

## INTRODUÇÃO

A consolidação da memória é um processo no qual uma informação lábil, recém-adquirida, torna-se estável ao longo do tempo. Consiste de um conjunto complexo de reações bioquímicas e moleculares interdependentes que podem ser moduladas por diferentes neurotransmissores, como por exemplo, a histamina (HA), que é sintetizada a partir do aminoácido histidina através da histidina-descarboxilase (HDC), enzima que está presente apenas nos neurônios do núcleo tuberomamilar do hipotálamo, os quais se projetam para diversas estruturas cerebrais, tais como o hipocampo, a amígdala basolateral (BLA) e o córtex pré-frontal, que estão diretamente relacionadas com a consolidação de memórias.

## OBJETIVO

Verificar a participação da histamina endógena na formação da memória de esquia inibitória (EI).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### ANIMAIS E CIRURGIA:

Foram utilizados ratos *Wistar* machos (3 meses de idade, 300-330 g), mantidos em um ciclo claro/escuro de 12/12 horas com comida e água ad libitum. Estes foram alojados em caixas plásticas especiais com capacidade para 4 animais. Antes da cirurgia estereotáxica os animais foram previamente anestesiados com uma mistura de ketamina (75 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) administrados intraperitonealmente. Os animais foram submetidos a cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guia nas seguintes regiões alvo do estudo: ventrículo lateral (LV), região CA1 do hipocampo dorsal e amígdala basolateral (BLA); segundo as coordenadas do Atlas de Paxinos e Watson.

### TAREFA DE ESQUIVA INIBITÓRIA (EI):

O aparato consiste de uma caixa de madeira (50 x 25 x 25 cm) com uma plataforma de 5 cm de altura por 7 cm de largura. O assoalho do aparelho é feito de barras de bronze paralelas, espaçadas 0,8 mm entre as mesmas. Durante a sessão de treino os animais foram cuidadosamente colocados sobre a plataforma elevada e, quando desceram com as 4 patas no assoalho receberam um estímulo elétrico (0,5 mA por 2 s), sendo imediatamente recolocados nas caixas moradia. Para testar a retenção da memória aversiva, após 2 h, 24 h ou 7 dias os animais foram recolocados na plataforma, onde os procedimentos foram idênticos àqueles empregados na sessão de treino, exceto pela ausência de estímulo elétrico. Em todas as sessões (treino e teste) foram cronometradas as latências de descida da plataforma com as 4 patas no assoalho como variável (medida de memória), e o tempo limite foi de 300 s para a sessão de teste.

### TRATAMENTO FARMACOLÓGICO:

As infusões foram realizadas imediatamente ou 110 min (na BLA) e imediatamente, 110 min, 3 h ou 6 h (na região CA1 do hipocampo dorsal), após a sessão de treino. As drogas utilizadas foram a histamina (1 µg/µL; neurotransmissor do SNC), 8Br-cAMP (8-bromoadenosina 3',5'-cAMP; 1,25 µg/µL; que promove fosforilação do CREB) e a-FMHs (a-fluorometilhistidina; 5 µg/µL; inibidor da enzima HDC). O volume de drogas infundido foi de 0,5 µL/lado na BLA e 1 µL/lado na região CA1 do hipocampo dorsal e no LV. Grupos controles receberam volumes iguais de salina estéril (0,9 %).

### EXPERIMENTOS DE MICRODIÁLISE:

Os efeitos do a-FMHs sobre a liberação de histamina cerebral foram avaliados em ratos implantados com sondas de microdiálise.

### ANÁLISE DE WESTERN BLOTTING:

Os animais foram eutanasiados 10 min ou 5 h depois da sessão de treino, o cérebro foi dissecado, e a amígdala e CA1 foram imediatamente isolados. Para cada amostra, a razão da densidade de p(Ser133) CREB/CREB foi calculada (ou seja, indicando a quantificação da proteína CREB fosforilada), e, em seguida, todas as razões individuais foram expressas como uma porcentagem da média das razões obtidas a partir do grupo controle.

## RESULTADOS | FIGURA 1

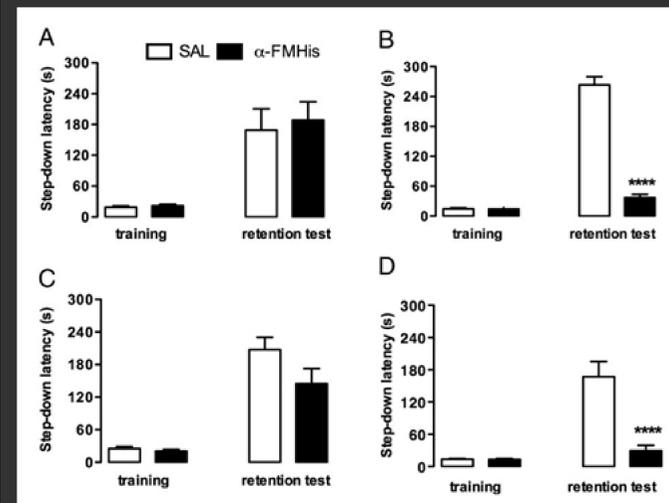


Figura 1. Efeito da depleção aguda de HA através da administração de a-FMHs na tarefa de EI. Os animais implantados com uma cânula de infusão no LV receberam a-FMHs ou solução salina (SAL) 24 h antes da sessão de treino. O teste de retenção foi realizado 2 h (A), 24 horas (B), ou 7 d (C) após a sessão de treino. As latências dos grupos a-FMHs não diferiram significativamente dos respectivos controles no teste de retenção de 2 h e 7 d, mas foram significativamente menores no teste de retenção de 24 h. (n = 8-15, teste t não pareado, \*\*\*\* P < 0,0001 vs. controles). (D) Foi infundido a-FMHs ou SAL no LV 24 h antes e 2 e 6 d após a sessão de treino. As latências do grupo a-FMHs foram significativamente menores no teste de retenção de 7 d. (n = 12-15, teste t não pareado, \*\*\*\* P < 0,0001 vs. controles). Os dados estão expressos como médias ± SEM.

## RESULTADOS | FIGURA 2

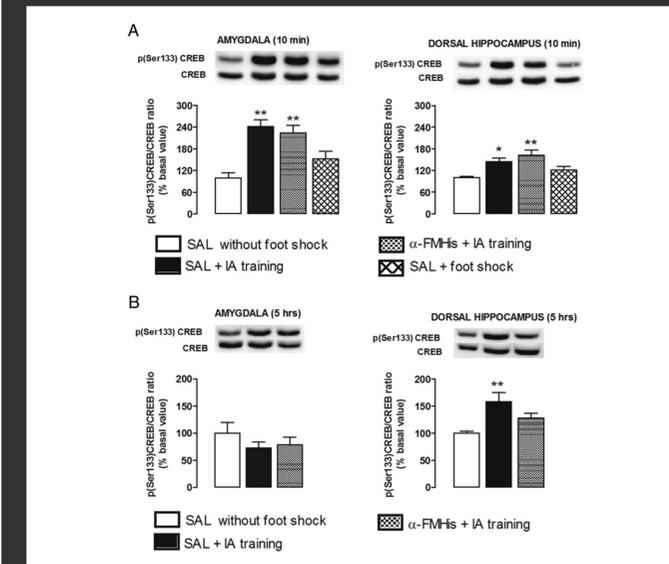


Figura 2. Efeito da depleção HA no aumento da fosforilação de CREB induzido pela sessão de treino de EI na amígdala e CA1 dos animais. Os animais foram implantados com uma cânula de infusão no LV. (A) *Immunoblots* representativos e quantificação densitométrica mostraram que em 10 min após a sessão de treino a razão pCREB/CREB foi aumentada na amígdala e CA1 de todos os ratos submetidos a sessão de treino de EI, independentemente de ter recebido solução salina ou a-FMHs (n = 3-5). (B) 5 h após a sessão de treino, a razão pCREB/CREB aumentou apenas em CA1 de ratos infundidos com SAL. (n = 3-7, ANOVA de uma via e MCT de Bonferroni, \* P < 0,05, \*\* P < 0,01 vs. controles). Os dados estão expressos como médias ± SEM.

## RESULTADOS | FIGURA 3

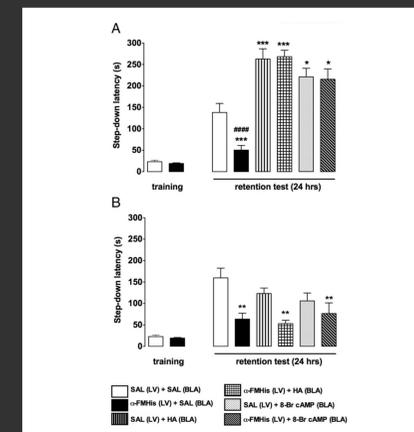


Figura 3. Efeito da infusão de HA ou 8BR-cAMP na BLA sobre a amnésia da sessão de treino de EI induzida por a-FMHs. Os animais foram implantados com cânulas no LV e na BLA bilateralmente. Os animais que receberam solução salina em ambos LV e BLA serviram como controles. O teste de retenção foi realizado 24 h após a sessão de treino. (A) HA, 8BR-cAMP, ou SAL foi bilateralmente infundido na BLA imediatamente após a sessão de treino. (n = 9-15, \* P < 0,05, \*\*\* P < 0,001 vs. controles, ##### P < 0,0001 vs. "a-FMHs (LV) + HA (BLA)" e "a-FMHs (LV) + (8BR-cAMP BLA)", ANOVA de uma via, e MCT de Bonferroni. (B) HA, 8BR-cAMP, ou SAL foi bilateralmente infundida na BLA 110 min após a sessão de treino. (n = 8-24, ANOVA de uma via e MCT de Bonferroni, \*\* P < 0,01 vs. controles). Os dados estão expressos como médias ± SEM.

## RESULTADOS | FIGURA 4

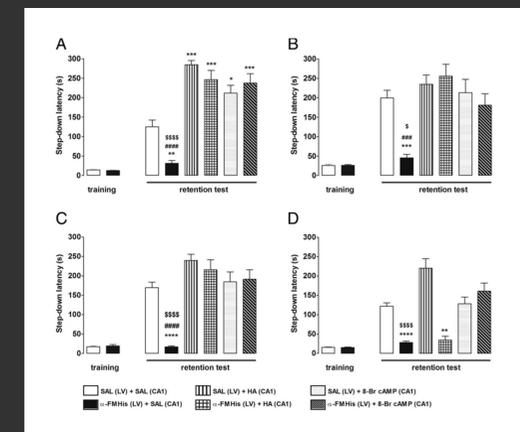


Figura 4. Efeito da infusão de HA ou 8BR-cAMP na região CA1 do hipocampo sobre a amnésia da sessão de treino de EI induzida por a-FMHs. Os animais foram implantados com cânulas no LV e em CA1 bilateralmente. Os animais que receberam solução salina em ambos LV e CA1 serviram como controles. O teste de retenção foi realizada 24 h após a sessão de treino. HA, 8BR-cAMP, ou SAL foi bilateralmente infundido em CA1. (A) Imediatamente após a sessão de treino. (n = 10-12, \* P < 0,05, \*\* P < 0,01, \*\*\* P < 0,001, \*\*\*\* P < 0,0001 vs. controles, ##### P < 0,0001 vs. "a-FMHs (LV) + HA (CA1)" \$\$\$\$ P < 0,0001 vs. "a-FMHs (LV) + 8BR-cAMP (CA1)". (B) 110 min após a sessão de treino. (n = 7-19, \*\*\*\* P < 0,001 vs. controles, ### P < 0,001 vs. "a-FMHs (LV) + HA (CA1)", \$ P < 0,05 vs. "a-FMHs (LV) + 8BR-cAMP (CA1)". (C) 6 h após a sessão de treino. (n = 11-17, \*\*\*\* P < 0,0001 vs. controles, ##### P < 0,0001 vs. "a-FMHs (LV) + HA (CA1)", \$\$\$\$ P < 0,0001 vs. "a-FMHs (LV) + 8BR-cAMP (CA1)". (D) 12 h após a sessão de treino. (n = 11-17, ANOVA de uma via e MCT de Bonferroni, \*\* P < 0,01, \*\*\*\* P < 0,0001 vs. controles, \$\$\$\$ P < 0,0001 vs. "a-FMHs (LV) + 8BR-cAMP (CA1)". Os dados estão expressos como médias ± SEM.

## APOIO FINANCEIRO

## CONCLUSÃO

Estes resultados indicam que o sistema histaminérgico compreende vias paralelas que fornecem plasticidade compensatória quando a histamina está deplecionada, além de ser necessário para a consolidação da memória de esquia inibitória.