

ACLIMATAÇÃO É NECESSÁRIA PARA APRENDIZAGEM DE CAMUNDONGOS NO LABIRINTO LASHLEY III?

Shayenne Elizianne Ramos¹, Carlos Alberto Mourão-Júnior (M.D., Ph.D.)².

RESUMO

Aclimação ao aparato labirinto Lashley III, em estudos de aprendizagem, tem sido realizada com o objetivo de promover níveis de atividade estáveis e elevados no dia seguinte ao teste, mas o uso deste procedimento não é consenso. Neste sentido, este trabalho teve por objetivo avaliar se a aprendizagem de camundongos é alterada sem a realização da etapa de aclimação no labirinto. Assim, camundongos Swiss foram submetidos ao labirinto Lashley III sem aclimação e a aprendizagem dos animais foi avaliada. Os resultados sugerem que a aclimação não é necessária para camundongos Swiss submetidos a este aparato, uma vez que a aprendizagem foi observada sem a aclimação. Dessa forma, estudos futuros sobre aprendizagem de camundongos neste labirinto podem evitar a etapa de aclimação, reduzindo o tempo de experimentação e o estresse dos animais.

Palavras-chave: *função cognitiva; memória; camundongos Swiss.*

IS ACCLIMATIZATION NECESSARY FOR LASHLEY III MAZE LEARNING IN MICE?

ABSTRACT

Acclimatization to the Lashley III maze apparatus, in learning studies, has been realized with the aim to promote stable and high levels of activity on the subsequent training day, but its use is not a consensus. Therefore, this study aimed to evaluate whether the mice learning is altered without the realization of acclimatization procedure in the maze. Thus, Swiss mice were subjected to Lashley III maze without acclimation and the animals learning were measured. Results suggest that acclimatization is not necessary, at least for Swiss mice submitted to this apparatus, since learning process was observed even without acclimatization. In this way, future studies about learning of mice in this maze may avoid acclimatization stage, reducing the experiment time period and animals stress.

Keywords: *cognitive function; memory; Swiss mice.*

INTRODUÇÃO

A aclimação consiste no processo de habituação de um organismo a mudanças em

seu habitat, como por exemplo, no caso de animais de laboratório a um biotério ou a algum

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF/MG.

²Departamento de Fisiologia, Laboratório de Neurofisiologia e Endocrinofisiologia, Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF/MG.

outro aparato. Experimentos sobre aprendizagem de camundongos no labirinto Lashley III, realizam a aclimação ao aparato (1,2), no qual se coloca cada animal nos corredores do labirinto por um tempo determinado antes do teste, para que ele possa explorar e se habituar ao mesmo, com o intuito de promover níveis de atividade estáveis e elevados no dia do teste (1).

Contudo, a utilização desse procedimento não é consenso (3,4). Isso levanta a seguinte questão: a aclimação de camundongos ao aparato labirinto Lashley III é necessária em estudos sobre aprendizagem? Se for necessário o processo de aclimação, os estudos onde tal processo não precedeu os experimentos devem ser reavaliados. Por outro lado, se a aclimação não é necessária, os estudos futuros poderão evitar essa etapa, poupando tempo e diminuindo o estresse dos animais. Dessa forma, neste estudo foi avaliado se a aprendizagem de camundongos da linhagem Swiss é alterada sem a realização da etapa de aclimação ao aparato labirinto Lashley III.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 10 camundongos machos Swiss adultos (idade média de 90 dias),

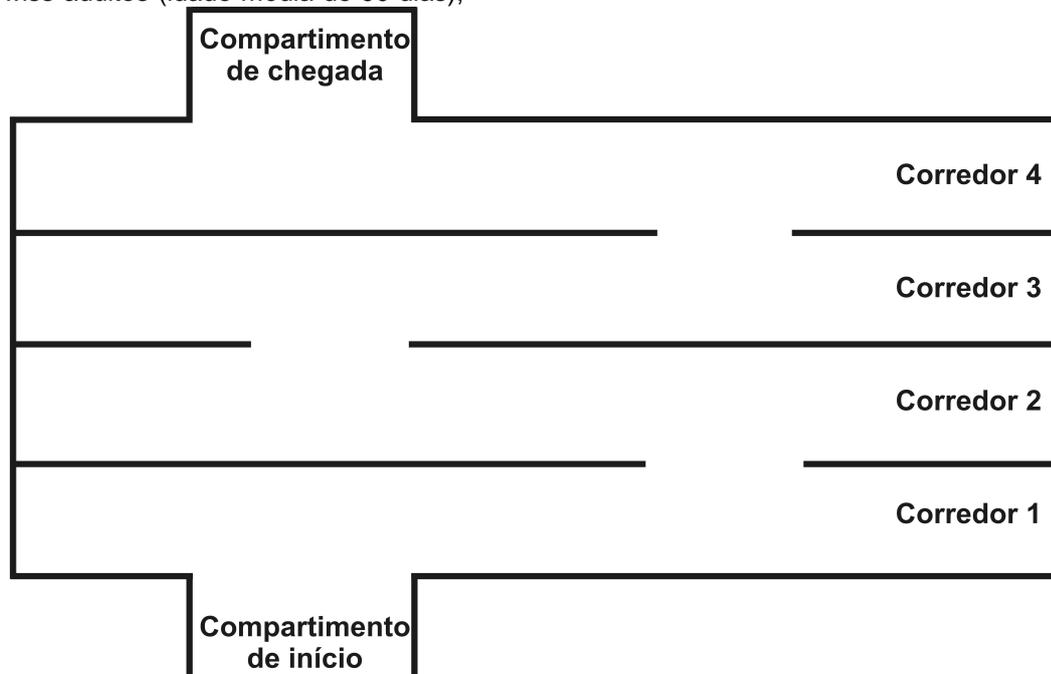


Figura 1. Labirinto Lashley III. (Fonte: o autor).

com peso médio de 45 g, fornecidos pelo Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Fisiologia da UFJF em um ciclo claro-escuro de 12:12 h (luzes acesas às 7:00 h) e acomodados em dois grupos de cinco animais em gaiolas de polipropileno com dimensões de 41 x 34 x 16 cm, forradas com maravalha. Os mesmos ficaram em ambientação no biotério por duas semanas.

Todos os procedimentos experimentais foram efetuados em conformidade com o protocolo número 043/2009 da Comissão de Ética na Experimentação Animal da UFJF e com os princípios indicados no Guia para o cuidado e uso de animais de laboratório (5).

O aparato utilizado, labirinto Lashley III, é uma versão do labirinto descrito por Karl Lashley (6), em uma escala para camundongos (7). O labirinto, confeccionado em fibra de média densidade (MDF), é constituído por quatro corredores, interpostos entre dois compartimentos, um de início e outro de chegada. Cada corredor apresenta dimensões de 58 x 6 x 16 cm e possuem uma porta com 6 cm de largura (Figura 1).

O teste de aprendizagem foi realizado em uma sala adjacente à sala onde os animais eram estocados e consistiu em submeter cada camundongo a um ensaio por dia no labirinto, durante cinco dias consecutivos, sempre no intervalo de 17:00 e 19:00 h. A gaiola de cada grupo de animais era retirada da sala onde eram estocados, colocados em uma mesa e cada animal era removido da sua gaiola, submetido ao teste de aprendizagem e, em seguida, colocado em uma outra gaiola. Este procedimento excluía o risco do mesmo animal participar de mais de um ensaio por dia. Nenhum dos animais foi previamente aclimatado ao aparato e todos tiveram livre acesso à comida e água durante todo o período de estudo.

Para a realização do teste de aprendizado foi utilizada a metodologia descrita por Karl Lashley para este modelo de labirinto (6). Durante os ensaios, cada animal foi colocado no compartimento de início do labirinto, sempre voltado para a porta. Em seguida, o animal pôde percorrer livremente o aparato até atingir o compartimento de chegada. O tempo de percurso foi registrado com um cronômetro digital, sendo arbitrado um limite máximo de cinco minutos. Se após este tempo o camundongo não alcançou o compartimento de chegada, o animal era guiado manualmente até este compartimento. Após os ensaios, os camundongos foram removidos do labirinto e recolocados nas gaiolas.

O aprendizado dos animais foi avaliado a partir do número de erros cometidos em cada ensaio. Os erros foram considerados quando o camundongo virou para o lado oposto ao percurso até o compartimento de chegada ou não entrou pela porta, ambos resultando em um beco sem saída, e só foram contados quando o

animal estava indo em direção ao compartimento de chegada. Quando o animal virou e passou a se deslocar em direção ao compartimento de início nenhum erro foi contado, uma vez que, o fato do animal estar indo na direção errada já aumenta por si só a probabilidade dele cometer erros ao tomar novamente a direção correta, bem como aumenta o tempo gasto para resolver o labirinto (6).

Após o ensaio de cada camundongo, o labirinto era limpo com álcool isopropílico 70%, a fim de eliminar os odores deixados pelos animais, que poderiam influenciar no comportamento.

Para verificar se os animais foram aprendendo o labirinto Lashley III ao longo de cinco dias, o número de erros por dia foi submetido a uma análise de variância com dados repetidos (r-ANOVA). Em seguida, foi feito um teste-t pareado, para verificar se o número de erros diferiu significativamente entre o primeiro e o quinto dia de teste. O nível de significância adotado foi de 5% e as análises foram feitas com o Software SPSS versão 11.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve uma redução significativa dos erros ao longo dos cinco dias de teste ($F(4,36) = 12,19$; $p < 0,001$; Figura 2). Além disso, o número médio de erros cometidos por cada camundongo no quinto dia, $3,2 \pm 0,5(1-6)$, foi significativamente menor se comparado ao primeiro dia de ensaio, $11,7 \pm 1,9(4-23)$, ($t = 3,99$; $gl = 9$; $p = 0,003$).

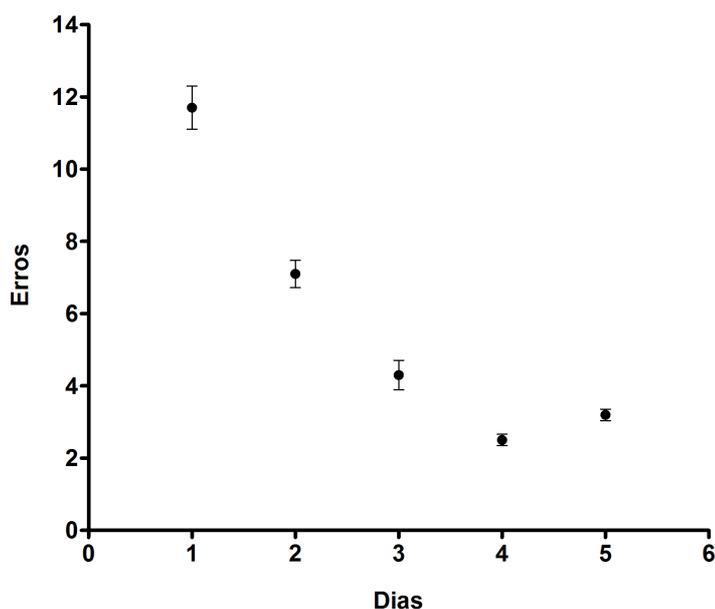


Figura 1. Médias dos erros cometidos por camundongos Swiss, submetidos ao labirinto Lashley III sem aclimação ao aparato. (Fonte: o autor).

Isto demonstra que os animais foram aprendendo a resolver o labirinto Lashley III ao longo de cinco dias de teste, mesmo sem terem sido submetidos à aclimação prévia. A aprendizagem deste labirinto sem aclimação também foi verificada para camundongos das linhagens BXSB-Yaa (3), C57BL/6 e C57BL/10 (4).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados sugerem que em testes de aprendizagem de camundongos Swiss no labirinto Lashley III, a aclimação ao aparato não é necessária. Dessa forma, estudos futuros sobre aprendizagem de camundongos neste aparato poderão evitar a etapa de aclimação, poupando tempo e diminuindo o estresse dos animais.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Juiz de Fora e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio financeiro, a Natália Trindade de Souza pelo auxílio na experimentação e a André Rodrigues de Souza pelas considerações em relação ao manuscrito.

Shayenne Elizianne Ramos, Carlos Alberto Mourão-Júnior (M.D., Ph.D.)

Endereço para correspondência: Departamento de Fisiologia – ICB
Universidade Federal de Juiz de Fora
CEP: 36036-900 Juiz de Fora/MG
Telefone: (32) 2102-3211
E-mail: carlos.mourao@ufff.edu.br

Recebido em 01/11/2010

Revisado em 31/10/2012

Aceito em 06/11/2012

REFERÊNCIAS

- (1) KINNEY, B.A.; RABE, M.B.; JENSEN, R.A.; STEGER, R.W. Maternal hyperglycemia leads to gender-dependent deficits in learning and memory in offspring. **Experimental Biology and Medicine**, London, v. 228, n. 2, p. 152-159, set. 2003.
- (2) KAZLAUCKAS, V.; SCHUH, J.; DALL'IGNA, O.P.; PEREIRA, G.S.; BONANC, C.D.; LARA, D.R. Behavioral and cognitive profile of mice with high and low exploratory phenotypes. **Behavioural Brain Research**, v. 162, n. 2, p. 272-278, jul. 2005.
- (3) BOEHM, G.W.; SHERMAN, G.F.; HOPLIGHT II, B.J.; HYDE, L.A.; BRADWAY, D.M.; GALABURDA, A.M.; AHMED, S.A.; DENENBERG, V.H. Learning in year-old female autoimmune BXSB mice. **Physiology & Behavior**, v. 64, n. 1, p. 75-82, abr. 1998.
- (4) DEACON, R.M.J.; THOMAS, C.L.; RAWLINS, J.N.P.; MORLEY, B.J. A comparison of the behavior of C57BL/6 and C57BL/10 mice. **Behavioural Brain Research**, v. 179, n. 2, p. 239-247, mai. 2007.
- (5) NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Guide for the care and use of laboratory animals**. Washington: National Academy Press, 1996.
- (6) LASHLEY, K. S. **Brain mechanisms and intelligence: a quantitative study of injuries to the brain**. New York: Dover Publications, 1963.
- (7) MATZEL, L.D.; HAN, Y.R.; GROSSMAN, H.; KARNIK, M.S.; PATEL, D.; SCOTT, N.; SPECHT, S.M.; GANDHI, C.C. Individual differences in the expression of a "general" learning ability in mice. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 16, p. 6423-6433, jul. 2003.