

**Universidade Federal de São Carlos
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia**

FERNANDA ROMAGUERA PEREIRA DOS SANTOS

**HISTAMINA FACILITA A APRENDIZAGEM EM
UMA TAREFA DE ESCOLHA ESPACIAL EM
Carassius auratus.**

**São Carlos
2006**

FERNANDA ROMAGUERA PEREIRA DOS SANTOS

**HISTAMINA FACILITA A APRENDIZAGEM EM
UMA TAREFA DE ESCOLHA ESPACIAL EM
*Carassius auratus.***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Fisioterapia.

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

**São Carlos
2006**

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

S237hf

Santos, Fernanda Romaguera Pereira dos.
Histamina facilita a aprendizagem em uma tarefa de
escolha espacial em *Carassius auratus* / Fernanda
Romaguera Pereira dos Santos. -- São Carlos : UFSCar,
2006.
43 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2006.

1. Medicina experimental. 2. *Carassius auratus*. 3.
Histamina. 4. Telencéfalo. 5. Aprendizagem e memória. I.
Título.

CDD: 619 (20^a)

*Dedico este trabalho aos meus pais, Jorge e Alda,
pela educação que me proporcionaram,
pelos exemplos de vida
e pelas oportunidades oferecidas ao longo desta jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta, caminharam ao meu lado nesta trilha e que acreditaram no meu esforço, me apoiaram nos momentos difíceis e me incentivaram a seguir sempre em frente.

Rosana Mattioli, obrigada por me acolher no seu laboratório e por investir no meu trabalho. Obrigada também pelo ombro amigo, pelo companheirismo e pelo exemplo de idoneidade e caráter.

Agradeço aos Professores Doutores: Sílvio Morato, Elenice Ferrari e Keico Nonaka, pelas valiosas contribuições oferecidas a este trabalho na qualificação.

Amigos do Laboratório de Neurociências: Fabiana Abrahão, Flávia Faganello, Luciana Cofiel, Marcos Kishi... Digo, sem hesitar, que vocês são meus amigos do peito (e serão sempre)! Obrigada pelos muitos momentos divertidos, pelas incontáveis contribuições a este trabalho e também a muitos outros aspectos dessa vida. Acima de tudo, obrigada por proporcionarem um ambiente de trabalho tranquilo e produtivo!

Minhas irmãs, Renata e Camila... O que seria de mim sem vocês? O meu maior carinho e gratidão vai para essas duas jóias que me iluminam sempre e me ajudam a ser um pouco melhor a cada dia.

Cleber, seu apoio e incentivo foram fundamentais neste período da minha vida. Obrigada por estar sempre ao meu lado e por dividir sua vida comigo!

Minhas famílias... São muitas! Romaguera, Netto, Pereira dos Santos, Zornoff, Queiroz, Teno, Furloni, Buosi, Betanho... Obrigada por compreenderem que vocês sempre estão presentes em minha vida, independente da distância que nos separe, e pela acolhida calorosa que recebo a cada encontro!

Meus amigos, novos (Márcia, Rafael, Luciano, Júlia, Marco) e antigos (Mariana Françoso, Mariana Bueno, Henrique, Mauren, Daniel, Rodrigo, Janine, Luciana, Joana, meninas da Laje, Andrea, Anapaula, Liliane, Natalia, Paula, Moacir, Márcio, Paula Camargo, Roberta, Heloisa, Luiz, Marcelo), obrigada por tudo! Por estarem ao meu lado, pela paciência, pelo carinho, pelas broncas, pelas lágrimas, pelas gargalhadas...

Meus sinceros agradecimentos aos professores, colegas e funcionários do PPG-FT que colaboraram para a minha formação acadêmica e para o desenvolvimento deste trabalho.

A parte experimental deste 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. Este trabalho contou com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar, em peixes da espécie *Carassius auratus* submetidos à ablação telencefálica, o efeito do bloqueio do receptor H₁ em uma tarefa de escolha espacial utilizando um teste de labirinto em T com reforço positivo. Sessenta e nove peixes foram submetidos à cirurgia para a remoção de ambos os lobos telencefálicos cinco dias antes do início do experimento. Foi empregado um aquário de vidro transparente em forma de T, o qual teve dois comedouros fixados nas extremidades do braço longo, sendo que um dos comedouros foi bloqueado durante as sessões de treino. O experimento foi realizado em nove sessões consecutivas realizadas com intervalos de 24 horas. Individualmente, cada peixe foi confinado no compartimento de saída do aquário experimental durante trinta segundos, e então foi permitido a ele explorar todo o aquário para procurar o alimento durante dez minutos (período máximo). O tempo utilizado para encontrar o alimento foi cronometrado em segundos. Os animais foram injetados intraperitonealmente com clorfeniramina (CPA), na dose de 16 mg/kg de peso corporal, ou salina após cada treino, dez minutos após o peixe ter sido recolocado no aquário de manutenção. Os dados foram analisados através de ANOVA de três vias seguida pelo teste de comparações múltiplas de Student Newman-Keuls. Todas as latências de treino do grupo A-SAL foram significativamente maiores do que as do grupo LF-SAL ($p < 0,05$). O grupo LF-SAL demonstrou diminuição significativa das latências a partir do segundo dia de treino ($p < 0,05$), o LF-CPA apresentou esta diminuição após o quarto dia de treino ($p < 0,01$), o A-SAL apresentou redução após o quinto dia de treino ($p < 0,05$), e não foram encontradas diferenças entre as latências no grupo A-CPA. Assim, nossos resultados mostraram que a CPA parece prejudicar a consolidação da memória tanto nos animais que tiveram o telencéfalo removido quanto nos que foram submetidos à lesão fictícia. Além disto, este trabalho dá suporte às evidências de que a histamina desempenha um papel facilitatório nos processos de aprendizagem e memória em uma tarefa de escolha espacial, atuando em estruturas primitivas do cérebro de teleósteos.

Palavras-chave: *Carassius auratus*, telencéfalo, histamina, aprendizagem espacial.

ABSTRACT

This work intended to investigate in forebrain ablated *Carassius auratus* the effect of the H₁ receptor blockade in a spatial choice task using a T-maze test with positive reinforcement. Sixty-nine goldfish were submitted to surgery for removal of both telencephalic lobes five days before the beginning of the experiment. A T-shaped glass aquarium, which had two feeders located at the extremities of the long arm, was employed. One of the two feeders was blocked. The experimental trials were performed in nine consecutive days. Each fish was individually placed in the short arm and confined there for thirty seconds, then it was allowed to swim through the aquarium to search for the food for ten minutes (maximum period). Time to find food was analysed in seconds. Animals were injected intraperitoneally with chlorpheniramine (CPA) at 16 mg/kg of body weight or saline after every trial, ten minutes after it had been replaced at house aquarium. Data were analyzed via a three-way analysis of variance (ANOVA) with repeated measures, and post hoc comparisons were analyzed using the Student Newman-Keuls test ($p < 0.05$). All the training latencies of A-SAL group were significantly higher than latencies of S-SAL group ($p < 0.05$). S-SAL group showed a significant decrease in latencies at the second trial and maintained that reduction until the end of the experiment ($p < 0.05$), S-CPA group demonstrated a decrease only after the fourth trial ($p < 0.01$), A-SAL group showed reduced latencies after the fifth trial ($p < 0.05$), and A-CPA group did not showed any difference between training latencies. Thus, our results showed that CPA seems to impair the consolidation of memory either on telencephalon ablated animals and in sham-operated ones. Furthermore, this work supports evidence that histamine plays a facilitatory role in learning and memory processes of a spatial task through its action in primitive structures of the brain in teleost fish.

Key-words: *Carassius auratus*, telencephalon, histamine, spatial learning.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. O sistema histaminérgico	10
1.2. Os processos cognitivos e a plasticidade neural	12
1.3. Os peixes e o papel do telencéfalo	14
2. OBJETIVO	17
3. METODOLOGIA	18
3.1. Amostra	18
3.2. Procedimento cirúrgico	19
3.3. Tratamento farmacológico	21
3.4. Grupos experimentais	22
3.5. Aquário experimental	22
3.6. Teste comportamental	23
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
APÊNDICE	40

1. INTRODUÇÃO

1.1. O sistema histaminérgico

A histamina, uma monoamina de origem biológica, é encontrada nos neurônios do sistema nervoso central (SNC) e em mastócitos. Esta amina não atravessa a barreira hematoencefálica, mas pode ser formada no cérebro através da descarboxilação do aminoácido L-histidina, seu precursor (COOPER et al., 1996). Sua degradação ocorre por meio da ação da enzima N-metiltransferase, e sua síntese pode ser inibida pela enzima α -fluormetilhistidina (COOPER et al., 1996). Recentemente, a histamina tem sido foco de grande atenção como neurotransmissora e neuromoduladora do SNC, uma vez que funções variadas têm sido atribuídas ao sistema histaminérgico cerebral.

O sistema neural histaminérgico (SNH) é um grupo neuronal filogeneticamente antigo com células que se projetam para diversas estruturas do SNC, sendo que a distribuição geral de seus neurônios é similar em todos os vertebrados estudados (PANULA et al., 1984, 1990). Nos mamíferos, os corpos celulares histaminérgicos são encontrados no núcleo tuberomamilar (TM) do hipotálamo posterior e enviam projeções a todas as regiões do cérebro (rostralmente e caudalmente) e à medula (SCHWARTZ; ARRANG, 2002) (fig. 1).

As características morfológicas do SNH (origem em um compacto grupo de células com uma vasta distribuição de fibras) assemelham-se às de outros sistemas de neurotransmissores, como a dopamina e a serotonina, sugerindo que esse sistema possa atuar também como um centro modulatório da atividade de todo o cérebro (WADA et al., 1991).

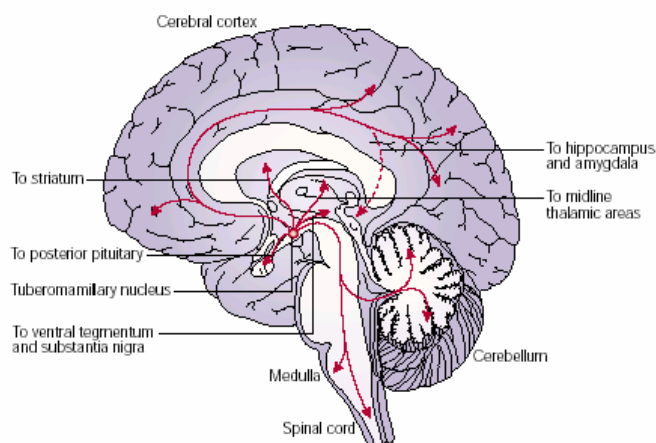


Figura 1: Representação esquemática da distribuição do sistema histaminérgico no cérebro de humanos (HASS e PANULA, 2003).

Três subtipos de receptores histaminérgicos são encontrados no SNC: H₁, H₂ e H₃ (HILL et al., 1997), sendo que os receptores H₁ e H₂ são pós-sinápticos e o receptor H₃ é um auto-receptor pré-sináptico que atua no controle da síntese e da liberação da histamina (BROWN et al., 2001). Estes receptores diferem em farmacologia, localização e respostas intracelulares mediadas (SCHWARTZ et al., 1991).

Especificamente, os receptores do tipo H₁ são distribuídos de maneira ampla no SNC, e são encontrados em altas densidades no hipotálamo e em outras regiões do sistema límbico de humanos (BROWN et al., 2001). Sugere-se que estes receptores estejam envolvidos em diversas respostas excitatórias no cérebro (SCHWARTZ; ARRANG, 2002), uma vez que sua ativação gera despolarização e/ou aumento na frequência de disparos neuronais (HAAS; PANULA, 2003).

O SNH está envolvido em diversas funções, dentre elas o controle do ritmo circadiano (BURNS et al., 2003) e do estado de alerta (MONTI, 1993), saciedade (MORIMOTO et al., 2001), nocicepção (MOBARAKEH et al., 2000) e respostas relacionadas à ansiedade (GHI et al., 1995; IMAIZUMI; ONODERA, 1993, SANTOS et al., 2003). Outros estudos sugerem ainda um possível papel da histamina na modulação da

atividade psicomotora (ALVAREZ et al., 1994), nos processos de recuperação funcional (PIRATELLO, 2004; WEILER et al., 1992) e em funções cognitivas (PASSANI et al., 2000). No entanto, os trabalhos que relacionam o SNH e os processos de reforço, aprendizagem e memória apresentam resultados conflitantes, possivelmente pela carência de metodologias específicas e adequadas para o estudo deste sistema.

1.2. Os processos cognitivos e a plasticidade neural

A cognição é um processo complexo derivado de mecanismos diversos, dentre eles a aprendizagem e a memória. A aprendizagem compreende as alterações no comportamento de um organismo resultantes de uma experiência, caracterizando o processo através do qual conhecimentos são adquiridos. A memória refere-se à habilidade de recordar ou reconhecer experiências anteriores, ou seja, é o processo pelo qual o conhecimento é codificado, armazenado e posteriormente resgatado (KANDEL et al., 2000; KOLB; WISHAW, 2002). A apresentação de um estímulo que desencadeia como resposta o aumento na frequência de um comportamento – reforço – pode contribuir para a formação da memória (KOLB; WISHAW, 2002). Este estímulo pode ser caracterizado por um evento ou objeto que adquiriu ou tem propriedade reforçadora (WHALEY; MALLOT, 1980).

Os eventos neuroquímicos e morfológicos que ocorrem durante a aprendizagem e a formação da memória são semelhantes aos observados nos processos de plasticidade neural (COTMAN et al., 1981; COTMAN; LYNCH, 1989), que se referem às alterações estruturais e funcionais nas sinapses resultantes de processos adaptativos do organismo (KAAS, 1996). Estas alterações iniciam-se minutos ou horas após o evento experienciado, e ocorrem através

de mecanismos de potencialização rápida das sinapses pré-existentes através da atividade pré- e pós-sináptica correlacionada, do envolvimento dos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA), e do aumento da liberação de neurotransmissores (KAAS, 1996; MARSHALL, 1985).

A plasticidade neural pode ser responsável pela melhora de habilidades motoras adquiridas com a prática e pela recuperação funcional após lesão no SNC (KAAS, 1996). Pesquisas indicam regiões cerebrais e neurotransmissores críticos para estas funções, dentre estes o sistema histaminérgico. Estudos sugerem que a histamina tem o potencial de modular ou induzir plasticidade através de uma variedade de mecanismos, devido não somente a sua ação seletiva, mas também através de sua interação com os diferentes sistemas de neurotransmissores (PHILIPPU; PRAST, 2001) e por meio da potenciação das correntes sinápticas geradas por receptores NMDA (HAAS et al., 1995).

Contudo, o envolvimento do sistema histaminérgico nos processos de reforço, aprendizagem e memória tem sido investigado com resultados contraditórios. Evidências de que a histamina facilita a aprendizagem e a memória foram obtidas em alguns estudos (DE ALMEIDA; IZQUIERDO, 1986; MEGURO et al., 1995; MIYAZAKI et al., 1995; PRAST et al., 1996), enquanto outros trabalhos demonstraram que o SNH tem um papel inibitório sobre estes processos (KAMEI et al., 1993; MATTIOLI et al., 1998, MEDALHA et al., 2000).

Informações específicas sobre os processos de aprendizagem e memória podem ser inferidas a partir de alterações comportamentais, antes que observadas diretamente. Deste modo, o estudo da aprendizagem e memória requer o desenvolvimento de testes que forneçam medidas adequadas para a avaliação das modificações do comportamento (KOLB; WISHAW, 2002). Além disso, pode-se inferir o efeito de substâncias diversas sobre o SNC através de estudos comportamentais. No entanto, a escolha de determinado teste para o estudo de

funções cognitivas deve configurar um paradigma de aprendizagem claro e específico para as diferentes espécies animais, uma vez que cada uma apresenta habilidades diferentes.

O conhecimento das capacidades cognitivas e de sua base neural em peixes pode contribuir para o entendimento da evolução do cérebro e do comportamento em vertebrados. Alguns estudos sugerem modelos de condicionamento para peixes (OHNISHI, 1997; OVERMIER; SAVAGE, 1974). No entanto, as tarefas de condicionamento clássico parecem não ser afetadas pela retirada do telencéfalo nos teleósteos. Sugere-se então que para se observar o papel do telencéfalo o procedimento mais adequado seja o de condicionamento operante, no qual o animal aprende a antecipar as conseqüências de seu próprio comportamento (KANDEL et al., 2000). Uma vez que se acredita que o reforço possa intensificar a formação da memória (BROWN et al., 2001), o modelo experimental empregado neste estudo utilizou o paradigma de condicionamento operante com reforço positivo – o alimento.

1.3. Os peixes e o papel do telencéfalo

Os peixes da espécie *Carassius auratus*, também conhecidos como peixes dourados, fazem parte da classe dos teleósteos, classe de peixes com esqueleto ósseo. Estes peixes estão mais próximos da estrutura anatômica primordial dos vertebrados do que os mamíferos (BROGLIO et al., 2003). Além disso, seu SNH apresenta-se mais simples em termos de densidade de fibras, área de inervação (INAGAKI et al., 1991) e, ao contrário dos vertebrados superiores, a histamina cerebral parece ser estritamente neuronal (ERIKSSON et al., 1998). Estudos comportamentais indicam que o SNH dos teleósteos e dos mamíferos têm

funções similares (MATTIOLI et al., 1998; SPIELER et al., 1999) sugerindo a adequação dos teleósteos em estudos que envolvam a histamina como neurotransmissora e neuromoduladora do SNC.

O SNH destes peixes origina-se na base do hipotálamo, em uma região considerada homóloga ao núcleo TM dos mamíferos (fig. 2), a qual envia projeções ao telencéfalo, diencefalo, mesencéfalo e à porção dorsal do rombencéfalo (INAGAKI et al., 1991). Com relação aos receptores H_1 , estes são encontrados principalmente no cerebelo e no tálamo, e também no torus semicircularis e teto óptico (CHOICH et al., 2004), localização similar à observada no cérebro de mamíferos.

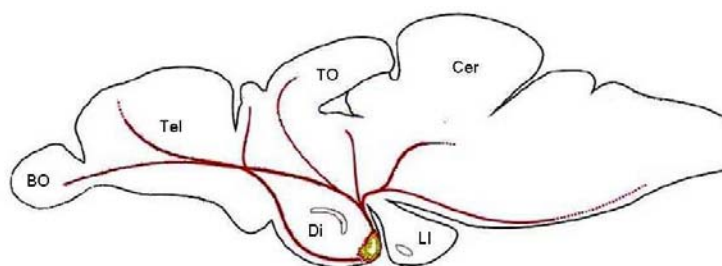


Figura 2: Representação esquemática da distribuição do sistema histaminérgico no cérebro de teleósteos. (Adaptado de Kaslin e Panula, 2001). Abreviações: (BO) bulbo olfatório; (Tel) telencéfalo; (Di) diencefalo; (TO) teto óptico; (LI) lobo inferior; (Cer) cerebelo.

O telencéfalo dos peixes teleósteos, o qual já foi considerado um sistema olfativo, parece estar envolvido em funções complexas. Sugerem-se homologias entre as projeções aferentes telencefálicas dos teleósteos e o feixe prosencefálico medial dos mamíferos (ECHTELER et al., 1981), que está relacionado à integração e expressão de comportamentos emocionais. Evidências neuroanatômicas e comportamentais sugerem ainda que a remoção desta estrutura pode produzir mudanças no estado de alerta (PEEKE; GORDON, 1981), danos na consolidação da memória de curto prazo (LAMING; MCKINNEY, 1990; OHNISHI, 1997), e prejuízos nos seguintes tipos de aprendizagem: esquiva (SAVAGE, 1969), habituação (FLOOD et al., 1976; LAMING; MCKEE, 1981) e memória espacial (SALAS et

al., 1996b). Todavia, a aprendizagem instrumental simples e o condicionamento clássico não são afetados pela remoção do telencéfalo (HOLLIS; OVERMIER, 1978; OVERMIER; CURNOW, 1969).

Em peixes, a retirada do telencéfalo parece diminuir a atividade locomotora, apesar de não prejudicar a habilidade de nadar dos animais (SHINOZUKA; WATANABE, 2004). Ainda, as funções visuais e olfativas parecem não ser comprometidas por este procedimento (DAVIS; KLINGER, 1987; SCHLUMPF; DAVIS, 1985, SHINOZUKA; WATANABE, 2004).

Os peixes teleósteos parecem ter dois sistemas de memória diferenciados, um emocional e um espaço-temporal, localizados respectivamente nas regiões dorsomedial e dorsolateral do telencéfalo (PORTAVELLA et al., 2002). No entanto, o telencéfalo dos peixes dourados não parece ser essencial para a aprendizagem, embora seja suplementar neste processo. Ohnishi (1989, 1997) demonstrou que o telencéfalo parece ter um importante papel na memória de curto prazo, suplementando este processo através da facilitação da integração dos eventos neurais em áreas extra-telencefálicas envolvidas nos processos instrumentais de aprendizagem.

A necessidade do esclarecimento do papel do SNH sobre os processos relacionados à aprendizagem e memória, somada à suposição de que esses processos são mediados pelos receptores H_1 e apenas modulados pelo telencéfalo dos teleósteos, nos levaram à formulação da hipótese de que estruturas primitivas do cérebro destes animais pudessem estar também envolvidas nestes processos. Uma vez que o telencéfalo destes animais tem um importante papel na aprendizagem espacial e que o condicionamento operante não é abolido após a remoção desta estrutura, sugerimos um modelo comportamental de aprendizagem espacial com reforço positivo para investigar a atuação do receptor H_1 em outras estruturas que não o telencéfalo.

2. OBJETIVO

Investigar o efeito do bloqueio farmacológico do receptor H_1 sobre estruturas primitivas do cérebro de peixes da espécie *C. auratus* submetidos a treinamento em uma tarefa de escolha espacial. Para tanto foi empregado o modelo de aprendizagem com reforço positivo em um aquário em “T”.

3. METODOLOGIA

3.1. Amostra

Foram utilizados 170 peixes da espécie *C. auratus* (fig. 3) pesando entre 6 e 12g, indeterminados quanto ao sexo, provenientes do comércio local. Com a finalidade de controlar possíveis doenças, os animais foram mantidos no laboratório em tanques de 500 litros por pelo menos duas semanas antes do início do experimento.



Figura 3: *Carassius auratus*

Após a adaptação nos tanques, os peixes foram transferidos para aquários de manutenção de trinta litros, com filtro e oxigenação constantes, temperatura mantida entre $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e iluminação natural. Durante todo este período, os animais foram alimentados com ração em flocos padrão (“Super Red”, Hai Feng, Formosa), administrada cinco dias por semana no período da manhã até que fosse realizado o procedimento cirúrgico.

A identificação dos animais foi obtida através da observação de suas características físicas individuais, como cor e formato de cauda. Os animais foram pesados três dias antes de serem iniciadas as sessões comportamentais.

3.2. Procedimento cirúrgico

Os peixes foram anestesiados por meio de imersão em solução de tricaína metassulfonato (TMS) (sal do éster etílico do ácido 3-aminobenzóico metanosulfonato, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) em uma concentração de 0,8g/L. No momento em que seus movimentos branquiais cessavam, o peixe era colocado em um fixador com um aparato bucal (fig 4), por onde era constantemente perfundida uma solução aerada em concentração de 0,3g/L de TMS durante o procedimento cirúrgico.

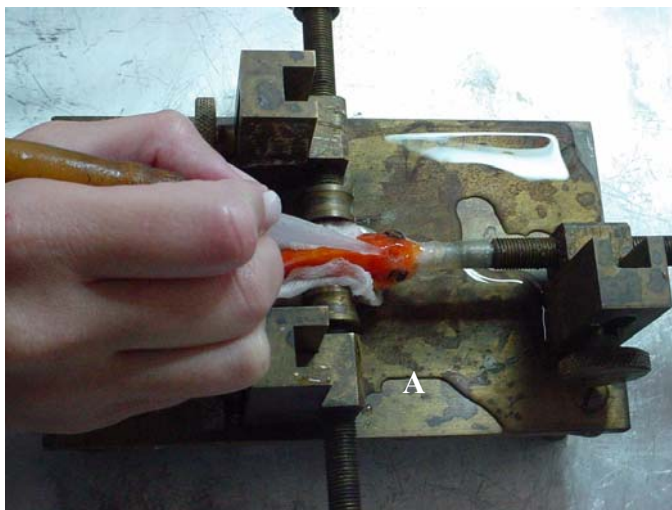


Figura 4: Aparato cirúrgico. (A) Fixador; (B) Estabilizadores laterais; (C) Aparato bucal; (D) Pipeta conectada ao sistema de vácuo; (E) Abertura no crânio.

Para a visualização dos lobos telencefálicos do peixe foi realizada uma abertura no crânio, na região compreendida entre os olhos do animal (fig. 5). Os lobos telencefálicos foram cuidadosamente aspirados com o auxílio de uma pipeta conectada a uma bomba de vácuo (Microbomba Nevoni Standard, NSR Ind., Com. e Repr. Ltda.).

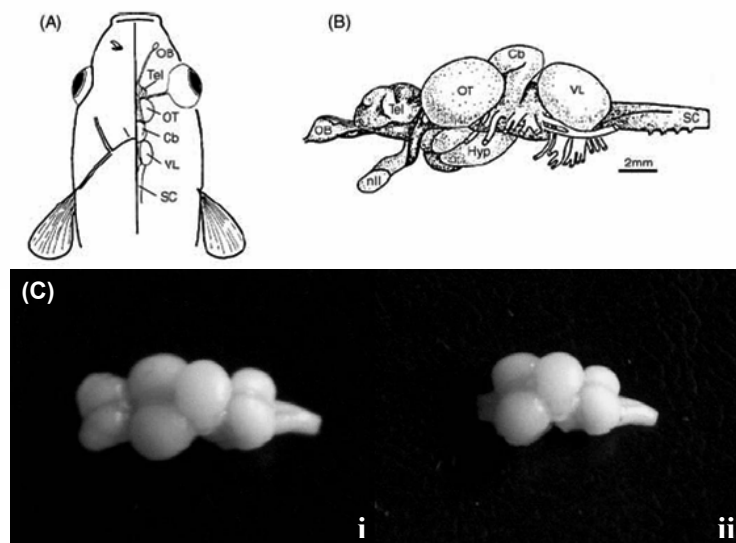


Figura 5: Cérebro dos peixes teleósteos. (A) representação esquemática em vista dorsal; (B) representação esquemática em vista lateral com indicação das principais estruturas macroanatômicas (Adaptado de Broglio *et al.*, 2003); (C) Fotos ilustrativas do cérebro antes (i) e após (ii) a remoção do telencéfalo. Abreviações: OB, bulbo olfatório; Tel, telencéfalo; nII, nervo óptico; OT, tecto óptico; Cb, cerebelo; Hyp, lobo hipotalâmico; SC, medula espinhal; VL, lobo vagal.

Após a remoção do telencéfalo a ferida cirúrgica foi higienizada com azul de metileno, e o crânio foi fechado e fixado com acrílico dental de secagem rápida (Acrílico Auto-Polimerizante Clássico, JET, SP, Brasil e Líquido Acrílico Auto-Polimerizável, Dental VIPI Ltda., SP, Brasil). A solução de TMS foi substituída por água até que os movimentos branquiais espontâneos fossem reiniciados, e então os peixes foram recolocados nos aquários de manutenção para recuperação por um período de cinco dias antes do início das sessões experimentais. Nestes aquários foi utilizada uma dose preventiva (1 gota para cada 5 litros de água) do fungicida e auxiliar no tratamento de parasitoses Labcon Aqualife (Alcon, SC, Brasil).

Todos os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico. No entanto, foram aleatoriamente divididos em dois grupos, sendo que em um deles foi realizada a ablação

telencefálica e no outro os cérebros dos animais foram mantidos intactos. Este último grupo foi utilizado como controle da cirurgia.

3.3. Tratamento farmacológico

O tratamento farmacológico foi realizado por meio da droga maleato de clorfeniramina (CPA – Sigma Chemical Co., Saint Louis, MO). Solução salina (cloreto de sódio 0,9%) foi utilizada como veículo e controle experimental. A CPA – um antagonista seletivo dos receptores H_1 – foi utilizada por ser capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica rapidamente, característica que confere adequação desta droga para estudos do SNC (LEURS et al., 1995).

A droga foi dissolvida em uma concentração de 16mg/ml em solução salina e conservada em tubo eppendorf sob refrigeração até o momento da utilização. Os tubos contendo a solução salina e a CPA foram codificados de modo que o experimentador não teve conhecimento do conteúdo dos mesmos no momento do experimento.

A droga e a salina foram administradas via intraperitoneal (ip) em um volume de 1ml/kg de peso corporal do peixe. A CPA foi utilizada na dose de 16mg/kg.

3.4. Grupos experimentais

Após a cirurgia, os peixes foram divididos em quatro grupos. Os animais submetidos à lesão fictícia (controle da cirurgia) foram tratados com salina (LF-SAL – n=21) ou CPA (LF-CPA – n=18), e os que tiveram o telencéfalo removido receberam salina (A-SAL – n=15) ou CPA (A-CPA – n=14).

3.5. Aquário experimental

Foi utilizado um aquário de vidro transparente em forma de “T” (fig. 6) com as seguintes dimensões: 35,5cm de comprimento e 9,5cm de largura no braço horizontal, 20 cm de comprimento e 11,5cm de largura no braço vertical, e 12 cm de altura. Dois tubos de PVC (5 cm de comprimento e 2,5cm de diâmetro) foram empregados como comedouros, os quais foram fixados nas extremidades do braço horizontal do aquário. Uma porta do tipo guilhotina (confeccionada em vidro transparente, com 20 cm de altura) foi colocada na intersecção dos braços delimitando a área utilizada como compartimento de saída, na qual o animal era colocado ao início de cada sessão experimental. O controle desta porta foi feito manualmente pelo experimentador.

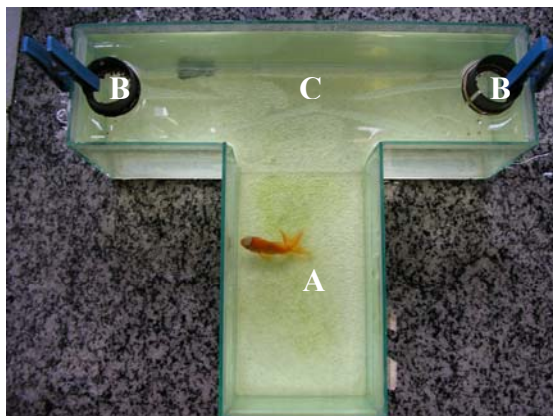


Figura 6: Aquário experimental. A: Compartimento de saída; B: Comedouros; C: Braço horizontal.

O aquário experimental foi preenchido numa profundidade de 11 cm com a água retirada dos aquários de manutenção. Com o intuito de manter o ambiente ao qual os animais se adaptaram, esta água foi devolvida aos aquários de manutenção todos os dias após as sessões comportamentais.

3.6. Teste comportamental

Os animais permaneceram nos aquários de manutenção após a cirurgia até o final do experimento. Para que os peixes se acostumassem à forma de alimentação empregada, foi colocado um comedouro confeccionado com tubo de PVC (5 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro) nestes aquários, no qual foi fornecido o alimento em flocos utilizado nas sessões experimentais (“Fast Color”, Hai Feng, Formosa). Dois dias antes do início das sessões, os peixes foram privados de alimento com o objetivo de estimular o comportamento alimentar. Durante os treinos os animais se alimentaram somente com o alimento obtido no aquário experimental.

O experimento foi realizado em nove sessões consecutivas, executadas em intervalos de 24 horas, nas quais os animais foram testados individualmente. No primeiro dia (sessão de adaptação), o peixe foi colocado no compartimento de saída do aquário experimental durante trinta segundos, a porta do tipo guilhotina foi removida e o animal pôde ter acesso ao braço horizontal do aquário. Ambos os comedouros foram preenchidos com alimento, e cada peixe pôde explorar todo o ambiente durante dez minutos.

A partir do segundo dia foram realizados os treinos, nos quais foi colocado um tecido fino na extremidade submersa de um dos comedouros, impedindo o acesso ao alimento, mas permitindo que o animal ainda o visualizasse e percebesse seu odor. O comedouro bloqueado foi escolhido aleatoriamente para cada animal e mantido até o final do experimento.

Em cada sessão de treino o peixe foi colocado no compartimento de saída durante trinta segundos, a porta do tipo guilhotina foi removida e o animal pôde explorar todo o aquário. Cada animal permaneceu no aquário por um tempo máximo de dez minutos, sendo que, quando o alimento foi encontrado antes deste período, o peixe pôde permanecer no aquário por mais dois minutos para alimentar-se. Do contrário, o animal foi retirado do aquário experimental e recolocado no aquário de manutenção.

A partir do momento em que a divisória do compartimento de saída foi retirada, o tempo utilizado pelo animal para encontrar o alimento (latência) foi registrado em segundos. Esta medida foi aferida em cada treino e considerada como um indicador de aprendizagem.

O animal recebeu a injeção com a droga ou veículo em todos os dias de treino após ser recolocado no aquário de manutenção. Este procedimento foi realizado dez minutos depois que o animal foi retirado do aquário experimental para que não ocorresse punição contingente ao alimento. Este período é coerente com a janela de consolidação de memória de peixes, que se sugere ser de uma hora para estes animais (LIU; BRAUD, 1974).

4. RESULTADOS

Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) de três vias com medidas repetidas, tendo como fatores independentes a cirurgia (ablação telencefálica ou lesão fictícia) e o tratamento (drogas ou salina), e o fator de medidas repetidas a latência em cada dia de treino (oito níveis). Sempre que apropriado, a ANOVA foi seguida pelo teste de comparações múltiplas entre médias de grupos de Student Newman-Keuls. Para todos os testes, o nível de significância foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

Os resultados da ANOVA de três vias apontaram efeitos significativos da exposição ao tratamento cirúrgico ($F_{1,20}=73,02$; $p < 0,0001$), ao tratamento farmacológico ($F_{1,20}=12,95$; $p = 0,0018$) e dos treinos ($F_{7,140}=22,14$; $p < 0,0001$). Também foram observadas interações significativas entre o fator de medidas repetidas e a exposição ao tratamento cirúrgico ($F_{7,140}=5,72$; $p < 0,0001$), ao farmacológico ($F_{7,140}=2,49$; $p = 0,0195$) e a interação entre os três fatores ($F_{7,140}=4,08$, $p = 0,0004$).

Todas as latências de treino do grupo A-SAL foram significativamente maiores do que as do grupo LF-SAL (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$), sugerindo que a remoção do telencéfalo tenha prejudicado o desempenho dos animais na tarefa proposta.

Os peixes do grupo LF-SAL demonstraram uma diminuição significativa nas latências no segundo dia de treino e mantiveram essa redução até o final do experimento (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$). Uma vez que a diminuição dos valores da latência ao longo do experimento foi considerada um indicativo de aprendizagem, estes dados indicam que os animais obtiveram sucesso na aquisição e na retenção da tarefa. No entanto, o grupo LF-CPA apresentou uma diminuição significativa das latências somente após o quarto dia de treino (Student Newman-Keuls, $p < 0,01$), sugerindo que o grupo LF-CPA apresentou um

atraso na aprendizagem. Esta hipótese é reforçada pela comparação entre os grupos LF-SAL e LF-CPA, que indicou diferenças estatísticas das latências entre os grupos a partir do segundo dia de treino até o final do experimento (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$).

No grupo A-CPA não foi observada nenhuma diferença nos valores da latência durante todo o experimento (Student Newman-Keuls, $p > 0,05$), enquanto o grupo A-SAL apresentou uma redução destes valores após o quinto dia de treino (Student Newman-Keuls, $p < 0,05$). Assim, a CPA parece prejudicar a tarefa de aprendizagem espacial também em peixes que sofreram a ablação telencefálica.

Os resultados apresentados acima estão ilustrados na figura 7, na qual são representadas a média das latências e o erro padrão da média (EPM) de cada grupo em todos os dias de treino.

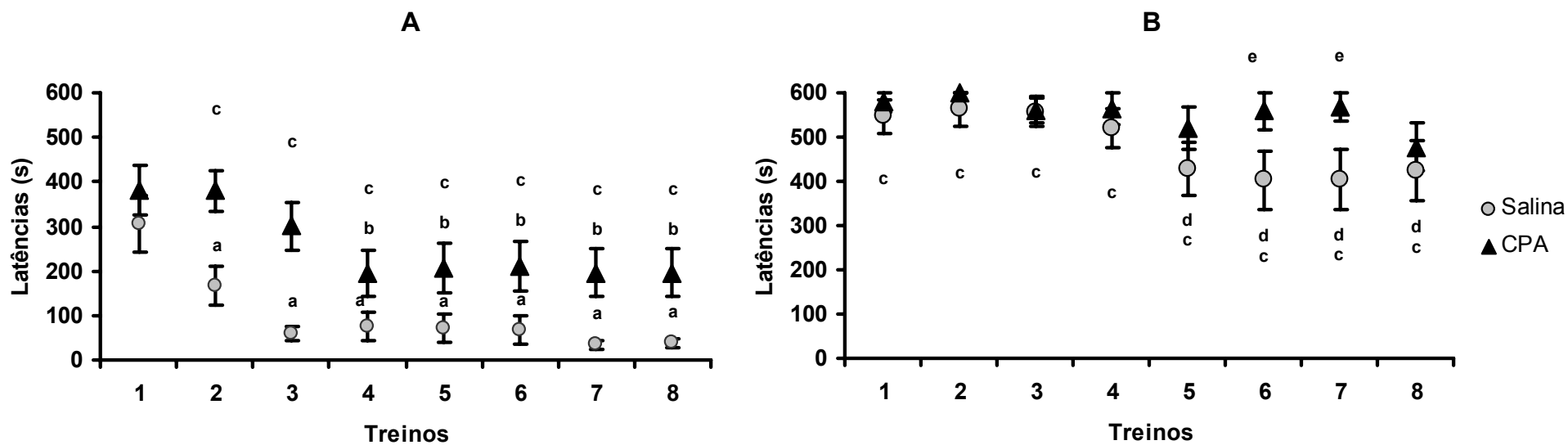


Figura 7: Média e erro padrão da média (\pm EPM) das latências de treino dos grupos submetidos à lesão fictícia (A) e à ablação telencefálica (B), tratados com salina ou CPA (comparados pelo teste de Student Newman-Keuls). [a] $p < 0,05$ comparado com $T1_{LF-SAL}$; [b] $p < 0,05$ comparado com $T1_{LF-CPA}$; [c] $p < 0,05$ comparado com os treinos do grupo LF-SAL; [d] $p < 0,05$ comparado com $T1_{A-SAL}$; [e] $p < 0,05$ comparado com os treinos do grupo A-SAL.

5. DISCUSSÃO

O estudo de sistemas de neurotransmissores e de drogas que facilitam a aprendizagem, a memória e o reforço auxilia a compreensão dos processos de recuperação funcional após lesão do SNC. Especificamente, o papel do SNH sobre os processos de aprendizagem e memória precisa ser esclarecido, já que diversas drogas que têm ação direta ou indireta sobre estes processos são amplamente utilizadas pela população, muitas vezes por longos períodos.

Devido à existência de dados contraditórios na literatura quanto à participação do SNH nos processos de aprendizagem, memória e reforço, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos detalhados para que resultados mais consistentes sejam expressos. Deste modo, a realização deste trabalho pode contribuir para o conhecimento do papel da histamina cerebral sobre os processos de aprendizagem e memória.

A presença de múltiplos sistemas de aprendizagem e memória com propriedades comportamentais e bases neurais similares em peixes, pássaros e mamíferos sugerem fortemente que esses sistemas aparecem precocemente na história evolutiva dos vertebrados (LÓPEZ et al., 2000). Portanto, a capacidade de aprendizagem dos peixes pode ser utilizada para inferir a maneira pela qual ocorreu a evolução de determinado comportamento.

O telencéfalo dos teleósteos apresenta funções específicas para a aprendizagem e memória espacial, as quais são derivadas de substratos neurais diversos (RODRÍGUEZ et al., 1994). Observou-se que estes peixes podem utilizar-se de estratégias distintas de memória espacial – aloentrícas ou egocêntricas –,

provavelmente baseadas em múltiplos sistemas de memória espacial (BROGLIO et al., 2003). Resultados de estudos com ablação telencefálica apontam para um prejuízo nas tarefas que requerem o reconhecimento de lugar (alocêntricas) nos animais lesados, mas não nas relacionadas à orientação do próprio corpo no espaço, as quais envolvem discriminações espaciais simples e requerem o uso de uma única referência para a orientação (LÓPEZ et al., 2000a,b; SALAS et al., 1996a,b). Os resultados apresentados neste trabalho ilustram o prejuízo na habilidade dos peixes em aprender uma tarefa de escolha espacial como consequência da remoção do telencéfalo, corroborando assim os resultados de estudos anteriores. Os resultados de estudos anteriores somados ao encontrado neste trabalho nos indicam que o telencéfalo destes animais pode ser um substrato neural adequado para o mapeamento de funções de aprendizagem e memória em peixes.

Contudo, parecem existir outros sistemas envolvidos nos processos de cognição em áreas cerebrais mais primitivas, sugerindo que o telencéfalo dos teleósteos tem um papel suplementar no processo de aprendizagem, facilitando a integração de eventos neurais em outras áreas envolvidas nessa função (OHNISHI, 1997). Sugere-se que as estruturas adicionais relacionadas à aprendizagem espacial sejam o teto óptico e o cerebelo, sendo que o primeiro parece estar envolvido na orientação de respostas e outros processos motores, e o segundo na associação das respostas motoras orientadas por uma só dica ambiental (DEMSKI; BEAVER, 2001).

As projeções dos neurônios histaminérgicos alcançam o telencéfalo, o diencéfalo, o mesencéfalo e a parte rostral do rombencéfalo (INAGAKI et al., 1991), englobando assim o teto óptico. O receptor H₁ desempenha seu papel em diversos processos intracelulares, mediando ações excitatórias de toda atividade cerebral (HAAS; PANULA, 2003; MONTI, 1993), e também está intrinsecamente envolvido nos efeitos

facilitatórios da histamina no hipocampo de ratos (HUANG et al., 2004). Em um estudo conduzido por Choich e colaboradores (2004) foi demonstrada a presença de receptores H_1 no cérebro de peixes teleósteos. Os receptores foram localizados em maior quantidade no cerebelo e no tálamo, e em menores quantidades no teto óptico e no torus semicircularis, distribuição semelhante à encontrada em outros vertebrados.

Em conjunto, estes dados apontam para uma possível atuação do antagonista H_1 nas projeções caudais dos neurônios histaminérgicos, uma vez que neste estudo a CPA causou efeitos similares em ambos os grupos – os que sofreram lesão ou não –, provocando déficits na consolidação da aprendizagem na tarefa proposta. Estes dados também dão suporte à hipótese de que a CPA não age exclusivamente no telencéfalo, podendo exercer sua ação em estruturas cerebrais primitivas (FAGANELLO; MATTIOLI, 2006).

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que os peixes tratados com CPA apresentam um atraso na consolidação e também um prejuízo no desempenho da tarefa de escolha espacial, sugerindo que a histamina tem um papel facilitador sobre a aprendizagem e a memória. Trabalhos recentes apontam para melhoras nos processos cognitivos provocados pela ativação da histamina cerebral (PASSANI et al., 2000). Em ratos foi observada a ação da histamina através dos receptores H_1 na melhora dos déficits de memória espacial induzidos pela aplicação do composto MK-801 (HUANG et al., 2003; XU et al., 2005). Ainda, em um estudo conduzido por Chen e colaboradores (2001), a aplicação de antagonistas do receptor H_1 provocou déficits em uma tarefa de aprendizagem espacial em ratos. Este autor sugere que o efeito observado possa ter sido mediado por neurônios histaminérgicos ou colinérgicos, hipótese reforçada em estudos posteriores realizados com ratos modificados geneticamente (BLANDINA et al., 2004; DERE et al., 2003)

O estudo recente de Vonderschen e colaboradores (2002) sugere a presença de conexões diretas entre o cerebelo e o telencéfalo, as quais podem constituir canais de comunicação envolvidos na coordenação de tarefas não-motoras, como a memória de lugar. Ainda, o cerebelo, estrutura tradicionalmente associada ao controle motor, tem sido identificado como um componente essencial em diferentes processos associativos de aprendizagem e memória, que vão desde formas simples de aprendizagem sensório-motora até processos mais complexos, como a aprendizagem espacial (RODRÍGUEZ et al., 2005). Sendo assim, os resultados deste estudo reforçam a hipótese da possível ação da CPA em outras estruturas envolvidas na aprendizagem espacial, provavelmente através do cerebelo e do teto óptico.

A partir do exposto, sugerimos a realização de estudos que enfoquem a ação da histamina nas outras estruturas envolvidas na tarefa de aprendizagem espacial, a fim de esclarecer seu papel nos processos cognitivos.

6. CONCLUSÃO

Este trabalho dá suporte às evidências de que a histamina desempenha um papel facilitatório nos processos de aprendizagem e memória na tarefa de escolha espacial, indicando que outras estruturas cerebrais têm um papel importante nesses processos. Ainda, confirma a hipótese anterior de que o telencéfalo destes animais está envolvido de forma a suplementar nos processos supracitados.

REFERÊNCIAS

ALVAREZ X.A. et al. Effects of neurotoxic lesions in the posterior hypothalamic region on psychomotor activity and learning. **Agents and Actions**, v. 43, n. 1-2, p. 21-3, nov.1994.

BLANDINA, P. et al. Acetylcholine, histamine, and cognition: two sides of the same coin. **Learning and Memory**, v. 11, n. 1, p. 1-8, jan./fev. 2004.

BROGLIO, C.; RODRÍGUEZ, F.; SALAS C. Spatial cognition and its neural basis in teleost fishes. **Fish and Fisheries**, v. 4, p. 247-55, 2003.

BROWN, R.E.; STEVENS, D.R.; HASS, H.L. The physiology of brain histamine. **Progress in Neurobiology**, v. 65, n. 6, p. 637-72, abr. 2001.

BURNS, T.A.; HUSTON J.P.; SPIELER, R.E. Circadian variation of brain histamine in goldfish. **Brain Research Bulletin**, v. 59, n. 4, p. 299–301, jan. 2003.

CHEN, Z.; CHEN, J.Q.; KAMEI, C. Effect of H₁-antagonists on spatial memory deficit evaluated by 8-arm radial maze in rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 22, n. 7, p. 609-13, jul. 2001.

CHOICH, J.A.; EL-NABAWI, A.; SILBERGELD, E.K. Evidence of histamine receptors in fish brain using an in vivo [¹⁴C]2-deoxyglucose autoradiographic method and an in vitro receptor-binding autoradiographic method. **Environmental Research**, v. 94, p. 86-93, 2004.

COTMAN, C.W.; NIETO-SAMPEDRO, M.; HARRIS, E.W. Synapse replacement in the central nervous system of adults vertebrates. **Physiological Reviews**, v. 61, n. 3, p. 684-784, jul. 1981.

COTMAN, C.W.; LINCH, G.S. The neurobiology of learning and memory. **Cognition**, v. 33, n. 1-2, p. 201-41, nov. 1989.

COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. Serotonin (5-hydroxytryptamine) and histamine. In: **The biochemical basis of neuropharmacology**, 7th. ed. New York: Oxford University Press, 1996. p. 352-409.

DAVIS, R.E.; KLINGER, P.D. Spatial discrimination in goldfish following bilateral tectal ablation. **Behavioural Brain Research**, v. 25, n. 3, p. 255-60, 1987.

DE ALMEIDA, M.A.M.R.; IZQUIERDO, I. Memory facilitation by histamine. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et the Therapie**, v. 283, n. 2, p. 193-8, out. 1986.

DEMSKI, L.S.; BEAVER, J.A. Brain and cognitive function en teleosts fishes. In: ROTH, G.; WULLIMAN, M.F. (Ed.). **Brain Evolution and Cognition**. New York: Wiley, 2001. p. 297-332.

DERE, E. et al. Histidine-decarboxylase knockout mice show deficient nonreinforced episodic object memory, improved negatively reinforced water-maze performance, and increased neo- and ventro-striatal dopamine turnover. **Learning and Memory**, v. 10, n. 6, p. 510-9, dez. 2003.

ECHTELER, S.M.; SAIDEL, W.M. Forebrain connections in the goldfish support telencephalic homologies with land vertebrates. **Science**, v. 212, n. 4495, p. 683-5, maio 1981.

ERIKSSON, K.S. et al. Development of the histaminergic neurons and expression of histidine decarboxylase mRNA in the zebrafish brain in the absence of all peripheral histaminergic systems. **The European Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 12, p. 3799-812, dez. 1998.

FAGANELLO, F.R. **Efeitos da clorfeniramina na aprendizagem, memória e ansiedade de teleosteos submetidos à ablação telencefálica**. Tese (Doutorado em Fisioterapia) – Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

FLOOD, N.C.; OVERMIER, J.B.; SAVAGE, G.E. Teleost telencephalon and learning: an interpretive review of data and hypotheses. **Physiology & Behavior**, v. 16, n. 6, p. 783-98, jun. 1976.

GHI, P. et al. Stress-induced changes in histaminergic system: effects of diazepam and amitriptyline. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 51, n. 1, p. 65-8, maio 1995.

HAAS, H. et al. Subcortical modulation of synaptic plasticity in the hippocampus. **Behavioural Brain Research**, v. 66, n. 1-2, p. 41-4, jan. 1995.

HAAS, H.; PANULA P. The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. **Neuroscience**, v. 4, n. 2, p. 121-30, fev. 2003.

HILL, S.J. et al. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of Histamine Receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 49, n. 3, p. 253-78, 1997.

HOLLIS, K.L.; OVERMIER, J.B. The function of the teleost telencephalon in behaviour: a reinforcement mediator. In: MOSTOFSKY, D.I. (Ed.). **The behaviour of fish and other aquatic animals**. New York: Academic Press, 1978, p. 137-95.

HUANG, Y.W. et al. Effect of the histamine H₃-antagonist clobenpropit on spatial memory deficits induced by MK-801 as evaluated by radial maze in Sprague-Dawley rats. **Behavioural Brain Research**, v. 151, n. 1-2, p. 287-93, maio 2004.

HUANG, Y.W. et al. Facilitating effect of histamine on spatial memory deficits induced by dizocilpine as evaluated by 8-arm radial maze in SD rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 24, n. 12, p. 1270-6, dez. 2003.

IMAIZUMI, M.; ONODERA, K. The behavioral and biochemical effects of thioperamide, a histamine H₃ receptor antagonist, in a light/dark test measuring anxiety in mice. **Life Sciences**, v. 53, n. 22, p. 1675-83, 1993.

INAGAKI, N. et al. Organization of the histaminergic system in the brain of the teleost *Trachurus trachurus*. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 310, n. 1, p. 94-102, ago. 1991.

KAAS, J.H. The reorganization of sensory and motor maps in adult mammals. In: GAZZANIGA, M.S. **The Cognitive Neurosciences**. Cambridge: MIT Press, 1996. p. 51-71.

KAMEI, C.; OKUMURA, Y.; TASAKA, K. Influence of the histamine depletion on learning and memory recollection in rats. **Psychopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 376-382, 1993.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M. (Ed.). **Principles of neural science**. New York: McGraw-Hill, 2000.

KASLIN, J.; PANULA, P. Comparative anatomy of the histaminergic and other aminergic systems in zebrafish (*Danio rerio*). **The journal of comparative neurology**, v. 440, p. 342-377, 2001.

KOLB, B.; WHISHAW, I. Q. (Ed.). **Neurociência do Comportamento**. São Paulo: Manole, 2002, p. 1-35.

LAMING, P.R.; MCKEE, M. Deficits in habituation of cardiac arousal responses incurred by telencephalic ablation in goldfish, *Carassius auratus*, and their relation to other telencephalic functions. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 95, n. 3, p. 460-7, jun. 1981.

LAMING, P.R.; MCKINNEY, S.J. Habituation in goldfish (*Carassius auratus*) is impaired by increased interstimulus interval, interval variability, and telencephalic ablation. **Behavioral Neuroscience**, v. 104, n. 6, p. 869-75, dez. 1990.

LEURS, R.; SMIT, M.J.; TIMMERMAN, H. Molecular pharmacological aspects of histamine receptors. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 66, n. 3, p. 413-63, jun. 1995.

LIU, Y.; BRAUD, W.G. Modification of learning and memory in goldfish through the use of stimulant and depressant drugs. **Psychopharmacologia**, v. 35, n. 2, p. 99-112, fev. 1974.

LÓPEZ, J.C. et al. Dissociation of place and cue learning by telencephalic ablation in goldfish. **Behavioral Neuroscience**, v. 114, n. 4, p. 687-99, ago. 2000a.

LÓPEZ, J.C. et al. Reversal learning deficit in a spatial task but not in a cued one after telencephalic ablation in goldfish. **Behavioural Brain Research**, v. 109, n. 1, p. 91-8, abr. 2000b.

MARSHALL, J.F. Neural plasticity and recovery of function after brain injury. **International Review of Neurobiology**, v. 26, p. 201-47, 1985.

MATTIOLI, R. et al. Conditioned place preference analysis in the goldfish with the H₁ histamine antagonist chlorpheniramine. **Brain Research Bulletin**, v. 45, n. 1, p. 41-44, 1998.

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**, v. 24, n. 2, p. 295-305, fev. 2000.

MEGURO, K. et al. Effects of thioperamide, a histidine H₃ antagonist, on the step through passive avoidance response and histidine decarboxylase activity in senescence-accelerated mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.50, n. 3, p.321-5, mar. 1995.

MIYAZAKI, S.; IMAIZUMI, M.; ONODERA, K. Ameliorating effects of histidine on scopolamine-induced learning deficits using an elevated plus-maze test in mice. **Life Sciences**, v. 56, p. 1563-70, 1995.

MOBARAKEH, J.I. et al. Improprian antinociception does not require neuronal histamine or histamine receptors. **Brain Research**, v. 974, n. 1-2, p. 146-152, jun. 2003.

MONTI, J.M. Involvement of histamine in the control of waking state. **Life Sciences**, v. 53, n. 17, p. 1331-8, 1993.

MORIMOTO T, YAMAMOTO Y, YAMATODANI A. Brain histamine and feeding behavior. **Behavioural Brain Research**, v. 124, n. 2, p. 145-50, out. 2001.

OHNISHI, K. Effects of telencephalic ablation on short-term memory and attention in goldfish. **Behavioural Brain Research**, v. 86, p. 191-9, 1997.

OHNISHI, K. Telencephalic function implicated in food-reinforced color discrimination learning in goldfish. **Physiology & Behavior**, v. 46, n. 4, p., 707-12, 1989.

OVERMIER, J.B.; CURNOW, P.F. Classical conditioning, pseudoconditioning, and sensitization in "normal" and forebrainless goldfish. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 68, p. 193-8, 1969.

OVERMIER, J.B.; SAVAGE, G.E. Effects of telencephalic ablation on trace classical conditioning of heart rate in goldfish. **Experimental Neurology**, v. 42, p. 339-46, 1974.

PANULA, P. et al. A histamine-containing neuronal system in human brain. **Neuroscience**, v. 34, n. 1, p. 127-32, 1990.

PANULA, P.; YANG H.Y.T.; COSTA, E. Histamine-containing neurons in rat hypothalamus. **Proceedings of National Academy of Science of the United States of America**, v. 81, p. 2572-6, 1984.

PASSANI, M.B. et al. Central histaminergic system and cognition. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 24, p. 107-13, 2000.

PEEKE, H.V.; GORDON, D.G. Deficits in foraging behavior after telencephalon ablation in the goldfish (*Carassius auratus*). **Experimental Neurology**, v. 72, p. 204-210, 1981.

PHILIPPU, A.; PRAST, H. Importance of histamine in modulatory processes, locomotion and memory. **Behavioural Brain Research**, v. 124, p. 151-9, 2001.

PIRATELLO, A.C. **Efeitos da clorfeniramina e da L-histidina sobre a compensação vestibular em *Carassius auratus***. Dissertação (Mestrado em Fisioterapia) – Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

PORTAVELLA, M. et al. The effects of telencephalic pallial lesions on spatial, temporal and emotional learning in goldfish. **Brain Research Bulletin**, v. 57, p. 397-9, 2002.

PRAST, H.; ARGYRIOU, A.; PHILIPPU, A. Histaminergic neurons facilitate social memory in rats. **Brain Research**, v. 734, p. 316-318, 1996.

RODRÍGUEZ, F. et al. Cognitive and emotional functions of the teleost fish cerebellum. **Brain Research Bulletin**, v. 66, p. 365-70, 2005.

RODRÍGUEZ, F. et al. Performance of goldfish trained in allocentric and egocentric maze procedures suggests the presence of a cognitive mapping system in fishes. **Animal Learning & Behavior**, v. 22, p. 409-20, 1994.

SALAS, C. et al. Spatial learning and memory deficits after telencephalic ablation in goldfish trained in place and turn maze procedures. **Behavioral Neuroscience**, v. 110, p. 965-80, 1996a.

SALAS, C. et al. Telencephalic ablation in goldfish impairs performance in a 'spatial constancy' problem but not in a cued one. **Behavioural Brain Research**, v. 79, p. 193-200, 1996b.

SANTOS, N.R.; HUSTON, J.P.; BRANDÃO, M.L. Blockade of histamine H₂ receptors of the periaqueductal gray and inferior colliculus induces fear-like behaviors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 1, p. 25-33, 2003.

SAVAGE, G.E. Telencephalic lesions and avoidance behavior in the goldfish (*Carassius auratus*). **Animal Behaviour**, v. 17, p. 362-73, 1969.

SCHLUMPF, B.E.; DAVIS, R.E. Vision in goldfish following tectal ablation. **Behavioural Brain Research**, v. 18, n. 3, p. 193-9, dez. 1985.

SHINOZUKA, K.; WATANABE, S. Effects of telencephalic ablation on shoaling behavior in goldfish. **Physiology & Behavior**, v. 81, n. 1, p. 141-8, mar. 2004.

SCHWARTZ, J.C.; ARRANG, J.M. Histamine. In: **Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress**. DAVIS, K.L. et al. 3. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002. Disponível em: <http://www.acnp.org/g5/p/SCH14_179-190.pdf>. Último acesso em: 20 jan. 2006.

SCHWARTZ, J.C. et al. Histaminergic transmission in the mammalian brain. **Physiological Reviews**, v. 71, p. 1-51, 1991.

SPIELER, R.E. et al. Post-trial administration of H₁ histamine receptor blocker improves appetitive reversal learning and memory in goldfish, *Carassius auratus*. **Neuroscience Letters**, v. 17, p. 5-8, 1999.

VONDERSCHEN, K.; BLECKMANN, H.; HOFMANN, M.H. A direct projection from the cerebellum to the telencephalon in the goldfish, *Carassius auratus*. **Neuroscience Letters**, v. 320, n. 1-2, p. 37-40, mar. 2002.

WADA, H. et al. Histaminergic neuron system in the brain: distribution and possible functions. **Brain Research Bulletin**, v. 27, n. 3, p. 367-70, set./out. 1991.

WEILER, H.T.; WAGNER, U.; HUSTON, J.P. Unilateral lesion in the tuberomammillary nucleus region: behavioral asymmetries and effects of histamine precursor. **Behavioural Brain Research**, v. 49, p. 167-73, 1992.

WHALEY, D.L.; MALLOT, R.W. **Princípios elementares do comportamento**. São Paulo: EPU, 1980.

XU, L.S. et al. Histamine ameliorates spatial memory deficits induced by MK-801 infusion into ventral hippocampus as evaluated by radial maze task in rats. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 26, n. 12, p. 1448-53, dez. 2005.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Dados brutos observados nos diferentes grupos.

Tabela 1 - Latências (em segundos) obtidas em cada dia de treino (T1-T8) pelos animais do grupo LF-SAL.

<i>Animal</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T5</i>	<i>T6</i>	<i>T7</i>	<i>T8</i>
G8	4	47	5	66	42	93	3	93
G9	553	258	9	93	19	15	50	49
H4	149	95	52	44	11	108	7	37
H6	64	95	11	93	33	14	32	18
H7	600	448	160	10	116	27	4	55
H9	89	92	14	15	21	68	44	26
H11	62	36	24	4	33	4	8	4
H12	600	600	137	58	90	16	13	142
H17	600	600	161	600	600	600	158	27
K11	121	14	20	68	27	16	10	15
K12	46	103	38	6	7	4	8	4
K13	600	92	8	31	4	9	4	12
K14	93	70	81	26	189	19	48	71
K15	600	246	210	74	45	52	81	97
K16	600	82	5	6	6	35	22	8
K17	40	85	6	27	5	13	109	18
K18	600	43	34	72	34	75	22	10
K19	66	4	73	54	20	28	14	4
Média	304,83	167,22	58,22	74,83	72,33	66,44	35,39	38,33
EPM	63,21	44,81	15,35	31,68	32,96	32,24	9,95	9,26

Nota: Abreviação utilizada:

EPM Erro padrão da média.

Tabela 2 - Latências (em segundos) obtidas em cada dia de treino (T1-T8) pelos animais do grupo LF-CPA.

<i>Animal</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T5</i>	<i>T6</i>	<i>T7</i>	<i>T8</i>
J2	320	493	171	31	16	183	52	87
J3	378	151	53	200	10	15	35	29
J4	209	312	60	70	65	74	64	51
J7	600	600	600	600	600	600	600	600
J8	600	486	16	3	5	4	102	5
J9	24	17	33	15	15	31	191	26
J12	25	122	69	4	43	139	50	316
K2	600	600	566	18	54	64	20	67
K3	600	294	457	33	85	44	50	7
K4	600	404	599	177	74	59	62	93
K5	600	600	600	600	600	600	600	600
K6	600	600	600	600	600	600	600	600
K9	600	600	443	176	600	600	600	202
K10	600	600	600	600	600	600	309	600
L3	33	600	150	138	45	8	39	54
L4	600	600	600	600	600	600	600	600
L6	62	82	21	7	5	5	12	30
L7	220	289	101	70	211	33	22	7
L8	101	149	49	99	8	14	30	47
L10	26	126	174	33	91	114	88	22
L13	600	261	349	13	25	40	4	83
Média	380,86	380,29	300,52	194,62	207,24	210,81	196,67	196,48
EPM	54,95	46,39	53,83	52,31	56,40	55,89	52,51	52,74

Nota: Abreviação utilizada:
EPM Erro padrão da média.

Tabela 3 - Latências (em segundos) obtidas em cada dia de treino (T1-T8) pelos animais do grupo A-SAL.

<i>Animal</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T5</i>	<i>T6</i>	<i>T7</i>	<i>T8</i>
A1	600	600	600	600	600	600	600	600
A2	600	600	600	600	600	600	600	600
D1	600	600	600	600	600	600	600	600
D3	128	600	600	577	161	32	279	600
D4	600	600	600	600	600	600	600	600
D5	600	600	600	600	600	600	600	600
E2	600	600	600	600	600	600	600	600
E3	600	600	471	100	143	117	81	25
E4	600	600	600	483	57	11	5	24
F1	600	600	600	600	600	600	600	600
F2	600	600	600	529	326	121	27	7
F3	217	6	47	25	33	153	72	62
H1	600	600	600	600	124	15	4	70
K20	600	600	600	600	600	600	600	600
K21	600	600	600	600	600	600	600	600
K22	600	600	600	600	600	600	600	600
Média	546,56	562,87	557,37	519,62	427,75	403,06	404,25	424,25
EPM	36,73	37,12	34,96	45,48	59,33	66,26	66,95	67,4

Nota: Abreviação utilizada:

EPM Erro padrão da média.

Tabela 4 - Latências (em segundos) obtidas em cada dia de treino (T1-T8) pelos animais do grupo A-CPA.

<i>Animal</i>	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>	<i>T4</i>	<i>T5</i>	<i>T6</i>	<i>T7</i>	<i>T8</i>
A12	600	600	600	600	600	600	600	190
B9	600	600	600	600	600	600	600	600
D11	600	600	600	600	600	600	600	600
D13	600	600	600	600	600	600	600	600
D14	600	600	600	600	283	600	600	308
D15	600	600	600	600	600	600	600	600
E11	600	600	600	600	600	600	600	600
E13	600	600	600	600	600	600	600	600
F6	600	600	600	600	600	600	600	600
F8	600	600	600	600	600	600	600	600
G3	301	600	216	93	33	25	162	50
G4	600	600	418	592	364	600	600	600
K24	600	600	600	600	600	600	600	141
K27	600	600	600	600	600	600	600	600
Média	578,64	600	559,57	563,21	520	558,93	568,71	477,78
EPM	21,36	0	29,43	36,17	46,18	41,07	31,28	55,34

Nota: Abreviação utilizada:

EPM Erro padrão da média.