

SENSIBILIDADE DO LABIRINTO RADIAL AVERSIVO PARA DETECTAR ALTERAÇÕES DE APRENDIZAGEM E MEMÓRIA EM RATOS IDOSOS

Luana Yukari Chinen (PIBIC/CNPq), Daniela Velasquez de Oliveira, Rúbia Maria Weffort de Oliveira, Humberto Milani (Orientador), e-mail: hmilani@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Farmacologia e Terapêutica/
Maringá, PR.

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS II - NEUROPSICOFARMACOLOGIA

Palavras-chave: memória, labirinto radial aversivo, ratos idosos.

Resumo:

O labirinto radial aversivo (LRA) tem se mostrado bastante sensível para detectar os déficits de aprendizagem e memória em ratos jovens submetidos à isquemia cerebral aguda ou crônica. No presente estudo objetivamos avaliar se o LRA seria sensível para detectar déficits de memória em ratos idosos intactos (normais). Em caso positivo, o LRA poderá ser útil para avaliar os efeitos de drogas ou fármacos em melhorar as funções cognitivas em animais idosos. Ratos jovens e idosos foram treinados para aprenderem a localização espacial da zona de recompensa (esconderijo), cuja localização (L) espacial foi mantida constante (L1) durante todo o treino. Uma semana após, a habilidade dos animais para lembrar a localização L1 foi testada. Em semanas subsequentes, os animais foram testados novamente, porém, com a localização do esconderijo sendo alterada aleatoriamente (L2, L3 e L4). Durante a fase de treinamento, ambos os grupos aprenderam a tarefa do LRA, porém os idosos foram mais lentos comparados aos jovens. Durante a fase de testes para memória retrógrada, ambos os grupos tiveram desempenho semelhante quando a posição do esconderijo foi a mesma daquela utilizada durante o treino (L1). Nos testes subsequentes, entretanto, quando as posições do esconderijo foram sucessivamente alteradas (L2, L3, L4), a capacidade dos ratos idosos para encontrar o esconderijo foi prejudicada, comparado ao grupo jovem. Portanto, o LRA foi sensível para detectar déficits de memória em ratos idosos, e poderá ser útil para estudar os efeitos de drogas em melhorar a função cognitiva que se deteriora ao longo do envelhecimento.

Introdução

Em modelos animais de aprendizagem e memória espacial, os testes do labirinto aquático de Morris ('Morris's water maze') e o labirinto radial de 8-braços têm sido os mais utilizados. Classicamente, o teste do labirinto radial requer que o animal seja privado de comida por cerca de 24 horas para que o mesmo seja motivado a realizar a tarefa (isto é, encontrar o local onde está a comida). Recentemente nós introduzimos uma versão modificada do labirinto radial de 8-braços. Tal modificação leva em conta o comportamento natural do rato em se

esquivar de um ambiente amplamente aberto e iluminado (aversivo) para procurar por um ambiente que lhe pareça mais seguro, ou seja, um lugar estreito e escuro (esconderijo). Com base nisso, nós desenvolvemos a versão aversiva do labirinto radial, ou labirinto radial aversivo (LRA) (Paganelli et al., 2004). Em contraste ao modelo clássico (modelo apetitivo), a vantagem do LRA é a não necessidade de privação alimentar dos animais. Por outro lado, diferentemente do labirinto aquático de Morris, no LRA o animal não precisa ser imerso em água. Em estudos anteriores mostramos que o LRA é bastante sensível para detectar os prejuízos de aprendizagem e memória em ratos submetidos à lesão isquêmica do cérebro (Bacarin et al., 2015; 2016; Godinho et al., 2018). Sabemos também que ratos intactos (normais), tanto jovens quanto idosos, desempenham a tarefa do LRA muito bem. Questionamos, portanto, como poderíamos tornar o LRA sensível para detectar déficits cognitivos de aprendizagem e memória em ratos intactos idosos, tendo em vista sua aplicação para se estudar os efeitos de drogas em melhorar a funções cognitivas deterioradas ao longo do envelhecimento, porém, na ausência de lesão cerebral. Neste estudo objetivamos avaliar se a capacidade de memória de ratos idosos se torna prejudicada em função de alterações sucessivas na localização da zona de recompensa (esconderijo). Nossa hipótese é que ratos idosos tenham uma capacidade cognitiva reduzida para lidar com alterações no ambiente.

Materiais e métodos

Ratos jovens (3 meses de idade) ou de meia-idade (12 a 15 meses de idade) foram treinados durante 10 a 15 dias, sendo 3 tentativas/dia, com uma duração máxima de 4 minutos/tentativa. O animal foi colocado na arena central do LRA estando todos os braços fechados. Após 30 segundos de confinamento na arena central, os braços radiais do LRA foram abertos permitindo que o animal explorasse o labirinto em busca da zona de recompensa (ZR), ou esconderijo. Ao entrar num braço falso (esconderijo falso), o animal retornava à arena central, onde ficava confinado por outros 10 segundos, e então liberado para explorar o labirinto novamente, e assim sucessivamente. Caso não encontrasse a ZR numa dada tentativa, esta era finalizada e a latência máxima de 240 segundos registrada. Dentro de cada tentativa, três parâmetros foram quantificados: a) latência para encontrar o esconderijo, b) número de erros de memória de referência (memória de longo prazo), e c) número de erros de memória operacional (memória de curto prazo ou executiva). Ao longo dos vários dias de treino, considerou-se que o animal aprendeu a tarefa quando o parâmetro latência e/ou o número de erros for reduzido ao nível assintótico (platô), que seria a fase de aprendizagem (aquisição). Sete dias após o treino, os animais foram testados quanto sua capacidade de memória retrógrada da localização do esconderijo que foi aprendida durante o treino anterior. Para tanto, seguiu-se o mesmo procedimento adotado durante o treino, exceto que a posição da ZR foi sendo alterada entre um teste e outro. No primeiro teste, a posição da ZR se manteve a mesma que foi utilizada no treino (localização 1, L1). Nos testes subsequentes, as posições da ZR foram alteradas aleatoriamente para L2, L3 e L4. Os intervalos entre os testes 1, 2, e 3 foram de 7 dias. Entre os testes 3 e 4, o intervalo de 2 semanas foi utilizado. A análise de variância de duas-vias para

amostras repetidas foi utilizada para quantificar as diferenças entre ratos jovens e idosos ao longo dos testes.

Resultados e Discussão

Os resultados comportamentais comparando ratos jovens e idosos estão ilustrados na Figura 1. Durante a fase de treino, ambos os grupos tiveram um desempenho semelhante medido pelos três parâmetros. Contudo, os ratos mais velhos sempre estiveram um pouco mais lentos e cometeram mais erros que os jovens ($p < 0.05$). Durante a fase de teste, o desempenho foi igual entre ratos jovens e idosos no primeiro reteste, quando a posição do esconderijo (L1) permaneceu a mesma utilizado no treino. A deficiência do grupo idoso aparece, contudo, nos testes subsequentes, quando às posições do esconderijo foram alteradas (L2, L3, L4, respectivamente) ($p < 0.001$). Nestas condições, os ratos idosos gastaram mais tempo (latência) para encontrar a ZR. O número de erros também foi maior para os animais idosos, indicando uma maior dificuldade desse grupo para encontrar o esconderijo à medida que sua localização espacial foi sendo alterada. Importante, a memória operacional (ou executiva) foi o parâmetro mais severamente prejudicado.

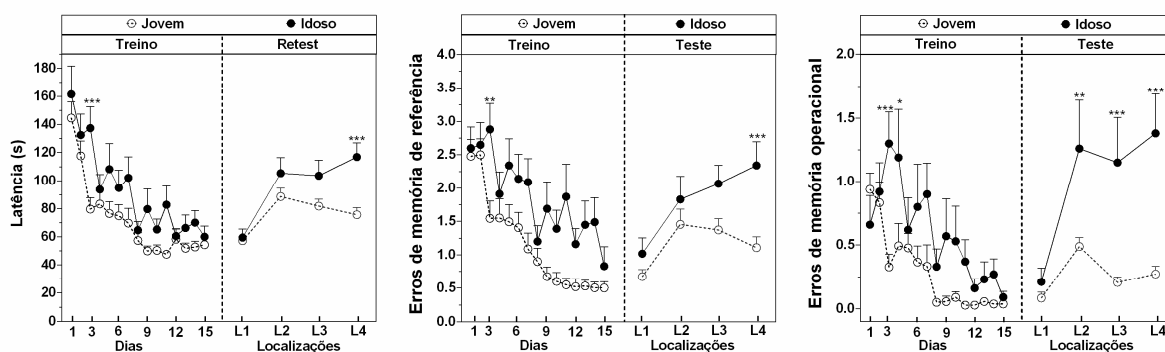


Figura 1 - Capacidade de aprendizagem (treino) e memória (Teste) de ratos jovens e idosos em função das mudanças de localização da zona de recompensa (esconderijo) no labirinto radial aversivo. O desempenho de aprendizagem e memória é expresso pela latência para encontrar a zona de recompensa, número de erros de referência e número de erros de memória operacional. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ (Two-way ANOVA).

Conclusões

Os resultados indicam que o teste do LRA, utilizado conforme o protocolo descrito é capaz de detectar prejuízos cognitivos (memória) em função da idade do animal. Este resultado pode ser interpretado como uma maior dificuldade dos ratos idosos, comparados aos animais jovens, para perceber e lidar com as mudanças introduzidas no ambiente de teste, ou seja, flexibilidade cognitiva. Estudos futuros deverão avaliar os efeitos de drogas (ou medicamentos) sobre o prejuízo de memória de ratos idosos testados no LRA.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica e as alunas de pós-graduação do laboratório de isquemia cerebral e farmaconeuroproteção pelo auxílio na execução do projeto.

Referências

Bacarin CC, de Sá-Nakanishi AB, Bracht A, Matsushita M, Previdelli IS, Mori MA, Maria R, Oliveira W, Milani H. **Fish Oil Prevents Oxidative Stress and Exerts Sustained Antiamnesic Effect After Global Cerebral Ischemia.** CNS Neurol Disord Drug Targets 2015;14(3):400-410.

Godinho J, de Oliveira RMW, de Sa-Nakanishi AB, Bacarin CC, Huzita CH, Longhini R, Mello JCP, Nakamura CV, Previdelli IS, Dal Molin Ribeiro MH, Milani H. **Ethyl-acetate fraction of Trichilia catigua restores long-term retrograde memory and reduces oxidative stress and inflammation after global cerebral ischemia in rats.** Behav Brain Res. 2018; 337:173-182.

Paganelli RA, Benetoli A, Lima KCM, Favero-Filho LA, Milani H. **A novel version of the 8-arm radial maze: effects of cerebral ischemia on learning and memory.** J. Neuroscience Methods, 2004, 132:9-18.