

**COMPORTAMENTO DE MEMÓRIA E APRENDIZADO.**

Mônia Sartor, Luis Valmor Cruz Portela

Departamento de Bioquímica, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

**INTRODUÇÃO**

O traumatismo crânioencefálico (TCE) é definido por uma alteração da função normal do cérebro causado por uma pancada, sacudida ou penetração de objetos estranhos no crânio. Acomete 1,7 milhões de pessoas por ano nos Estados Unidos, implicando em um gasto anual maior que 76 bilhões de dólares. O TCE pode ser classificado em leve, moderado ou grave, podendo causar danos cerebrais agudos e crônicos. Em muitos casos, são observados danos cognitivos e motores, sendo um fator de risco para diversas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer.

O TCE atinge negativamente a qualidade de vida dos indivíduos pois gera alterações comportamentais e emocionais; dificuldades na memória e no aprendizado causando prejuízo na qualidade de vida dos afetados.

Devido a sua importância clínica, econômica e social, é de extrema relevância utilizar modelos animais para entender os mecanismos envolvidos no dano agudo e crônico após o TCE e buscar novas abordagens para o tratamento.

O objetivo deste trabalho foi padronizar o modelo de TCE em camundongos frente às alterações de aprendizado e memória e analisar a correlação entre os danos no comportamento e danos histológicos.

**MATERIAIS E MÉTODOS**

**Indução do impacto cortical controlado (CCI, do inglês controlled cortical impact):** cirurgia estereotáxica com os seguintes parâmetros: craniotomia de 5 mm; tip de 3 mm; tempo de permanência de 100 ms; profundidade e velocidade do impacto de 1,5 mm e 5,7 m/s respectivamente.

**Animais:** 33 camundongos C57BL6 machos e adultos, divididos em dois grupos experimentais: Sham e CCI.

**Testes para avaliar possíveis danos cognitivos ou motores (Fig. 1, desenho experimental):**

- Labirinto aquático de Morris (WM, do inglês Water Maze): foram realizados três diferentes protocolos no WM: 1. Teste da bandeira para selecionar e avaliar a capacidade visual, de nado e de reconhecimento de meta do animal. 2. WM para avaliação da consolidação de memória, em que os animais foram treinados antes do TCE e avaliados 48hrs após o TCE. 3. WM para avaliar o aprendizado e a aquisição da memória, os animais foram treinados 15 dias após o TCE com a plataforma em outro quadrante.

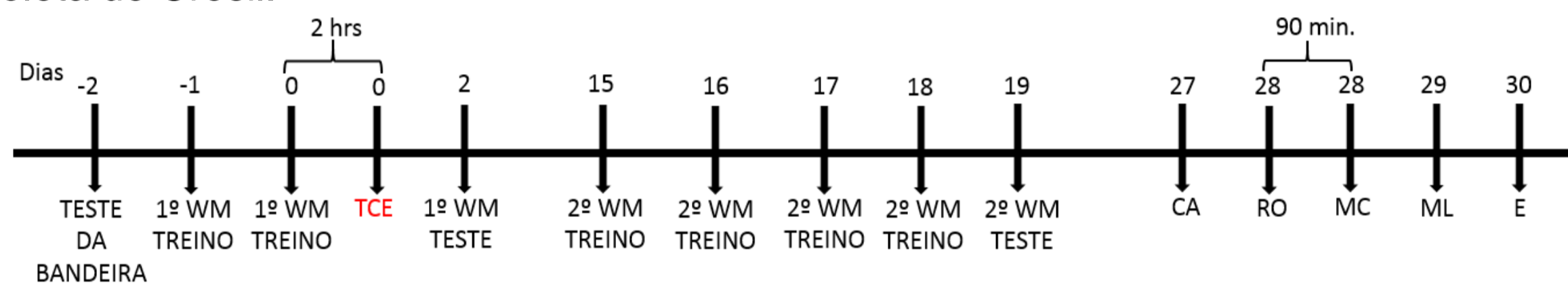
- Teste de campo aberto.

- Teste de reconhecimento de objetos:

Memória curta – 90 minutos após o treino.

Memória longa – 24hrs após treino.

- Histoquímica com Violeta de Cresil.



Legenda: WM – Water Maze  
TCE – Traumatismo crânio encefálico  
CA – Campo aberto  
RO – Reconhecimento de objetos  
MC – Memória Curta  
ML – Memória Longa  
E – Eutanásia

Figura 1: Desenho experimental.

**RESULTADOS E DISCUSSÃO**

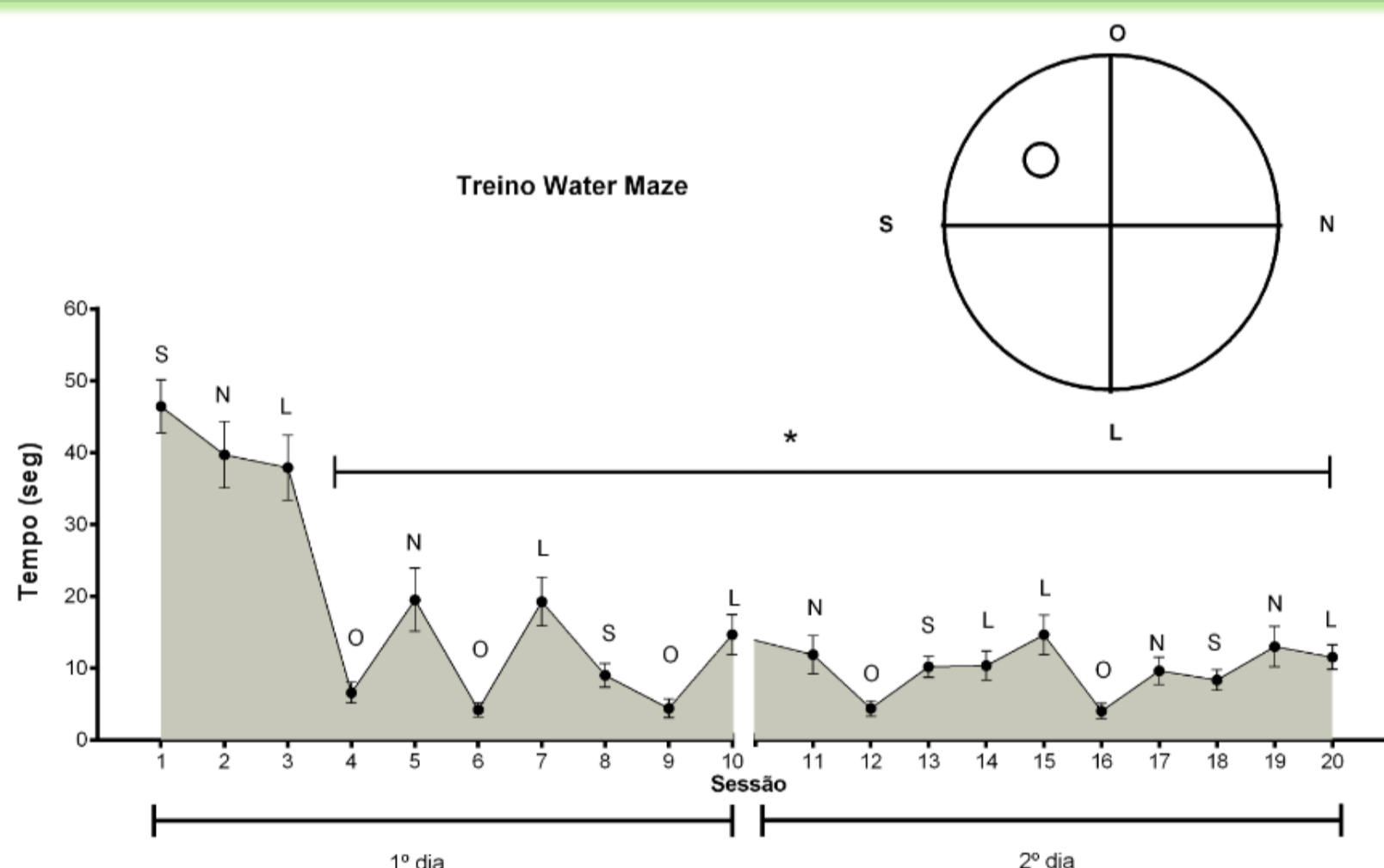


Figura 2: treino do primeiro WM. Cada animal (n=22) foi submetido a dez sessões diárias (60 segundos cada), durante dois dias. A diminuição gradual do tempo necessário para os animais encontrarem a plataforma submersa evidencia que todos aprenderam a localização da mesma. ANOVA de uma via, seguida de post hoc de Bonferroni ( $p < 0.001$ ). Pontos cardiais: norte (N), sul (S), leste (L), oeste (O).

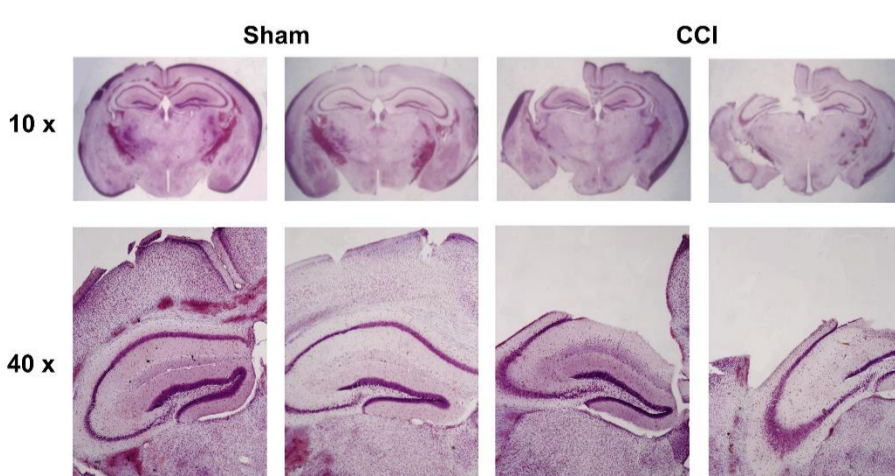


Figura 3: histoquímica com Violeta de Cresil. As imagens mostram a deformação no tecido cerebral causada pelo TCE.

Com os resultados obtidos pode-se observar déficit na aquisição de memória espacial 48 hrs após o TCE, visto que os resultados apresentaram diferenças estatísticas no WM, porém não foi observado diferença significativa 19 dias após o insulto.

Os testes de memória de reconhecimento, realizados 28 e 29 dias após o TCE, também não assinalaram diferenças entre os grupos. Os resultados evidenciam que os animais submetidos ao TCE apresentam prejuízos na consolidação da memória espacial 48hrs após o CCI.

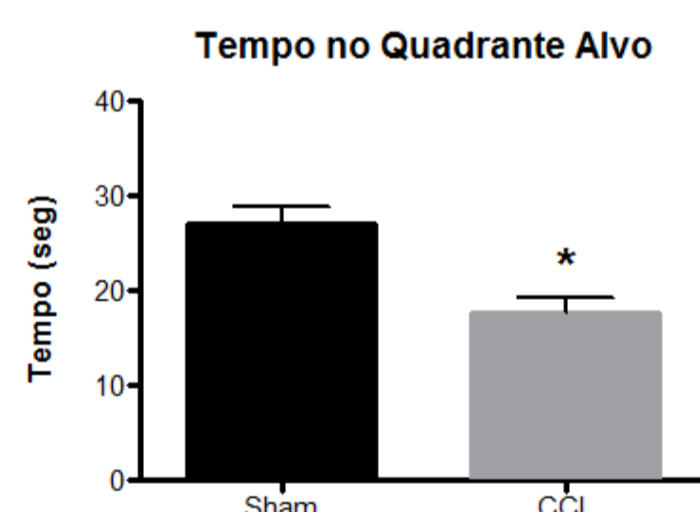


Figura 4: tempo de permanência na quadrante alvo - teste 48hrs após TCE. O grupo CCI permaneceu menos tempo no quadrante alvo (sham:  $26,94 \pm 1,94$ ; n=9; CCI:  $17,64 \pm 1,66$ ; n=10). Teste t,  $p=0.002$ .

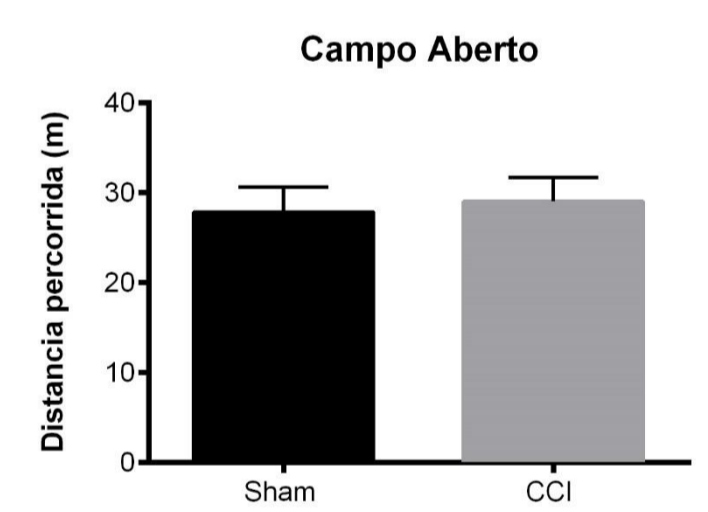


Figura 7: campo aberto. Não há diferenças estatísticas entre os grupos experimentais (sham:  $27,86 \pm 2,74$ ; n=10; CCI:  $29,00 \pm 2,72$ ; n=10). Teste t,  $p= 0,77$ .

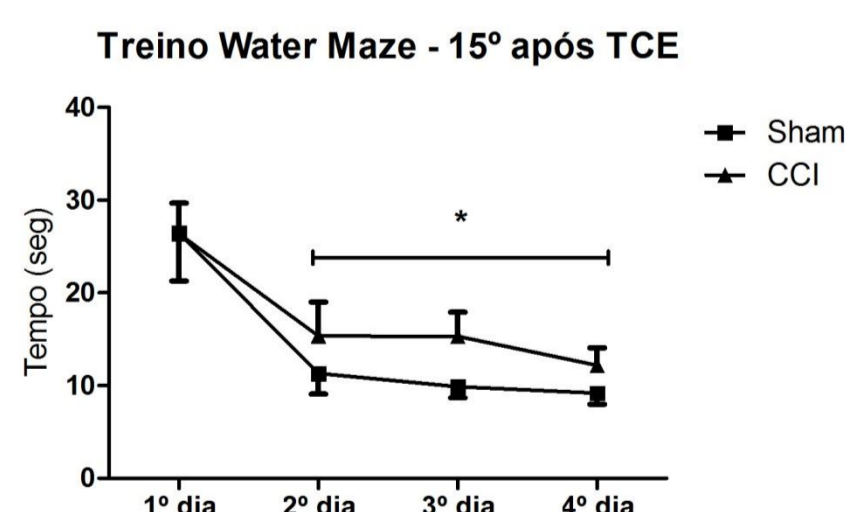


Figura 5: treino do WM 15 dias após o TCE. Cada animal (n=10/grupo) foi submetido a quatro sessões diárias (60 segundos), durante quatro dias consecutivos. O gráfico mostra a média do tempo gasto para encontrar a plataforma submersa. Há variação entre os dias de treino (ANOVA duas vias,  $p < 0,0001$ ), sem diferença entre os grupos

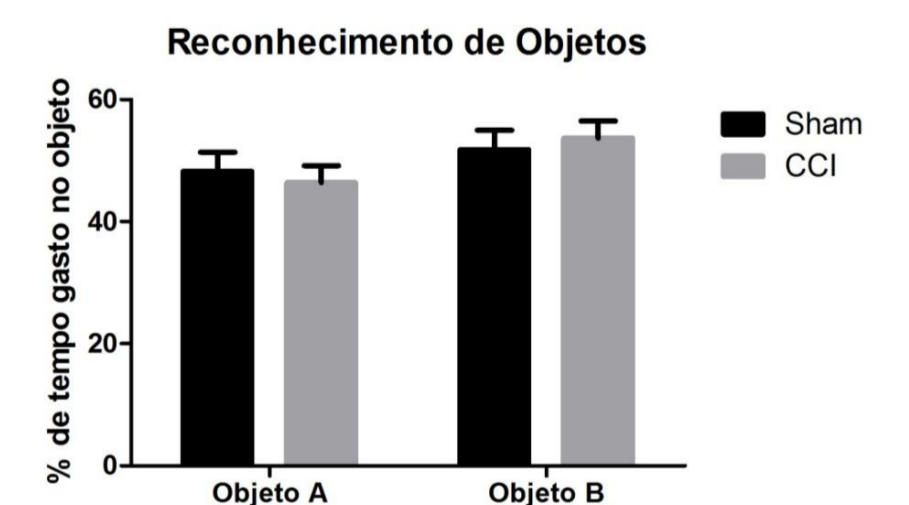


Figura 8: sessão treino de reconhecimento de objetos (n=10/grupo). Os grupos CCI e sham, exploraram de maneira uniforme os dois objetos (variação entre os grupos:  $p=0.99$ ). ANOVA duas vias.

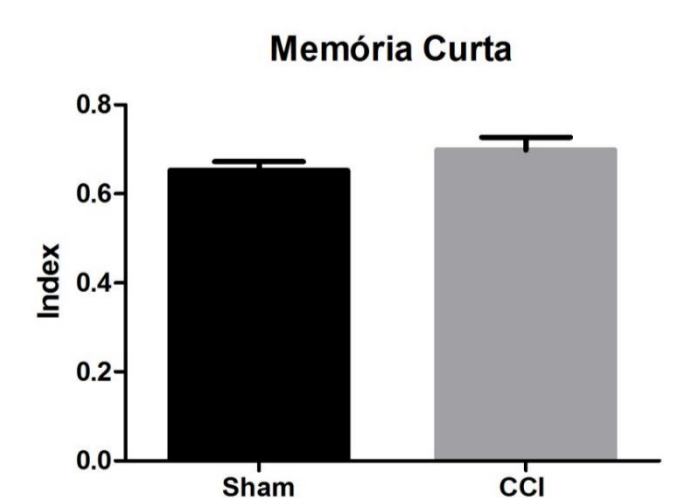


Figura 9: teste de memória curta – 90 minutos após o treino. Não há diferenças estatísticas entre os grupos. O index corresponde a razão entre o tempo de exploração no objeto novo e tempo total de exploração. Teste t (sham:  $0.65 \pm 0.02$ ; CCI:  $0.69 \pm 0.02$ ; n=10/grupo).  $p= 0,20$ .

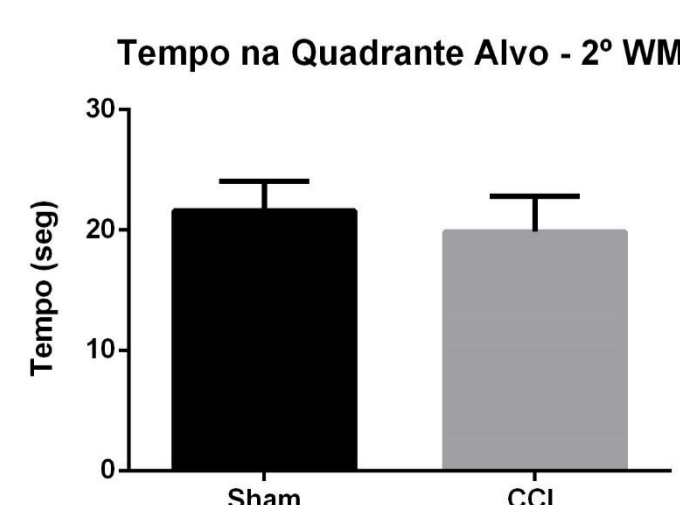


Figura 6: tempo de permanência na zona alvo – teste 19º dia após TCE. Não há diferenças estatísticas (sham:  $21,58 \pm 2,46$ ; CCI:  $19,83 \pm 2,94$ ; n=10/grupo). Teste t,  $p= 0,65$ .

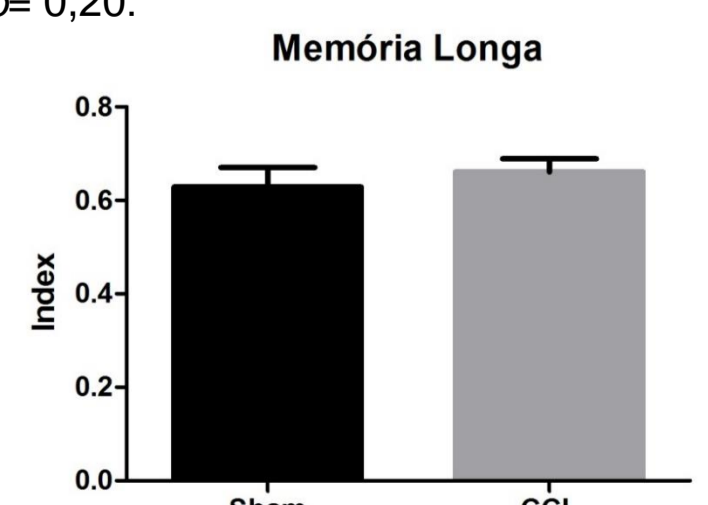


Figura 10: teste de memória longa – 24 hrs após o treino. O grupo sham explorou em média 62,8% o objeto novo ( $0.628 \pm 0.04$ ; n=10) e o grupo CCI 66,1% ( $0.661 \pm 0.02$ ; n=10). Não há diferenças estatísticas. Teste t,  $p= 0,52$ .