kg e mecamelamina 2,0mg/kg; e entre os dias T2 e Ts para os animais do grupo nicotina 2,0mg/kg. Os animais dos grupos mecamelamina 1,0mg/kg e mecamelamina 2,0mg/kg observamos que houve aumento da latência entre os dias T2 e Ts.

Esses resultados provavelmente estão associados a um efeito pró-ativo inespecífico das drogas sobre sistemas neurais inespecíficos. Segundo Liu e Braud (1974), os efeitos obtidos da administração de drogas após um longo período em relação ao final do treino, podem desencadear “efeitos colaterais” sobre outros sistemas que controlam, por exemplo, motivação, atenção, atividade geral ou outros efeitos sensório-motores.

Estudos mostram que efeitos colaterais podem aparecer quando as drogas são administradas após um período de tempo necessário para exercer seu efeito sobre o mecanismo de aquisição e retenção da informação. Provavelmente estes efeitos ocorram em decorrência da ação das drogas sobre sistemas neurais que controlam outras funções não relacionadas com o mecanismo de aprendizagem e memória (Liu e Braud, 1974; Davis, 1968). Como os animais do nosso estudo foram injetados três horas após o treino 2, ultrapassando o limite máximo de tempo necessário para a consolidação, não existe possibilidade para os tratamentos administrados terem exercido efeito sobre o processo de consolidação da memória. Sendo assim, é provável que as drogas administradas tenham exercido efeitos fisiológicos sobre sistemas neurais inespecíficos relacionados com o controle de outras atividades funcionais.

Em relação ao número de CZ, as drogas administradas nesse grupo não exerceram qualquer influência significativa sobre o comportamento locomotor dos animais em todos os grupos tratados. Esse resultado pode ter ocorrido por duas razões: primeira - a dose estabelecida para as drogas administradas, uma vez que nos grupos imediatos, o resultado em relação à atividade locomotora também não foi significativo; segunda – o retardo no período de tempo (três horas) estabelecido para a administração, ficando consistentes com os dados da literatura que defendem que a eficácia dos tratamentos depende do período de tempo no qual as drogas foram administradas.

De acordo com os resultados do nosso trabalho e com os dados da literatura, pode-se afirmar que existem muitas controvérsias em relação ao papel do sistema colinérgico no mecanismo de aprendizagem e memória, tanto em humanos como em outros modelos experimentais. Em peixes da espécie *Carassius auratus*, o aprimoramento desse modelo, deve ser conduzido, de forma que possa ser avaliada a ingestão alimentar, como instrumento de reforço, utilizando outras substâncias que facilitam a aprendizagem e a memória sem exercerem influência sobre os mecanismos de controle alimentar.

7 – CONCLUSÃO

O modelo de condicionamento operante por reforço positivo para peixes da espécie *Carassius auratus* constitui um importante recurso para o estudo da aprendizagem. Este modelo permite verificar o efeito de drogas com ação facilitadora e inibidora sobre o mecanismo da aprendizagem e memória. Observou-se que a nicotina na dose de 2,0 mg/kg exerceu um efeito mais lento sobre a facilitação da aprendizagem, sugerindo uma provável interferência das ações colinérgicas no mecanismo de fome e saciedade. A mecamelamina (antagonista no receptor colinérgico) nas doses de 1,0mg/kg e 2,0mg/kg provocou resposta facilitadora da memória. Entretanto, não foi possível obter uma explicação consistente sobre os efeitos dessa droga sobre o mecanismo da aprendizagem em peixes da espécie *Carassius auratus*.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULA, F.A.; CALAMINICI, M-R.; STEPHENSON, J. D.; SINDEN, J. D. Chronic treatments with cholinergic drugs influence spatial learning in rats. **Psychopharmacology**. 111: 508-511, 1993.

ACRI, J. B.; BROWN, K. J.; SAAH, M. I.; GRUNBERG, N. E. Strain and age differences in acoustic startle responses and effects of nicotine in rats. (1995). In: TIZABI, Y.; RUSSELL, L. T.; NESPOR, S. M.; PERRY, D. C.; GRUNBERG, N. E. Prenatal nicotine exposure: effects on locomotor activity and central [¹²⁵I]α-BT binding in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 66: 495-500, 2000.

AHIMA, R. S.; SAPER, C. B.; FLIER, J. S.; ELMQUIST, J. K. (2000). Leptin regulation of neuroendocrine systems. In: JO, Y.-H.; TALMAGE, D. A.; ROLE, L. W. Nicotine receptor-mediated effects appetite and food intake. **Journal of Neurobiology**. 53: 618-632, 2002.

ADLER, L.E.; OLINCY, A.; WALDO, M.; HARRIS, J. G.; GRIFFITH, J.; STEVENS, K.; FLACH, K.; NAGAMOTO, H.; BICKFORD, P.; LEONARD, S.; FREEDMAN, R. Schizophrenia, sensory gating, and nicotine receptors. (1998). In: TIZABI, Y.; RUSSELL, L. T.; NESPOR, S. M.; PERRY, D. C.; GRUNBERG, N. E. Prenatal nicotine exposure: effects on locomotor activity and central [¹²⁵I]α-BT binding in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 66: 495-500, 2000.

AGRANOFF, B. W. Effects of antibiotics on long-term memory formation in the goldfish (1971). In: Honig, W. K. and Jamas, P. H. (Eds.), *Animal Memory*, pp. 243-258. New York: Academic Press. In: LIU, Y.; BRAUD, W. G.; Modification of learning and memory in goldfish through the use of stimulant and depressant drugs. **Psychopharmacologia**. 35: 99-112, 1974.

AIRES, M. M. **Fisiologia**. 1ª ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1991.

ANKARBERG, E.; FREDRIKSSON, A.; ERIKSSON, P. Neurobehavioural defects in adult mice neonatally exposed to nicotine: changes in nicotine-induced behaviour and maze learning performance **Behavioural Brain Research**. 123: 185-192, 2001.

BANCROFT, A.; LEVIN, E. D. Ventral hippocampal α4β2 nicotine receptors and chronic nicotine effects on memory. **Neuropharmacology**. 39: 2770-2778, 2000.

BENWELL, M. E. M.; BALFOUR, D. J. K. (1992). The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. In: GÄDDNÄS, H.; PIETILÄ, K.; AHTEE, L. Effects of chronic oral nicotine treatment and

its withdrawal on locomotor activity and brain monoamines in mice. **Behavioural Brain Research**. 113: 65-72, 2000.

BEVINS, R. A.; BESHEER, J. Individual differences in rat locomotor activity are diminished by nicotine through stimulation of central nicotinic acetylcholine receptors. **Physiology & Behavior**. 72: 237-244, 2001.

BLOKLAND, A.; HONIG, W.; RAAIJMAKERS, W. G. M. Effects of intra-hippocampal scopolamine injections in a repeated spatial acquisition task in the rat. **Psychopharmacology**. 109: 373-376, 1992.

BLOKLAND, A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? **Brain Research Reviews**. 21: 285-300, 1996.

BOIX, F.; MATTIOLI, R.; ADAMS, F.; HUSTON, J. P.; SCHWARTING, R. K. W. Effects of substance P on extracellular dopamine in neostriatum and nucleus accumbens **European journal of Pharmacology**. 216: 103-107, 1992.

BOIX, F.; MATTIOLI, R.; ADAMS, F.; HUSTON, J. P.; SCHWARTING, R. K. W. Peripherally administered substance P affects extracellular dopamine concentrations in the neostriatum but not in the nucleus accumbens under anesthesia. **Brain Research Bulletin**. 31: 655-660, 1993.

BOLLES, R.G.; WOODS, P. J. (1964). The ontogeny of behaviour in the albino rat. In: ANKARBERG, E.; FREDRIKSSON, A.; ERIKSSON, P. Neurobehavioural defects in adult mice neonatally exposed to nicotine: changes in nicotine-induced behaviour and maze learning desempenho. **Behavioural Brain Research**. 123: 185-192, 2001.

BRANDÃO, M. L. **Psicofisiologia**. São Paulo, Editora Atheneu. Cap 6, pp. 87-103, 2000.

BRANDEIS, R.; SAPIR, M.; HAFIF, N.; ABRAHAM, S.; OZ, N. STEIN, E.; FISHER, A. AF150(S): a new functionally selective M1 agonist improves cognitive performance in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. 51: 667-674, 1995.

BRANDT, T.; STRUPP, M.; ARBUSOW, V.; DIERINGER, N. Plasticity of the vestibular system: central compensation and sensory substitution for vestibular deficits. **Brain Plasticity, Advances in Neurology**. 73: 297-309, 1997.

BROWN, R. W.; GONZALEZ, C. L. R.; KOLB, B. Nicotine improves Morris water task desempenho in rats given medial frontal cortex lesions. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**. 67: 473-478, 2000.

BROWN, R. W.; KOLB, B. Nicotine sensitization increases dendritic length and spine density in the nucleus accumbens and cingulate cortex. **Brain Research**, 899: 94-100, 2001.

BROWN, R. W.; GONZALEZ, C. L. R.; WHISHAW, I. Q.; KOLB, B. Nicotine improvement of Morris water task desempenho after fimbria-fornix lesion is blocked by mecamylamine. **Behavioural Brain Research**. 119: 185-192, 2001.

BUTCHER, R. L.; COLLINS, W. E.; FUGO, N. W. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17OH throughout the 4 day estrous cycle of the rat. **Endocrinology**. 94: 1704-1708, 1974.

BUTLER, A. B.; HODOS, W. **Comparative Vertebrate Neuroanatomy-evolution and adaptation**. New York, Wiley-Liss, Cap.20, pp. 285-288, 1996.

CHANGEUX, J.-P.; Acetylcholine receptor. Fili//E/ens/articles/000006.html. 1998.

CHANGEUX, J.-P.; BERTRAND, D.; CORRINGER, P.-J.; DEHAENE, S.; EDELSTEIN, S.; LÉNA, C.; NOVÈRE, N. L. ; MARUBIO, L.; PICCIOTTO, M.; ZOLI, M. Brain nicotine receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement. **Brain Research Reviews**. 26: 198-216, 1998.

CLARKE, P. B. S.; KUMAR, R. (1983). The effects of nicotine on locomotor activity in non-tolerant and tolerant rats. In: ERICSON, M.; OLAUSSON, P.; ENGEL, J. A.; SÖDERPALM, B. Nicotine induces disinhibitory behavior in the rat after subchronic peripheral nicotinic acetylcholine receptor blockade. **European Journal of Pharmacology**. 397: 103-111, 2000.

CAMPBELL, B. A.; LYTLE, L. D.; FIBIGER, H. C. (1969). Ontogeny of adrenergic arousal and cholinergic inhibitory mechanisms in the rat. In: ANKARBERG, E.; FREDRIKSSON, A.; ERIKSSON, P. Neurobehavioural defects in adult mice neonatally exposed to nicotine: changes in nicotine-induced behaviour and maze learning desempenho. **Behavioural Brain Research**. 123: 185-192, 2001.

CHEVREL, R. Système nerveux grand-sympathique des elasmobranches et des poissons osseux, (1989). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

CORRIGALL, W. A.; HERLING, S.; COEN, K. M. Evidence for a behavioral deficit during withdrawal from chronic nicotine treatment. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 33: 559-562, 1989.

CORRIGALL, W. A.; FRANKLIN, K. B. J.; COEN, K. M.; CLARKE, P. B. S. The mesolimbic dopaminergic system is implicated in the reinforcing effects of nicotine. **Psychopharmacology**. 107: 285-289, 1992.

CORRIGALL, W. A.; COEN, K.M.; ADAMSON, K.L. (1994). Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental área. In: ZEVIN, S.; GOURLAY, S.; BENOWITZ, N. L. Clinical Pharmacology of Nicotine. **Elsevier Science**, 16: 557-564, 1998.

CORRINGER , P. J.; LE NOVÈRE, N.; CHANGEUX, J.-P. Nicotine receptors at the amino acid level. **Annual Review of Pharmacology e Toxicology**. 40: 431-458, 2000.

COSTA, G.; CARRIQUIRY,-A.; DAJAS, F. Nicotine prevents striatal dopamine loss produced by 6-hydroxydopamine lesion in the substantia nigra. **Brain Research Interactive**. 888: 336-342, 2001.

DAMAJ, M. I.; GLASSCO, W.; ACETO, M. D.; MARTIN, B. R. Antinociceptive and pharmacological effects of metanicotine, a selective nicotinic agonist. **Journal Pharmacology Exp Ther**. 291: 390-398, 1999.

DOMINO, E.F. Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. **Neuro-PsychoPharmacol and Biology Psychiatry**. 25: 59-71, 2001.

DAVIS, R. E. Enviromental control of memory fixation in goldfish. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**. 65: 72-78, 1968.

DAVISON, A. N. ; DOBBING, J. (1968). Applied neurochemistry. In: ANKARBERG, E.; FREDRIKSSON, A.; ERIKSSON, P. Neurobehavioural defects in adult mice neonatally exposed to nictine: changes in nicotine-induced behaviour and maze learning desempenho. **Behavioural Brain Research**. 123: 185-192, 2001.

DECKER, M. W.; BRIONI, J. D.; BANNON, A. W.; ARNERIC, S. P. Diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: lessons from behavior and implications for CNS therapeutics-minireview. **Life Science**. 56: 545-570, 1995.

DI CHIARA, G. Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. 393: 295-314, 2000.

DUCAN, C. P. J. Comp. Physiol. Psych. (1949). In: McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

DUNNE, M. P.; MacDONALD, D.; HARLEY, L. R. The effects of nicotine upon memory and problem solving performance. **Physiology & Behavior**. 37: 849-854, 1986.

ELIASSON, B.; SMITH, U. (1999). Leptin levels in smokers and long-term users of nicotine gum. In: JO, Y.-H.; TALMAGE, D. A.; ROLE, L. W. Nicotine receptor-mediated effects appetite and food intake. **Journal of Neurobiology**. 53: 618-632, 2002.

EMPTAGE, N. J.; CAREW, T. J. **Science** (1993) In: McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

ERICSON, M.; OLAUSSON, P.; ENGEL, J. A.; SÖDERPALM, B. Nicotine induces disinhibitory behavior in the rat after subchronic peripheral nicotinic acetylcholine receptor blockade. **European Journal of Pharmacology**. 397: 103-111, 2000.

ERNST, M.; HEISHMAN, S. J.; SPURGEON, L. B. S.; LONDON, E. D. Smoking history and effects on cognitive performance. **Neuropsychopharmacology**. 25: 313-319, 2001.

EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

FELDMAN, R. S.; MEYER, J. S.; QUENZER, L. F. (1996). In: Neuropsychopharmacology, Sinauer Associates Sunderland, MA, In: COSTA, G.; CARRIQUIRY, A.; DAJAS, F. Nicotine prevents striatal dopamine loss produced by 6-hydroxydopamine lesion in the substantia nigra. **Brain Research Interactive**. 888: 336-342, 2001.

FILE, S. E.; KENNY, P. J.; QUAGAZZAL, A. M. Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. **Behavioural Neuroscience**. 112: 1423-1429, 1998.

FRANKISH, H. M.; DRYDEN, S.; WANG, Q.; BING, C.; MacFARLANE, I. A.; WILLIAMS, G. Nicotine administration reduces neuropeptide Y and neuropeptide Y mRNA concentrations in the rat hypothalamus: NPY may mediate nicotine's effects on energy balance. **Brain Research**. 694: 139-146, 1995.

FRENCH, S. J.; HUMBY, T.; HORNER, C. H.; SOFRONIEW, M. V.; RATTRAY, M. (1999). Hippocampal neurotrophin and trk receptor mRNA levels are altered by local administration of nicotine, carbachol and pilocarpine. In: BROWN, R. W.; GONZALEZ, C. L. R.; WHISHAW, I. Q.; KOLB, B. Nicotine improvement of Morris water task desempenho after fimbria-fornix lesion is blocked by mecamylamine. **Behavioural Brain Research**. 119: 185-192, 2001.

FUNG, Y. K.; SCHMID, M. J.; ANDERSON, T. M. LAU, Y. (1996). Effects of nicotine withdrawal on central dopaminergic systems. In: GÄDDNÄS, H.; PIETILÄ, K.; AHTEE, L. Effects of chronic oral nicotine treatment and its withdrawal on locomotor activity and brain monoamines in mice. **Behavioural Brain Research**. 113: 65-72, 2000.

FURNESS, J. B.; COSTA, M. The Enteric Nervous System. (1989). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

FUXE, K.; TINNER, B. ZOLI, M.; PETTERSSON, R. F.; ANDREW, B.; BIAGINI, G.; CHADI, G.; AGNATI, L.F. Computer-assisted mapping of basic fibroblast growth factor immunoreactive nerve cell population in the rat brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**. 11: 13-35, 1996.

GÄDDNÄS, H.; PIETILÄ, K.; AHTEE, L. Effects of chronic oral nicotine treatment and its withdrawal on locomotor activity and brain monoamines in mice. **Behavioural Brain Research**. 113: 65-72, 2000.

GIBBINS, I. L. Co-existence and co-function, in the comparative physiology of regulatory peptides. (1989). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

GLEITMAN, H.; ROZIN, R. Learning and Memory (1971). In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. **Fish Physiology-Environmental Relations and Behavior**. New York, Academic Press. Cap. 4, 6: 191-269, 1971.

GOLDMAN, S.; PLUM, F. Compensatory regeneration of the damaged adult human brain: neuroplasticity in a clinical perspective. **Brain Plasticity, Advances in Neurology**. 73: 99-107, 1997.

GOMIDE, V.C.; CHADI, G. The trophic factors S-100 β and fibroblast growth factor are increase in the forebrain reactive astrocytes of adult callosomized rat. **Brain Research** 835: 162-174, 1999.

GOULD, T. J.; WEHNER, J. M. Nicotine enhancement of contextual fear conditioning. **Behavioural Brain Research**. 102: 31-39, 1999.

GRENHOFF, J.; SVENSSON, T. H. (1988). Selective stimulation of limbic dopamine activity by nicotine. In: PANAGIS, G.; NISELL, M.; NOMIKOS, G. G.; CHERGUI, K.; SVENSSON, T. H. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-Like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. **Brain Research**. 730: 133-142, 1996.

GRAY, R.; RAJAN, A. S.; RADCLIFFE, K.A.; YAKEHIRO, M.; DANI, J.A. Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. **Nature**. 383: 713-716, 1996.

GROTTICK, A. J.; WYLER, R.; HIGGINS, G.A. A study of the nicotine agonist SIB-1553A on locomotion, and attention as measured by the five-choice serial reaction time task. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 70: 505-513, 2001.

GU, Q. Neuromodulatory transmitter systems in the cortex and their role in cortical plasticity. **Neuroscience**, 3: 815-835, 2002.

HAGAN, J. J.; MORRIS, R. G. M. (1988). The cholinergic hypothesis of memory: a review of animal experiments. In: BLOKLAND, A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? **Brain Research Reviews**. 21: 285-300, 1996.

HASSELMO, M. E. Neuromodulation and cortical function: modeling the physiological basis and behavior. (1995). In: BLOKLAND, A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? **Brain Research Reviews**. 21: 285-300, 1996.

HEATH, A. G. **Water Pollution and Fish Physiology**. Boca Raton-New York-London-Tokyo. Chapter 12, pp.271-295, 1995.

HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. **Fish Physiology-Environmental Relations and Behavior**. New York, Academic Press. Cap. 4, 6: 191-269, 1971.

HOFSTETTER, A.; SCHUTZ, Y.; JEQUIER, E.; WAHREN, J. (1986). Increased 24-hour energy expenditure in cigarette smokers. In: LIU, R.-H.; MIZUTA, M.; MATSUKURA, S. Long-term oral nicotine administration insulin resistance in obese rats. **European Journal of Pharmacology**, 458: 227-234, 2003.

HUGHES, J. R.; HATSUKAMI, D. (1986). Signs and symptoms of tobacco withdrawal. In: ZEVIN, S.; GOURLAY, S.; BENOWITZ, N. L. Clinical pharmacology of nicotine. **Elsevier Science**, 16: 557-564, 1998.

IMPERATO, A.; MULAS, A.; DiCHIARA, G. (1986). Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of freely moving rats. In: PANAGIS, G.; NISELL, M.; NOMIKOS, G. G.; CHERGUI, K.; SVENSSON, T. H. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-Like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. **Brain Research**. 730: 133-142, 1996.

IZQUIERDO, L.; BARROS, D. M.; MELLO, T.; SOUZA M. M.; IZQUIERDO, L. A. **Nature** (1998). In: McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

JANG, MI-H.; SHIN, M.-C.; KIM, K.-H.; CHO, S.-Y.; BAHN, G.-H.; KIM, E.-H.; KIM, C.-J. Nicotine administration decreases neuropeptide Y expression and increases leptin receptor expression in the hypothalamus of food-deprived rats. **Brain Research**, 964: 311-315, 2003.

JO, Y.-H.; TALMAGE, D. A.; ROLE, L. W. Nicotine receptor-mediated effects appetite and food intake. **Journal of Neurobiology**. 53: 618-632, 2002.

LEVIN, E.D. Nicotine systems and cognitive function. **Psychopharmacology**. 108: 417-431, 1992.

LEVIN, E. D.; CHRISTOPHER, N. C.; BRIGGS, S. J. Chronic nicotinic agonist and antagonist effects on T-maze alternation. **Physiology & Behavior**. 61: 863-866, 1997.

LEVIN, E. D. Chronic haloperidol administration does not block acute nicotine-induced improvements in radial-arm maze desperformance in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 58: 899-902, 1997.

LEVIN, E. D.; SIMON, B. B. Nicotine acetylcholine involvement in cognitive function in animals. **Psychopharmacology**. 138: 217-230, 1998.

LEVIN, E. D.; BETTEGOWDA, C.; WEAVER, T.; CHRISTOPHER, C. Nicotine-dizolcilpine interactions and working and reference memory performance of rats in the radial- arm maze. **Pharmacology and Biochemistry and Behavior**. 61: 335-340, 1998.

LIU, R.-H.; MIZUTA, M.; MATSUKURA, S. Long-term oral nicotine administration insulin resistance in obese rats. **European Journal of Pharmacology**. 458: 227-234, 2003.

LIU, Y.; BRAUD, W. G.; Modification of learning and Memory in goldfish through the use of stimulant and depressant drugs. **Psychopharmacologia**. 35: 99-112, 1974.

LÓPEZ JC, BINGMAN VP, RODRIGUEZ F GÓMEZ Y & SALAS C. Dissociation of place and cue learning by telencephalic ablation in goldfish. **Behavioral Neuroscience**. 114: 687-699, 2000.

MAGGIO, R.; RIVA, M.; VAGLINI, F.; FORNAI, F.; RACAGNI, CORSINI, G. U. (1997). Striatal increase of neurotrophic factors as a mechanism of nicotine protection in experimental parkinsonism. In: BROWN, R. W.; GONZALEZ, C. L. R.; WHISHAW, I. Q.; KOLB, B. Nicotine improvement of Morris water task desempenho after fimbria-fornix lesion is blocked by mecamylamine. **Behavioural Brain Research**. 119: 185-192, 2001.

MATTIOLI. R.; SANTANGELO, E. M.; COSTA, A.C.C.; VASCONCELOS, L. Substancia P facilitates memory in goldfish in an appetitively motivated learning task. **Behavioural Brain Research**. 85: 117-120, 1997.

MESULAN, M. M.; WAINER, B. H.; LEVEY, A. I. Central cholinergic pathways in the rat: an overview based on an alternative nomenclature (Ch 1-6). **Neuroscience**. 10: 1185-1201, 1983.

McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

McGAUGH, J. L.; GOLD, P. E. **Psychoendocrinology** (1989). In: McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

McGAUGH, J. L.; KRIVANEK, J. A. (1970) Strychnine effects on discrimination learning in mice: Effects of dose and time of administration. In: LIU, Y.; BRAUD, W. G.; Modification of learning and memory in goldfish through the use of stimulant and depressant drugs. **Psychopharmacologia**. 35: 99-112, 1974.

McGAUGH, J. L.; PETRINOVICH, L. F. (1965). Effects of drugs on learning and memory. In: LIU, Y.; BRAUD, W. G.; Modification of learning and memory in goldfish through the use of stimulant and depressant drugs. **Psychopharmacologia**. 35: 99-112, 1974.

McGEHEE, D. S.; ROLE, L. W. (1995). Physiological diversity of nicotine acetylcholine receptor expressed by vertebrate neurons. In: ZEVIN, S.; GOURLAY, S.; BENOWITZ, N. L. Clinical Pharmacology of Nicotine. **Elsevier Science**, 16: 557-564, 1998.

McGEHEE, D. S.; ROLE, L. W. Memories of nicotine. **Nature**. 383: 670-671, 1996.

MEDALHA, C. C.; COELHO, J. L.; MATTIOLI, R. Analysis of the role of histamine in inhibitory avoidance in goldfish. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**. 24: 295-305, 2000.

- MEGUID, M. M.; FETISSOV, S. O.; VARMA, M.; SATO, T.; ZHANG, L.; LAVIANO, A.; ROSSI-FANELLI, F. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. **Nutrition**. 16: 843-857, 2000.
- MENZAGHI, F.; HEINRICHS, S. C.; MERLO-PICH, E.; TILDERS, F.J.H.; KOOB, G. F.; Involvement of hypothalamic corticotripin-releasing factor neurons in behavioral responses in novelty in rats. **Neuroscience Letter**. 168: 139-142, 1994.
- MESULAM, M-M. Cholinergic neurons, pathways, deseases. File:///E/ens articles/00000094/txl.html.1998.
- MESULAM, M. M.; MUFSON, E. J.; LEVEY, A. I.; WAINER, B.H. (1983). Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal band nuclei, nucleus basalis (substantia innonimata) and hypothalamus in the rhesus monkey. In: MESULAM, M-M. Cholinergic neurons, pathways, deseases. File:///E/ens articles/00000094/txl.html.1998.
- MIYATA, G.; MEGUID, M. M.; FETISSOV, S. O.; TORELLI, G. F.; KIM H-J. Nicotine's effect on hypothalamic neurotransmitters and appetite regulation. **Surgery**. 126: 255-263, 1999.
- MIYATA, G.; MEGUID, M. M.; VARMA, M.; FETISSOV, S. O.; KIM, H-J. Nicotine alters the usual reciprocity between meal size and meal number in female rat. **Physiology e Behavior**. 74: 169-176, 2001.
- MIHAILESCU, S.; PALOMERO-RIVERO, M.; MEADE-HUERTA, P.; MAZA-FLORES, A.; DRUCKER-COLIN, R. Effects of nicotine and mecamylamine on rat dorsal raphe neurons. **European Journal of Pharmacology**. 360: 31-36, 1998.
- MOHAMMED, A. H. Genetic dissection of nicotine-related behaviour: a review of animal studies. **Behavioural Brain Research**. 113: 35-41, 2000.
- MUCHA, R. F. Preference for tastes paired with a nicotine antagonist in rats chronically treated with nicotine. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 56: 175-179, 1997.
- MUIR, J. L.; EVERITT, B. J.; ROBBINS, T. W. Reversal of visual attentional dysfunction following lesions of the cholinergic basal forebrain by physostigmine and nicotine but not by the 5-HT3 receptor antagonist, ondansetron. **Psychopharmacology**. 118: 82-92, 1995.
- MUNDY, W. R.; IWAMOTO, E. T. Actions of nicotine on the acquisition of an autoshaped lever-touch response in rat. **Psychopharmacology**. 94: 267-274, 1988.
- NILSSON, S. Autonomic nerve function in the vertebrates (1983). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

NEWHOUSE, P.A.; KELTON, M. Nicotine system in central nervous system disease: degenerative disorders and beyond. **Pharmaceutica Acta Helveticae**. 74: 91-101, 2000.

NICKLAS, B. J.; TOMOYASU, N.; MUIR, J.; GOLDBERG, A. P. Effects of cigarette smoking and its cessation on body weight and plasma leptin levels. **Metabolism**. 48: 804-808, 1999.

NISSEL, M.; NOMIKOS, G. G.; SVENSSON, T.H. (1994). Systemic nicotine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens is regulated by nicotinic receptors in the ventral tegmental area. In: ERICSON, M.; OLAUSSON, P.; ENGEL, J. A.; SÖDERPALM, B. Nicotine induces disinhibitory behavior in the rat after subchronic peripheral nicotinic acetylcholine receptor blockade. **European Journal of Pharmacology**. 397: 103-111, 2000.

NISELL, M.; NOMIKOS, G. G.; HERTEL, P.; PANAGIS, G.; SVERSSON, T. H. (1996). Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat. In: PANAGIS, G.; NISELL, M.; NOMIKOS, G. G.; CHERGUI, K.; SVENSSON, T. H. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-Like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. **Brain Research**. 730: 133-142, 1996.

OITZL, M. S.; vanHAARTS, A. D.; deKLOET, E. R. Behavioral and neuroendocrine responses controlled by the concerted action of central mineralcortcoid (MRS) and glucocorticoid receptors (GSR). **Psychoneuroendocrinology**. 22: 887-893, 1997.

PANAGIS, G.; NISELL, M.; NOMIKOS, G. G.; CHERGUI, K.; SVENSSON, T. H. Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-Like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. **Brain Research**. 730: 133-142, 1996.

PETERS, R.; McGEE, R. Cigarette smoking and state-dependent learning. **Psychopharmacology**. 76: 232-235, 1982.

PEEKE, S. C.; PEEKE, H. V. S. Attention, memory, and cigarette smoking. **Psychopharmacology**. 84: 205-216, 1984.

PIAZZA, P. V.; DEMINIÈRE, J-M.; LeMOAL, M.; SIMON, H. Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. **Science**. 245: 1511-1513, 1989.

RICHARDSON, S.A.; TIZABI, Y. Hyperactivity in the offspring of nicotine-treated rats: role of the mesolimbic and nigrostriatal dopaminergic pathways. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 47: 331-337, 1994.

SANDI, C.; ROSE, S. P. R. Brain Research (1994). In: McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

SANIGORSKI, A.; FAHEY, R.; CAMERON-SMITH, D.; COLLIER, G.R. Nicotine treatment decreases food intake and body weight via a leptin-independent pathway in *Psammomys obesus*. **Diabetes, Obesity and Metabolism**. 4: 346-360, 2002.

SANTANGELO, E. M.; MATTIOLI, R. Esquiva inibitória em peixes: efeitos de drogas colinérgicas, Spérgicas e histaminérgicas pré e pós-treino. Ribeirão Preto, pp. 3-9. Tese (Doutorado), Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. 2002.

SCHWID, S. R.; HIRVONEN, M. D.; KEESEY, R. E. (1992). Nicotine effects in body weight: a regulatory perspective. In: MIHAILESCU, S.; PALOMERO-RIVERO, M.; MEADE-HUERTA, P.; MAZA-FLORES, A.; DRUCKER-COLIN, R. Effects of nicotine and mecamylamine on rat dorsal raphe neurons. **European Journal of Pharmacology**. 360: 31-36, 1998.

SHACKA, J. J.; ROBINSON, S. E. (1998). Postnatal development regulation of neuronal nicotinic receptor subunit $\alpha 7$ and multiple $\alpha 4$ and $\beta 2$ mRNA species in the rat. In: TIZABI, Y.; RUSSELL, L. T.; NESPOR, S. M.; PERRY, D. C.; GRUNBERG, N. E. Prenatal nicotine exposure: effects on locomotor activity and central [125 I] α -BT binding in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 66: 495-500, 2000.

SHOAIB, M.; GOMMANS, J.; MORLEY, A.; STOLERMAN, L.P.; GRAILHE, R.; CHANGEUX, J.-P. The role of nicotine receptor beta-2 subunits in nicotine discrimination and conditioned taste aversion. **Neuropharmacology**. 42: 530-539, 2002.

SPIELER, R. E.; NELSON, C. A.; HUSTON, J. P.; MATTIOLI, R. Post-trial administration of H1 histamine receptor blocker improves appetitive reversal learning and memory in goldfish, *Carassius auratus*. **Neuroscience Letters**. 277: 5-8, 1999.

SQUIRE, L. R.; ALVAREZ, P. (1995). Neurobiology. In: McGAUGH, J. L. Memory - a century of consolidation. **Science**. 287: 248-251, 2000.

STANNIUS, H. Das peripherische nervensystem der fische.(1849). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

STOLERMAN, I. P.; FINK, R.; JARVIK, M. E. Acute and chronic tolerance to nicotine measured by activity in rats. **Psychopharmacology**. 30: 329-342, 1973.

STOLERMAN, I. P.; GARCHA, H.S.; MIRZA, N.R. Dissociations between the locomotor stimulant and depressant effects of nicotinic agonists in rats. **Psychopharmacology**. 117: 430-437, 1995.

SYCOVÁ, E. Extracellular space volume and geometry of the rat brain after ischemia and central injury. **Brain Plasticity. Advances in Neurology**. 73: 121-135, 1997.

TIZABI, Y.; POPKE, E. J.; RAHMAN, M. A.; NESPOR, S. M.; GRUNBERG, N. E. Hyperactivity induced by prenatal nicotine exposure is associated with an increase in cortical nicotinic receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 58: 141-146, 1997.

TIZABI, Y.; RUSSELL, L. T.; NESPOR, S. M.; PERRY, D. C.; GRUNBERG, N. E. Prenatal nicotine exposure: effects on locomotor activity and central [¹²⁵I]α-BT binding in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 66: 495-500, 2000.

TRAUTH, J. A. SEIDLER, F. J.; SLOTKIN, T. A. Persistent and delayed behavioral changes after nicotine treatment in adolescent rats. **Brain Research**. 880: 167-172, 2000.

TRIPLETT, N. (1901) The educability of the Perch. In: HOAR, W. S.; RANDALL, D. J. **Fish Physiology-Environmental Relations and Behavior**. New York, Academic Press. Cap. 4, 6: 191-269, 1971.

TULVING, E. Multiple memory systems and consciousness. **Human Neurobiology**. 6: 67-80, 1987.

WARBURTON, D. M. (1992). Nicotine as a cognitive enhance. In: LEVIN, E. D.; CHRISTOPHER, N. C.; BRIGGS, S. J. Chronic nicotinic agonist and antagonist effects on T-maze alternation. **Physiology & Behavior**. 61: 863-866, 1997.

WATKINS, S. S.; EPPING-JORDAN, M. P.; KOOB, G. F.; MARKOU, A. Blockade of nicotine self-administration with nicotine antagonists in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 62: 743-751, 1999.

WILLIAMS, D.G. (1980). Effects of cigarette smoking on immediate memory and performance in different kinds of smokers. In: LEVIN, E. D.; CHRISTOPHER, N. C.; BRIGGS, S. J. Chronic nicotinic agonist and antagonist effects on T-maze alternation. **Physiology & Behavior**. 61: 863-866, 1997.

WINDERS, S.E.; GRUNDBERG, N.E. Effects of nicotine on body weight, food consumption and body composition in male rat. **Life Science**. 46: 1523-30, 1990.

WINFIELD, I.J.; NELSON, J. S. **Cyprinid Fishes Systematics, Biology and Exploitation**. London-NewYork-Tokyo-Melbourne-Madras. Chapman e Hall. Chapter 10, pp. 284-331, 1991.

WURTMAN, J. J.; WURTMAN, R. J. (1979). Drugs that enhance central serotonergic transmission diminish elective carbohydrate consumption by rats. In: MIHAILESCU, S.; PALOMERO-RIVERO, M.; MEADE-HUERTA, P.; MAZA-FLORES, A.; DRUCKER-COLIN, R. Effects of nicotine and mecamylamine on rat dorsal raphe neurons. **European Journal of Pharmacology**. 360: 31-36, 1998.

YANG, Z. J.; BLAHA, V.; MEGUID, M. M.; OLER, A.; MIYATA, G. Infusion of nicotine into the LHA enhances dopamine and 5-HT release and suppresses food intake. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 64: 155-159, 1999.

YOUNG, J. Z. On the autonomic nervous system of the teleostean fish *Uranoscopus scaber* (1931). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

YOUNG, J. Z. The innervation and reactions to drugs of the viscera of teleostean fish. (1936). In: EVANS, D. H. **The fish physiology**. Boca Raton-Ann Arbor-London-Tokyo. CCR Press. Cap.10, pp. 279-313, 1993.

ZARRINDAST, M.-R.; HOMAYOUN, H.; BABAIE, A.; ETMINANI, A.; GHARIB, B. Involvement of adrenergic and cholinergic systems in nicotine-induced angiogenesis in mice. **European Journal of Pharmacology**. 407: 145-158, 2000.

ZEVIN, S.; GOURLAY, S.; BENOWITZ, N. L. Clinical Pharmacology of Nicotine. **Elsevier Science**, 16: 557-564, 1998.

ZHANG, L.; MEGUID, M. M.; MIYATA, G.; VARMA, M. FETISSOV, S. O. Role of hypothalamic monoamines in nicotine-induced anorexia in menopausal rats. Syracuse New York, **Mosby**, pp. 133-142, 2001.

9- ANEXOS

9.1 - DADOS EXPERIMENTAIS BRUTOS

Tabela 1: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com os grupos “imediatos” (Injetados imediatamente após o treino 2), tratados com veículo (Salina). Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Teste	
	P	B	P	B	P	B	P	B
2	360	240	276	324	185	112	109	491
4	393	207	33	72	42	56	238	362
5	96	504	56	69	22	74	76	524
6	325	275	25	72	41	70	295	305
1	481	119	208	108	125	44	399	201
2	471	129	81	45	52	38	414	186
3	533	67	127	33	51	83	284	316
4	243	357	21	83	30	47	238	362
5	545	55	480	120	67	70	389	211
6	338	262	370	230	138	206	241	359
7	323	277	81	56	25	68	463	137
1	384	216	47	75	195	53	281	319
2	374	226	26	74	0	70	261	339
3	427	173	216	103	160	34	195	405
4	499	101	74	74	19	57	372	228
5	504	96	83	20	37	33	488	112
6	338	262	69	103	29	57	243	357
7	432	168	382	218	197	29	121	479
1	174	426	79	65	23	100	453	147
2	252	348	181	94	44	56	308	292
1	437	163	444	173	91	92	382	218
2	365	235	532	98	178	9	440	160
3	436	164	114	66	13	63	266	334
4	442	158	129	89	103	59	311	289
5	575	25	56	114	36	66	382	218
Média	389,9	210,1	168	103	76	66	306	294
DP	112,8	112,8	153	66,3	63	36	110	110
EPM	25,23	25,23	34,2	14,8	14	8,1	25	25

Tabela 2: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com os grupos “imediatos” (Injetados imediatamente após o treino 2), tratados com Nicotina 2,0mg/kg. Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Teste	
	P	B	P	B	P	B	P	B
7	167	433	50	62	44	70	292	308
8	551	49	573	27	385	63	358	242
9	356	244	41	51	68	60	293	307
10	320	280	0	70	12	80	402	198
8	484	116	435	165	196	100	381	219
9	457	143	68	32	91	33	395	205
10	362	238	72	23	31	68	261	339
11	419	181	148	50	63	33	368	232
13	432	168	99	63	190	75	370	230
14	473	127	138	44	34	68	330	270
8	0	600	153	319	26	84	557	43
9	521	79	51	86	51	78	340	260
10	267	333	51	61	34	32	146	454
11	298	302	50	75	20	54	409	191
12	582	18	24	112	128	120	291	309
13	311	289	36	76	92	181	272	328
14	433	167	184	83	188	21	506	94
3	69	531	158	112	435	120	369	231
4	414	186	135	46	132	9	450	150
6	339	261	133	72	32	63	444	156
7	600	0	344	69	165	62	522	78
8	124	476	43	87	0	74	307	293
9	380	220	85	51	49	58	370	230
10	299	301	25	46	2	68	273	327
Média	361	239,3	129	78,4	103	70	363	237,3
DP	152	151,7	135,2	58,6	110	35	90	90,47
EPM	34,8	34,79	31,02	13,4	25,3	8,1	21	20,75

Tabela 3: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com os grupos “imediatos” (Injetados imediatamente após o treino 2), tratados com Mecamelamina 1,0mg/kg. Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Test	
	P	B	P	B	P	B	P	B
12	506	94	14	87	58	69	300	300
14	259	341	14	67	105	37	20	580
17	288	312	0	74	68	95	482	118
20	192	408	165	67	49	52	322	278
15	565	35	135	14	150	79	525	75
16	420	180	89	43	0	67	270	330
17	411	189	172	87	69	67	320	280
18	362	238	7	57	53	65	129	471
19	235	365	360	111	86	58	272	328
20	488	112	77	67	7	65	271	329
21	569	31	217	105	61	92	255	345
15	453	147	27	344	41	30	332	268
16	600	0	453	147	247	192	319	281
17	321	279	74	86	86	48	382	218
18	302	298	252	254	223	127	391	209
19	417	183	136	126	67	125	376	224
20	323	277	109	134	132	149	414	186
21	287	313	43	80	109	63	334	266
6	229	371	172	75	43	115	314	286
7	326	274	75	71	21	46	290	310
11	498	102	370	230	109	193	189	411
12	340	260	15	67	22	48	82	518
13	405	195	121	76	318	19	182	418
14	418	182	35	63	23	53	246	354
15	399	201	51	111	44	26	312	288
Média	384,5	215,5	127	106	88	79	293	307
DP	111,7	111,7	122	72,3	77	47	113	113
EPM	24,98	24,98	27,3	16,2	17	11	25	25

Tabela 4: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com os grupos “imediatos” (Injetados imediatamente após o treino 2), tratados com Mecamelamina 2,0mg/kg. Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Test	
	P	B	P	B	P	B	P	B
21	528	72	191	14	58	66	255	345
22	577	23	138	189	136	191	108	492
23	226	374	12	85	14	87	215	385
22	334	266	121	99	56	65	214	386
23	286	314	56	87	6	57	198	402
25	269	331	28	81	0	67	204	396
26	498	102	61	72	144	88	346	254
27	349	251	175	27	49	58	367	233
28	297	303	41	77	43	174	130	470
22	465	135	0	81	39	38	254	346
23	401	199	61	26	85	68	238	362
24	345	255	99	65	22	63	380	220
25	140	460	24	82	38	46	260	340
26	348	252	24	70	19	60	358	242
27	447	153	8	68	121	43	319	281
28	470	130	70	62	14	45	334	266
8	277	323	96	28	58	47	377	223
9	381	219	90	259	77	84	246	354
10	300	300	0	70	20	66	198	402
16	257	343	98	80	25	73	197	403
17	422	178	48	47	31	49	290	310
18	493	107	70	20	56	34	331	269
19	327	273	138	70	27	137	44	556
20	521	79	107	61	82	90	204	396
Média	373	226,8	73,17	75,8	50,8	75	253	347,2
DP	110	109,9	53,58	52,3	39,5	40	88	88,38
EPM	25,2	25,22	12,29	12	9,07	9,1	20	20,28

Tabela 5: Latência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com os grupos “imediatos” (Injetados imediatamente após o treino 2), tratados com veículo (Salina); Nicotina 2,0mg/kg; Mecamelamina 1,0mg/kg; Mecamelamina 2,0mg/kg. T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Veic Suj	Nico2			Meca1				Meca2							
	T1	T2	Test	Suj	T1	T2	Test	Suj	T1	T2	Test	Suj	T1	T2	Test
2	566	237	79	7	51	54	17	12	41	67	11	21	271	64	23
4	68	38	36	8	600	389	46	14	21	82	16	22	600	41	4
5	65	35	9	9	32	68	9	17	14	103	25	23	600	56	34
6	37	51	66	10	10	32	17	20	172	41	16	22	160	60	8
1	265	112	79	8	600	240	14	15	89	169	27	23	83	3	15
2	66	30	35	9	39	64	7	16	72	7	55	25	49	7	31
3	103	74	13	10	35	39	10	17	199	76	97	26	73	99	67
4	44	17	9	11	138	36	50	18	4	58	30	27	72	47	17
5	600	79	63	13	100	205	30	19	411	84	103	28	58	98	40
6	600	284	55	14	122	42	74	20	84	12	15	22	21	17	9
7	77	33	71	8	412	49	600	21	262	93	26	23	26	93	6
1	62	188	106	9	77	69	53	15	311	11	38	24	104	25	4
2	40	10	89	10	52	6	62	16	600	379	142	25	46	24	10
3	259	134	124	11	64	14	22	17	100	74	12	26	34	19	9
4	78	16	6	12	76	188	23	18	456	290	22	27	16	105	30
5	43	10	84	13	52	213	32	19	202	132	13	28	72	10	78
6	112	26	50	14	200	149	64	20	183	221	20	8	64	45	15
7	600	216	55	3	210	495	30	21	63	72	33	9	289	100	54
1	84	63	55	4	61	80	49	6	187	98	5	10	10	26	40
2	215	40	57	6	145	35	16	7	83	7	46	16	118	38	13
1	557	126	22	7	353	167	65	11	600	242	10	17	35	20	19
2	570	129	142	8	70	15	29	12	22	10	30	18	29	30	5
3	120	15	7	9	76	47	95	13	137	2	39	19	148	68	151
4	158	40	4	10	11	10	25	14	38	15	31	20	108	112	212
5	110	42	55					15	102	10	30				
Média	220	82	55		149	113	60		178	94	35,7		129	50	37
DP	217	77	37		171	124	117		173	98	32,5		162	35	50
EPM	43,3	15	7,5		35	25	24		35	20	6,51		33	7,1	10

Tabela 6: Número de cruzamentos no pré e no pós-treino, obtidos do experimento realizado com os grupos “imediatos” (Injetados imediatamente após o treino 2), tratados com veículo (Salina); Nico 2 (Nicotina 2,0mg/kg); Meca 1 (Mecamelamina 1,0mg/kg); Meca 2 (Mecamelamina 2,0mg/kg). Pref.: Preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste

Salina					Nico 2				Meca1				Meca2						
Suj	Pref	T1	T2	Test	Suj	Pref	T1	T2	Test	Suj	Pref	T1	T2	Test	Suj	Pref	T1	T2	Test
2	18	9	7	17	7	38	10	7	57	12	16	4	3	24	21	33	14	7	53
4	48	1	2	65	8	14	12	12	25	14	58	1	4	11	22	4	11	16	8
5	42	3	3	27	9	64	4	9	48	17	56	0	2	27	23	42	2	12	40
6	49	4	6	42	10	43	0	1	11	20	25	1	5	36	22	28	11	10	30
1	40	12	9	54	8	32	50	24	56	15	14	2	6	12	23	45	7	4	47
2	42	6	3	22	9	28	5	4	33	16	37	5	0	31	25	29	2	0	3
3	21	6	4	54	10	82	6	5	84	17	42	5	1	43	26	9	1	9	15
4	48	1	5	30	11	54	17	4	33	18	48	1	6	22	27	31	1	12	4
5	21	43	20	54	13	19	7	5	14	19	59	37	17	52	28	39	9	4	28
6	52	42	17	17	14	44	4	2	40	20	30	10	3	52	22	24	0	2	52
7	62	9	4	10	8	0	1	1	43	21	11	20	14	47	23	31	2	2	44
1	44	2	2	27	9	20	9	11	30	15	41	6	4	63	24	40	7	1	44
2	53	4	0	30	10	45	8	1	28	16	0	13	12	35	25	52	4	2	91
3	29	14	8	17	11	63	12	5	54	17	69	10	12	51	26	60	2	7	87
4	35	4	1	25	12	6	4	9	40	18	41	31	29	38	27	55	1	6	56
5	18	2	1	8	13	42	5	19	45	19	29	13	10	60	28	39	3	1	53
6	56	18	8	60	14	40	13	4	15	20	27	8	12	26	8	71	3	4	39
7	40	36	2	9	3	10	6	10	30	21	64	4	11	64	9	29	10	3	11
1	10	8	3	7	4	49	9	4	54	6	8	6	3	13	10	44	0	2	40
2	51	15	1	54	6	58	5	1	18	7	37	1	3	34	16	48	1	3	34
1	20	53	9	40	7	0	5	7	21	11	26	50	16	37	17	45	3	6	50
2	47	7	3	42	8	15	5	0	33	12	44	3	1	17	18	30	4	3	44
3	56	1	2	39	9	37	2	2	24	13	24	1	4	5	19	27	7	1	2
4	41	11	15	33	10	52	2	2	95	14	47	2	3	37	20	33	6	18	1
5	6	7	1	20						15	45	6	3	56					
Média	38	13	5	32,1		36	8,4	6,2	39		36	10	7	36		37	4,6	6	37
DP	16	15	5	17,5		22	9,8	5,9	21		18	12	7	17		15	4	5	25
EPM	3,1	2,9	1	3,5		4,4	2	1,2	4,2		3,6	2	1	3,4		3	0,8	1	5

Tabela 7: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com o grupo “Três Horas” (Injetados três horas após o treino 2), tratados com veículo (Salina). Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Teste	
	P	B	P	B	P	B	P	B
1	331	269	468	132	478	38	577	23
2	479	121	0	70	244	82	329	271
3	353	247	177	110	54	46	372	228
4	466	134	250	72	40	67	470	130
5	330	270	382	95	47	50	315	285
1	252	348	38	237	35	133	284	316
2	430	170	124	120	17	191	95	505
3	499	101	207	270	276	90	293	307
4	378	222	77	97	8	100	286	314
5	399	211	106	40	194	54	219	381
1	71	529	88	117	14	59	387	213
2	83	517	261	339	80	100	309	291
3	511	89	119	61	28	53	430	170
4	300	300	124	67	26	39	433	166
5	279	321	130	85	42	46	296	304
Média	344,1	257	170	127	106	77	340	260
DP	134,8	135	127	86	134	42	113	113
EPM	34,8	34,7	33	22	35	11	29	29

Tabela 8: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com o grupo “Três Horas” (Injetados três horas após o treino 2), tratados com Nicotina 2,0mg/kg. Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Teste	
	P	B	P	B	P	B	P	B
6	342	258	525	75	457	131	374	226
7	351	249	78	85	64	46	202	398
8	241	359	235	88	10	71	409	191
9	397	203	72	70	28	64	538	62
10	314	286	110	62	50	54	422	178
6	489	111	238	47	37	33	259	341
7	263	337	274	131	82	77	199	401
8	287	313	157	250	27	69	247	353
9	476	124	61	175	22	127	222	378
10	331	269	44	101	76	67	292	308
6	341	259	30	45	18	53	336	264
7	347	253	54	112	61	16	451	149
8	120	400	258	86	87	99	429	171
9	352	248	43	41	42	45	410	190
10	425	175	117	41	4	82	393	207
Média	338	256	153	94	71	69	346	254
DP	92,3	80	134	57	110	32	103	103
EPM	23,8	21	35	15	28,4	8,2	27	27

Tabela 9: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com o grupo “Três Horas” (Injetados três horas após o treino 2), tratados com Mecamelamina 1,0mg/kg. Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Test	
	P	B	P	B	P	B	P	B
11	389	211	54	99	8	60	406	194
12	287	313	160	177	24	81	439	161
13	429	171	30	70	29	71	379	221
14	268	332	120	107	146	29	304	296
15	383	217	216	327	0	88	321	279
11	324	276	58	110	38	133	513	87
12	287	313	134	86	266	16	471	129
13	270	330	46	81	60	62	315	285
14	333	267	310	83	163	32	536	64
15	0	600	76	246	57	275	496	104
11	345	255	20	63	67	90	521	79
12	423	177	64	31	104	39	448	152
13	319	281	20	58	116	71	299	301
14	423	177	40	68	20	53	309	291
15	420	180	42	49	33	44	396	204
Média	326,7	273	93	110	75	76	410	190
DP	107,5	107	82	80	72	62	86	86
EPM	27,75	27,8	21	21	19	16	22	22

Tabela 10: Tempo de permanência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com o “Três Horas” (Injetados três horas após o treino 2), tratados com Mecamelamina 2,0mg/kg. Pref: preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Prefer		T1		T2		Test	
	P	B	P	B	P	B	P	B
16	568	32	141	61	43	41	523	77
17	424	176	48	62	27	65	363	237
18	180	420	80	143	47	70	112	488
19	324	276	34	56	19	58	291	309
20	534	66	59	109	0	95	292	308
16	289	311	13	119	6	67	281	319
17	373	227	66	113	0	80	351	249
18	333	267	55	213	20	70	130	470
19	279	321	0	93	45	63	229	371
20	506	94	84	73	124	54	400	200
16	441	159	133	104	29	35	474	126
17	472	128	39	46	45	25	351	249
18	430	170	36	70	18	56	479	121
19	352	248	136	113	24	61	437	163
20	452	148	66	102	1	63	481	119
Média	397	203	66	98	29,9	60	346	254
DP	106	106	43	42	30,9	17	125	125
EPM	27,3	27	11	11	7,98	4,5	32	32

Tabela 11: Latência com valores representados em segundos, obtidos do experimento realizado com o grupo “Três Horas” (Injetados três horas após o treino 2), tratados com veículo (Salina); Nicotina 2,0mg/kg; Mecamelamina 1,0mg/kg; Mecamelamina 2,0mg/kg. T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Salina				Nico2				Meca1				Meca2			
Suj	T1	T2	Test	Suj	T1	T2	Test	Suj	T1	T2	Test	Suj	T1	T2	Test
1	600	456	22	6	600	528	16	11	93	8	110	16	142	21	13
2	10	266	142	7	103	50	65	12	277	45	30	17	50	32	119
3	217	40	77	8	263	21	29	13	40	40	39	18	163	57	55
4	262	47	44	9	82	32	95	14	167	115	311	19	30	17	151
5	417	37	55	10	112	44	25	15	483	28	30	20	108	35	212
1	215	105	428	6	225	10	266	11	108	111	600	16	72	13	600
2	184	148	4	7	345	99	117	12	160	212	600	17	119	20	162
3	317	306	85	8	347	36	38	13	68	62	600	18	208	30	482
4	114	58	168	9	176	89	36	14	332	135	127	19	33	48	110
5	86	188	173	10	85	83	83	15	262	272	600	20	97	118	148
1	145	13	131	6	19	8	30	11	23	95	499	16	165	4	32
2	600	120	127	7	106	17	99	12	35	83	57	17	25	10	194
3	112	20	101	8	284	126	84	13	18	127	9	18	46	12	13
4	131	5	35	9	24	25	74	14	48	13	139	19	189	25	10
5	155	28	82	10	98	25	13	15	81	17	515	20	108	4	379
Média	238	122	112		191	80	71,3		146	91	284		104	30	179
DP	177	131	102		156	129	63,3		136	75	252		60	29	178
EPM	46	34	26,3		40,3	33	16,3		35	19	65		16	7,4	46

Tabela 12: Número de cruzamentos no pré e pós-treino, obtidos do experimento realizado com o grupo “Três Horas” (Injetados três horas após o treino 2), tratados com veículo (Salina); Nico 2 (Nicotina 2,0mg/kg); Meca 1 (Mecamelamina 1,0mg/kg); Meca 2 (Mecamelamina 2,0mg/kg). Pref.: Preferência; T1: Treino 1; T2: treino 2; e Teste.

Suj	Pref	T1	T2	Test	Suj	Pref	T1	T2	Test	Suj	Pref	T1	T2	Test	Suj	Pref	T1	T2	Test
1	63	1	6	2	6	55	12	23	19	11	32	9	4	32	16	12	8	10	24
2	36	0	11	42	7	53	3	3	48	12	46	26	2	38	17	36	4	1	45
3	39	5	6	21	8	17	7	6	32	13	25	3	5	35	18	11	2	2	2
4	17	3	1	12	9	48	8	1	9	14	59	17	13	37	19	62	7	5	47
5	35	16	4	46	10	52	10	5	40	15	20	29	0	32	20	19	4	0	8
1	42	10	4	42	6	23	6	3	47	11	24	10	6	6	16	35	2	1	55
2	36	5	4	22	7	10	3	1	32	12	46	5	2	10	17	27	4	0	12
3	26	15	10	42	8	27	11	1	27	13	46	4	5	48	18	38	4	1	3
4	24	5	1	58	9	19	6	2	8	14	37	25	9	8	19	20	0	3	25
5	42	7	8	42	10	30	2	1	42	15	0	1	5	7	20	15	3	3	30
1	19	18	6	64	6	76	9	5	55	11	77	8	7	34	16	47	27	5	46
2	38	59	17	62	7	67	11	2	26	12	55	6	4	50	17	34	2	2	58
3	41	16	5	50	8	42	20	14	40	13	52	4	9	35	18	52	5	2	43
4	68	4	1	31	9	70	12	12	54	14	54	16	6	60	19	60	18	8	49
5	58	21	4	63	10	61	11	1	54	15	49	7	5	55	20	39	11	1	53
Média	39	12	5,9	40		43	8,7	5,3	36		41	11	5,5	32		33,8	7	2,9	33,3
DP	15	15	4,3	19		21	4,6	6,3	15		19	9,1	3,2	18		16,6	7	2,9	19,7
EPM	3,9	3,7	1,1	4,9		5,4	1,2	1,6	4		4,9	2,3	0,8	4,5		4,28	2	0,8	5,1