

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



MÔNICA CRISTINA PAULO

APRENDIZAGEM E MEMÓRIA DE ESCOLHA ALIMENTAR EM POMBOS
(COLUMBA LIVIA): ANÁLISE DE EFEITOS DA LESÃO NO COMPLEXO
PALEOESTRIATAL

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Mônica Cristina Paulo
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biologia para obtenção do título de
mestre em Biologia Funcional e
Molecular na área de Fisiologia.


Orientadora: Profa Dra Elenice Aparecida de Moraes Ferrari

Campinas – SP

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP

Paulo, Mônica Cristina

P285a

Aprendizagem e memória de escolha alimentar em pombos
(*Columba livia*): análise de efeitos da lesão no complexo
paleoestriatal/

Mônica Cristina Paulo. --

Campinas, SP:[s.n.], 2002

Orientadora: Elenice A. de Moraes Ferrari

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia

I. Memória. 2. Aprendizagem. I. Ferrari, Elenice A. de Moraes
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.
III. Título.

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	UNICAMP P285a
V	EX
TOMBO BC/	53873
PROC.	124/03
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	20/05/03
Nº CPD	

CM00184059-0

BIB ID 900024

Data da Defesa: 11/12/2002

Banca Examinadora



Profa. Dra. Elenice Aparecida de Moraes Ferrari (Orientadora)

Profa. Dra. Suzete Maria Cerutti



Profa. Dra. Liana Lins Mello



Prof. Dr. Francesco Langone

Aos meus pais, Bi e Tufik, à minha avó Lourdes e
ao meu marido Roberto
Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me guiado durante todo esse trabalho.

Às professoras Dras. Liana Lins Melo, Suzete Maria Cerutti e ao Prof. Dr. Francesco Langone, pela disponibilidade e pelas sugestões.

À minha orientadora professora Dra Elenice A. de Moraes Ferrari pela orientação, dedicação, ensinamentos e paciência.

Ao Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da UNICAMP, por proporcionar-me a oportunidade da realização deste trabalho.

Ao Washington e ao Nori, por toda a ajuda dispensada durante os procedimentos técnicos.

Aos colegas do Laboratório de Sistemas Neurais e Comportamento.

À Mércia, pelas sugestões e pela grande ajuda prestada durante a análise das lâminas.

À Eunice e Andréia Casquero, pela amizade.

À Patrícia, pela paciência, companheirismo, amizade, dedicação, esforço, enfim por tudo que passamos juntas durante o decorrer desse trabalho.

À Flávia Bassi, pelo enorme auxílio prestado na parte de informática, e principalmente, pela amizade e dedicação presente em todas as horas.

À secretária Andréia, pela ajuda na organização dos formulários e pelas informações precisas.

Aos meus pais, avó e ao Roberto, pelo carinho, pela dedicação, pelo amor, pela paciência e pelas palavras de coragem que sempre me dispensaram nos momentos em que mais precisei.

ÍNDICE

I - Introdução.....	01
I.1 - A Aprendizagem e a Memória.....	02
I.2 - Funções dos Núcleos da Base na aprendizagem e memória.....	06
I.3 - Relações entre os NB de mamíferos e o Complexo Paleostriatal (CP) de pombos.....	09
I.4 - Estudos sobre funções dos NB e do CP na aprendizagem.....	13
I.5 – Objetivos.....	20
II - Materiais e Métodos.....	21
II.1 – Sujeitos	21
II.2 – Equipamentos.....	22
II.3 – Procedimentos.....	24
II.3.1 - Procedimento experimental.....	24
II.3.2 - Análise comportamental na condição pré-lesão (PRÉ).....	25
II.3.3- Procedimento cirúrgico: acesso ao Complexo Paleostriatal.....	26
II.3.4- Análise comportamental nas condições pós-lesão (PÓS).....	29
II.3.5- Perfusão.....	30
II.3.6- Análise Histológica.....	31
II.3.6.1- Processamento para a Microscopia Óptica.....	31
II.3.7- Análise Estatística.....	34
III- Resultados.....	35
IV- Discussão.....	44

V - Referências Bibliográficas.....	52
VI - Anexos.....	64

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo investigar os efeitos de uma lesão neuroquímica unilateral com Ácido Ibotênico no Complexo Paleoestriatal em pombos (*Columba livia*) sobre a precisão do desempenho em escolha alimentar. Foram utilizados 16 pombos machos, adultos, divididos em três grupos: Experimental, Sham e Controle. Todos os animais foram treinados em quatro sessões de escolha alimentar (condição Pré-lesão) numa situação com dois comedouros dispostos paralelamente a uma das paredes laterais da caixa experimental. Um deles continha areia e o outro, alimento coberto com areia. Vinte e quatro horas após a quarta sessão, os animais experimentais sofreram lesão unilateral com 3 μ l de ácido ibotênico (1 μ g/1 μ l). Os animais Sham sofreram o procedimento cirúrgico até a trepanação e os animais Controles não passaram por esses procedimentos. A seguir, todos os animais foram testados nas condições Pós-lesão, Reversão 1 e Reversão 2. Na Reversão 1, a localização dos comedouros mudou para a parede oposta da caixa. Foram analisadas as respostas de escolha a um dos comedouros e as latências de escolha alimentar por meio de observação direta e análise das gravações das sessões em vídeo. Os resultados indicaram que as latências de escolha alimentar para o grupo Experimental, na condição Reversão 1, tiveram um aumento do valor mediano, no decorrer das sessões, em relação aos demais grupos e às diferentes condições ($F(2,13) = 3,76$, $p = 0,051$). Observou-se diminuição das porcentagens de escolha correta para os três grupos na condição Reversão 1 ($F(3,2) = 14,64$, $p = 0,000002$). Os dados indicaram que uma lesão restrita em uma região do CP interferiu nas conexões funcionais dos seus componentes, prejudicando o desempenho dos animais experimentais. As alterações foram mais evidentes na Reversão 1, quando houve um rearranjo do contexto inicial de treinamento, podendo ser interpretadas como indicativas de prejuízos no processamento de novas relações entre as informações contextuais para os animais lesados no Complexo Paleoestriatal.

ABSTRACT

The purpose of the present work was to investigate the effect of neurochemical lesion with unilateral injection of ibotenic acid in Paleostriatal Complex of pigeons (*Columba livia*) on the performance and accuracy of food choice behavior. Sixteen male pigeons were divided in three groups: Experimental, Sham and Control. All the animals were trained in four sessions of food choice (condition Pre-lesion) with two feeders located parallel to the lateral wall opposite to the initial box. One feeder had sand and the other had food covered with sand. The latency and adequacy (correct or incorrect) of the choice response were analyzed by direct observation and revised by videotapes of the experimental sessions. In the day following the fourth training session, experimental birds received unilateral infusion of 3 μ l of ibotenic acid (1 μ g/1 μ l). Sham animals suffered only anesthesia and skull trepanation and the control had no surgical manipulation. All the animals had Post-lesion, Reversion 1 and Reversion 2 training conditions with four sessions each. Reversion 1 condition had the feeders translocated to the opposite wall within the chamber. Results showed an increase of median value of choice response latency in the experimental group compared to the sham and control groups ($F(2,13) = 3,76, p = 0,051$). Decreases of percentage values of correct choice were seen during Reversion 1 condition for the three groups ($F(3,2) = 14,64, p < 0,0001$). The data indicated that the lesion in a restricted region of the Paleostriatal Complex interfered in the performance of the pigeons. More pronounced deficits observed in Reversion 1 condition, when the contextual stimuli were rearranged, may be indicative of PC lesion effects on the processing of new relations among contextual stimuli.

I - Introdução

As funções cerebrais subjacentes tanto aos comportamentos motores, como andar e comer, como aos padrões comportamentais mais complexos, envolvidos no pensamento, na criatividade e na linguagem, constituem objeto de estudo da neurociência. Atualmente, procura-se estudar como a integração de bilhões de células neurais individuais atuam para produzir o comportamento e como, por sua vez, essa atividade é influenciada pelo meio ambiente (KANDEL *et al.*, 2000).

O meio ambiente provê ao organismo as informações ou estimulações que são adequadamente detectadas, transduzidas em variações de energia e posteriormente codificadas, interpretadas e integradas por circuitos neurais. Os resultados desse processamento neural resultam em: (a) ativação de efetores motores e neurovegetativos, que integrados, caracterizarão padrões de resposta do organismo e (b) modificação das características funcionais e morfológicas das células nervosas envolvidas nesses circuitos neurais (KANDEL, *et al.*, 1991; GAZZANIGA, 1997).

De acordo com TIMBERLAKE (1993), citado em FERRARI (1996) deve-se considerar que em toda situação de aprendizagem, os animais interagem com o meio através de um equipamento biológico dotado de sensores especiais, componentes eficientes de respostas e

estados motivacionais que atuam para a otimização da aprendizagem apropriada a aquele ambiente específico. As interações organismo-ambiente determinarão o que será aprendido, como será aprendido e por que ocorrem determinadas classes de aprendizagem.

Assim, os fatores ambientais interagem com os fatores genéticos na determinação do comportamento. O comportamento determinado geneticamente caracteriza os padrões específicos da espécie, enquanto que o comportamento aprendido resulta da interação entre os fatores genéticos, os fatores ambientais e as conseqüências do próprio comportamento. Os eventos do ambiente modelam as propriedades do comportamento por meio de processos de aprendizagem e memória (KANDEL *et al.*, 1995; 2000).

I.1 - A Aprendizagem e a Memória

A aprendizagem é o processo pelo qual os animais adquirem informações a respeito do meio ambiente, por meio da experiência, imitação ou observação (KANDEL, *et al.*, 2000). A aprendizagem é expressa como as alterações da probabilidade futura de classes de respostas ou de padrões comportamentais em função de condições estimuladoras, antecedentes ou conseqüentes. São precisamente essas relações entre os eventos antecedentes, as respostas e os

estímulos conseqüentes que definem as contingências de reforçamento e que estabelecem as categorias de informações ambientais, com as quais o organismo interage e sobre as quais opera (SKINNER, 1938, 1981; STADDON, 1983; citado em FERRARI, 1996).

Segundo CARLSON (2001), a aprendizagem é classificada como associativa e não-associativa, dependendo de como os comportamentos são aprendidos. Na aprendizagem associativa, dois estímulos ou eventos ocorrem simultaneamente, permitindo ao animal estabelecer relações entre os eventos do seu ambiente. Na aprendizagem não-associativa não existe envolvimento de relação temporal entre os estímulos (COHEN, 2001).

A memória é a persistência do aprendizado que pode ser expresso posteriormente quando necessário, ou seja, é a retenção das alterações dependentes da experiência durante um período de tempo (COHEN, 2001). O estudo da memória aborda primordialmente as questões referentes aos processos e aos mecanismos envolvidos no armazenamento de informações sobre as características físicas e funcionais dos eventos ambientais.

A classificação da memória utiliza critérios de como a informação é adquirida e armazenada, qual é o seu conteúdo e o tempo envolvido na aquisição e no armazenamento (KANDEL *et al.*, 1995). Assim, quanto a seu conteúdo, classifica-se a memória como

implícita ou explícita. A memória implícita (ou não declarativa) tem uma qualidade automática e reflexiva. Exemplos de memória implícita em mamíferos incluem as habilidades perceptivas e motoras e a aprendizagem de certos tipos de procedimentos e de regras (KANDEL, *et al.*, 2000). A memória explícita (ou declarativa) envolve os processos cognitivos tais como, a avaliação, a comparação e a inferência, e sua formação e recuperação dependem de um conhecimento consciente (KANDEL *et al.*, 1995). Esta compreende a memória para fatos e conceitos (memória semântica), assim como a memória para eventos (memória episódica ou autobiográfica).

O aprendizado e a memória são fenômenos que envolvem o estabelecimento de relações entre os neurônios dos sistemas neurais amplamente distribuídos no cérebro (ROCHA, 1999). Dentre os sistemas neurais envolvidos na memória implícita incluem o estriado, o córtex pré-frontal, o córtex motor, o córtex somato-sensorial, o córtex visual e o cerebelo para procedimentos (habilidades); o neocórtex (córtex occipito-temporal) para *priming* (COHEN, 2001). Por outro lado, os sistemas neurais envolvidos na memória explícita incluem, o lobo medial temporal, o diencéfalo (hipocampo, córtex para-hipocampal, córtex perirrinal, córtex entorrinal) (COHEN, 2001).

Segundo KANDEL *et al.* (1995), a formação da memória ocorre em etapas: (a) a aquisição, aprendizagem, sendo a entrada de

informações no cérebro processadas por um arquivo da memória a curto prazo. Esse arquivo tem capacidade limitada e, não ocorrendo uso dessas informações, persiste por um período de minutos; (b) as informações são, depois, transferidas para um arquivo de longo prazo, mais duradouro e (c) a recuperação das informações.

Os avanços sobre os conhecimentos do processo da memória fundamentam-se em evidências científicas obtidas em investigações com diferentes classes e espécies animais. O seu desenvolvimento foi bastante acelerado nas últimas décadas a partir de estudos com humanos, primatas e outros animais vertebrados e invertebrados (KANDEL *et al.*, 1991; GOLDMAN-RAKIC, 1992; GAZZANIGA, 1997).

Dentre os estudos de aprendizagem e memória, encontram-se aqueles que utilizaram diferentes espécies de aves. O estudo das aves fundamentou uma literatura extensa sobre seu comportamento, tanto no campo como no laboratório (CERUTTI, 1995; FERRARI, 1996; STEWART *et al.*, 1996; MEDINA & REINER, 1997).

No presente trabalho vamos abordar especificamente uma classe de aprendizagem implícita que envolverá processamento de memória a longo prazo. Pretendeu-se também relacionar os processos de aprendizagem e memória com as funções dos Núcleos da Base (NB) e Complexo Paleocriatal (CP), no contexto de uma discussão

que integra as funções motoras e cognitivas desse sistema neural (GRAY, citado em GAZZANIGA, 1997; GRAYBIEL, 1995).

I.2 - Funções dos Núcleos da Base na aprendizagem e memória

Os Núcleos da Base (NB) de mamíferos, segundo KANDEL *et al.* (1995), são formados por cinco núcleos extensivamente interconectados: o núcleo caudado, o putâmen, o globo pálido, o núcleo subtalâmico e a substância negra. O núcleo caudado e o putâmen formam o neostriado (ou estriado), sendo os componentes de entrada dos NB. O globo pálido (ou *pallidum*) é dividido em segmento interno e segmento externo. O núcleo subtalâmico localiza-se abaixo do tálamo. Já a substância negra localiza-se no mesencéfalo, e possui duas zonas: uma ventral pálida (parte reticulada) e uma dorsal pigmentada (parte compacta). Os principais núcleos de saída dos NB são formados pelo globo pálido e a parte reticulada da substância negra.

As conexões dos NB têm sido extensivamente estudadas em mamíferos. Esses estudos mostram que a parte dorsal do globo pálido está relacionada com as funções motoras e a parte ventral com as funções límbicas. As partes dorsal e ventral do globo pálido de mamíferos recebem aferências de diferentes porções do estriado, o mesmo ocorrendo em cérebros de répteis e aves. E as projeções

eferentes dessas regiões são similares em mamíferos e aves (MEDINA & REINER, 1997).

O circuito córtico-estriado (partindo do córtex motor e chegando ao estriado) está relacionado ao controle do movimento. A via córtico-estriada cria entradas densas e organizadas topograficamente para a parte motora do putâmen. A saída dessa via, chamada de circuito motor dos NB, é direcionada primariamente de volta para a área motora suplementar e o córtex pré-motor. Essas duas áreas são conectadas reciprocamente, e também se conectam com o tronco encefálico, influenciando na postura e nos movimentos dos membros (ALEXANDER *et al.*, 1990).

A atividade de alguns neurônios nos NB assemelha-se à atividade das células das áreas motoras do córtex. Apesar desta semelhança, a atividade dos neurônios do putâmen difere daquela dos neurônios nas áreas motoras do córtex em diversos aspectos. Os estudos nessa área indicam que os NB têm participação significativa na iniciação de movimentos em resposta a estímulos, mas não especificam diretamente as forças musculares necessárias para a execução de um movimento. Porém, existe a possibilidade deles estarem envolvidos principalmente no processamento da informação necessária para o planejamento e a iniciação de movimentos auto-

iniciados, bem como com a organização dos ajustes posturais associados (KANDEL *et al.*, 1995; ALEXANDER & CRUTCHER, 1990).

Os NB constituem, então, uma das alças subcorticais importantes do sistema motor, recebendo e enviando projeções para o córtex cerebral. Têm a participação em aspectos cognitivos de ordem superior do controle motor, isto é, o planejamento e a execução de estratégias motoras complexas. Além disso, também participam em outras funções, devido a suas extensas conexões com o córtex associativo e com as estruturas límbicas (GRAY, citado em GAZZANIGA, 1997).

Em todos os vertebrados, os NB são divididos em uma parte dorsal ou somática, relacionada com as funções motoras, e uma parte ventral ou visceral, relacionada com as funções límbicas (MEDINA & REINER, 1995).

Além de suas funções motoras, os NB participam das funções cognitivas (ALEXANDER *et al.*, 1990) incluindo as seguintes: o conhecimento da orientação do corpo no espaço; a memória para a localização dos objetos; a capacidade de modificar comportamentos quando as exigências da tarefa são alteradas e a motivação.

I.3 - Relações entre os NB de mamíferos e o Complexo Paleoestrialtal (CP) de pombos

Em aves a descrição neuroanatômica do sistema nervoso é bastante escassa, sendo baseada principalmente em estudos envolvendo os pombos (PEARSON, 1972; COHEN & KARTEN, 1974).

A topografia externa do sistema nervoso de aves caracteriza-se por hemisférios cerebrais proeminentes e desenvolvidos, porém lisencéfalos. Outras notáveis características externas são o tamanho do cerebelo e dos lobos ópticos, refletindo predomínio da coordenação e equilíbrio e do sistema visual em muitos pássaros. O maior volume do telencéfalo de aves é constituído primariamente por cinco principais massas nucleares: o hiperestriado, o ectoestriado, o neoestriado, o paleoestriado (complexo paleoestrialtal - CP) e o arqueestriado, localizadas lateralmente aos ventrículos (COHEN & KARTEN, 1974). O CP será analisado mais detalhadamente nessa pesquisa.

Baseado em estudos histoquímicos (ARIENS-KAPPERS *et al.*, 1967; JUORIO & VOGT, 1967) e citológicos (KARTEN *et al.*, 1973; COHEN & KARTEN, 1974), há considerações de que o CP seja uma estrutura comparável aos NB de mamíferos. O CP de aves localiza-se na parede basolateral do telencéfalo e consiste de três principais subdivisões: (a) *Paleoestriatum Augmentatum* (PA); (b) *Paleoestriatum*

Primitivum (PP) e (c) *Nucleus Interpeduncularis* (INP) (KARTEN & DUBBELDAM, 1973), sendo circunscrito dorsalmente pela lâmina medular dorsal (LMD).

O PA tem sido considerado homólogo ao complexo caudado-putâmen, o PP ao globo pálido (segmento externo) de mamíferos (JIAO *et al.*, 2000) e o INP ao segmento interno do globo pálido (PARENT & OLIVER, 1970; KARTEN *et al.*, 1973; COHEN & KARTEN, 1974). Essa homologia baseia-se no fato de que o PP é constituído por células ovóides extremamente grandes, cuja organização citoarquitetural é semelhante ao globo pálido enquanto o PA, com maior quantidade de pequenas células e axônios mielinizados, resulta num aspecto estriado do tecido, como no caudado-putâmen (KARTEN, 1969). O PA apresenta uma reação positiva à acetilcolinesterase e dopamina (JUORIO & VOGT, 1967; KARTEN *et al.*, 1973; BRAUTH *et al.*, 1978), características dos NB de mamíferos (KOELLE, 1954; DAHLSTRÖM & FUXE, 1965).

Projeções de neurônios telencefálicos da área têmporo-parieto-occipital (TPO) e área cortical lateral do neostriado são enviadas ao PA. As projeções corticoestriatais utilizam como neurotransmissor o aminoácido glutamato, isso indica que o estriado dorsal em aves e mamíferos recebe grande quantidade de informações sensoriais e motoras, sugerindo que os NB de mamíferos e o CP de aves

desenvolvem um mesmo papel importante no controle de movimentos (MEDINA & REINER, 1995). As vias subtalencefálicas relacionadas com o CP de aves incluem projeções de neurônios do núcleo talâmico dorsal e dorsomedial para o estriado. Esses núcleos talâmicos assemelham-se aos núcleos intralaminares e médio de mamíferos. Além disso, o estriado recebe aferências da porção ventral do núcleo tegmento pedunculopontino (Tpc) sobre o PA, e de neurônios do núcleo anterior da ansa lenticular (ALa) sobre o PP. O ALa é mais comparável ao núcleo subtalâmico de Luys (NST) em mamíferos, com bases nas conexões aferentes e eferentes. Os neurônios do ALa recebem projeções do PP, a porção do telencéfalo de aves mais similar ao globo pálido, e os neurônios do PP, por sua vez, recebem projeções do ALa (BRAUTH *et al.*, 1978), que assemelha-se às relações recíprocas existentes entre o globo pálido e o NST (CARPENTER & STROMINGER, 1966). Em mamíferos, o NST recebe projeções do globo pálido que projeta-se extensamente para as células do segmento interno.

Medialmente ao PA localiza-se o lobo paraolfatório (LPO) que tem sido considerado como parte desta subdivisão paleoestriatal, que, em conjunto, compreende o estriado dorsal (MEDINA & REINER, 1995; JIAO *et al.*, 2000). Porém, o LPO parece não participar

diretamente das conexões relacionadas com a organização motora, e sim como parte do sistema límbico (KARTEN *et al.*, 1973).

O sistema límbico - núcleos da base (SLNB) relaciona-se diretamente com os mecanismos que parecem ser utilizados para a obtenção dos diferentes objetivos do animal. Os NB recebem informações da posição corporal, integram estas informações e facilitam o comportamento motor apropriado (MEDINA & REINER, 1995). O estabelecimento dos programas motores para a obtenção dos objetivos desejados está sob o controle dos NB (GRAY, 1997; citado em GAZZANIGA, 1997).

Segundo STEWART *et al.* (1996) e JIAO *et al.* (2000), o CP de aves é composto por estruturas comparáveis aos NB de mamíferos: o PA e o LPO seriam comparáveis ao estriado (caudado-putâmen) de mamíferos, o LPO equivalente ao estriado medial e o PP ao globo pálido de mamíferos.

Assim, ambas as estruturas desenvolvem um papel importante nas funções do CP e possuem evidências funcionais e anatômicas como: (a) tanto os neurônios do ALa de aves como os neurônios do NST de mamíferos desenvolvem-se dentro da área hipotalâmica e migram para uma posição adjacente ao pedúnculo cerebral; (b) o ALa recebe aferências do globo pálido dorsal que, por sua vez, recebe aferências do estriado, como ocorre no NST; (c) os neurônios

do ALa projetam-se de volta ao pálido dorsal, como ocorre no NST; (d) os neurônios do ALa, possuem receptores AMPA (glutamato), como os neurônios palidais de mamíferos e (e) lesões unilaterais do ALa provocam distúrbios comportamentais e movimentos assimétricos como os observados em lesões no NST de mamíferos.

I.4 - Estudos sobre funções dos NB e do CP na aprendizagem

Existem vários experimentos que usaram lesões neuroquímicas produzidas nos NB e que resultaram em distúrbios comportamentais, como os movimentos involuntários da cabeça em direção ao lado lesado; a rotação para o lado da lesão (CROW, 1971; RIEKE, 1980); a rotação para o lado contralateral da lesão (PORCEDDU *et al.*, 1979; RIEKE, 1981); o tremor corporal ou de segmento corporal isolado (SILBERGELD & HRUSKA, 1979); os distúrbios comportamentais, de aprendizagem (ROBBINS *et al.*, 1989; BALLEINE & KILCROSS, 1994) e de processos mnemônicos (PAGE *et al.*, 1991).

ANDRÉN *et al.* (1995), mostraram em estudos com marmotas, as conseqüências comportamentais após lesão unilateral no NST com IBO. A lesão provocou um aumento na atividade locomotora e protusões da língua, que se manifestaram como sinais inespecíficos, sem preferência para um dos lados. Provocou também assimetria postural e movimentos anormais das pernas e braços contralaterais,

mais nas extremidades. Já em mamíferos roedores, lesões no NST não induziram esses movimentos anormais (CROSSMAN *et al.*, 1982; KAFETZOPOULOS & PAPADOULOS, 1983; SCHEEL-KRÜGER, 1986, citados em ANDRÉN *et al.*, 1995).

SETLOW & MCGAUGH (1999), estudaram o envolvimento do estriado de ratos na aprendizagem e memória no labirinto aquático de Morris. Os sujeitos desse experimento passaram por cirurgia para a implantação de cânulas guia no estriado póstero-ventral, para a infusão de droga (receptor antagonista de dopamina D2). Foram treinados em um labirinto circular com água, quatro plataformas iniciais e uma transparente submersa. O treino consistia de uma sessão com oito tentativas, usando as posições iniciais das plataformas. As infusões da droga começaram imediatamente depois ou duas horas após a última tentativa. Dois dias depois, no reteste, os resultados demonstraram que as infusões feitas imediatamente após o treino prejudicaram a recuperação da memória, aumentando as latências de alcance à plataforma. Já as infusões feitas duas horas depois do treino não interferiram na consolidação da memória. Os autores concluíram que o estriado póstero-ventral está relacionado com as funções de consolidação da memória de procedimento (implícita) nos testes do labirinto.

A auto-estimulação intracranial, como reforço positivo em ratos, participam do controle e da aquisição de comportamentos aprendidos (REYNOLDS *et al.*, 2001). Estes pesquisadores estudaram os neurônios do estriado, substância negra e córtex cerebral de ratos, bem como suas vias, num contexto comportamental de reforço positivo. Os animais tiveram eletrodos implantados ao nível da SN (parte compacta). Foram treinados numa câmara comportamental que continha uma alavanca, que ao ser pressionada estimulava os eletrodos na SN. Foi verificado que a estimulação da SN induzia a potencialização de sinapses entre o córtex e o estriado, as quais requeriam a ativação de receptores de dopamina. Para demonstrar isto, foi administrado um antagonista do receptor de dopamina D1/D5, aproximadamente 30 minutos antes da aplicação do treino de AEI. Nesses animais a potencialização de sinapses não foi observada. O estudo propôs que a estimulação da SN induzia uma potencialização similar nas aferências corticais para o estriado, seguramente reforçando a aprendizagem do comportamento pelos ratos. As sinapses corticoestriatais são um ponto de controle no circuito envolvendo o córtex motor e o estriado, então a potencialização das sinapses dopamina-dependentes podem servir como um mecanismo celular para aprendizagem de respostas comportamentais.

Estudos com mamíferos sobre a infusão de ácido kaínico (KA) na substância negra parte reticulada, em ratos, também mostraram alterações comportamentais e convulsões (SAWAMURA *et al.*, 2001). Foi feita infusão unilateral de KA na SN (lado esquerdo) e observado o comportamento dos animais durante 30 horas, aproximadamente. Essa observação, através de vídeo, mostrou manifestações límbicas, como a salivação, um sintoma inicial de convulsões. Logo depois, os animais apresentaram convulsões tônicas generalizadas, caracterizadas por comportamentos como ficar em pé e pular; movimentos rotacionais da cabeça e do corpo e clônus na pata dianteira contralateral à lesão. Essas convulsões cessaram dentro de 12 horas e não foram mais detectadas pelos próximos 30 dias. Os autores concluíram que a microinjeção unilateral de KA na SN resultou em manifestações límbicas convulsivantes, como sintomas iniciais, sendo que evoluíram para convulsões generalizadas nos animais.

A injeção cerebral de neurotoxinas tem sido utilizada na pesquisa neurobiológica para análise de mudanças comportamentais e sistemas de neurotransmissores (SCHWARCZ & COYLE, 1977; BURES *et al.*, 1983). Entre as várias neurotoxinas existem os aminoácidos excitotóxicos que podem exercer um papel na neurotransmissão de determinados grupos de neurônios (COYLE, 1981). Os mais potentes são os ácidos ibotênico e o kaínico, onde a neurotoxicidade destes

compostos parece ser resultado direto de excitação da membrana de neurônios sensíveis a essas substâncias. Esses ácidos têm sido usados para interagir com receptores aminoácidos excitatórios pós-sinápticos, despolarizando por um período prolongado todos os neurônios que apresentam esses receptores, resultando assim em um desequilíbrio iônico. Esse desequilíbrio causa um grande influxo de cálcio e sódio na célula e um aumento extracelular de potássio, levando à morte celular. Alguns autores demonstraram prejuízos comportamentais numa variedade de tarefas experimentais após a infusão desses ácidos nos NB de ratos, como: a esQUIVA INIBITÓRIA; a esQUIVA ATIVA; escolha no labirinto em T; labirinto radial e localização de uma plataforma submersa no labirinto aquático, citados em CONNOR *et al.*, 1991.

Alguns autores identificaram estruturas correspondentes dos NB em pombos e em ratos, como mostrado na Tabela 1.

Em resumo, os NB em mamíferos recebem informações de todas as áreas corticais, projetando-se principalmente para as áreas do córtex frontal relacionadas com o planejamento motor (KANDEL *et al.*, 1995, 2000). Além disso, participam de funções cognitivas (ALEXANDER *et al.*, 1990), e funções límbicas (MEDINA & REINER, 1995).

Tabela 1: Terminologia para a identificação de estruturas correspondentes dos NB em pombos e em ratos, adaptada de Jiao e cols. (2000).

POMBOS (JIAO e cols., 2000)	POMBOS (KARTEN & HODOS, 1967)	RATOS (PAXINOS e WATSON, 1998)
Estriado medial	Lobo paraolfatório (LPO)	estriado ou caudoputâmen
Estriado lateral	paleoestriado augmentato (PA)	estriado ou caudoputâmen
Núcleo interpeduncular (INP)	núcleo interpeduncular (INP)	parte do estriado ou caudoputâmen
Pálido dorsal	paleoestriado primitivo (PP)	globo pálido e núcleo entopeduncular
Núcleo anterior da ansa lenticular (ALa)	núcleo anterior da ansa lenticular (ALa)	núcleo subtalâmico (NST)
Sulco ventricular dorsal e Wulst	sulco ventricular dorsal e Wulst	córtex cerebral
Núcleo talâmico dorso medial e dorso intermediário	núcleo talâmico dorso medial e dorso intermediário	núcleo talâmico intralaminar
área talâmica ventro intermediária	não identificado como estrutura distinta	núcleo talâmico ventral anterior e ventral lateral

Em aves, o CP foi estudado em trabalhos como os de RIEKE (1980), STEWART *et al.* (1996), TOYODA (1996), MEDINA & REINER (1997) e JIAO e cols. (2000).

Particularmente, o trabalho de TOYODA (1996), relatou que as lesões neuroquímicas unilaterais com infusão de IBO no CP de pombos resultaram em alterações na aprendizagem, medidas pela latência de escolha alimentar. Nesse experimento foi usado 10 μ l de uma solução de IBO em tampão fosfato 0,1M, na concentração de 1 μ g/ μ l. Os animais foram submetidos a treino por quatro dias numa câmara experimental contendo dois comedouros, dispostos no final da câmara (lado direito (D) e lado esquerdo (E)). No quinto dia foram submetidos à lesão com IBO, e após dois dias de recuperação foram testados em outras três condições experimentais. Os resultados indicaram um efeito transitório da lesão sobre o desempenho na situação de Pós-lesão, pois os animais, no decorrer das sessões, voltaram a mostrar um desempenho semelhante ao apresentado na condição Pré-lesão. Já na condição Rev 1, os animais experimentais apresentaram diminuição de latências de escolha em relação aos animais controles. Isso sugeriu que foram feitas conexões sinápticas em áreas de memória já estabelecidas, pois a lesão produziu efeitos extensos no CP. Os animais sem lesão necessitavam de um novo

processamento das informações alteradas, aumentando suas latências.

I.5 - Objetivos

Com base nas considerações apresentadas, o presente trabalho pretendeu aprofundar o estudo de TOYODA (1996) utilizando uma lesão unilateral, com IBO, restrita a um núcleo do CP, o INP. Dessa forma, verificar se a lesão produziria efeitos semelhantes aos observados após uma lesão mais ampla no CP, na aprendizagem de escolha alimentar. Especificamente, pretendeu-se:

- Analisar as latências de escolha alimentar dos animais nas diferentes condições experimentais;
- Analisar a porcentagem de escolhas corretas, erros e omissões de escolha, nas diferentes condições experimentais.

II - Materiais e Métodos

II.1 - Sujeitos

Foram utilizados 16 pombos machos adultos da espécie *Columba livia*, com peso médio de 300 gramas. Os animais foram obtidos de um mesmo fornecedor e mantidos em gaiolas viveiro no Biotério do Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Biologia da UNICAMP, durante um período de 15 dias para aclimatação às condições do mesmo, previamente aos testes experimentais. Durante este período receberam banho e tratamento anti-parasitas interno e externo, sofreram manipulações de caráter dessensibilizatório, profilático (administração de anti-helmínticos) e terapêutico (extinção de escabiose). Em seguida, foram alojados em gaiolas individuais onde receberam água e ração *ad libitum* (mistura de quirera de milho, sementes de girassol, ração especial para aves, areia e farinha de ostra) e complexo vitamínico (Vitagold, vitaminas B6 e B12). Durante uma semana os animais foram pesados e foi calculada a média do peso de cada animal. A partir dessa média foi calculado o peso experimental, que correspondia a 85% de peso *ad libitum*.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 3 grupos:

- Grupo Controle : constou de 06 animais que foram expostos à situação de escolha alimentar, mas não foram submetidos à cirurgia;

- Grupo Sham (lesão simulada): constou de 05 animais que foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos até a perfuração da calota craniana unilateral (trepanação) e, expostos à situação de escolha alimentar antes e após esta trepanação;

- Grupo Experimental: constou de 05 animais que foram submetidos à lesão neuroquímica unilateral no Complexo Paleocriatal (CP) com uma solução de ácido ibotênico (IBO).

II.2 - Equipamentos

- **Câmara experimental:** era uma caixa acrílica em forma retangular, medindo 110 cm de comprimento, 55,5 cm de largura e 50 cm de altura. Possuía ainda dois compartimentos laterais, medindo 20 cm de comprimento, 20,5 cm de largura e 34 cm de altura, pelos quais os animais foram colocados (Figura 1). O piso da câmara era recoberto com papel, o qual facilitava o deslocamento do animal e a posterior limpeza da caixa, após o término de cada sessão. Os comedouros foram colocados um em cada extremidade do segmento final da caixa, sendo que um deles continha areia e o outro comedouro continha alimento recoberto com areia. Essa câmara ficava em uma sala isolada acusticamente, iluminada com lâmpada fluorescente de 40W. A sala possuía uma parede com vidro espelhado que estava posicionado do lado onde o comedouro correto sempre era

colocado. Para a pesagem dos animais, realizada antes do início das sessões (peso inicial) e logo após o término das sessões (peso final), foi utilizada uma balança comercial (Filizola). As latências de escolha (L1) foram registradas com um cronômetro Technos.

Condição Pré, Pós e Rev 2



Condição Rev 1

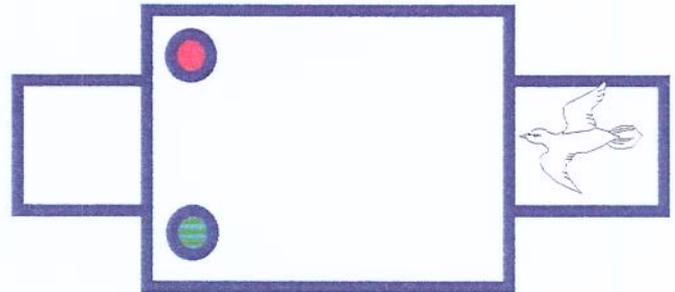


Figura 1: Esquema da caixa experimental.

- **Registro das sessões:** as sessões foram gravadas em fitas VHS, por meio de uma câmera Panasonic, modelo AG 450 conectada a um vídeo e monitor Panasonic, modelo AG 1960, que permitiram a análise posterior das sessões por outros observadores.

- **Cirurgia:** para as cirurgias de lesão química no CP e lesão simulada (procedimentos cirúrgicos até a trepanação), foram utilizados aparelho estereotáxico David-Kopf, modelo 1204, com adaptador Kevzin para pombos, broca de alta rotação (Atlante), fármacos de assepsia (álcool iodado) e salina 0,9%, anestésico e analgésico (Cloridrato de quetamine e Cloridrato de xilazina, Virbac). A neurotoxina ácido ibotênico (IBO) foi microinjetada com o auxílio de

uma seringa Hamilton 10 microlitros 701 (Hamilton Co.), no volume de 3 μ l (na concentração de 1 μ g/ μ l em tampão fosfato 0,1M com pH 7,2-7,4).

II.3 - Procedimentos

II.3.1 - Procedimento experimental

Antes dos testes para a análise comportamental, os animais eram submetidos à restrição alimentar controlada, para alcançar o peso experimental. Ao alcançarem esse peso, iniciavam-se os testes.

A análise do comportamento foi feita por observação direta e sistemática (HUTT & HUTT, 1974; DANNA & MATOS, 1986) em sessões diárias, com duração de no máximo 10 minutos, sendo que após a primeira escolha, correta ou incorreta, a sessão continuou por mais cinco minutos. A primeira escolha foi registrada quando o animal se aproximava e bicava um dos comedouros. A escolha correta estava relacionada com o bicar no comedouro com areia e alimento e a incorreta com o bicar no comedouro com areia. A cronometragem da latência de escolha iniciava-se quando o observador colocava o animal na caixa até a escolha de um dos comedouros.

Foram realizadas quatro sessões, sempre no mesmo horário (14-17h), em cada uma das condições experimentais: condição pré-lesão (Pré), condições pós-lesão (Pós, Rev 1 e Rev 2). Na condição Pré, o

animal fez um treinamento em sessões diárias, antes de qualquer intervenção cirúrgica no sistema nervoso central. A disposição inicial dos comedouros foi a mesma mantida nas condições Pré, Pós e Rev 2, onde o comedouro que continha areia e alimento estava à direita do animal, e o que continha areia estava disposto à esquerda do animal. Na condição Rev 1 os comedouros foram invertidos de extremidade na caixa, e o comedouro que continha areia e alimento estava à esquerda do animal, e o que continha areia estava disposto à direita do animal. O animal sempre era colocado na extremidade oposta aos comedouros. O comedouro com areia e alimento sempre manteve-se na extremidade da caixa que era paralela a um vidro espelhado na parede da sala.

II.3.2 - Análise comportamental na condição pré-lesão (PRÉ)

As sessões foram realizadas em uma sala separada em compartimentos, sendo que em um deles estava situada a caixa experimental e no outro, a câmera, os aparelhos audio-visuais (vídeo e tv) e o experimentador.

A sessão experimental consistia em colocar o pombo na caixa experimental, pelo compartimento lateral, com a cabeça voltada para o centro da parede oposta aos comedouros. Quando o observador colocava o animal na caixa, iniciava-se a cronometragem

das latências. A confirmação dessas latências foi feita posteriormente pela observação das fitas gravadas. A latência de escolha foi o tempo que o animal levou para fazer a primeira escolha, que consistia em bicar um dos comedouros.

II.3.3- Procedimento cirúrgico: acesso ao Complexo Paleoestriatal

O procedimento cirúrgico foi realizado de acordo com os procedimentos de cirurgia experimental e de administração de drogas nos animais, relatados em WAYNFORTH (1987). Os pombos foram anestesiados com Cloridrato de quetamine e Cloridrato de xilazina, Virbac, via intramuscular (0,1 mg/kg, proporção 1:1); e colocados no aparelho estereotático. Os sinais de anestesia observados foram: a ausência do reflexo de endireitamento do pescoço e dos movimentos gerais, caracterizada pela hipotonia muscular; perda do reflexo corneopalpebral, testado pela aproximação do dedo do examinador nos olhos do animal; supressão aos estímulos externos (GREEN, 1987).

As coordenadas do atlas estereotático do cérebro de pombos (KARTEN & HODOS, 1967) utilizadas para localização da estrutura lesada, núcleo interpeduncular (INP), foram AP: 8,75; L: 5,0 e V: 7,0 abaixo da duramáter, mostradas na figura 2. Antes da fixação do animal no estereotático, foi estabelecido o ponto zero ântero-

posterior (AP) do aparelho, sendo que sua leitura é dada quando a ponta da agulha, fixada no suporte, está sobre a barra interaural. A seguir o animal foi fixado pelos orifícios auditivos, e foi feita uma assepsia cutânea com álcool iodado na superfície previamente tricotomizada, e com um bisturi foi realizada uma incisão na linha média do crânio, iniciando logo acima do nível dos olhos. A pele foi então afastada, removendo-se o tecido subcutâneo até que foi possível visualizar a sutura sagital. A ponta da agulha dental foi colocada ao nível dessa sutura, e estabeleceu-se o zero lateral (L). A partir desta sutura deslocou-se 5,0 mm para obter o ponto lateral experimental. Somando-se o zero AP, obtido anteriormente, com a coordenada do atlas estereotático (8,75), estabeleceu-se o ponto AP experimental. Com auxílio da broca de alta rotação, foi feito um orifício (trepanação) no ponto demarcado na caixa craniana, que permitiu a exposição da duramáter. Foi utilizada uma agulha com ponta curva, para retirar a duramáter, direcionando a barra vertical até tocar o tecido nervoso, definindo assim o zero vertical (V). A partir deste ponto soma-se à coordenada do atlas e define-se o ponto da área a ser lesada.

Foi utilizada uma agulha dental numa posição perpendicular, para infundir o IBO. Esta agulha estava ligada à uma cânula fina, que por sua vez, ligava-se à uma seringa Hamilton, por meio da qual

injetava-se lentamente (5 min) um volume de 3 μ l de IBO (na concentração de 1 μ g/ μ l em tampão fosfato 0,1M com pH 7,2-7,4), intracerebralmente no INP unilateral, através do orifício cranial. A agulha foi mantida no local por 3 min adicionais para evitar o refluxo da solução ao longo da trajetória da injeção e permitir uma melhor difusão no local da lesão (KÖHLER *et al.*, 1979; RIEKE, 1981; BURES *et al.*, 1983; ANDREWS *et al.*, 1994).

No grupo SHAM, o procedimento cirúrgico para lesões foi o mesmo, até a trepanação com exposição da duramáter, porém sem a introdução da agulha e infusão de substâncias.

Após a cirurgia, foi feita uma sutura local, utilizando-se pontos contínuos (sutura simples), assepsia local com anti-séptico iodado. No período pós operatório (2 dias), os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em sala aquecida a 30 graus Celsius, com alimento e água *ad libitum*, e administração de antibiótico via oral. Eram avaliados com relação aos sinais neurológicos (principalmente motores) e avaliação clínica geral pós-operatória.

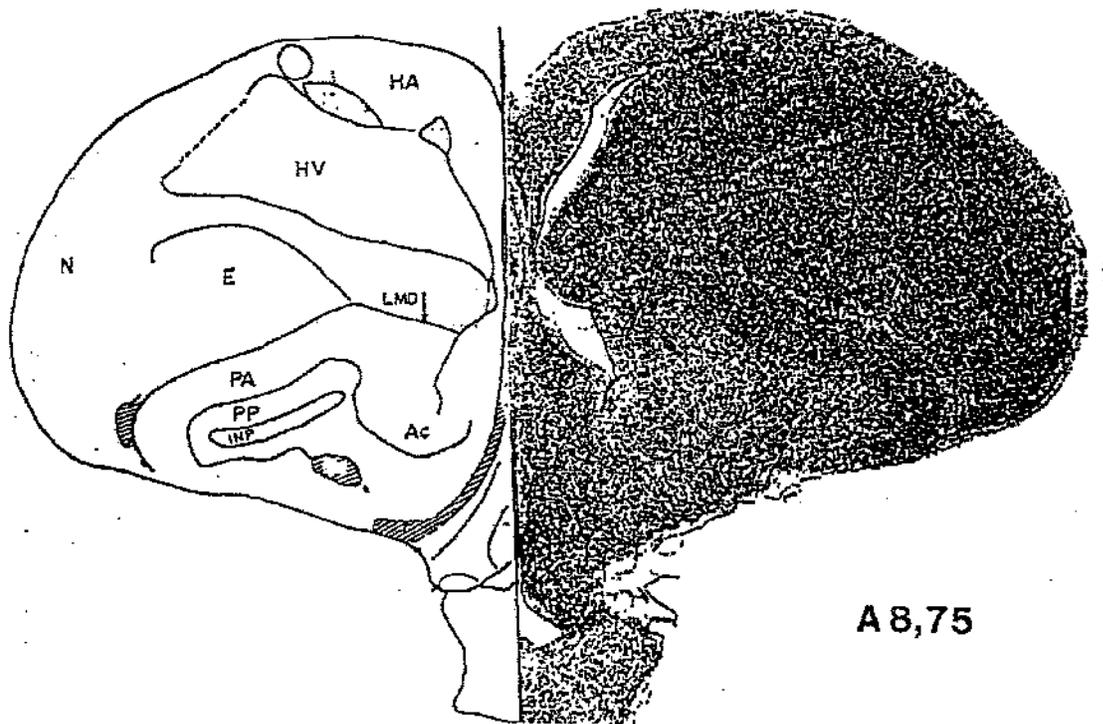


Figura 2: Localização do Complexo Paleostriatal de pombos em corte frontal, conforme Atlas de KARTEN & HODOS (1967). PA: *paleostriatum augmentatum*; PP: *paleostriatum primitivum*; INP: *nucleus interpeduncularis*; N: neostriado; E: ectostriado; HÁ: hiperestriado anterior; HV: hiperestriado ventral; Ac: *nucleus accumbens*; LMD: lâmina medular dorsal.

II.3.4- Análise comportamental nas condições pós-lesão (PÓS, REV 1, REV 2)

Após 2 dias de recuperação da cirurgia, o mesmo procedimento para análise comportamental descrito na fase Pré-lesão foi realizado nas condições Pós-lesão, sendo quatro sessões na condição Pós, quatro sessões na condição Rev 1 e quatro sessões na condição Rev 2, com perfusão no dia seguinte a última sessão da

condição Rev 2. Após este procedimento os animais foram perfundidos e seus cérebros removidos para análise histológica.

II.3.5- Perfusão

Os animais foram anestesiados com os mesmos medicamentos utilizados na cirurgia e imobilizados na mesa de perfusão, adaptada a um lavatório para escoamento de sangue e das soluções que foram aplicadas no animal. Em seguida, foi realizada uma incisão longitudinal bilateral ao longo da cartilagem peitoral. Com uma tesoura cirúrgica, realizou-se uma toracotomia, expondo os órgãos da cavidade torácica, identificando-se o ventrículo esquerdo e, injetou-se 0,1 ml de heparina (Roche). Logo após introduziu-se uma cânula fina (agulha número 16) conectada ao sistema de perfusão, em direção à válvula aórtica e infundiu-se 300 ml de salina 0,9%, ao mesmo tempo realizou-se uma incisão no átrio direito para permitir o escoamento de sangue e dos líquidos utilizados na perfusão. Quando o líquido escoado ficou claro, foi perfundido 300 ml de solução fixadora que consistiu em uma solução de paraformaldeído 4% diluído em tampão fosfato, pH 7,2 - 7,4, para o processamento do material. Esse procedimento garantiu a manutenção do tecido para posterior análise.

Dois animais foram controle de lesão com perfusão 24h após a lesão.

II.3.6 - Análise Histológica

II.3.6.1 - Processamento para a Microscopia Óptica

Após a perfusão, os animais foram decapitados e seus cérebros, removidos da caixa craniana e imersos por 24 horas numa solução fixadora, paraformaldeído em tampão fosfato 0,2M. Foram colocados depois em 5%, 10%, 20% e 30% de sacarose por 12 horas cada, na geladeira, para que posteriormente fossem congelados. Para o procedimento de congelamento, os cérebros foram mergulhados num recipiente contendo solução de N-Hexano, já previamente resfriado em gelo seco à uma temperatura de -50°C . Em seguida, permaneceram em freezer à uma temperatura de -80°C até serem cortados em criostato. Os cortes foram realizados à uma temperatura de -21°C , com espessura de corte ajustado para 15 micrômetros. Os mesmos foram fixados em lâminas gelatinizadas e mantidos à temperatura de cerca de -21°C até que fossem corados pelo método Kluver Barrera, técnica que permitiu a visualização dos corpos celulares e axônios mielinizados.

Os cortes foram primeiramente colocados em Xilol por 5 minutos, álcool 95% por 5 minutos e em seguida mergulhados em solução de

Luxol Fast Blue e levados para estufa 60°C por 15 minutos. Para a diferenciação foram realizados banhos de imersão rápidos em solução de carbonato de lítio, álcool 70% e água destilada. Posteriormente, as lâminas foram colocadas em solução de Cresyl Violeta e levadas para estufa com temperatura de 60°C por 15 minutos. Em seguida, as lâminas foram retiradas do corante e banhadas em água destilada para eliminar o excesso. Foram desidratadas utilizando-se uma série progressiva de álcoois 50%, 70%, 80%, 95% e 100%. Para a diafanização as lâminas foram banhadas em Xilol I e Xilol II. A montagem das mesmas foi feita utilizando-se bálsamo do Canadá.

Três cérebros (1 Controle e 2 Experimentais) foram incluídos em parafina onde foi utilizada a seguinte metodologia: após a perfusão, os animais foram decapitados e seus cérebros, removidos da caixa craniana e imersos numa substância fixadora por cerca de três dias. O fixador foi o mesmo utilizado no processo de perfusão. A seguir, com o auxílio de uma lâmina, foram eliminadas as porções do encéfalo em que não havia interesse. Posteriormente, a peça foi mantida em álcool absoluto por dois dias, efetuando-se uma troca de álcool durante este período. O cérebro foi, então, imerso em xilol durante uma hora e meia e em seguida, imerso por mais uma hora e meia em uma segunda solução de xilol. A partir daí o material foi mergulhado

durante duas horas em uma mistura de xilol e paraplast (proporção 1:1) dentro de uma estufa a 58°C. Ainda dentro da estufa, a peça foi mantida por 12 horas em paraplast (primeiro paraplast). Após este período, o material foi novamente imerso em paraplast (segundo paraplast) por 2 horas, dentro da estufa. Após a retirada da estufa e a solidificação do paraplast, o material foi seccionado em micrótomo, numa espessura de 7 micrômetros. Os cortes foram fixados em lâminas com albumina e deixados em uma estufa por cerca de 24 horas até que fossem coradas pelo método Hematoxilina-Eosina (H.E.). A coloração seguiu as seguintes etapas:

1-hidratação: imersão dos cortes nas soluções ordenadas a seguir; xilol (10 minutos), xilol (10 minutos), passagem no álcool absoluto, álcool 95%, álcool 85%, álcool 70% e água corrente por 10 minutos.

2-coloração: hematoxilina (30 segundos), água corrente (10 minutos), eosina (20 segundos).

3-desidratação: passagem por álcool 95%, álcool absoluto I, II, III, xilol I e II. Para a montagem das lâminas usou-se bálsamo do Canadá.

Após todo o processamento, as lâminas foram encaminhadas para a microscopia óptica. O software utilizado foi o Image Pro Plus – Sistema de aquisição, armazenamento e impressão de imagens digitalizadas. As imagens foram capturadas em aumento de 100 e 400

vezes. O campo de cada imagem foi calibrado por retículas Leitz Wetzlar.

II.3.7- Análise Estatística

Os dados coletados foram analisados em comparações intergrupos nas condições Pré e Pós-lesão, Reversão 1 e Reversão 2, para o efeito de lesão sobre a resposta de escolha alimentar.

Os dados das latências de escolha foram analisados pela mediana. A porcentagem de escolha correta foi calculada pelo total de respostas corretas dividido pelo total de tentativas nas quais foram registradas ocorrências de respostas. Os dados foram analisados utilizando-se a análise de variância (ANOVA duas vias) e as diferenças foram consideradas significativas para valores de $p < 0,05$. Foram utilizados os testes *post-hoc* Bonferroni e Newman-Keuls para as latências de escolha e o teste Tukey-Kramer para as porcentagens de escolha correta.

III- Resultados

Foram analisados os dados referentes às latências de escolha alimentar e à porcentagem de escolha correta para cada sessão e cada condição dos 3 grupos: Controle, Sham e Experimental.

A Figura 3 mostra a comparação das medianas das latências de escolha entre os grupos Controle, Sham e Experimental em cada uma das condições: Pré-lesão, Pós-lesão, Rev 1 e Rev 2. Observa-se, nas condições Pré-lesão, Pós-lesão e Rev 2, que todos os animais não apresentaram diferença quanto à mediana das latências de escolha. A exceção ocorre para o grupo Experimental na condição Rev 1, onde houve um aumento do valor mediano em relação aos demais grupos e às diferentes condições ($F_{(2,13)} = 3,76, p = 0,051$).

A Figura 4 mostra as medianas das latências de escolha em cada sessão das 4 condições para os 3 grupos. Houve uma diminuição das medianas das latências de escolha entre a 1ª e a 4ª sessões, em cada condição, nos grupos Controle e Sham. Ainda houve um efeito de sessão, com diminuição significativa das latências de escolha, com diferença da 1ª sessão em relação à 3ª e à 4ª sessões, ANOVA ($F_{(2,3)} = 5,79, p < 0,05$), na condição Pré-lesão em todos os grupos. Na condição Pós-lesão também houve um efeito de sessão, com diferença significativa ($F_{(2,3)} = 4,81, p < 0,05$) nos grupos Experimental e Sham, onde a 1ª sessão apresenta um aumento do

valor mediano em relação às demais sessões dessa condição. Já na condição Rev 1, houve um aumento dos valores medianos em todas as sessões para o grupo Experimental. Na condição Rev 2, do grupo Experimental, também observa-se um aumento dos valores medianos, mas apenas na 2ª e na 3ª sessões. Nessa Figura também é observado um efeito de sessão, devido à diferença das medianas das latências da 1ª sessão da condição Rev 1, em relação à 3ª e à 4ª sessões da condição Pós-lesão, para os 3 grupos. A análise estatística mostrou um efeito de condição ($F_{(3,2)} = 5,20$, $p = 0,004$), que pode ser devida ao aumento de latências observados na condição Rev 1, para os 3 grupos. Também mostrou um efeito de sessão ($F_{(3,2)} = 3,12$, $p = 0,05$), relacionado com a diminuição das latências entre a 1ª e a 4ª sessões. Isso é observado mais claramente para os grupos Controle e Sham.

A Figura 5 mostra a porcentagem de escolhas corretas, erros e omissões de escolha dos 3 grupos nas 4 condições experimentais. Nessa figura observa-se um efeito de condição ($F_{(3,2)} = 14,64$, $p = 0,000002$), para os 3 grupos, devido à diminuição da porcentagem de escolha correta na condição Rev 1.

A Figura 6 (A e C) mostra fotomicrografias focalizando regiões do CP de um pombo controle de lesão (perfusão 24 horas após a lesão), e os hemisférios contralaterais sem lesão (B e D). A eficácia da

lesão foi confirmada pela alteração do neurópilo, pela presença de neurônios em degeneração e presença de glia e hemácias.

As alterações do tecido nervoso, detectadas 16 dias após a lesão, podem ser visualizadas nas Figuras 7 e 8, comparando-se as fotomicrografias do dois hemisférios de um pombo experimental, com lesão no CP (Figuras 7C e D e 8C e D) e de um pombo controle sem lesão (Figuras 7A e B e 8A e B). No hemisfério lesado (Figuras 7C e 8C) evidencia-se presença de glia, escassez no número de neurônios e aumento no número de vasos comparados ao hemisfério contralateral (7D e 8D) e às fotomicrografias do animal controle. Na Figura 8 são apresentados os mesmos resultados num maior aumento.

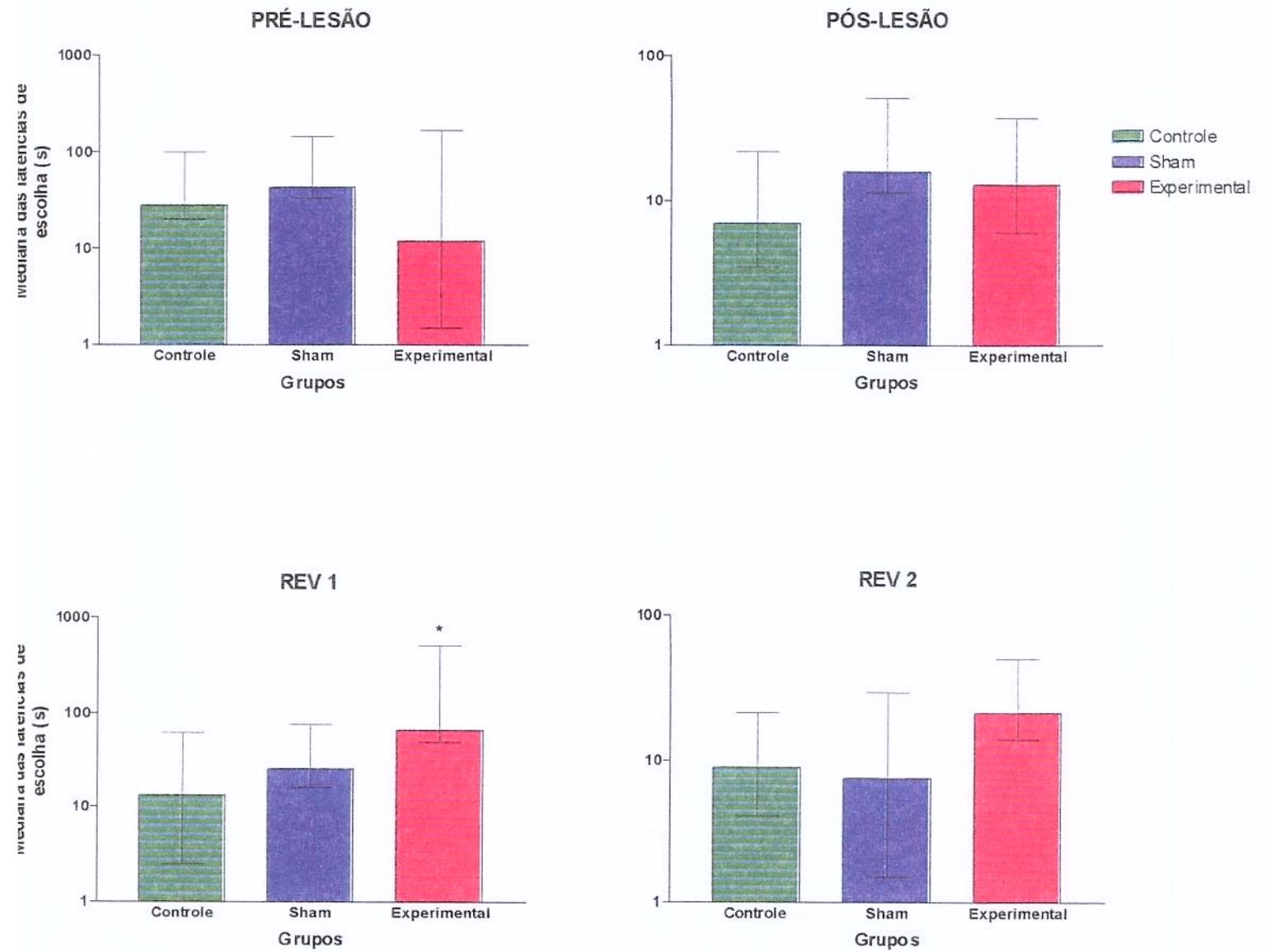


Figura 3: Comparação das medianas das latências de escolha, em segundos (log 10), entre os grupos Controle, Sham e Experimental, nas 4 sessões, em cada uma das condições experimentais: Pré-lesão, Pós-lesão, Rev 1 e Rev 2.

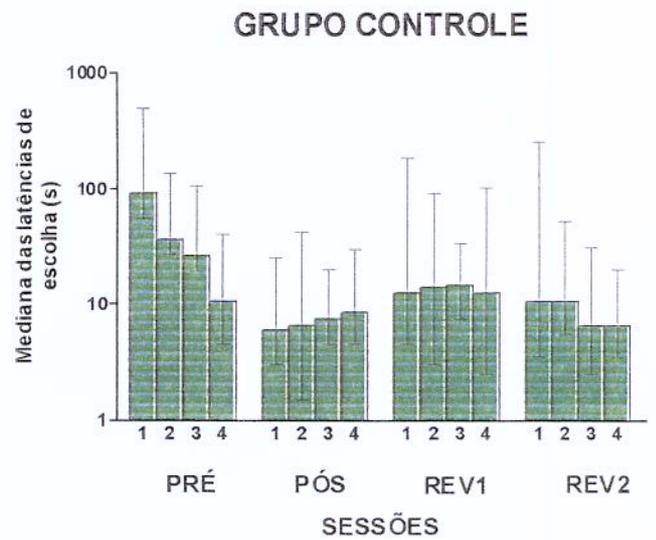
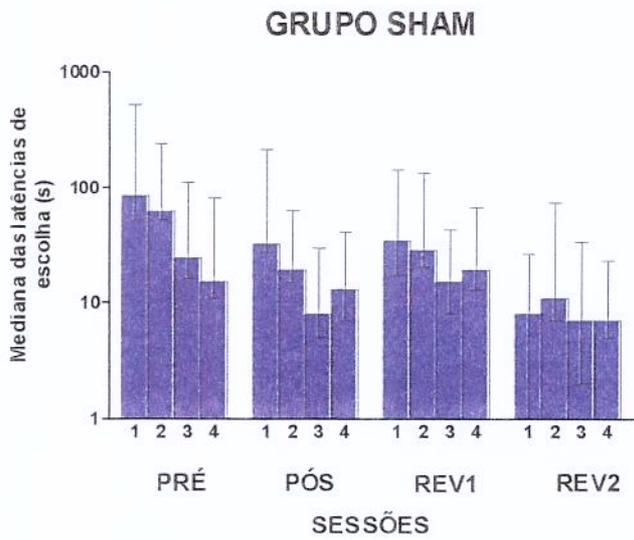
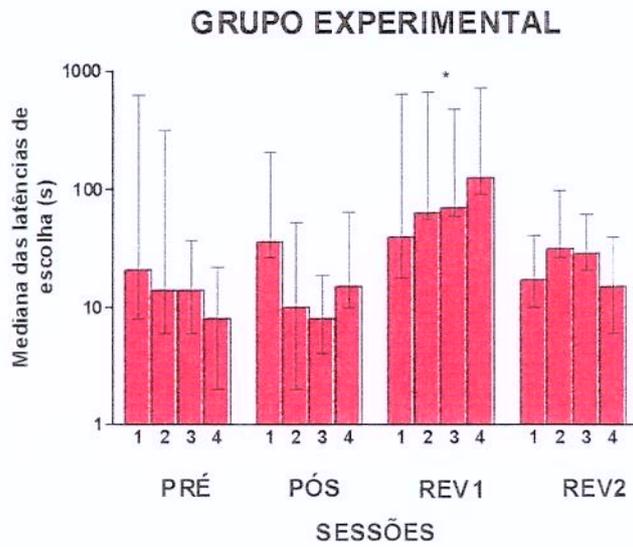


Figura 4: Medianas das latências de escolha, em segundos (log 10), em cada sessão das condições Pré-lesão, Pós-lesão, Rev 1 e Rev 2 para os grupos Experimental, Sham e Controle.

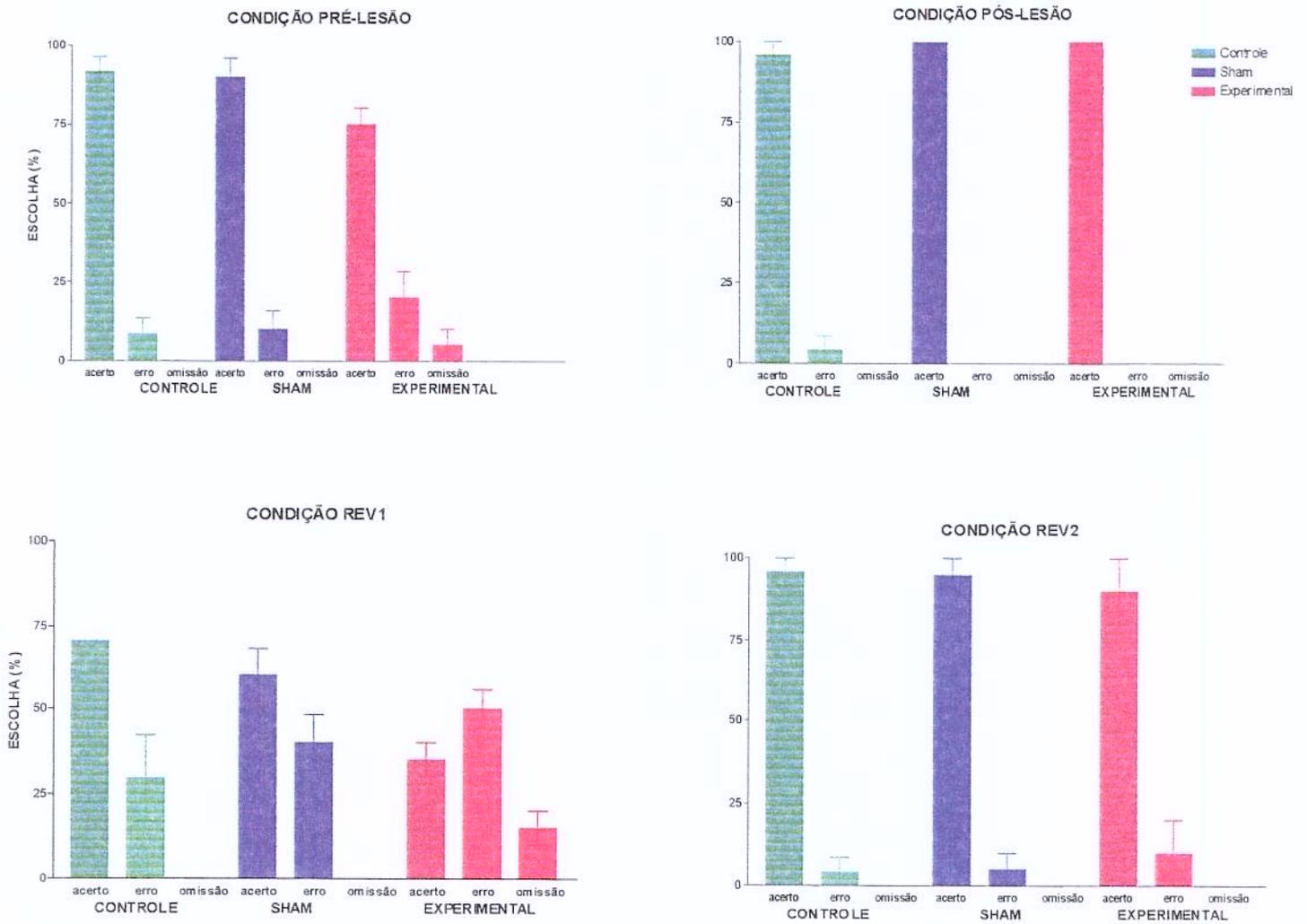


Figura 5: Porcentagem de escolhas corretas, erros e omissões de escolha dos grupos Controle, Sham e Experimental, nas 4 condições experimentais.

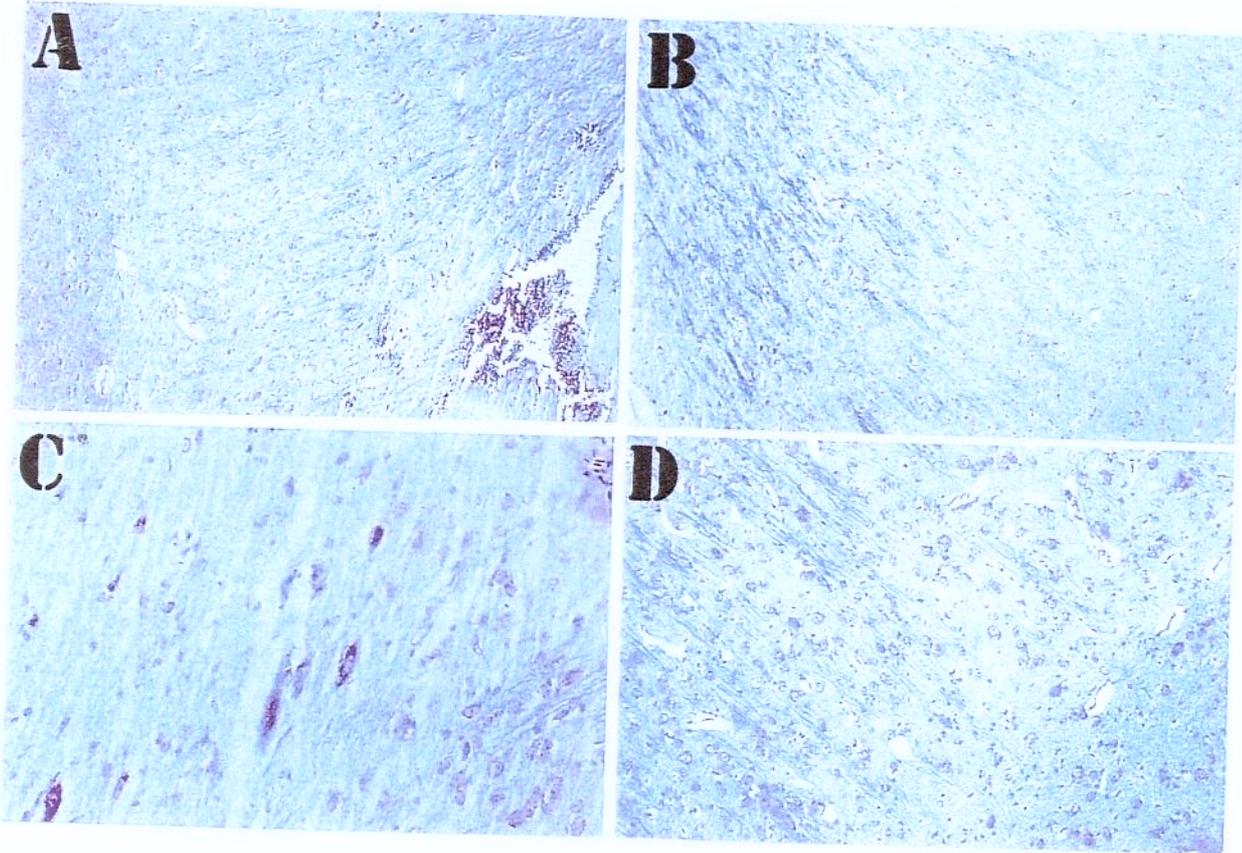


Figura 6: Fotomicrografias mostrando detalhes de regiões do Complexo Paleoestriatal no hemisfério onde ocorreu a lesão (A e C), e no hemisfério contralateral (B e D), em um pombo controle de lesão que foi perfundido 24h após a lesão. Coloração das lâminas em Klüver-Barrera. Imagens processadas empregando o Software Image Pro Plus em aumento de 100x (A e B) e 400x (C e D).

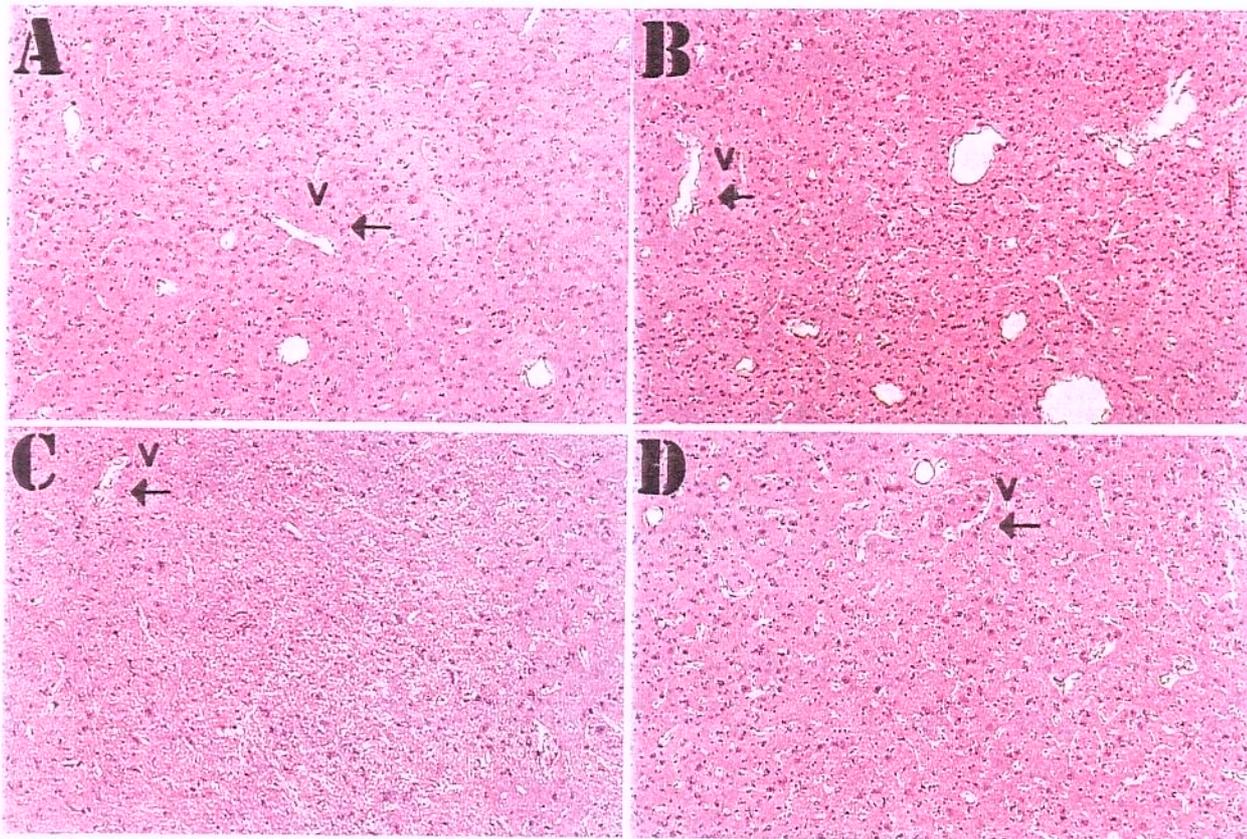


Figura 7: Fotomicrografias mostrando detalhes de regiões do Complexo Paleoestrial em um pombo experimental que foi perfundido 16 dias após a lesão (C e D) e de um pombo controle sem lesão (A e B). As setas indicam vasos (V). Coloração das lâminas em H.E. Imagens processadas empregando o Software Image Pro Plus em aumento de 100x.

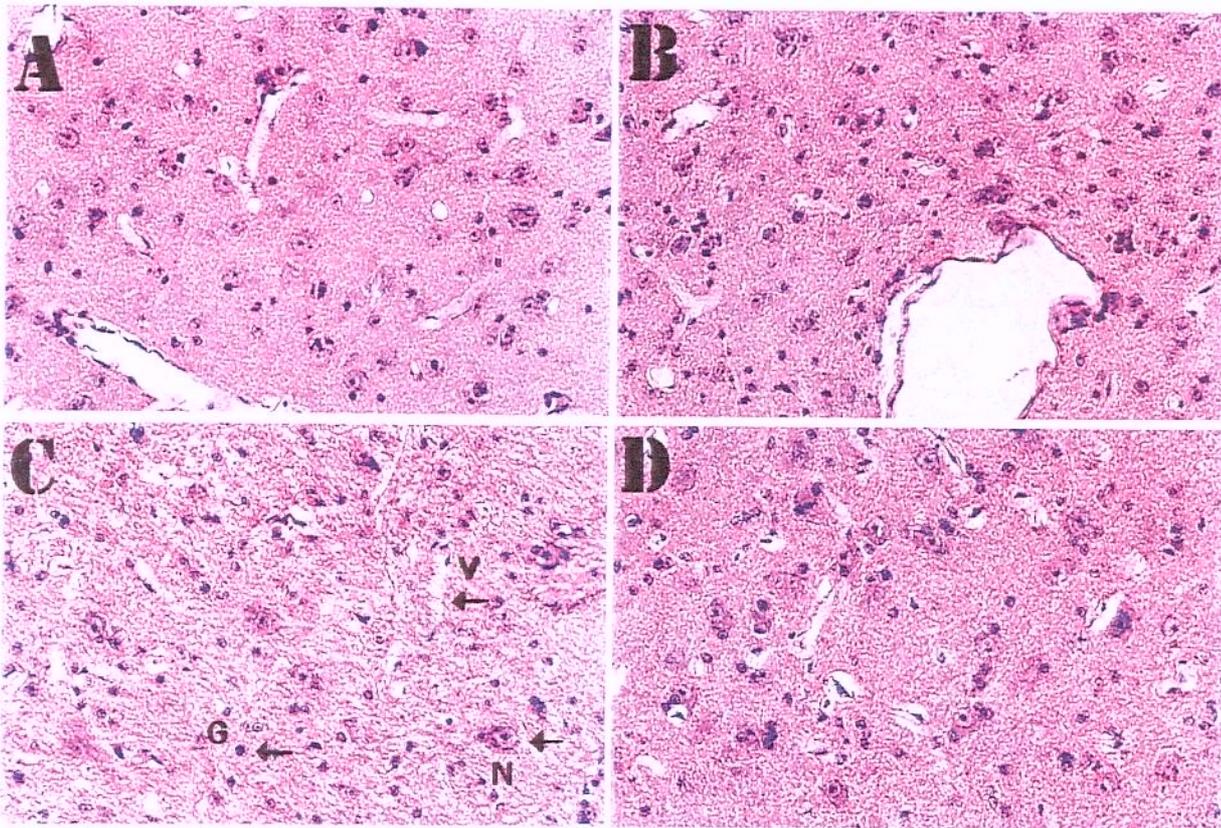


Figura 8: Fotomicrografias mostrando detalhes de regiões do Complexo Paleostriatal em um pombo experimental que foi perfundido 16 dias após a lesão (C e D) e de um pombo controle sem lesão (A e B). As setas indicam neurônios (N), presença de glia (G) e vasos (V). Coloração das lâminas em H.E. Imagens processadas empregando o Software Image Pro Plus em aumento de 400x.

IV - Discussão

No presente trabalho, os resultados obtidos indicaram diferenças significativas com relação à mediana das latências da resposta de escolha alimentar entre os grupos Controle, Sham e Experimental, nas condições Pré-lesão, Pós-lesão e Rev 1. Também foram evidenciadas diferenças nas porcentagens de escolha correta na condição Rev 1, para os 3 grupos.

Na condição Pré-lesão houve uma diminuição das latências de escolha, observada para os 3 grupos, da 1ª sessão em relação à 3ª e à 4ª sessão. Esse resultado indica que todos os animais aprenderam a resposta de escolha alimentar. Já na condição Pós-lesão, houve um aumento das latências de escolha na 1ª sessão, para os grupos Sham e Experimental, porém ocorreu diminuição dos valores medianos das latências de escolha ao longo das 4 sessões. Isso poderia ser interpretado como evidência do efeito da cirurgia, para o grupo Experimental, ou do stress da cirurgia para o grupo Sham, na medida que os dois apresentaram resultados semelhantes. Por outro lado, a porcentagem de escolha correta dos grupos Sham e Experimental foi de 100%, não havendo diferença significativa em relação ao grupo Controle. O aumento transitório das latências de escolha para os grupos Sham e Experimental não impediu que eles bicassem corretamente. Isso pode sugerir que a lesão neuroquímica no CP não

afetou a precisão da resposta de escolha, ou seja, o índice de escolhas corretas. Esses resultados também evidenciam que não houve déficit motor relativo ao desempenho analisado. No experimento de TOYODA (1996) também houve um aumento transitório do valor mediano das latências de escolha na 1ª sessão da condição Pós-lesão para o grupo Experimental e o índice de escolha correta manteve-se acima de 90% nessa condição para os grupos Sham e Experimental.

Já na condição Rev 1, apenas o grupo Experimental apresentou um aumento dos valores medianos das latências de escolha alimentar no decorrer das sessões. A porcentagem de acertos nesse grupo, nessa condição, também foi menor em relação aos grupos Controle e Sham. Esse dado indica um efeito da lesão nessa condição, que constitui uma situação de reaprendizagem. Ou seja, a exposição dos animais a um novo arranjo do contexto, colocou o animal numa situação ambiental diferente que resultou no aumento das latências da resposta de escolha. O aumento das latências de escolha alimentar na condição Rev 1, ocorreu devido a uma maior dificuldade desses animais, para estabelecer novas relações entre os estímulos, o que pode explicar também o aumento do número de erros. Em todas as sessões da situação Pré e Pós-lesão, era apresentado um mesmo conjunto de estímulos aos três grupos de animais. As relações entre

esses estímulos que foram aprendidas com o treinamento resultaram num padrão de comportamentos que foi eficiente na situação. Já na condição Rev 1 quando foi apresentado um novo arranjo dos estímulos, ocorreram mudanças nas relações entre eles. Diante desse novo conjunto de informações, os animais reorganizaram as relações anteriores de forma a apresentarem o padrão de comportamento adequado. Nessa condição, o fato dos animais experimentais apresentarem maior latência e maior número de erros pode indicar efeito da lesão no CP em condições de reversão de aprendizagem, ou seja, no estabelecimento de novas relações entre estímulos já conhecidos no contexto funcional.

No experimento de TOYODA (1996), as análises referentes aos valores medianos das latências de escolha na condição Rev 1 mostraram diferença significativa entre os grupos Sham e Experimental, onde o grupo Sham apresentou latências maiores em relação ao grupo Experimental. Isso pode ter relação com o volume de IBO (10 μ l) utilizado nesse estudo que causou danos extensos, lesando um dos núcleos de saída do CP e interferindo na função de todo o circuito. As informações que o CP deveria transmitir para as regiões telencefálicas teriam sido interrompidas, o que teria interferido no novo planejamento do comportamento motor. Por isso, para executar a resposta motora os animais lesados provavelmente

utilizaram as informações da memória já armazenadas em outras regiões. Coerente com esse raciocínio, TOYODA (1996) descreveu a diminuição das latências de escolha nos animais experimentais, mas não nos controles. O aumento das latências nos animais Sham teria, assim, ocorrido pelo fato deles continuarem com as funções do CP integradas com as funções límbicas e corticais para realizar o planejamento e a execução dos movimentos necessários para alcançar o objetivo (escolha do comedouro). Ou seja, a integridade do circuito neural permitia estabelecer relações cognitivas dependentes da integração dos estímulos sensoriais e da resposta motora. Essas funções envolvem, nos mamíferos, os circuitos do SLNB, onde os NB recebem informações da posição corporal, integram essas informações com outras informações sensoriais e facilitam o comportamento motor apropriado (MEDINA & REINER, 1995).

Em nosso experimento, na condição Rev 1, o grupo Experimental também apresentou um aumento nos erros e na omissão de escolha alimentar, quando comparados com os grupos controles e com ele mesmo nas outras condições. Pode-se relacionar essas respostas com o efeito da lesão neuroquímica no CP, interferindo na precisão da escolha alimentar frente a um novo arranjo do contexto. Como foi usado um volume de IBO menor (3 μ l), provocou-se uma lesão mais restrita no CP e evitou-se uma possibilidade de lesão mecânica. Os

dados sugerem que as conexões funcionais do CP ficaram alteradas após a lesão e não foram suficientes para garantir um desempenho com o nível de adequação comparável à condição Pré-lesão.

Na condição Rev 2, o animal retornou à condição de teste já familiar desde a condição Pré-lesão, e o esperado seria uma diminuição das latências de escolha no decorrer das sessões, o que só ocorreu para o grupo Controle. O grupo Experimental mostrou um aumento das latências de escolha na 2ª e na 3ª sessões e o grupo Sham um aumento na 2ª sessão. Essas respostas não tiveram diferenças significativas, evidenciando que o processo de recuperação de uma informação previamente aprendida, não tem relação com a lesão neuroquímica no CP.

No atual experimento a tomada de decisão do animal para atingir o objetivo (aproximar-se do comedouro ou evitá-lo) envolve uma associação de pistas reforçadoras positivas ou negativas. A associação da pista reforçadora, ou seja, o comedouro com alimento, envolve uma cadeia de ligações neurais abrangendo estruturas como o arquiestriado (amígdala), o estriado ventral e o núcleo accumbens. Por meio da atividade dessa rede neural estabelecem-se as associações entre as pistas ambientais e os reforços positivos e negativos, bem como o estabelecimento da seqüência dos passos motores que são requeridos para alcançar o objetivo (GRAY, citado

em GAZZANIGA, 1997). A lesão provocada pela infusão de IBO deve, assim, ter alterado a rede de associações neurais do CP e, conseqüentemente, o comportamento dos animais experimentais.

REYNOLDS *et al.* (2001) observaram que a auto-estimulação intracranial da Substância Negra em ratos tinha efeitos reforçadores no comportamento e produziu potencialização de sinapses córtico-estriatais. O estriado faz conexões com os núcleos de saída dos NB: Globo Pálido interno (GPI) e SNr (parte reticulada). Segundo ROLLS & WILLIAMS (1987), citado em GAZZANIGA (1997), a lista de passos motores contida no núcleo accumbens é traduzida dentro da seqüência de passos sensoriomotores detalhados no caudado-putâmen, sendo associada a conexões talâmicas, palidais e corticais. As conexões dos NB com o sistema límbico relacionam-se com os mecanismos de obtenção de diferentes objetivos do animal (MEDINA & REINER, 1995), podendo sofrer alterações quando a circuitaria é modificada, decorrente da auto-estimulação intracranial ou de lesões neuroquímicas.

No experimento de ANDRÉN *et al.* (1995), o NST de marmotas foi lesado com IBO, provocando distúrbios comportamentais como movimentos anormais em membros, assimetria postural e aumento na atividade locomotora (CROSSMAN *et al.*, 1982; KAFETZOPOULOS & PAPADOULOS, 1983; SCHEEL-KRÜGER, 1986). Em mamíferos o NST

recebe projeções do Globo Pálido externo (Gpe), projetando-se para os núcleos de saída dos NB: Gpi e SNr. As projeções aferentes e eferentes dessas regiões são similares em mamíferos e aves (MEDINA & REINER, 1997), sendo que o NST corresponde ao ALa em aves, o Gpe corresponde ao PP e o Gpi ao INP (BRAUTH *et al.*, 1978; JIAO *et al.*, 2000).

O Gpi de mamíferos é comparável ao INP de pombos. Considerando-se que no presente experimento a lesão foi direcionada ao INP, o objetivo seria causar déficits nas vias de saída desse circuito. As análises histológicas sugeriram que a lesão atingiu o INP e parte do PA.

Assim, pode-se supor que as mesmas relações de circuitaria neural que envolvem o Sistema Límbico - Núcleos da Base (SLNB) em mamíferos, onde os aspectos sensoriais dessa função são integrados no Sistema Límbico e os aspectos motores nos NB, ocorram no CP e áreas límbicas do pombo.

O presente trabalho está assim diretamente relacionado com esses estudos, onde a infusão de IBO no CP provocou lesão e alterações na aprendizagem de reversão. O fato de ter sido feita lesão unilateral pode ter contribuído para que os danos estruturais fossem relativamente amenos e reversíveis. Seria interessante verificar se o efeito de lesões bilaterais seria caracterizado por um maior

comprometimento motor e da aprendizagem nos animais experimentais.

V - Referências Bibliográficas

ALEXANDER, G. E. & CRUTCHER, M. D. Functional Architecture of Basal Ganglia Circuits: Neural Substrates of Parallel Processing. **TINS**, v. 13 (7), p. 266 - 271, 1990.

ALEXANDER, G. E., CRUTCHER, M. D. & DELONG, M. R. Basal Ganglia Thalamocortical Circuits: Parallel substrates for Motor, Oculomotor, "Prefrontal" and "Limbic" Functions. **Brain Res.**, v. 85, p. 119 - 146, 1990.

ANDRÉN, P. E.; LEVIN, E. D.; LIMINGA, U. and GUNNE, L. Behavioral and Neurochemical Consequences of Ibotenic Acid Lesion in the Subthalamic Nucleus of the Common Marmoset. **Brain Research Bull.**, v. 36 (3), p. 301 - 307, 1995.

ANDREWS, J. S.; GRÜTZNER, M. & STEPHENS, D. N. The effects of Ibotenic Acid Lesions of the Basal Forebrain on Visual Discrimination Performance in Rats. **Brain Res. Bull.**, v. 34 (4), p. 407 - 412, 1994.

ARIENS-KAPPERS, C.; HUBERS, G. C. & CROSBY, E. C. The Comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates. Including Man, **Hafner Publ. Co.**, NY, 1967.

- BALLEINE, B. & KILCROSS, S. Effects of Ibotenic Acid Lesions of the Nucleus Accumbens on Instrumental Action. **Behav. Brain Res.**, v. 65, p. 181 - 193, 1994.
- BRAUTH, S. E.; FERGUSON, J. L. & KITT, C. A. Prosencephalic pathways related to the paleoestriatum of the pigeon (*Columba livia*). **Brain Res.**, v. 147, p. 205 - 221, 1978.
- BURES, J.; BURESOVÁ, O. & HUSTON, J. P. Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behaviour. **Elsevier Sci. Publ. B. V.**, Amsterdam, p. 326, 1983.
- CARLSON, N. R. **Physiology of Behavior**. 7 th. ed. Edit. Ally and Bacon, p.1 - 582, 2001.
- CARPENTER, M. & STROMINGER, N. Efferent Fibers of the Subthalamic Nucleus in the Monkeys: A Comparison of the Efferent Projections of the Subthalamic Nucleus, Substantia Nigra and Globus Pallidus. **Am. J. Anat.**, v. 121, p. 41 - 72, 1966.
- CERUTTI, S. M.; FERRARI, E. A. Operant discrimination learning in detelencephalated pigeons (*Columba livia*). **Braz. J. Med. Biol. Res.**,

v. 28 (10), p. 1089 – 95, oct 1995.

COHEN, H. **Neurociência para Fisioterapeutas**. 2ª ed., editora Manole, 2001.

COHEN, D. H. & KARTEN, H. J. The Structural Organization of Avian Brain: na overview. p. 29 - 73. In: Birds, **Brain and Behavior**, GOODMAN, I. J. & SCHEIN, M. , W. Academic Press, NY, p. 273, 1974.

CONNOR, D. J.; LANGLAIS, P. J. and THAL, L. J. Behavioral Impairments After Lesions of the Nucleus Basalis by Ibotenic Acid and Quisqualic Acid. **Brain Res.**, v. 555, p. 84 - 90, 1991.

COYLE, J. T. Excitatory Amino Acids Neurotoxins: Selectivity, specificity and Mechanisms of Action. **Neuroscience. Res. Program Bull.**, v. 19 (4), 1981.

CROSSMAN, A. R.; LATHAM, A.; LONGMAN, D. A.; PATEL, S.; SLATER, P. Motor Dysfunction Induced by application of GABA Antagonists to the Subthalamic Nucleus of Rat Brain. **J. Physiol.**, v. 334, p. 85, 1982.

CROW, T. J. The Relationship between Lesions Site, Dopamine Neurons

and Turning Behavior in the Rat. **Exper. Neurol.**, v. 32, p. 247 - 255, 1971.

DANNA, M. F. & MATOS, M. A. **Ensinando Observação: Uma Introdução**. Edicon, SP, p. 159, 1986.

DAHLSTRÖM, A. & FUXE, K. Evidence for the Existence of Monoamine – Containing Neurons in the Central Nervous System. I - Demonstration of Monoamines in the Cell Bodies of Brain Stem Neurons. **Acta Physiol. Scand.**, v. 62, suppl. 252, p. 1 - 55, 1965.

FERRARI, E. A. M. Mecanismos Neurais de Aprendizagem e Memória em Aves. **Anais V Congresso Brasileiro de Ornitologia**, UNICAMP, Campinas, 1996.

GAZZANIGA, M. S. **The Cognitive Neuroscience**. Cambridge, Mass.: The MIT Press, 1997.

GOLDMAN-RAKIC, P. C. Working Memory and the Mind. **Scientific American**, v. 267 (3), p. 110-117, 1992.

GRAY, J. A. A Model of the Limbic System and Basal Ganglia:

Applications to Anxiety and Schizophrenia. In **The Cognitive Neuroscience**. Gazzaniga, M. S. The MIT Press, London, England, cap. 77, p. 1165 - 1175, 1997.

GRAYBIEL, A. M. The basal ganglia. **TINS**, v. 18 (2), p. 60 - 62, 1995.

GREEN, C. J. Anaesthesia and Analgesia. P. 21 - 301. In: **Laboratory Animals: an Introduction for New Experimenters**. TUFFERY, A. A., John Wiley & Sons Ltd, 1987.

HUTT, S. J. & HUTT, C. **Observação Direta e Medida do Comportamento**. Edusp, SP, cap. 2, 1974.

JIAO, Y.; MEDINA, L.; VEENMAN, C. L.; TOLEDO, C.; PUELLES, L. and REINER, A. Identification of the Anterior Nucleus of the Ansa Lenticularis in Birds as the Homolog of the Mammalian Subthalamic Nucleus. **The Journal of Neuroscience**, v. 20 (18), p. 6998 - 7010, sept 15, 2000.

JUORIO, A. V. & VOGT, M. Monoamines and their metabolites in the avian brain. **J. Physiol.** V. 189, p. 489 - 518, 1967.

KAFETZOPOULOS, E.; PAPADOULOS, G. Turning Behavior After Unilateral Lesion of the Subthalamic Nucleus in the Rat. **Behav. Brain Res.**, v.:8, p. 217 - 223, 1983.

KANDEL, E. R. SCHWARTZ, J. H., JESSEL, T. M. **Principles of Neural Science**, 4 ed., Appleton & Lange, 2000.

KANDEL, E. R. SCHWARTZ, J. H., JESSEL, T. M. **Essentials of Neural Science and Behavior**, Appleton & Lange, 1995.

KANDEL, E. R., SCHWARTZ, J. H. & JESSELL, T. M. **Principles of Neural Science**, 3ª ed., Elsevier, NY, p. 1135, 1991.

KARTEN, H. J. The Organization of the Avian Telencephalon and Some Speculations on the Phylogeny of the Amniote Telencephalon. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 167, p. 164 - 179, 1969.

KARTEN, H. J. & DUBBELDAM, J. L. The organization and projections of the paleostriatal complex of the pigeon (*Columba livia*). **J. Comp. Neurol.**, v. 148, p. 61 - 90, 1973.

KARTEN, H. J.; HODOS, W.; NAUTA, W. J. A. *et al.* Neural connection of

the visual Wulst of the avian telencephalon: experimental studies in the pigeon (*Columba livia*) and owl (*Speotyto cunicularia*). **J. Comp. Neurol.**, v. 150, p. 253 -278, 1973.

KARTEN, H. J. & HODOS, W. **A Stereotaxic of the Brain of the Pigeon (*Columba livia*)**. Johns Hopkins Press, Baltimore, p. 193, 1967.

KOELLE, G. B. The Histochemical Localization of Cholinesterase in the Central Nervous System of the Rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 100, p. 211 – 235, 1954.

KÖHLER, C.; SCHWARCZ, R. & FUXE, K. Intrahippocampal injections of Ibotenic Acid Provide Histological Evidence for a Neurotoxic Mechanism Different from Kainic Acid. **Neuroscience Lett.**, v. 15, p. 223 -228, 1979.

MEDINA, L. & REINER, A. Neurotransmitter Organization and Connectivity of the Basal Ganglia in Vertebrates: Implication for the Evolution of Basal Ganglia. **Brain Behav. Evol.**, v. 46, p. 235 - 258, 1995.

MEDINA, L. & REINER, A. The Efferent Projections of the Dorsal and

Ventral Pallidal Parts of the Pigeon Basal Ganglia, Studied With Biotinylated Dextran Amine. **Neuroscience**, v. 81, n°3, p. 773 - 802, 1997.

PAGE, K. J.; EVERITT, B. J.; ROBBINS, T. W. *et al.* Dissociable Effects on Spatial Maze and Passive Avoidance Acquisition and Retention Following AMPA and Ibotenic Acid-Induced Excitotoxic Lesions of the Basal Forebrain in Rats: Differential Dependence on Cholinergic Neuronal Loss. **Neuroscience**, v. 43 (2/3), p. 457, 1991.

PARENT, A. & OLIVER, A. Comparative Histochemical Study of the Corpus Striatum. **J. Hirnforsch**, v. 12, p. 73 - 81, 1970.

PEARSON, K. **The Avian Brain**. Academic Press, London, 1972.

PORCEDDU, M. L.; PIACENT, B.; MORELLI, M. *et al.* Opposite Turning Effects of Kainic and Ibotenic Acid Injected in the rat Substantia Nigra. **Neuroscience Lett.**, v. 15, p. 271 - 276, 1979.

REYNOLDS, J. N. J.; HYLAND, B. I. & WICKENS, J. R. A Cellular Mechanism of Reward - Related Learning. **Nature**, v. 413 (6), p. 67 - 70, 2001.

- RIEKE, G. K. Movement Disorders and Lesion of the Pigeon Brain Stem Analogues of Basal Ganglia. **Physiol. Behav.**, v. 26, p. 379-384, 1981.
- RIEKE, G. K. Kainic Acid Lesions of Pigeon Paleostriatum: A Model for Study of Movement Disorders. **Physiology & Behavior**, v. 24, p. 683 – 687, 1980.
- ROBBINS, T. W.; EVERITT, J.; RYAN, C. N. *et al.* Comparative Effects of Quisqualic and Ibotenic Acid Induced Lesions of the Substantia Innominata and Globus Pallidus on the Acquisition of a Conditional Visual Discrimination: Differential Effects on Cholinergic Mechanisms. **Neuroscience**, v. 28 (2), p. 337 - 352, 1989.
- ROCHA, A. F. da. **O cérebro - Um breve relato de seu funcionamento.** Jundiaí - SP, 1999.
- ROLLS, E. T. and WILLIAMS, G. V. Sensory and Movement Related Neuronal Activity in Different Regions of the Primate Striatum, 1987. In **The Cognitive Neuroscience**. Gazzaniga, M. S. The Mit Press, London, England, cap. 77, p. 1165 - 1175, 1997.

SAWAMURA, A.; HASHIZIME, K.; YOSHIDA, K. and TANAKA, T. Kainic Acid-Induced Substantia Nigra Seizure in Rats: Behavior, EEG and Metabolism. **Brain Research**, v. 911, p. 89 - 95, 2001.

SCHEEL-KRÜGER, J. Dopamine-GABA Interactions: Evidence that GABA Transmits Modulates and Mediates Dopaminergic Functions in the Basal Ganglia and the Limbic System. **Acta Neurol. Scand.**, v. 73 (Suppl. 107), p. 1- 49, 1986.

SCHWARCZ, R. & COYLE, J. T. Striatal Lesion With Kainic Acid: Neurochemical Characteristics. **Brain Res.**, v. 127, p. 235 - 249, 1977.

SETLOW, B. and MCGAUGH, J. L. Involvement of the Posteroventral Caudate- Putamen in Memory Consolidation in the Morris Water Maze. **Neurobiol. of Learning and Memory**, v. 71, p. 240 - 247, 1999.

SILBERGELD, E. K. & HRUSKA, R. E. Tremor: Role of Striatal Cholinergic Neurons and the Effect of Intrastratial Kainic Acid. **Neuroscience Lett.**, v. 15, p. 235 - 242, 1979.

SKINNER, B. F. The Behavior of Organisms. New York: Appleton - Century Crofts, 1938. In: FERRARI, E. A. M. Mecanismos Neurais de

Aprendizagem e Memória em Aves. **Anais V Congresso Brasileiro de Ornitologia**, UNICAMP, Campinas, 1996.

SKINNER, B. F. Selection by consequences. *Science*, v. 213, p. 501-504, 1981. In: FERRARI, E. A. M. Mecanismos Neurais de Aprendizagem e Memória em Aves. **Anais V Congresso Brasileiro de Ornitologia**, UNICAMP, Campinas, 1996.

STADDON, J. E. R. *Adaptative behavior and learning*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1983. In: FERRARI, E. A. M. Mecanismos Neurais de Aprendizagem e Memória em Aves. **Anais V Congresso Brasileiro de Ornitologia**, UNICAMP, Campinas, 1996.

STEWART, M. G.; KABAI, P.; HARRISON, E.; STEELE, R. J.; KOSSUT, M.; GIERDALSKI, M. and CSILLAG, A. The Involvement of Dopamine in The Striatum in Passive Avoidance Training in the Chick. **Neuroscience**, v. 70, nº1, p. 7 - 14, 1996.

TIMBERLAKE, W. Behavior Systems and reinforcement: na integrative approach. *Journal of the experimental analysis os Behavior*, v 60, p. 105 - 128, 1993. In: FERRARI, E. A. M. Mecanismos Neurais de Aprendizagem e Memória em Aves. **Anais V Congresso Brasileiro**

de Ornitologia, UNICAMP, Campinas, 1996.

TOYODA, M. S. S. **Efeitos de Lesões Neuroquímicas unilaterais no Complexo Paleoestrial em Pombos (*Columba livia*): Correlatos Comportamentais e Morfológicos**. Universidade de Campinas – UNICAMP. Campinas - SP, 1996.

WAYNFORTH, H. B. caps. 11 e 15: In: **Laboratory Animals: an Introduction for New Experimenters**. TUFFERY, A. A., John Wiley & Sons, NY, p. 342, 1987.

VI - Anexos

Tabela I: Média e Mediana das latências de escolha, em seg., do grupo Controle, nas condições PRÉ, PÓS, REV 1 e REV 2

		SUJEITOS GRUPO CONTROLE						
Condições	Sessões	991 Latência	992 Latência	995 Latência	1020 Latência	1030 Latência	1050 Latência	
PRÉ	1	102	170	82	36	402	50	
	2	54	62	9	9	103	17	
	3	17	81	7	23	30	29	
	4	10	30	6	23	11	10	
	Média	45,75	85,75	26	22,75	136,5	26,5	
	Mediana	35,5	71,5	8	23	66,5	23	
PÓS	1	4	19	3	3	8	12	
	2	6	36	5	5	7	10	
	3	6	11	3	8	12	7	
	4	9	10	4	5	8	21	
	Média	6,25	19	3,75	5,25	8,75	12,6	
	Mediana	6	15	3,5	5	8	11	
VER 1	1	10	16	14	8	173	11	
	2	16	11	11	12	78	31	
	3	9	17	7	14	19	15	
	4	14	11	10	90	22	10	
	Média	12,25	13,75	10,6	31	73	16,75	
	Mediana	12	13,5	10,5	13	50	13	
VER 2	1	7	9	246	24	8	12	
	2	17	9	6	5	12	43	
	3	24	6	4	5	7	7	
	4	8	5	13	3	9	5	
	Média	14	7,25	67,25	9,25	9	16,75	
	Mediana	12,6	7,5	9,5	5	8,5	9,5	

Tabela II: Média e Mediana das latências de escolha, em seg., do grupo Sham, nas condições PRÉ, PÓS, REV 1 e REV 2

SUJEITOS GRUPO SHAM						
Condições	Sessões	993 Latência	1024 Latência	1025 Latência	1051 Latência	1052 Latência
PRÉ	1	32	85	76	435	144
	2	10	13	123	179	63
	3	8	18	87	24	24
	4	10	66	44	15	4
	Média	16	46,5	82,5	163,25	58,75
	Mediana	10	42	81,5	101,5	43,5
PÓS	1	32	17	112	183	5
	2	10	28	19	45	4
	3	7	9	8	21	3
	4	12	28	13	26	6
	Média	15,25	20,5	38	68,75	4,5
	Mediana	11	22,5	16	35,5	4,5
VER 1	1	17	34	76	109	31
	2	11	107	54	28	8
	3	10	15	28	24	7
	4	6	32	49	19	12
	Média	11	47	51,75	45	14,5
	Mediana	10,5	33	51,5	26	10
VER 2	1	8	9	7	18	8
	2	63	11	5	42	4
	3	5	17	7	26	6
	4	7	12	2	16	6
	Média	20,75	12,25	6,25	25,6	6
	Mediana	7,5	11,5	6	22	6

Tabela III: Média e Mediana das latências de escolha, em seg., do grupo Experimental, nas condições PRÉ, PÓS, REV 1 e REV 2

SUJEITOS GRUPO EXPERIMENTAL						
Condições	Sessões	1053 Latência	1054 Latência	1055 Latência	1056 Latência	1057 Latência
PRÉ	1	44	20	600	21	13
	2	20	14	300	8	11
	3	23	8	17	12	14
	4	14	8	6	9	6
	Média	25,25	12,5	230,75	12,5	11
	Mediana	21,5	11	158,5	10,5	12
PÓS	1	36	15	169	9	36
	2	43	9	8	10	15
	3	10	11	6	4	8
	4	15	50	5	5	15
	Média	26	21,25	47	7	18,5
	Mediana	25,5	13	7	7	16
REV 1	1	38	47	600	22	40
	2	64	207	600	7	10
	3	70	407	286	10	25
	4	255	600	124	47	32
	Média	106,75	316,25	402,5	21,5	26,75
	Mediana	67	307	443	16	28,5
REV 2	1	24	18	10	7	17
	2	37	32	66	5	25
	3	33	33	29	8	25
	4	15	9	14	25	16
	Média	27,25	23	29,75	11,25	20,75
	Mediana	28,5	25	21,5	7,5	21

Tabela IV: Escolha Correta, Incorreta e Omissão de escolha dos comedouros emitidas pelo grupo Controle nas condições PRÉ e PÓS

		GRUPO CONTROLE - CONDIÇÃO PRÉ					
		POMBO 991			POMBO 992		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		
		POMBO 995			POMBO 1050		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4			1		1		
		POMBO 1020			POMBO 1030		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2			1		1		
3		1			1		
4		1			1		
		GRUPO CONTROLE - CONDIÇÃO PÓS					
		POMBO 991			POMBO 992		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3			1		1		
4		1			1		
		POMBO 995			POMBO 1050		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		
		POMBO 1020			POMBO 1030		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		

Tabela V: Escolha Correta, Incorreta e Omissão de escolha dos comedouros emitidas pelo grupo Controle nas condições REV1 e REV2

		GRUPO CONTROLE - CONDIÇÃO REV 1			GRUPO CONTROLE - CONDIÇÃO REV 2		
		POMBO 991			POMBO 992		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1			1			1	
2	1					1	
3	1					1	
4			1			1	
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 995			POMBO 1050		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1			1			1	
2			1		1		
3	1				1		
4	1				1		
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 1020			POMBO 1030		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1			1			1	
2	1					1	
3			1			1	
4	1					1	
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 991			POMBO 992		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1					1	
2	1					1	
3	1					1	
4	1					1	
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 995			POMBO 1050		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1					1	
2	1					1	
3	1					1	
4	1					1	
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 1020			POMBO 1030		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1					1	
2	1					1	
3			1			1	
4	1					1	
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão

Tabela VI: Escolha Correta, Incorreta e Omissão de escolha dos comedouros emitidas pelo grupo Sham nas condições PRÉ e PÓS

GRUPO SHAM - CONDIÇÃO PRÉ									
POMBO 993			POMBO 1024						
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão			
1	1			1					
2	1			1					
3	1			1					
4	1			1					

GRUPO SHAM - CONDIÇÃO PRÉ									
POMBO 1025			POMBO 1052						
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão			
1	1			1					
2		1		1					
3		1		1					
4	1			1					

GRUPO SHAM - CONDIÇÃO PRÉ									
POMBO 1051									
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão						
1	1								
2	1								
3	1								
4	1								

GRUPO SHAM - CONDIÇÃO PÓS									
POMBO 993			POMBO 1024						
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão			
1	1			1					
2	1			1					
3	1			1					
4	1			1					

GRUPO SHAM - CONDIÇÃO PÓS									
POMBO 1025			POMBO 1052						
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão			
1	1			1					
2		1		1					
3		1		1					
4	1			1					

GRUPO SHAM - CONDIÇÃO PÓS									
POMBO 1051									
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão						
1	1								
2	1								
3	1								
4	1								

Tabela VII: Escolha Correta, Incorreta e Omissão de escolha dos comedouros emitidas pelo grupo Sham nas condições REV 1 e REV 2

		GRUPO SHAM - CONDIÇÃO REV 1					
		POMBO 993			POMBO 1024		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1			1		1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		

		POMBO 1025			POMBO 1052		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1				1	
2		1				1	
3		1				1	
4		1			1		

		POMBO 1051		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão
1			1	
2			1	
3			1	
4			1	

		GRUPO SHAM - CONDIÇÃO REV 2					
		POMBO 993			POMBO 1024		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4			1		1		

		POMBO 1025			POMBO 1052		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		

		POMBO 1051		
Sessões		Correto	Incorreto	Omissão
1		1		
2		1		
3		1		
4		1		

Tabela VIII: Escolha Correta, Incorreta e Omissão de escolha dos comedouros emitidas pelo grupo Experimental nas condições PRÉ e PÓS

		GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO PRÉ					
		POMBO 1053			POMBO 1054		
Sessões							
1		1			1		
2		1			1		
3		1				1	
4		1				1	
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 1055			POMBO 1056		
Sessões							
1				1	1		
2		1				1	
3			1		1		
4		1			1		
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 1057					
Sessões							
1		1					
2		1					
3		1					
4		1					
		Correto	Incorreto	Omissão			
		GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO PÓS					
		POMBO 1053			POMBO 1054		
Sessões							
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 1055			POMBO 1056		
Sessões							
1		1			1		
2		1			1		
3		1			1		
4		1			1		
		Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
		POMBO 1057					
Sessões							
1		1					
2		1					
3		1					
4		1					
		Correto	Incorreto	Omissão			

Tabela IX: Escolha Correta, Incorreta e Omissão de escolha dos comedouros emitidas pelo grupo Experimental nas condições REV 1 e REV 2

GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO REV 1						
POMBO 1053			POMBO 1054			
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1		1			1	
2		1		1		
3	1				1	
4		1				1

GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO REV 1						
POMBO 1055			POMBO 1056			
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1			1	1		
2			1		1	
3		1			1	
4	1				1	

GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO REV 1						
POMBO 1057						
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1					
2		1				
3	1					
4	1					

GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO REV 2						
POMBO 1053			POMBO 1054			
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1			1		
2	1			1		
3	1			1		
4	1			1		

GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO REV 2						
POMBO 1055			POMBO 1056			
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1			1		
2	1				1	
3	1			1		
4	1			1		

GRUPO EXPERIMENTAL - CONDIÇÃO REV 2						
POMBO 1057						
Sessões	Correto	Incorreto	Omissão	Correto	Incorreto	Omissão
1	1					
2		1				
3	1					
4	1					