

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
NEUROCIÊNCIA E COMPORTAMENTO**

***LESÃO SELETIVA DO GIRO DENTEADO DO HIPOCAMPO
E O DESEMPENHO DE RATOS EM TAREFAS ESPACIAIS
E TEMPORAIS***

Valéria Catelli Infantosi da Costa

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Neurociência e Comportamento.

**São Paulo
1997**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE PSICOLOGIA
NEUROCIÊNCIA E COMPORTAMENTO**

***LESÃO SELETIVA DO GIRO DENTEADO DO HIPOCAMPO
E O DESEMPENHO DE RATOS EM TAREFAS ESPACIAIS
E TEMPORAIS***

Valéria Catelli Infantosi da Costa

Dissertação apresentada ao Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Neurociência e Comportamento.

Co-Orientação: Prof. Dr. José Lino Oliveira Bueno

Prof. Dr. Gilberto Fernando Xavier

**São Paulo
1997**

À professora e amiga
Marilda Inês Sawaya
in memoriam

***A Iraci,
Ana e
Áudrei***

Agradecimentos

Aos Professores José Lino Bueno e Gilberto Xavier, por compartilharem a mesma orientanda e nunca dividirem a complexa tarefa e responsabilidade da orientação.

Aos colegas do laboratório do Prof. Lino, pelo convívio carinhoso, discussões teóricas, pelo apoio constante e, principalmente, pela cumplicidade....

À Rita de Cássia M. Moreira, por seus conselhos e sugestões, e a todos os *Moreiras*, por terem me incorporado à sua família.

À Márcia C. Caserta-Gon, pela amizade e paciência em aturar as minhas discussões e desabafos.

Ao técnico José Augusto, pela paciência e dedicação ao *dia à dia do laboratório* e, acima de tudo, por ser o primeiro a enxergar que a tomada dos equipamentos estava desligada, quando eu ia desesperada lhe dizer que nada estava funcionando!

À Telma Maria B. Costa, pelas sugestões, amizade e estar presente, me acompanhando durante as madrugadas, na fase final de redação.

À secretária e amiga Renata Vicentini, que me adotou como “sua aluna” e aos novos amigos de Ribeirão, pelo carinho e, principalmente, por “comparecerem às festas em minha casa”.

Ao Professor Luiz Marcellino de Oliveira, por colocar à disposição laboratório e equipamentos para a realização de parte experimental deste projeto. Assim como, ao técnico Dalmo C. Nicola.

Ao técnico Eldereis de Paula do Centro de Instrumentação, Dosimetria e Radioproteção do Departamento de Física, Matemática e Geologia - FFCL-RP, pelo desenvolvimento de um programa de computador para o controle e recolhimento de dados.

À Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, por propiciar a infra-estrutura e recursos necessários à realização deste projeto. Bem como, aos professores, funcionários e colegas do Setor de Psicobiologia, pela convivência agradável.

Ao Departamento de Morfologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, pela utilização do equipamento de microscopia. Em especial, ao técnico Marcelo Gonçalves, responsável pelo Laboratório de Microscopia e Computação da FMRP, pelo auxílio no uso dos equipamentos.

Aos colegas do laboratório do Prof. Gilberto, pelo convívio estimulante, discussões teóricas e por me socorrerem quando a micropipeta quebrava (ou melhor, quando **eu** quebrava a micropipeta!). Ao Mazinho, por toda orientação e ajuda nos procedimentos histológicos (e também pelas piadas...). Em especial, às amigas Andréa e Cynthia, por me ensinarem e ajudarem na cirurgia, perfusão e histologia, e Ana Cris, pela ajuda na análise estatística.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências, USP, que me acompanharam por mais de dez anos, contribuindo para minha formação científica, acadêmica e pessoal. Em especial às amigas Marilda e Sylvia O., Do Carmo e Claudinha M., Ana e Cida, Glorinha, Silvinha, Marta, Arlete, Gisele, Maria Alice, Cecília e Marcão.

À amiga Kátia Damiani, que ao longo de anos, se fez presente, sempre me estimulando a trabalhar na área de comportamento.

À professora e amiga Hilda R. F. Dalla Déa, que me apresentou ao mundo dos labirintos, ratos, mapas espaciais....

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, pelo financiamento deste projeto.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| INTRODUÇÃO | 1 |
| 1. Representação do Ambiente em Animais | 1 |
| A Representação do Espaço | 3 |
| A Representação do Tempo | 5 |
| 2. Envolvimento do Hipocampo no Processamento de Informações em Tarefas Espaciais e Temporais | 6 |
| Teoria do Mapa Cognitivo - O'Keefe e Nadel, 1978 | 7 |
| Teoria da Memória Operacional..... | 10 |
| Teoria do Relógio Interno | 11 |
| 3. Efeitos de Lesões | 12 |
| Lesões Hipocampais Seletivas..... | 15 |
| OBJETIVOS | 19 |
| EXPERIMENTO I | 20 |
| Método | 20 |
| Sujeitos | 20 |
| Equipamentos | 20 |
| Procedimento | 23 |
| Privação alimentar e manipulação | 23 |
| Pré-Exposição | 23 |
| Pré-treino | 24 |
| Treino | 24 |
| Lesões | 26 |
| Testes | 28 |
| Histologia | 28 |
| Análise de Resultados | 29 |
| Resultados Histológicos | 31 |
| Resultados Comportamentais | 33 |
| Resultados Pré-lesão | 33 |
| Resultados Pós-lesão | 36 |
| Discussão | 46 |
| EXPERIMENTO II | 52 |

| | |
|---|-----------|
| Método | 52 |
| Resultados | 54 |
| Discussão | 58 |
| EXPERIMENTO III | 62 |
| Método | 62 |
| Resultados | 64 |
| Discussão | 66 |
| DISCUSSÃO GERAL | 67 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 78 |
| APÊNDICE | 85 |

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Mediana dos tempos de percurso nas tentativas forçadas das sessões de pré-treino (PT) e pré-teste (PTS) e nas fases de informação e de escolha das sessões de treino (T) e teste (TS) dos grupos Sham e Lesado, Experimento I 10
.....
- Figura 2. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino pré-lesão (T) e teste pós-lesão (TS) da Tarefa Espacial (NMTS), Experimento I 88
.....
- Figura 3. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino pré-lesão e teste pós-lesão da Tarefa Temporal (DRL), Experimento I 88
.....
- Figura 4. Média dos Intervalos entre Resposta (IER), em segundos, dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino pré-lesão e teste pós-lesão da Tarefa Temporal (DRL), Experimento I 88
.....
- Figura 5. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de Reteste e sessões de DNMTS nos intervalos 0, 1, 2, 4, 8 e 16 minutos da Tarefa Espacial, Experimento II 88
.....
- Figura 6. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de teste da Tarefa Espacial, Experimento III 88
- Figura 7.

RESUMO

Na literatura encontram-se propostas acerca da função do hipocampo como mediador (1) da memória operacional (*working memory*) e/ou como responsável pelo processamento de informações espaciais e (2) de processos de controle temporal. Avaliou-se os efeitos da lesão seletiva do giro denteado, por aplicação múltipla e tópica de colchicina, no desempenho de ratos previamente treinados em tarefas que envolvem discriminação espacial e controle temporal.

Experimento I: Os animais foram submetidos a uma tarefa de *non-matching-to-sample* (NMTS) em um labirinto em MAIS. Nesta tarefa, em uma primeira fase (fase de informação), o reforço é colocado somente em uma das caixas localizadas no final dos braços transversais - o acesso à outra caixa é bloqueado. Na segunda fase (fase de escolha), o acesso às duas caixas transversais é liberado e o reforço é colocado somente na caixa que não estava previamente disponível durante a fase de informação. Desta forma, os animais devem manter a informação do local previamente reforçado na 1ª. fase; além disso, a informação de uma tentativa não pode ser generalizada para as tentativas subsequêntes. Estes mesmos animais foram treinados em uma tarefa temporal realizada em uma caixa de Skinner em um esquema de DRL - *Differential Reinforcement of Low Rates*. Neste procedimento, a resposta (pressão à barra) é reforçada se, e somente se, ela segue a resposta precedente por um intervalo de tempo específico, no caso, um intervalo de 20 segundos. Na tarefa espacial, embora haja um prejuízo na taxa de re-aquisição da resposta, o treino repetitivo faz com que o desempenho dos animais lesados se equipare aos dos sham. Estes resultados podem ser devidos à recuperação da capacidade de processar informações espaciais, ou então, à utilização de outra estratégia. Na tarefa temporal (DRL) os animais lesados continuam sendo capazes de espaçar suas respostas por um determinado intervalo, porém esse tempo é subestimado, ou seja, a pressão à barra ocorre em um tempo menor que o previamente treinado. Esta alteração no processamento de informações temporais pode dever-se a: a. deficiência no relógio interno - aceleração na contagem do tempo ou, b. deficiência no armazenamento de informações temporais - lembrança de um evento como se ocorresse antes do que de fato ocorre ou, c. porque os animais lesados são incapazes de evitar a pressão à barra, supondo-se que o desempenho deles, inclusive dos animais sham, esteja baseado em uma estratégia espacial de deslocamento na caixa experimental.

Experimento II: A seguir, os animais foram testados em uma tarefa de *delayed-non-matching-to-sample* (DNMTS). Este procedimento é igual ao anterior, com a diferença da introdução de intervalos de 1, 2, 4, 8 e 16 minutos, entre as fases de informação e de escolha. Quando são introduzidos intervalos entre as fases, os animais lesados voltam a apresentar um prejuízo de desempenho com relação aos animais sham.

Experimento III: Os sujeitos e equipamento empregados foram os mesmos utilizados no Experimento I e II. Neste experimento, os animais, na fase de escolha, ao invés de saírem da caixa inicial, saíram da caixa da qual acabaram de visitar na fase de informação. Se os animais estivessem utilizando uma estratégia de orientação egocêntrica, então eles deveriam virar à esquerda ou à direita, porém os animais seguiram em frente, dirigindo-se para a caixa alvo. Os resultados obtidos neste teste sugerem que os animais lesados estariam utilizando-se de uma estratégia espacial ou visual para resolverem a tarefa. Com esses resultados pode-se descartar a hipótese de que a recuperação de desempenho dos animais lesados esteja associada à utilização de uma estratégia de orientação egocêntrica; contudo, não pode-se descartar a hipótese da utilização de pistas (estratégia por guiamento).

ABSTRACT

Several different theories of hippocampal function have attempted to summarize the data concerning to hippocampal lesions effects. It has been suggested that hippocampus plays a critical role in (1) working memory and/or spatial information processes and (2) temporal control processes. The aim of this project is to investigate the effects of lesions on dentate gyrus of hippocampus, by intra-dentate injections of colchicine, on the performance of rats pre-trained in tasks involving different cognitive processes: spatial discrimination and temporal control.

Experiment I: the animals were submitted to a spatial non-matching-to-sample (NMTS) discrimination procedure in a cross-maze. In this task, on the first phase (information phase), the reinforcement is in one of the boxes localized in the end of the maze arms. On the second phase (choice phase), the reinforcement is in the box that has not been visited previously on information phase. The same animals have been trained on a differential reinforcement of low rates (DRL) temporal task performed in a Skinner box. In this procedure the response (bar press) is reinforced if, only if, it is followed by preceding response by an specific interval, in this case, 20 seconds. There was a performance impairment of lesioned animals on the spatial NMTS, although, they improved their performance with training. These results can be due to a ability recovery of space information processes or, the use of guidance strategies. In the DRL task the lesioned animals could still space their responses, however the Interval between responses were underestimate. This alteration of the timing can be due to acceleration of counting or a temporal information storage deficit.

Experiment II: the animals were submitted to a spatial delayed-non-matching-to-sample (DNMTS) task. This procedure were identical to NMTS, except by the introduction of delays (0, 1, 2, 4, 8 and 16 minutes) between sample and choice phases. There were a performance impairment of lesioned animals related to shan performance.

Experiment III: The subjects and equipment used were the same of Experiment I and II. In this experiment, the animals, on choice phase, did not start from the initial box, but, from the box which was just visited on information phase. If subjects were using ego-centric strategies to solve the task, then, they should turn to left or right. the results shows that animals were using a spatial or visual strategies to solve it. So, the hypothesis that the performance recovery of lesioned animals were related to the use of ego-centric strategies can be reject, however, it can not be rejected the use of guidance strategies.

INTRODUÇÃO

1. Representação do Ambiente em Animais

Segundo Bueno (1989) a noção de representação ganhou espaço no contexto de uma mudança significativa da estrutura de pensamento referente a análise do comportamento. Em modelos de análise do comportamento centrados na aprendizagem instrumental ou operante, considera-se que as modificações do comportamento são instaladas e mantidas pela associação de um estímulo de valor hedônico, o reforço, com classes específicas de comportamento. A tradição pavloviana, por outro lado, enfatiza o componente associativo da aprendizagem, neste caso, o modelo é determinado pela reflexologia de origem fisiológica e diz-se que houve uma transferência do controle de um reflexo, de um estímulo para outro. Nestes dois modelos a resposta é o tema organizador central das discussões sobre aprendizagem. Bueno (1989) discute se tais descrições de respostas são suficientes para dar conta dos fenômenos psicológicos identificados nos animais, apresentando modelos alternativos de análise do comportamento. Rescorla e Holland (1982) examinam o condicionamento pavloviano não mais em termos de uma transferência de reflexos salivares etc., mas dão ênfase à aprendizagem subjacente da qual estas respostas provêm e sugerem que não basta que um estímulo tenha uma relação temporal com outro, mas é preciso que haja uma relação lógica, informativa, entre estes dois estímulos. Estas relações lógicas devem dar-se ao nível das representações internas do mundo.

Staddon (1983) procura mostrar que os animais desenvolvem uma representação interna de seu mundo que guia a sua ação. A organização de um conjunto de informações de uma situação e o seu reconhecimento posterior comportam processos que traduzem o ambiente físico particular em alguma representação interna que permita ao animal reconhecer o ambiente em ocasiões subsequentes. O

reconhecimento de comportamentos adaptativos particulares como sendo apropriados a determinado contexto implica a existência de processos que permitam ao animal comportar-se essencialmente da mesma maneira toda vez que eles se encontrem na mesma situação ou contexto, ou de comportar-se diversamente em diferentes situações (Bueno, 1989).

Investigações experimentais do comportamento animal sugerem que os organismos são capazes de adquirir informações acerca de aspectos do ambiente e também de seus próprios atos, de tal forma a registrar e conservar de forma codificada, em seu Sistema Nervoso Central (SNC), eventos relevantes. O registro, ou, a informação codificada, seria a representação no SNC, da realidade externa. Além disso, o SNC tem a capacidade de lidar com abstrações básicas, tais como espaço, tempo e números (Gallistel, 1989; Ades, 1993).

O repertório comportamental dos animais estaria intimamente associado a: (1) aquisição de informações espaciais e temporais acerca do ambiente para sua representação no SNC; (2) armazenamento de tais representações e (3) comparação entre a atividade presente e as informações representadas no SNC (acesso às representações) para ajustamento de seu comportamento ao contexto presente. Estes processos constituem-se nas bases de um estudo cognitivista da memória. Nas palavras de Ades (1987): "O estudo de uma representação visa compreender as condições de sua aquisição, sua manutenção ao longo do tempo, as transformações que sofre com novos aportes experimentais, os fatores necessários para que seja posta em uso no comportamento."

As representações possibilitam a adaptação do comportamento animal aos aspectos ambientais ou contextuais (Gallistel, 1990), tornando o animal capaz de prever eventos e de preparar-se para ação (Ades, 1993). Por exemplo, um animal utiliza-se das representações da sua posição espacial relativa e das relações espaciais entre os objetos do ambiente (marcas, pistas, pontos fixos) para direcionar seu

deslocamento a um determinado alvo (p.ex. alimento), ou para afastar-se deste (p.ex. predador). Esta representação da direção e distância na qual o objeto alvo se encontra se dá momento a momento, sendo a representação da localização do animal continuamente atualizada.

Os animais também representam, em seu SNC, os períodos do dia (fase circadiana) nos quais eventos (ex. alimentação) ocorrem, e usam esta representação para adaptar seu comportamento às regularidades diárias de seu ambiente (ver Gallistel, 1989).

Além da representação temporal de eventos diários, existem evidências experimentais de que ratos representam intervalos de tempo decorridos, e podem comparar a magnitude do intervalo corrente com um intervalo de tempo padrão armazenado na memória (Church & Gibbon, 1982); ademais, podem manter uma estimativa do número ("contar") de pressões à barra efetuado e comparar com um número padrão armazenado na memória. E, ainda, avaliar a taxa de pressões à barra definida como número de pressões dividido pela unidade de tempo. Animais, tais como, ratos, pombos, patos e peixes, podem representar números e intervalos temporais e realizar, com estas representações, operações que são formalmente análogas à divisão, obtendo assim, freqüências ou taxas de ocorrência de eventos. Isto explica, por exemplo, a sincronidade do comportamento animal de ir em busca de alimento com a taxa de ocorrência de suas presas (Gallistel, 1989).

A Representação do Espaço

Navegação é o processo de determinação e manutenção de um curso ou trajetória de um lugar para outro. É um processo comportamental fundamental para qualquer animal que partindo de um ponto fixo do ambiente retorne a ele. Este local pode ter significado adaptativo, tais como: fonte de nutrientes, localização do ninho, da colmeia, do abrigo etc..

A determinação ou estabelecimento de um curso requer uma representação espacial, uma representação da posição do animal no espaço e a posição dos locais para os quais o animal dirige seus movimentos, ou seja, são necessárias informações acerca de posições e posicionamentos. A manutenção de um curso requer que estímulos ou sinais ambientais sejam obtidos e analisados pelo animal durante o desempenho comportamental de deslocamento direcional.

Um mapa, em um sentido amplo, é a representação de algumas ou todas as relações geométricas entre pontos, linhas e superfícies. Um mapa cognitivo é, por sua vez, a representação, no sistema nervoso, das posições relativas de locais (pontos) do meio ambiente. Este mapa propicia a um animal orientar-se em determinada direção (aproximação ou afastamento). Assim, um mapa espacial cognitivo possibilita a determinação, estabelecimento e manutenção da atividade comportamental de navegação. Os animais possuem sofisticados processos sensorio-perceptivos para determinação das distâncias e direções de estímulos, ou seja, para a formação de uma representação das posições espaciais de estímulos e, portanto, formação de um mapa cognitivo.

Segundo Gould e Marler (1987) animais orientam-se em direção a locais específicos do ambiente utilizando-se basicamente de duas estratégias: (1) de pistas desse local que são sensorialmente distintas (2) da posição espacial que este local ocupa no meio ambiente. Gould e Marler (1987) relataram um estudo sobre orientação em abelhas. Este estudo testou se a estratégia que as abelhas utilizam para se dirigirem da colmeia até o local de alimentação seria por pistas do local, ou, se as abelhas estariam estabelecendo relações espaciais entre estas pistas. Esta última estratégia capacitaria as abelhas a localizarem um determinado local, não somente pelas pistas associadas a ele, mas pela localização espacial deste local no ambiente. Os resultados sugerem que as abelhas utilizam a estratégia de relações espaciais, pois elas foram capazes de usar uma nova rota (ou caminho) para um

determinado local (local de alimentação). Apesar da nova rota não ser conhecida, a posição espacial do local de alimentação no ambiente era conhecida. Ou seja, as abelhas foram capazes de percorrer um caminho desconhecido para se dirigirem a um local conhecido, isto sugere que elas estariam utilizando a informação da localização espacial deste local naquele ambiente.

Animais em exploração do ambiente seguem muitas vezes trajetórias complexas, com pontos de inflexão, voltas e reviravoltas; contudo, ao voltarem ao ninho ou à toca, correm praticamente em uma linha reta, mesmo quando falta um marco ambiental a tomar como referência (Ades, 1993).

Assim, o conceito de mapa cognitivo refere-se a capacidade do organismo estabelecer representações, não apenas das pistas associadas a um local, mas também, estabelecer representações das posições relativas de locais (pontos) do meio ambiente e utilizar tais representações para se orientar no ambiente.

A Representação do Tempo

Há evidências experimentais de que no processo de armazenamento de informações sobre eventos, parte do que é armazenado refere-se ao momento da ocorrência do evento. Ou seja, da leitura do "relógio interno" deriva um "evento temporalmente definido", uma "hora-marcada" (Gallistel, 1989).

Abelhas aprendem a hora do dia na qual o alimento pode ser encontrado em uma determinada fonte, fazendo visitas à fonte de acordo com a "hora marcada". Esta aprendizagem comportamental, dependente da hora do dia, está baseada na fase de uma oscilação circadiana endógena (relógio interno) e não em pistas externas, tais como, variáveis ambientais tempo-dependentes (ex. a elevação do sol) (Renner, 1959; Wahl, 1932).

Muitas tarefas realizadas por ratos demonstram a aprendizagem de "horas do dia", i.e., a utilização desse relógio interno. Gallistel (1989) sugere que a "hora marcada" e o "endereço marcado" (local onde a experiência ocorreu) desempenham um papel singular como variáveis indexadoras na memória, variáveis que permitem uma experiência ser ligada a outra, permitem a ligação entre as experiências de um mesmo evento ou de vários eventos.

A capacidade de ratos e pombos de lembrarem-se da duração de estímulos - ou, habilidade destes animais de aprenderem a ocorrência de intervalos temporais - tem sido extensivamente estudada (Church & Broadbent, 1990; Gibbon & Church, 1990; Meck, 1983; Meck & Church, 1982; Meck et al., 1987; Olton, 1986 e Staddon, 1989). Nestes trabalhos, encontram-se evidências experimentais da existência, no SNC de aves e roedores, de processos de mensuração do tempo que permitem aos animais armazenar variáveis que representam intervalos de tempo. Assim, animais podem estimar a duração de um intervalo, contar um número de eventos discretos e estimar a taxa de ocorrência de eventos. Estas capacidades cognitivas estão intimamente relacionadas entre si (Gallistel, 1989; Church & Broadbent, 1990).

2. Envolvimento do Hipocampo no Processamento de Informações em Tarefas Espaciais e Temporais

As bases neuroanatômicas e neurofisiológicas da memória, ou dos processos acima descritos, têm sido objeto de estudo de muitos pesquisadores. A teoria de O'Keefe e Nadel (1978) concentra-se nos aspectos espaciais do ambiente como sendo atributos críticos da memória. O'Keefe (1989) revisa e atualiza as propriedades atribuídas ao mapa espacial cognitivo, levando em consideração evidências acerca da atividade de neurônios hipocâmpais durante tarefas que utilizam-se da memória espacial, e afirma: "...a teoria do mapa cognitivo sugere que em animais tal como o rato, o hipocampo é um sistema de memória

específico que lida apenas com as representações ambientais e não com outros tipos de informações ou memórias." (p. 226).

Entretanto, existem dados experimentais que, segundo alguns autores (Walker e Olton, 1984; Raffaele & Olton, 1988; Knowlton et al., 1989; Olton, 1990), não podem ser interpretados pelo modelo proposto por O'Keefe e Nadel (1978). São experimentos cujos resultados, segundo seus autores, não seriam consistentes com o envolvimento exclusivo do hipocampo no armazenamento de um mapa espacial cognitivo, tais resultados seriam consistentes com a teoria da memória operacional.

Teoria do Mapa Cognitivo - O'Keefe e Nadel, 1978

A teoria do mapa cognitivo (O'Keefe e Nadel, 1978) concentra-se nos aspectos espaciais do ambiente como sendo atributos críticos da memória. A teoria sustenta que os animais podem aprender sobre as relações espaciais de objetos e relacionar eventos com o contexto espacial de sua ocorrência em seu Sistema Nervoso Central (SNC). Este sistema codifica o ambiente em mapas cognitivos e, segundo a proposta dos autores, a Formação Hipocampal constitui o substrato neural para a aprendizagem e armazenamento de tais processos.

Segundo esta teoria, as informações são processadas em dois sistemas distintos: Sistema de Taxon (*Taxon System*) e Sistema de Mapeamento (*Map System*).

Sistema de Taxon: As estratégias baseadas neste sistema foram chamadas pelos autores de estratégias de rotas (*route strategies*). Estas estratégias ou hipóteses podem ser subdivididas em: hipóteses de guiamento (*guidance hypotheses*) e hipóteses de orientação (*orientation hypotheses*). Tais estratégias podem depender de diferentes estruturas cerebrais.

As hipóteses de guiamento identificam um objeto ou uma pista no ambiente da qual deve aproximar-se ou afastar-se. O componente motor não é especificado em detalhes. Exemplos dados pelos autores para essa estratégia são: "ir para a luz", "seguir aquele carro". Neste caso, os sujeitos não precisam estabelecer relações espaciais entre objetos e eventos, eles orientam-se em direção a uma pista específica.

As hipóteses de orientação (orientação corpórea ou estratégia corpórea egocêntrica) especificam o comportamento motor em detalhes. Elas envolvem rotações corpóreas egocêntricas em resposta a uma pista ou informação. Os animais orientam-se a partir de informações egocêntricas e aprendem uma seqüência de movimentos do corpo. Exemplos: "virar 90° para direita", "olhar para a esquerda 15°".

Duas das mais importantes propriedades do sistema de taxon são: (1) as informações são armazenadas segundo sua categoria de inclusão e (2) as alterações das informações ocorrem de forma gradual.

Um sistema de inclusão de categorias armazena dois eventos (ou itens) com características similares no mesmo (ou muito próximo) circuito neural. Isto resulta em possíveis interferências quando um mesmo evento (ou item) está associado a outros eventos, em momentos ou contextos diferentes.

O armazenamento gradual, isto é, cada ativação da informação resulta em uma pequena mudança na força das conexões sinápticas, varia com o tempo que segue-se à ativação de uma hipótese de taxon. Assim, este postulado da teoria prevê que o comportamento dos animais que esteja baseado em uma hipótese de taxon será significativamente influenciado por intervalos entre tentativas.

Sistema Hipocampal de Mapeamento (Hippocampal mapping system): Neste sistema são processadas as hipóteses de lugar

(*place hypotheses*) cujas propriedades são bastante diferentes das hipóteses de taxon.

O mapa de um ambiente é composto por um conjunto de representações de lugares conectados entre si de acordo com as regras que representam as distâncias e direções entre os lugares. Segundo a teoria do mapa cognitivo, locais e espaços não existem no mundo físico, mas são noções construídas pelo cérebro, no sentido de organizar as entradas sensoriais. Um pequeno número de estímulos (2 ou 3) ocorrendo com uma configuração espacial única quando o animal está em uma parte específica do ambiente, é suficiente para a identificação de um local (lugar) no mapa.

Em qualquer ambiente existe normalmente um grande número de estímulos e, assim, a identificação de um determinado local não depende de qualquer pista (ou objeto) ou grupo de pistas em particular. Os vetores de distâncias e direções que conectam os locais no mapa do ambiente são produtos dos movimentos do animal naquele ambiente. Diferentemente das conexões neurais subjacentes às hipóteses de taxon, os mapas são formados durante a exploração do ambiente pelos animais. Os mapas podem ser utilizados pelos animais para se localizarem no ambiente, localizarem itens (ou eventos) neste ambiente, incluindo recompensas e punições (por exemplo: local A=alimento, local B=choque), ou ainda, para se locomoverem de um local para outro por qualquer rota disponível.

Exemplos de hipótese de lugar dados pelos autores: "este é um ambiente perigoso", "há um local seguro neste ambiente perigoso", "ir para o local A para obter água".

O'Keefe e Nadel (1978) desenvolvem considerações detalhadas acerca dos efeitos de lesões hipocámpais no comportamento animal e sobre a mais importante predição de sua teoria, na qual todo aquele conjunto de dados pode ser interpretado como uma perda da

aprendizagem de lugar (ou perda da capacidade de utilização do sistema de mapeamento) e do comportamento exploratório.

Como exposto anteriormente, a hipótese por guiamento envolve a aproximação ou afastamento, por meio de qualquer comportamento disponível, de uma pista específica (ou objeto), enquanto a hipótese por orientação especifica uma rotação egocêntrica, cujo eixo pode ser o corpo, a cabeça ou os olhos. Em contraposição, o sistema de mapeamento torna disponíveis a outras partes do cérebro as representações de lugares que podem ser utilizadas na solução de problemas. Se um animal está faminto, o mapa do ambiente no qual ele encontra-se pode ser consultado para verificar se há uma representação de alimento naquele ambiente. Se houver, então o mapa pode ser usado para gerar um programa motor, o qual levará o animal, da sua posição atual no mapa, para a localização do alimento.

Os animais nesta e em muitas outras tarefas, podem estar resolvendo-as por meio de uma ou mais estratégias. Conseqüentemente, os animais privados do seu hipocampo, e assim, do seu sistema de mapeamento, sendo incapazes da utilização da hipótese de lugar, podem estar solucionando a tarefa baseados nas outras duas estratégias (hipóteses de guiamento e/ou orientação).

Nas tarefas cuja solução depende de hipóteses de lugar seriam encontradas deficiências nos animais com lesões hipocampais. Quando outras hipóteses predominam ou são igualmente úteis, não deve haver prejuízo no desempenho dos animais lesados. Por outro lado, existem tarefas nas quais certos conflitos só podem ser resolvidos a partir da utilização da hipótese de lugar. Nestes casos, os animais lesados, para os quais apenas as outras estratégias estariam disponíveis, não conseguem ter um desempenho adequado na tarefa.

Teoria da Memória Operacional

Olton (1990) afirma que em toda aprendizagem há dois tipos de memória que organizam as informações. Seguindo a terminologia de Honig (1978, 1982), Olton sugere que o contexto específico, pessoal e temporal de uma situação é codificado na memória operacional (*working memory*). Ela é um processo mnemônico responsável pela codificação de informações acerca do contexto temporal no qual o evento ocorre, distinguindo um instante dentro de um conjunto de eventos. Como resultado, a memória operacional é muito propensa às interferências de efeitos temporais. Em contraste, a memória de referência (*reference memory*) é o processo mnemônico responsável pela codificação das informações que não requerem associações com o contexto temporal. Diferentemente da memória operacional, a memória de referência generaliza através dos instantes e é menos propensa à interferência temporal, isto é, na memória de referência as associações aprendidas independem do contexto temporal e podem ser utilizadas a qualquer momento dependendo dos aspectos não temporais do contexto. As informações da memória operacional são úteis para uma única tentativa, enquanto as informações da memória de referência são úteis para muitas tentativas. (Kesner, 1986; Olton, 1986; Olton, 1990).

Olton (1986, 1990) propõe que o hipocampo e suas interconexões mediam a memória operacional, enquanto algum outro sistema mediará a memória de referência. Vários experimentos realizados a partir de lesões de estruturas do sistema hipocampal e/ou seus eferentes e aferentes, sugerem o envolvimento da formação hipocampal com a memória operacional, e não com a memória de referência, independente das informações envolvidas no contexto experimental serem temporais ou espaciais (Meck, Church & Olton, 1984; Olton, 1986). Assim, segundo Olton e outros autores, o sistema hipocampal está diretamente envolvido na memória operacional temporal ou espacial, embora esta estrutura não seja requerida pela memória de referência (Meck et al., 1987; Markowaska et al., 1989; Murray et al., 1989).

Teoria do Relógio Interno

De acordo com Church e Broadbent (1990) um modelo geral de processamento de informações contém (1) um registrador sensorial, (2) mecanismos de seleção, (3) memória operacional, (4) memória de referência e (5) processos de decisão. Já um modelo de processamento de informações temporais, de acordo com estes autores, contém: (1) marca-passo (*pacemaker*), (2) interruptor (*switch*) e acumulador, (3) memória operacional, (4) memória de referência e (5) comparador.

O número de pulsos do acumulador (a) é a frequência de pulsos por segundo (l) produzida pelo marca-passo, vezes o número de segundos que o interruptor (ligado do marca-passo para o acumulador) tenha sido aberto/fechado:

$$\begin{array}{ccccc} \text{no. de pulsos acumulador} & = & \text{no. de pulsos/seg.} & \times & \text{no. de segundos} \\ (a) & & (l) & & (t) \\ & & \text{marca-passo} & & \text{no. de liga/desliga (switches)} \end{array}$$

O número de pulsos armazenados na memória de referência é o número de pulsos que estavam no acumulador na hora do reforço, multiplicado por uma constante de memória K^* . As decisões são baseadas na similaridade do valor do acumulador e um valor armazenado na memória de referência. A memória de referência armazena o número de pulsos registrados pelo acumulador no momento do reforço vezes uma constante K^* ; este valor vai ser comparado com os valores atuais de registro do acumulador para uma tomada de decisão.

Este modelo torna possível a identificação de efeitos seletivos de variáveis independentes nos vários estágios do processamento temporal. Por exemplo, durante um intervalo (*gap*) em um sinal, o interruptor pode permanecer fechado ou aberto. Isto é chamado de *run mode* e *stop mode* respectivamente.

Há evidências de que drogas que afetam a ação da dopamina alteram a velocidade do relógio (I), enquanto drogas que afetam a ação da acetilcolina alteram o armazenamento das informações na memória e o acesso às informações do relógio interno (leitura do relógio) (Meck, 1983).

Lesões da fímbria-fórnix ou da área septal decresceriam o valor da constante K^* e interfeririam com a retenção da duração de um sinal durante um intervalo (gap) sem, contudo, interferir com a contagem do tempo durante um sinal contínuo (Meck, Church & Olton, 1984). Por outro lado, lesões do córtex frontal ou do nucleus basalis magnocellularis aumentariam o valor da constante K^* e interfeririam com a atenção, sem interferir com a contagem de um único sinal contínuo (Meck et al., 1987).

3. Efeitos de Lesões

Markowska et al. (1989) treinaram ratos com transecção do fórnix e ratos normais em uma tarefa de discriminação condicional que era realizada em dois aparelhos experimentais localizados em diferentes posições da sala. Dois objetos diferentes e suas duplicatas eram usados como estímulos discriminativos: um par formado por dois diferentes objetos em cada local. Em um local, um tipo de objeto era reforçado e no outro local, o outro tipo de objeto era reforçado. Assim, para resolver a tarefa de discriminação, o rato tinha que identificar a localização espacial do aparelho experimental, identificar os objetos e aprender a discriminação condicional: quando no local A, objeto x é correto; quando no local B objeto y é correto. Os ratos com lesão do fórnix não apresentam diferenças significativas dos ratos controle no desempenho de tal discriminação. A partir destes resultados, os autores sugerem que o fórnix não está envolvido com uma série de habilidades cognitivas: (1) a habilidade de identificar a localização do aparelho experimental (ou seja, identificar o local onde se encontra); (2) a capacidade associativa

de aprender as contingências do estímulo-resposta-reforço; (3) a correspondência de escolha de um objeto em um local e de outro em um segundo local.

A tarefa descrita acima requer flexibilidade de resposta: escolha de um estímulo em um contexto e de outro estímulo em um segundo contexto. Devido à associação entre cada estímulo e cada contexto ser a mesma para cada tentativa, os ratos podem utilizar esta associação para fazerem a escolha corretamente. Neste caso, o contexto temporal da ocorrência do evento é irrelevante (relevante é a associação local-objeto). Esta discriminação espacial condicional não requer a memória operacional. Os animais devem lembrar que em todas as tentativas quando os objetos estão em um local específico, o objeto A é recompensado e B não é. Esta é uma tarefa típica da utilização da memória de referência.

A capacidade de animais lesados (transecção do fórnix) processarem informações espaciais não é prevista pelas teorias que enfatizam funções espaciais do hipocampo (O'Keefe & Nadel, 1978), mas são consistentes com teorias que sugerem que o hipocampo está envolvido no processamento da memória operacional (Olton, 1979; Olton, 1990), sendo que, no experimento de Markowaska et al (1989) não haveria o envolvimento da memória operacional, mas sim, da memória de referência. Contudo, deve-se ressaltar que, embora a localização do animal no espaço sirva como uma pista condicional, não se pode excluir a possibilidade de que a pista da "localização espacial" esteja atuando como uma pista "cena visual". Assim, a tarefa ao invés de ser uma discriminação espacial - onde o animal deve discriminar entre duas configurações espaciais distintas - seria uma discriminação visual. E, neste caso, os animais lesados (transecção do fórnix) poderiam estar utilizando da estratégia de guiamento (sistema de taxon) para resolver a tarefa.

Efeitos comportamentais de lesões seletivas da fímbria-fórnix e núcleo talâmico (centro mediano parafascicular mediano e núcleo dorso

medial) foram comparados por meio de três tarefas diferentes envolvendo a memória operacional (M'Harzi et al., 1991): (1) reconhecimento de um objeto, (2) reconhecimento de lugar e (3) teste no labirinto radial. Os principais efeitos das lesões da fímbria-fórnix foram: (a) deficiência no labirinto radial, (b) prejuízo no reconhecimento de lugar e (c) facilitação no reconhecimento de objeto. As duas primeiras tarefas envolvem a memória operacional para lugares (espacial), enquanto a última envolve apenas a memória operacional para pistas (visual), o que sugere a integridade da memória operacional quando o componente espacial é eliminado.

Diversos trabalhos têm mostrado que a lesão do hipocampo causa um prejuízo no desempenho de ratos submetidos a esquemas de reforçamento, como o de *differential reinforcement of low rates* (DRL). Neste procedimento, a resposta de pressão à barra é reforçada se, e somente se, ela segue a resposta precedente por um intervalo de tempo específico, neste caso o animal precisa discriminar o tempo decorrido entre a última pressão a barra e o momento atual. (Richelle & Lejeune, 1980; Rawlins et al. 1983; Boitano et al. 1980; Clark & Isaacson, 1965).

Rawlins e colaboradores (1983) mostraram que ratos com lesões hipocámpais por aspiração apresentam uma severa deficiência na aquisição de uma tarefa de DRL-12s, tanto com relação a média de reforços obtidos, quanto com relação a taxa de reforço (no. de respostas reforçadas/no. de respostas totais) obtida ao longo das sessões. Após 25 sessões com duração de 20 minutos cada, os animais hipocámpais apresentam um nível de desempenho (reforço obtido) igual ao nível inicial. Resultados semelhantes foram encontrados por Clark e Isaacson (1965), com o mesmo tipo de lesão, neste caso, o intervalo da DRL era de 20 s. Os animais lesados apresentaram após 14 sessões de 45 minutos cada, uma porcentagem de respostas reforçadas entre 5 e 10%, enquanto os animais controle apresentavam aproximadamente 30% de respostas reforçadas. Também utilizando uma tarefa de DRL-20s, Jarrard (1977) mostrou que ratos hipocámpais (lesão do hipocampo

por aspiração) após 10 sessões de 45 minutos apresentaram menos de 1% de respostas reforçadas, enquanto os animais controle alcançavam uma média em torno de 8%. Finger e colaboradores (1990) testaram ratos em um esquema de DRL-20s e 40s: os animais com lesões eletrolíticas do hipocampo apresentam significativa deficiência no desempenho da tarefa, não conseguindo atingir o mesmo nível de desempenho dos animais controle, mesmo após 30 sessões de treino.

Lesões Hipocampais Seletivas

A formação hipocampal encontra-se dividida em quatro regiões estruturalmente distintas: córtex entorrinal, giro denteado, corno de Ammon ou hipocampo propriamente dito e complexo subicular. O Corno de Ammon, ou hipocampo propriamente dito, com base na morfologia celular e projeções de fibras, é subdividido em quatro campos: CA1, CA2, CA3 e CA4.

Pesquisas anatômicas e eletrofisiológicas têm indicado que a formação hipocampal contém um circuito neuronal bem definido (circuito trissináptico), formando um fluxo de informações através da formação hipocampal. Este circuito tem sua origem no córtex entorrinal, que através da via perfurante, projeta-se para o giro denteado, de onde parte um sistema de fibras musgosas para o CA3, prosseguindo do CA3 para o CA1, através do sistema colateral de Schaffer. As maiores projeções intrahipocampais das células piramidais do campo CA1 dirigem-se para o subículo e, daqui, para as partes medial e lateral da área entorrinal, através do alveus, tal projeção fecha o circuito trissináptico (Jarrard, 1980; Santos, 1995)

Através da fímbria e fórnix passam as principais vias aferentes e eferentes da formação hipocampal. As conexões aferentes e eferentes da formação hipocampal são bastante complexas. Resumidamente, as principais eferências da formação hipocampal destinam-se a estruturas sub-corticais (corpos mamilares, núcleos talâmicos anteriores, área

septal) e corticais (córtex de associação nas áreas pré-frontal, temporal e cingulada). Enquanto que as principais aferências da formação hipocampal provém em de regiões de associação corticais, claustró, bulbo olfatório e córtex olfativos, da amígdala, septo, tálamo e hipotálamo (Xavier, 1985; Jarrard, 1980).

Lesões hipocampais realizadas por técnicas convencionais (aspiração, eletrolítica e radiofreqüência) usualmente danificam fibras de passagem e estruturas adjacentes, dificultando a interpretação dos resultados (Bouffard & Jarrard, 1988; Jarrard, 1980).

Pesquisas têm mostrado os efeitos de lesões seletivas de componentes estruturais do hipocampo na aprendizagem e memória. A utilização de novas técnicas cirúrgicas que envolvem neurotoxinas que evitam danos às fibras de passagem, permitindo lesões de áreas neuroanatomicamente discretas do hipocampo tem mostrado evidências de diferentes subdivisões estarem relacionadas a diferentes processos comportamentais.

Por exemplo, injeções bilaterais de colchicina no giro denteado produzem um prejuízo na habilidade de ratos desempenharem, em um labirinto em T, tarefas que requeiram a memória operacional. Entretanto, este procedimento não prejudica o desempenho dos animais com relação a memória de referência (Emerich & Walsh, 1989). Ratos submetidos a isquemia desenvolvem severa perda celular bilateral no CA1 dorsal. Quando treinados em um labirinto radial de 12 braços, os animais isquêmicos não exibem prejuízos na memória de referência em relação aos controle, porém há severos prejuízos na memória operacional (Volpe et al., 1989).

Por outro lado, os efeitos do isolamento do hipocampo de suas aferências e eferências neocorticais - pela destruição de camadas profundas do córtex entorrinal e subículo - foram comparados aos efeitos da lesão direta do hipocampo em uma tarefa realizada no

labirinto radial. O desempenho dos animais lesados no córtex entorrinal e subículo foi similar ao desempenho dos animais controles. Contudo, os animais com lesões hipocâmpais sofreram um déficit no desempenho relativo à memória operacional (Bouffard & Jarrard, 1988). Estes resultados apoiam a idéia do envolvimento do hipocampo no processamento da memória operacional ou em processos que requeiram a associação temporal de eventos críticos. Além disso, o córtex entorrinal e subículo parecem não ter uma participação crítica em tais processos.

As células do giro denteado que recebem aferências excitatórias do córtex entorrinal (através da via perforante) e ativam as células piramidais do subcampo CA3 do hipocampo, via fibras musgosas, tem sido estudada como mediadoras dos processos de memória (Tilson et al, 1988). Este estudo tem sido facilitado pela observação de que administração direta de colchicina - neurotoxina que liga-se a tubulina e bloqueia a mitose e transporte axoplasmático (Hanson e Estron, 1978) - destrói preferencialmente as células granulares e fibras musgosas (Goldschmidt e Steward, 1982).

Pesquisadores têm mostrado que a administração de colchicina no giro denteado interfere em uma série de tarefas comportamentais (Tilson et al., 1988). Vários trabalhos mostram um envolvimento das células granulares do giro denteado e fibras musgosas na mediação da memória espacial e/ou operacional. A destruição das células granulares do giro denteado por administração tópica de colchicina produz prejuízos significativos no desempenho de ratos em tarefas no labirinto radial (Tilson et al., 1988, Emerich & Walsh, 1991, Flaherty et al., 1989); no labirinto aquático (Jr. Barone, 1991); e no labirinto em T (Emerich & Walsh, 1989).

Por outro lado, lesões seletivas do subcampo CA1 (lesões por aspiração do neocórtex sobre o hipocampo anterodorsal e médio e

remoção do alvéolo e células piramidais do campo CA1) não produzem diferenças de desempenho com relação a animais controles na aquisição de uma tarefa espacial em um labirinto em **Y**, alternância espontânea, retenção de informação em um labirinto radial. Tais lesões também não causam prejuízo no desempenho de animais em tarefas temporais: FI-30s e DRL-20s (Jarrard, 1980). Contudo, nestas tarefas temporais são observados prejuízos no desempenho dos animais, quando realizada uma lesão extensiva do hipocampo ou lesões seletivas do subcampo CA3 (lesão por isolamento das projeções rostrais das células do CA3 obtidas por secção da fímbria ao nível do polo anterior do hipocampo) (Jarrard e Becker, 1977).

Portanto, observam-se diferenças entre as várias subdivisões das estruturas hipocâmpais do ponto de vista comportamental. Além disso, pesquisas neuroanatômicas e neurofisiológicas também têm indicado importantes diferenças entre essas áreas (Jarrard,1980).

OBJETIVOS

Na literatura encontram-se propostas acerca da função do hipocampo como mediador (1) da memória operacional, independente do tipo de informação envolvida na tarefa - teoria da memória operacional/relógio interno; (2) de aprendizagem espacial - teoria do mapa cognitivo. Com a utilização de lesões seletivas de áreas neuroanatomicamente discretas da formação hipocampal, pesquisas têm mostrado evidências de que as diferentes subdivisões estão relacionadas com diferentes processos comportamentais, o que pode trazer importantes implicações relativas ao envolvimento do hipocampo nos processos de aprendizagem e memória.

Assim, o objetivo deste trabalho é caracterizar as alterações de aprendizagem e memória induzidas pela perda seletiva das células granulares do giro denteado em tarefas que envolvem processos espaciais e temporais. Desta forma, este procedimento experimental propiciará o estudo e análise da participação de uma mesma estrutura em diferentes processos cognitivos. Além de uma discussão acerca das previsões e capacidade de explicação das teorias do mapa cognitivo e memória operacional.

EXPERIMENTO I

Neste experimento, estudou-se o efeito de lesões das células granulares do giro denteado em animais pré-treinados em duas tarefas - uma espacial (NMTS) e outra temporal (DRL).

Tanto a teoria do mapa cognitivo, quanto a teoria da memória operacional/relógio interno, postulam que o hipocampo é necessário para se ter um desempenho adequado nestas duas tarefas.

Método

Sujeitos

Foram utilizados 20 ratos Wistar, machos, com 90 dias de idade no início dos experimentos, pesando de 220 a 280 gramas, provenientes do Biotério Central da USP/Campus Ribeirão Preto. Durante o decorrer dos experimentos, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sob regime de privação alimentar (80% do peso ad lib).

Equipamentos

Tarefa espacial

Foi utilizado um labirinto em *MAIS*, em acrílico transparente. Cada corredor do labirinto (50 x 10 x 10 cm) é conectado a uma caixa (30 x 30 x 10 cm), também construídas em acrílico transparente:

1. Caixa Inicial **I**
2. Caixa Inicial **I'** (oposta a caixa **I**)
3. Caixa Alvo **A**
4. Caixa Alvo **B** (oposta a caixa **A**)

(ver a seguir figura esquemática do Labirinto *Mais*)

Todas as quatro caixas de acrílico são separadas dos corredores do labirinto por portas tipo guilhotina. Também existem quatro portas

tipo

fig lab.

guilhotina separando o quadrado central (10 x 10 x 10 cm) dos corredores, deste modo, pode-se bloquear o corredor e caixa Inicial I' do resto do labirinto. Nas caixas **A** e **B**, a 4 cm da parede oposta à porta, há um orifício circular no assoalho no qual podem ser colocadas manualmente pelotas de alimento.

Na parte externa do assoalho, em toda a extensão do labirinto, são encaixados cartões de cartolina amarelos. Desta, forma, o assoalho do labirinto, por transparência, apresenta-se da cor da cartolina. O labirinto é elevado a uma altura de 100 cm e está apoiado sobre uma estrutura de madeira.

Este conjunto estava localizado em uma sala de 1.85m por 2.30m. Além da experimentadora (que posicionou-se ao lado da Caixa Inicial - I), os objetos visíveis na sala eram: maçaneta da porta, interruptor de luz, tomada de luz, alavanca para abertura da janela da sala (a janela estava encoberta por uma cortina da mesma cor das paredes) e três barras de ferro horizontais fixadas em uma das paredes.

Tarefa temporal

Foram utilizadas para esta tarefa, caixas experimentais (caixa de Skinner, modelo Lafayette 80201) que possuem, na parede oposta à entrada, uma barra que se encontra a 7 cm do piso. Abaixo e à esquerda desta, há uma abertura circular por onde são liberadas pelotas de comida como reforço. A caixa experimental era ligada por uma interface (MRA - Equipamentos Eletrônicos) a um computador (PC-AT 286) que controlava o experimento e registrava os dados.

Cada caixa experimental localizava-se dentro de uma caixa de madeira (55 x 55 x 55 cm) com espessura de 2.5 cm, incluindo o revestimento de eucatex, para isolamento de ruídos externos. A porta frontal desta caixa possui um visor (20 x 15 cm) que permite a observação dos animais. Este conjunto localizava-se em uma sala (6.0 x 1.6 x 3.0 m). A interface e computador localizavam-se em uma sala

adjacente.

Procedimento

Privação alimentar e manipulação

O esquema de privação foi de aproximadamente 23 horas de privação com acesso ao alimento por um período de tempo suficiente para manter o peso dos animais em torno de 80% do peso ad lib no período correspondente ao término da sessão diária do experimento. Os animais eram manipulados diariamente durante a pesagem. Além disso, durante 3 dias antes da exposição dos animais aos aparelhos, eles foram manipulados pelo experimentador por 1 minuto.

Pré-exposição

Após a fase de manipulação, os animais foram submetidos a sessões de pré-exposição ao labirinto e à caixa de Skinner, durante 2 dias.

Tarefa espacial: As portas permaneciam abertas (com exceção do corredor e caixa I'). O animal era colocado na caixa I e tinha livre acesso aos corredores e caixas do labirinto. No orifício das caixas A e B eram colocadas três pelotas de alimento. A sessão teve a duração de 5 minutos para cada animal.

Tarefa temporal: Na primeira sessão de pré-exposição à caixa de Skinner, os animais foram também submetidos ao treino do comedouro e a resposta de pressão à barra. Na segunda sessão, os animais foram submetidos ao esquema de reforçamento contínuo - *CRF-continuous reinforcement frequency*: o animal era colocado na caixa experimental,

onde a pressão à barra, a qualquer momento, era sempre seguida de reforço. A sessão teve a duração de 30 minutos para cada animal.

A tarefa temporal era realizada aproximadamente 30 minutos após a tarefa espacial.

Pré-Treino

Foram realizadas em seguida, cinco sessões de pré-treino para a tarefa espacial, uma por dia, com oito tentativas por sessão para cada animal. Para esta tarefa, os animais foram divididos em dois grupos, cada um sendo treinado em dias alternados. Cada tentativa consistiu na corrida forçada para uma das caixas-alvo - fase de informação: a porta do corredor de uma das caixas (**A** ou **B**) permanecia fechada, o outro corredor e caixa correspondente estavam livres. O animal era colocado na caixa **I** e devia dirigir-se à caixa disponível onde encontraria duas pelotas de alimento. Nesta fase o acesso ao corredor e caixa **I'** estava bloqueado.

Na tarefa temporal, os animais, depois da fase de pré-exposição, passaram diretamente à fase de treino. Aproximadamente 30 minutos após as sessões de pré-treino na tarefa espacial, os animais eram treinados na tarefa temporal, fase de treino.

Treino

Todos os animais foram submetidos aos treinos nas duas tarefas - espacial e temporal, com aproximadamente 30 minutos de intervalo entre as tarefas. Durante esse intervalo os animais eram recolocados em suas gaiolas.

Os treinos eram realizados em 5 dias consecutivos da semana. Na tarefa temporal todos os animais eram treinados diariamente. Na tarefa espacial os animais foram divididos em dois grupos, cada um sendo treinado em dias alternados. Esta fase de treino prolongou-se até os animais terem atingido um nível de desempenho de

aproximadamente 80% de eficiência em cada tarefa.

Tarefa espacial: Os animais foram submetidos a seis sessões de treino em esquema de *non-matching-to-sample* (NMTS), cada sessão com oito tentativas com um intervalo de 10 minutos entre as tentativas. Uma tentativa era composta de duas fases seguidas: 1^a **fase de informação** - a porta do corredor de uma das caixas (**A** ou **B**) permanecia fechada, o outro corredor e caixa correspondente estavam livres. O animal era colocado na caixa **I** e devia dirigir-se à caixa disponível onde encontraria duas pelotas de alimento. Nesta fase o acesso ao corredor e caixa **I'** estava bloqueado. 2^a **fase de escolha** - as portas das caixas **A** e **B** ficavam abertas, permitindo ao animal deslocar-se para qualquer ponto do labirinto (com exceção do corredor e caixa **I'** que estavam bloqueados). Após o animal ingerir as pelotas de alimento da fase anterior (de informação) ele era retirado da caixa onde encontrava-se e recolocado na caixa **I**; a porta era aberta, e então, o animal encontraria as pelotas de alimento na outra caixa que não a visitada na fase de informação. Consequentemente, nesta fase, a melhor estratégia para o animal é entrar na caixa que não estava previamente disponível durante a fase de informação. Entre uma fase e outra havia um intervalo de aproximadamente 3 s. Quando em uma tentativa o animal entrasse na caixa incorreta, as portas do labirinto eram fechadas, encerrando-se tal tentativa e dando-se continuidade à sessão.

Os animais eram submetidos, também, a um segundo esquema de treino: na fase de escolha, o animal era colocado na caixa **I'**; o acesso ao corredor e caixa **I** era bloqueado. Este esquema garantia que os animais não utilizassem uma estratégia de orientação do eixo do corpo, i.e., virar à esquerda ou à direita. O procedimento era idêntico ao descrito anteriormente, porém o animal não poderia associar a virada do corpo da fase forçada com a rotação do corpo na fase de escolha. Neste caso, garante-se que o animal não está aprendendo a virar para o lado oposto ao virado na fase de informação.

Nesta fase, o treino dos animais nestes dois esquemas (1. saída da caixa I e 2. saída da caixa I') foi pseudo-randômico, i.e., os animais foram treinados nos dois esquemas o mesmo número de vezes em cada sessão, porém a ordem dos esquemas no decorrer da sessão foi aleatória.

Para análise do desempenho dos animais foram coletados os dados referentes a:

1. tempo de percurso da caixa I (ou I') até a caixa alvo;
2. número de entradas no corredor incorreto;
3. número de entradas na caixa incorreta.

Tarefa temporal: Nesta fase os animais foram submetidos a 24 sessões. O esquema empregado foi de DRL - *Differential Reinforcement of Low Rates*. Neste procedimento, a resposta de pressão à barra era reforçada se, e somente se, ela seguia a resposta precedente por um intervalo de tempo específico.

Era realizada uma sessão diária de 30 minutos. Durante este período, suas respostas de pressão à barra só eram reforçadas quando espaçadas de no mínimo 20 s (DRL 20 s). Respostas com um tempo inferior a 20 s da última resposta não eram reforçadas e, além disso, o tempo era zerado, i.e., contavam-se novamente os 20 s.

Para a análise do desempenho dos animais foram registradas as seqüências de intervalos entre as respostas (IER) durante as sessões. O controle deste procedimento e coleta dos dados foi realizado com um programa de computador especialmente desenvolvido. pelo técnico Eldereis de Paula do Centro de Instrumentação, Dosimetria e Radioproteção do Departamento de Física, Matemática e Geologia - FFCL-RP.

Lesões

Aproximadamente 15 dias após a fase de treinos, os animais foram submetidos à cirurgia. Os animais foram divididos em dois grupos: *Sham* e Lesado. O grupo Lesado teve células granulares do giro denteado destruídas pela aplicação múltipla e tópica de colchicina, enquanto o grupo *Sham* foi submetido à cirurgia, mas não à aplicação de colchicina.

O anestésico utilizado foi a equitesina, injetado intraperitonealmente na dose de 0.3 ml de equitesina para cada 100g de peso do animal.

Após a anestesia o animal era colocado no aparelho estereotáxico, dando-se início à cirurgia. Foram utilizadas as coordenadas estereotáxicas baseadas no Atlas de Paxinos e Watson (1986) (Tabela 1). O bregma foi utilizado como ponto zero para as coordenadas antero-posterior e meso-lateral, e a superfície da dura-máter para as coordenadas dorso-ventrais.

As lesões do giro denteado foram realizadas por meio de micro-injeções de colchicina dissolvida em tampão fosfato-salina na concentração de 7 mg/ml e pH 7.4 nas seguintes coordenadas (em mm):

Tabela 1.

| Antero-Posterior | Meso-Lateral | Dorso-Ventral |
|------------------|--------------|---------------|
| -2.3 | 1.0 | -3.4 |
| -3.0 | 1.4 | -3.4 |
| -4.0 | 2.0 | -3.3 |
| -4.8 | 3.1 | -3.5 |
| | 3.9 | -7.2 |
| -5.7 | 4.1 | -3.8 |
| | 4.9 | -5.6 |
| | | -4.8 |
| | | -4.0 |

Em cada um dos 18 pontos, 9 em cada hemisfério cerebral, foram injetados 0.06 µl da droga. Após cada injeção esperou-se 60 s

para evitar o refluxo da droga.

Ao final da aplicação de colchicina em todos os pontos, a incisão era suturada, o animal retirado do aparelho estereotáxico e recolocado em sua gaiola. O período de recuperação dos animais deu-se em 20 dias, após os quais, os animais foram submetidos às sessões de testes.

Os animais *sham* sofreram o mesmo processo cirúrgico que os animais experimentais, excluindo-se a administração da colchicina.

Testes

Passado o período de recuperação cirúrgica, os animais foram testados nas duas tarefas previamente treinadas.

Tarefa espacial: os animais foram submetidos a duas sessões, chamadas pré-testes, cujo procedimento foi idêntico às sessões de pré-treino realizadas antes da cirurgia. Após estas sessões foram realizadas seis sessões de testes. O procedimento dos testes foi idêntico ao procedimento realizado nas sessões de treino da fase pré-lesão.

Tarefa temporal: foram realizadas 24 sessões de testes, cujo procedimento foi idêntico aos treinos da fase pré-lesão.

Histologia

Ao término dos experimentos os animais foram anestesiados profundamente com éter e perfundidos intracardiacamente, com 400ml de solução de sulfeto tamponada. Após a perfusão, os encéfalos foram retirados da caixa craniana, fixados em carnoy e processados até sua inclusão final em parafina. Depois de emblocados, os blocos de cérebros foram fatiados no micrótomo. Secções de 8µm de espessura foram cortadas e a cada 15^o corte, uma fatia foi coletada para a montagem de lâminas, que foram coradas com violeta de cresil, que permite evidenciar corpúsculos de Nissl e portanto, a ocorrência de perda celular no giro denteado, CA1 e outras estruturas.

Análise de Resultados

Tarefa Espacial

A partir do número de entradas na caixa incorreta calculou-se o Índice de Eficiência Espacial (IEf.):

$$\text{IEf. (\%)} = (8 - n^{\circ} \text{ de entradas na caixa incorreta}) \times 12.5$$

O desempenho máximo possível ocorre quando o número de entradas na caixa incorreta = 0. Assim,

$$\text{IEf. (\%)} = 8 - 0 \times 12.5 = 100\%$$

O tempo de percurso e o número de entradas no corredor incorreto foram utilizados para análise complementar.

Tarefa temporal

A partir dos intervalos entre as respostas de pressão à barra calculou-se o Índice de Eficiência Temporal (IEf.) (Richelle & Lejeune, 1980):

$$\text{IEf. (\%)} = \frac{N' + \sum_{x_i < T} X_i/T}{N} \times 100$$

sendo,

N' = número de respostas reforçadas

N = número total de respostas

T = tempo crítico, no caso T = 20 s

Xi = duração dos IRTs menores que T

O desempenho máximo possível ocorre quando:

$$N' = N \text{ e } \sum X_i = 0$$

portanto,

$$\text{IEf.} = \frac{N' + 0}{N} \times 100 = 100\%$$

As médias dos Índices de Eficiência diárias dos (N) sujeitos ao

longo das sessões, tanto da tarefa espacial quanto temporal, foram usadas na análise estatística empregando-se uma Análise de Variância com Repetição. Esta análise permitiu a comparação (1) entre as curvas de desempenho pré e pós operatórias e (2) entre as curvas de desempenho entre os grupos *sham* e lesado. Nesta análise foram avaliados os efeitos individuais dos fatores grupo e sessão, assim como os efeitos de interação grupoxsessão. Comparações pos-hoc foram realizadas com o teste de Newman-Keuls. Somente foram consideradas diferenças com níveis de significância iguais ou menores do que 0.05.

Resultados Histológicos

Ao término dos experimentos os animais foram anestesiados profundamente com éter e perfundidos intracardiacamente, com 400ml de solução sulfeto tamponada. Após a perfusão, os encéfalos foram retirados da caixa craniana, fixados em carnoy e emblocados em parafina. Depois de fixados, os blocos de cérebros foram levados ao criostato e fatiados. Secções de 8µm de espessura foram cortadas e a cada 15^o corte, uma fatia era coletada para a montagem de lâminas, que foram coradas com violeta cresil. A análise das lâminas permitiu evidenciar corpos celulares e demonstrar a ocorrência de lesões no giro denteado e outras estruturas.

As áreas do giro denteado das lâminas com cresil foram analisadas pelo Método de Morfologia, utilizando-se do Analisador de Imagens Kon Tron Bildanalyse (Mini-Mop) acoplado a um microscópio de Luz (Zeiss, Alemanha) no Laboratório de Microscopia e Computação, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

A observação e análise, ao microscópio, das lâminas mostrou que houve extensa lesão das células do giro denteado, tanto no hemisfério direito quanto esquerdo e uma pequena perda de células do CA1 dorsal no hemisfério esquerdo dos animais do Grupo Lesado (Figura 7). A análise da área do giro denteado dos animais lesados mostra que esta área está bastante diminuída com relação à área do giro denteado dos animais *sham* ($T=22.55$; $p=0.00$). O Grupo *Sham* apresenta uma média de área do giro denteado igual a 0.248 ± 0.03 mm², enquanto o Grupo Lesado apresenta uma média de área do giro denteado igual a 0.035 ± 0.02 mm². A análise da área (mm²) por hemisférios é apresentada a seguir:

| | Hemisfério direito | Hemisfério esquerdo |
|-------------------|--------------------|---------------------|
| Grupo <i>Sham</i> | 0.250 ± 0.02 | 0.246 ± 0.03 |
| Grupo Lesado | 0.046 ± 0.02 | 0.024 ± 0.01 |

Figura 7. Corte transversal do encéfalo de ratos Wistar, corados com cresil violeta.

GD - Giro Denteado do hipocampo. CA1 - Campo CA1 do hipocampo.

7a. *Sham*

7b. Lesado

Resultados Comportamentais

Resultados Pré-lesão

Para a análise dos resultados, 16 sujeitos foram divididos em dois grupos, equivalentes em termos de desempenho, de 8 animais cada: (1) Grupo *Sham* e (2) Grupo Lesado.

Tarefa Espacial

Na Figura 1a (sessões pré-lesão) são apresentadas as curvas do tempo de percurso (s) dos animais, desde a saída da caixa Inicial **I** (ou **I'**) até a caixa alvo **A** ou **B**. Este gráfico mostra uma diminuição do tempo de percurso ao longo das sessões. Além disso, nas sessões de treino, nas quais os animais foram submetidos a duas corridas por tentativa, não há diferenças entre os tempos da primeira corrida - fase de informação e os tempos de percurso da segunda corrida - fase de escolha. O tempo de percurso nas duas fases estabilizou-se em torno de 2 a 3 s.

Os Índices de Eficiência (IEf.) dos dois grupos, *Sham* e Lesado, na condição pré-lesão, sessões de treino (T), são apresentados na Figura 2a. Os animais apresentaram um desempenho acima de 50% já na primeira sessão de treino. Este nível de desempenho, em torno de 80% manteve-se ao longo das seis sessões.

A análise de variância para medidas repetidas dos IEf. desta fase de testes evidenciou não haver diferenças significativas entre os grupos ($F(1,14)=0.23$; $p=0.60$), entre as sessões dos dois grupos ($F(5,70)=0.76$; $p=0.60$) e entre os grupos ao longo das sessões ($F(5,70)=0.23$; $p=0.95$).

Na Tabela 1 do Apêndice são apresentadas as médias e desvios padrão dos IEf. dos grupos *Sham* e Lesado, nas sessões de treino da tarefa espacial.

Tarefa Temporal

Na Figura 3a são apresentadas as médias dos Índices de Eficiência (IEf.%) em seis blocos de quatro sessões nos treinos em DRL. O nível de desempenho no primeiro bloco está em torno de 30-40%, elevando-se ao longo das sessões, atingindo no último bloco 75% de IEf..

A análise de variância dos IEf. dos dois grupos mostra não haver diferenças significativas (1) entre os dois grupos ($F(1,14)=0.33$; $p=0.57$) e (2) interação grupo x blocos de sessões ($F(5,70)=1.79$; $p=0.12$), porém existem diferenças entre os blocos ($F(5,70)=131.84$; $p=0.00$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que, tanto para o Grupo *Sham* quanto para o Grupo Lesado, o primeiro e o sexto blocos diferem de todos os outros, indicando o aumento significativo do desempenho dos animais ao longo dos blocos.

Na Tabela 2a do Apêndice são apresentadas a análise dos IEf. para os dois grupos em cada sessão de treino, assim como, a análise de variância para todas as sessões.

Assim, a análise estatística retrospectiva mostra não haver diferenças significativas no desempenho dos grupos constituídos durante o treino pré-lesão. Garante-se, assim, que os resultados obtidos nos testes pós-lesão sejam devidos às lesões realizadas e não a diferenças pré-operatórias já existentes.

Resultados Pós-lesão

Dos 20 animais pré-treinados, três, um pertencente ao Grupo *Sham* e dois ao Grupo Lesado, morreram como consequência da anestesia e/ou cirurgia. Um outro animal do Grupo *Sham* não pode ser

testado na tarefa espacial, pois seu tempo de percurso manteve-se acima de 120 s nas tentativas da primeira e segunda sessões de pré-teste e foi retirado também da análise dos resultados da tarefa temporal. Os dados dos animais que foram retirados da fase pós-lesão foram também retirados da análise pré-lesão. Assim, a análise dos resultados e estatística deste experimento foi realizada com os mesmos 16 animais (oito em cada grupo) nas tarefas pré-lesão e pós-lesão.

Tarefa Espacial

Na Figura 1b (sessões pós-lesão) os animais dos dois grupos apresentaram um aumento do tempo de percurso nos pré-testes 1 e 2 quando comparados com as últimas sessões de treino. Este tempo diminuiu nas sessões seguintes, estabilizando-se em torno de 3s, igualando-se aos tempos de percurso obtidos nos treinos pré-lesão.

Os Índices de Eficiência dos dois grupos, *Sham* e Lesado, na condição pós-lesão, são apresentados na Figura 2b. A análise estatística mostra diferença significativa entre os dois grupos - efeito de grupo: $F(1,14)=24.47$; $p=0.00$; efeito de sessão: $F(5,70)=2.41$; $p=0.04$; mas não efeito de interação grupoxsessão: $F(5,70)=1.68$; $p=0.15$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que os animais lesados diferem significativamente dos animais *sham* nas sessões 4 e 5. Não existem diferenças significativas entre as sessões, para o Grupo *Sham*, porém, as sessões 2 (TS2) e 4 (TS4) do Grupo Lesado diferem significativamente da sessão 6 (TS).

O Grupo *Sham* não apresenta diferenças significativas entre os IEf. obtidos nos treinos e testes, apesar da curva apresentar uma ligeira melhora de desempenho ao longo das sessões de testes (*Sham* pré-pós lesão: efeito de grupo: $F(1,14)=0.00$; $p=1.00$; efeito de sessão: $F(5,70)=1.19$; $p=0.32$; efeito grupoxsessão: $F(5,70)=0.99$; $p=0.43$).

Os IEf. do Grupo Lesado nas primeiras cinco sessões de testes são menores que nas sessões de treino. No teste 6 (TS6), os animais lesados apresentam um aumento de seus IEf., igualando-se aos dos animais *sham* (Figura 2b). A análise estatística mostra diferença significativa entre o Grupo Lesado pré-lesão e pós-lesão (Lesado pré-pós lesão: efeito de grupo: $F(1,14)=25.48$; $p=0.00$; efeito de sessão: $F(5,70)=2.011$; $p=0.09$; efeito grupo x sessão: $F(5,70)=1.12$; $p=0.36$). O Teste de Newman-Keuls mostra que as sessões de testes pós-lesão 2 (TS2) e 4 (TS4) são significativamente diferentes da última sessão de treino pré-lesão (T6). Além disso, as sessões 4 (TS4) e 5 (TS5) pós-lesão diferem das sessões de treino pré-lesão 4 (T4) e 5 (T5), respectivamente.

Esses resultados indicam que os animais *sham* mantiveram seu nível de desempenho nos testes pós-lesão quando comparados com os treinos. Por outro lado, os animais lesados apresentaram um comprometimento no desempenho nas primeiras sessões de testes, porém, com uma recuperação ao longo das sessões.

Na Tabela 1 do Apêndice são apresentadas as médias e desvios padrão dos IEf. dos grupos *Sham* e Lesado, nas sessões de teste da tarefa espacial.

Tarefa Temporal

Na Figura 3b são apresentadas as médias dos Índices de Eficiência em seis blocos de quatro sessões nos testes em DRL (sessões pós-lesão). O nível de desempenho dos dois grupos no primeiro bloco de testes está em torno de 65%, elevando-se ao longo das sessões até atingir um nível estável de desempenho com um Índice de Eficiência de cerca de 80% para o Grupo *Sham* e de 70% para o Grupo Lesado. A análise estatística mostra diferença significativa entre as duas curvas (efeito de grupo: $F(1,14)=3.44$; $p=0.08$; efeito de sessão: $F(5,70)=26.01$; $p=0.00$; efeito de interação grupo x sessão: $F(5,70)=2.64$;

$p=0.03$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que os grupos *Sham* e Lesado diferem entre si nos terceiro, quarto, quinto, e sexto blocos. No Grupo *Sham* os dois primeiros blocos diferem dos demais, enquanto no Grupo Lesado, apenas o primeiro bloco difere dos demais.

O Grupo *Sham* apresenta diferenças significativas entre os IEF obtidos nos treinos e testes (*Sham* pré-pós lesão: efeito de grupo: $F(1,14)=41.20$; $p=0.00$; efeito de sessão: $F(5,70)=83.34$; $p=0.00$; efeito de interação grupoxsessão: $F(5,70)=8.28$; $p=0.00$). Todos os blocos pós-lesão, com exceção do segundo, diferem significativamente do sexto bloco de treino pré-lesão, Grupo *Sham* (Teste de Newman-Keuls).

A análise estatística mostra também diferença significativa entre o Grupo Lesado pré-lesão e pós-lesão (Lesado pré-pós lesão: efeito de grupo: $F(1,14)=21.83$; $p=0.00$; efeito de sessão: $F(5,70)=51.36$; $p=0.00$; efeito de interação grupoxsessão: $F(5,70)=19.43$; $p=0.00$). Apenas o primeiro bloco de sessões pós-lesão difere do último bloco de sessões de treino pré-lesão (Teste de Newman-Keuls).

Tais resultados indicam, que tanto os animais *sham*, quanto os animais lesados aprenderam a espaçar a resposta de pressão à barra. Além disso, as sessões de teste pós-lesão permitiram aos animais *sham* melhorarem ainda mais o seu desempenho. Contudo, isto não ocorreu com os animais lesados, que nas sessões de teste pós-lesão não conseguiram ultrapassar o nível de desempenho adquirido nas sessões de treinos pré-lesão.

Na Tabela 2b do Apêndice são apresentadas a análise dos IEF para os dois grupos em cada sessão de teste e a análise de variância para todas as sessões.

Uma análise complementar dos dados foi realizada calculando-se a média dos tempos de intervalos entre resposta (IER) para os Grupos *Sham* e Lesado.

Na Figura 4 (a, b) encontram-se as médias dos tempos de intervalo entre respostas (IER) dos Grupos *Sham* e Lesado, nas sessões de treino (pré-lesão) e teste (pós-lesão). A média dos intervalos entre respostas no primeiro bloco das sessões de treino (Figura 4a) foi de 7 s para o Grupo Lesado e 8 s para o Grupo *Sham*, elevando-se com o decorrer das sessões até atingir uma média de 16 s para os dois grupos no último bloco. A análise estatística mostra não haver diferença significativa entre os dois grupos nos treinos (efeito de grupo: $F(1,14)=0.36$; $p=0.56$; efeito de interação grupo x sessão: $F(5,70)=0.96$; $p=0.45$), porém existem diferenças entre as sessões (efeito de sessão: $F(5,70)=71.42$; $p=0.00$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que, tanto para o Grupo *Sham* quanto para o Grupo Lesado, o primeiro e o sexto blocos diferem de todos os outros.

Na Figura 4b são apresentadas as médias dos intervalos entre respostas (IER) durante os testes (pós-lesão). No primeiro bloco os dois grupos apresentam médias de 14 s, elevando-se ao longo das sessões até atingirem um nível estável de desempenho com uma média de IER de 20 s para o Grupo *Sham* e de 16 s para o Grupo Lesado. A análise estatística mostra diferença significativa entre as duas curvas (efeito de grupo: $F(1,14)=4.08$; $p=0.06$; efeito de sessão: $F(5,70)=17.78$; $p=0.00$; efeito de interação grupo x sessão: $F(5,70)=2.96$; $p=0.01$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que os grupos *Sham* e Lesado diferem entre si nos terceiro, quinto, e sexto blocos. No Grupo *Sham* os dois primeiros blocos diferem dos demais, enquanto no Grupo Lesado, apenas o primeiro bloco difere dos demais. Todos os blocos de testes pós-sessão do Grupo *Sham* e apenas o primeiro bloco do Grupo Lesado, diferem do sexto bloco de treino pré-lesão.

Nas Figuras 4c e 4d são apresentadas as distribuições dos intervalos entre respostas (s), nas sessões 21, 22, 23 e 24 de treinos pré-lesão (Figura 4c) e de testes pós-lesão (Figura 4d) dos Grupos

Sham e Lesado. A análise de variância (Anova - one-way) para as duas curvas obtidas nos treinos mostra não haver diferenças significativas entre os Grupos *Sham* e Lesado ($F(1,7798)=0.04$; $p=0.84$). enquanto que nos testes os grupos *Sham* e Lesados apresentam diferenças significativas ($F(1,6468)=253.27$; $p=0.00$). Em ambos os casos, treinos e testes, os grupos *Sham* e Lesados apresentam uma distribuição dos intervalos entre as respostas normal ou simétrica e homocedacidade (variabilidade igual entre os grupos). Tal análise mostra que, nas sessões de teste, os animais lesados continuam distribuindo os intervalos de resposta igualmente aos animais *sham*, ou seja, os animais lesados não alteraram a *distribuição* de IER durante as sessões, apesar do deslocamento da curva à esquerda.

Os resultados dessa análise indicam que os animais, no início dos treinos pré-lesão, apresentavam um espaçamento médio de respostas de pressão à barra entre 5 e 10 s, e que este valor eleva-se ao longo das sessões, chegando ao final dos treinos a uma média de 15 s de intervalo entre as respostas. Nas sessões de teste pós-lesão os animais *sham* elevam esta média, ou seja, passam a espaçar suas respostas de pressão a barra com um intervalo em torno dos 20 s, mantendo tal média ao longo de várias sessões. Entretanto, os animais lesados mantém, durante os testes, a média de 15-16s alcançada durante os treinos. Cabe ressaltar que os animais lesados continuam distribuindo suas respostas de pressão à barra durante a sessão igualmente aos animais *sham*.

Na Tabela 3a e 3b do Apêndice são apresentadas as médias e medianas dos IER para os dois grupos em cada sessão de treino e teste e a análise de variância para todas as sessões.

Na Tabela 4 do Apêndice são apresentadas as médias e desvios padrão das porcentagens de respostas reforçadas dos grupos *Sham* e Lesado nas sessões de treino e teste da tarefa temporal de DRL.

Discussão

Observa-se que os animais após ficarem um longo período sem serem colocados no labirinto (período de cirurgia e recuperação) elevam seus tempos de percurso. Porém, essa elevação não atinge os níveis iniciais apresentados nas sessões de pré-treino, e, com apenas duas sessões de pré-teste, os tempos abaixam para os níveis de estabilização atingidos nos treinos (2-3 segundos). Assim, este procedimento de treino e teste, separados por um período de cirurgia e recuperação provoca: (1) um esquecimento ou desabituação ao labirinto, o que se reflete em um aumento do tempo de percurso nas primeiras sessões de pré-teste; (2) este esquecimento não é total, pois os animais não voltam a ter o desempenho inicial do pré-treino, além do que a re-habitação ao labirinto é rápida: em apenas duas sessões os animais voltam a ter os níveis de desempenho obtidos anteriormente.

Na tabela abaixo pode-se observar que lesões hipocampais provocam prejuízos de desempenho de ratos em tarefas espaciais e temporais:

| Teste Comportamental | Lesão | Desempenho | Autores |
|---|---|--|-------------------------------|
| Labirinto em T - Alternação espontânea | septo-hipocampal destruição mecânica | - | Freeman, Stanton, 1991 |
| Labirinto em T - discriminação simples de posição | septo hipocampal destruição mecânica | + | Freeman, Stanton, 1991 |
| Labirinto radial de 12-braços, 6 reforçados na fase de informação, na fase de escolha, reforço localiza-se nos braços não reforçados (NMTS) | estimulação do CA1 por corrente elétrica, aplicada no final da fase de informação | - animais retornam aos braços visitados na fase de informação. | Knowlton et al, 1989 |
| Labirinto em T - NMTS espacial | fímbria-fórnix rádio-frequência | - | Markowasca et al, 1989 |
| Labirinto em T - NMTS | CA3 ácido caínico | - animais apresentam recuperação do desempenho | Handelmann, Olton, 1981 |
| Labirinto em T - NMTS | giro denteado colchicina | - animais apresentam recuperação | Emerich, Walsh, 1989 |
| DRL-20 | hipocampo - aspiração | - | Clark e Isaacson, 1965 |
| DRL-20s | CA1 alveus | + + | Jarrard, Becker, 1977 |
| DRL-20s | hipocampo completo fímbria CA1+Fímbria | - - - | Jarrard, Becker, 1977 |
| DRL-20 | septo eletrolítica | - | Brookes, et al, 1983 |
| DRL-20 | hipocampo - aspiração | - | Rawlins, Wincour e Gray, 1983 |
| DRL-20 | hipocampo - eletrolítica | - | Finger et al, 1990 |

Segundo Olton e outros autores (Olton, 1986; Meck e col., 1984) o sistema hipocampal estaria diretamente envolvido na memória operacional, independentemente do tipo de tarefa: temporal e/ou espacial, embora esta estrutura não seja requerida para o processamento da memória de referência. Olton (1986) descreve um

experimento onde animais lesados na fímbria-fórnix são capazes de contar o tempo, em um esquema de intervalo fixo (FI-20s). A única diferença no comportamento dos ratos lesados com relação aos *sham* foi uma pequena alteração no tempo de pico - intervalo no qual o animal apresenta um maior número de pressões à barra - de 20 s para os animais *sham* e 16 s para os animais lesados. O autor discute tais resultados, explicando que a lembrança de um intervalo fixo seria processada pela memória de referência, razão pela qual o desempenho nesta tarefa não seria afetado pela lesão, e assim, os animais foram capazes de realizar a tarefa.

Os resultados aqui obtidos confirmam os de Olton (1986) com relação ao adiantamento, ou maior rapidez, com a qual os animais lesados contam o tempo. Naquele trabalho, os intervalos apresentados pelos animais lesados são em média 4 s menores que os apresentados pelos animais *sham*. O mesmo é constatado no presente estudo: os animais lesados apresentam intervalos entre as respostas com tempos menores que os dos *sham*, sugerindo um comprometimento do processamento de informações temporais.

Em um esquema de FI os animais lesados na fímbria-fórnix lembram o tempo de reforço como sendo proporcionalmente mais curto que o real, a curva de distribuição de pressões à barra está deslocada para a esquerda (Olton, 1986; Meck et al, 1987; Meck et al, 1984). Segundo Meck e colaboradores (Meck et al., 1987; Meck, 1983), o valor do intervalo fixo é obtido na memória de referência e este efeito pode ser interpretado como uma mudança na velocidade de armazenamento da informação, mais do que uma mudança na velocidade do relógio interno. Segundo os autores, se a deficiência fosse devida a uma mudança na velocidade do relógio, os animais deveriam aprender a reescalar a duração do estímulo e a deficiência não seria permanente. Por outro lado, a mudança na velocidade de armazenamento na memória levaria a uma subestimação da duração dos intervalos de reforçamento e a uma mudança do pico da curva para a esquerda

permanente. Assim, em um esquema de FI, os animais hipocampais conseguiriam realizar a tarefa, pois as informações necessárias seriam processadas na memória de referência e apresentariam uma pequena alteração na memória de referência devido a uma diminuição do valor da constante K^* de memória (Meck et al., 1987; Meck, 1983).

Apesar dos autores Meck e colaboradores (Meck et al., 1984; (Meck, 1983 e Meck et al., 1987) não acreditarem que a alteração na discriminação temporal que seja permanente seja devida a uma mudança na velocidade do relógio, esta é uma hipótese que não pode ser descartada, pois essa análise foi inferida a partir de experimentos com administração de drogas, e não com lesões permanentes.

Meck (1983) mostrou que drogas que alteram o relógio interno (*clock stage*) produzem um padrão de resultados diferentes das drogas que alteram o componente de memória (*memory stage*). Segundo o autor, as drogas que alteram o relógio produzirão um efeito inicial que desaparece com a exposição repetida, além disso, quando a droga é removida haverá um efeito na direção oposta; pois, neste caso, a droga estaria produzindo alterações em processos neurais transitórios que retornariam ao normal quando a droga é retirada (como a velocidade do relógio). Por outro lado, quando uma droga afeta o componente de memória, o efeito comportamental produzido é permanente e quando a droga é removida não haveria um efeito oposto, pelo contrário, o efeito comportamental se manteria; neste caso, a droga modificaria diretamente processos bioquímicos envolvidos no armazenamento da memória permanente, (como a velocidade de armazenamento na memória) cujo resultado persiste quando a droga é eliminada.

Meck (1983) mostra que a administração de fisostigmina durante os treinos em uma tarefa de discriminação de intervalos de tempo, provoca o deslocamento da curva de resposta para a esquerda, enquanto que a administração de atropina, provoca um deslocamento para a direita. Nos dois grupos de drogas, durante os testes realizados com salina, este efeito persiste, indicando que a alteração provocada

pela droga permanece, mesmo ela não estando mais presente (teste com salina). Este resultado sugere que as drogas tenham atuado sobre o componente de memória e não atuem sobre a velocidade do relógio. Por outro lado, no experimento realizado por Meck e colaboradores (1987) os efeitos na discriminação temporal são interpretados como uma alteração na memória, porém tais efeitos foram produzidos por lesões, que são permanentes e não podem ser “retiradas”. Neste caso, a lesão poderia estar provocando uma alteração permanente no relógio interno, e não, necessariamente, atuando sobre o componente de memória.

Meck e colaboradores (1987) sugerem que a deficiência no desempenho da DRL apresentada por animais com lesão no hipocampo é devida mais a um prejuízo da memória operacional do que a uma deficiência na habilidade de contar o tempo. A ausência de um estímulo externo para indicar que um intervalo precisa ser contado no procedimento de DRL, adiciona a esta tarefa um componente de memória operacional, isto é, não há um elemento que indique que o relógio interno precisa estar correndo, e, assim, os animais precisam armazenar na memória operacional, o tempo decorrido desde a última pressão à barra. Neste caso, os resultados obtidos, até então, mostram que os animais hipocampais são incapazes de realizar a tarefa de DRL, pois não conseguem espaçar suas respostas, e, segundo a teoria da memória operacional esta deficiência é produzida pela incapacidade desses animais processarem informações na memória operacional.

No presente experimento, os animais do Grupo *Sham* apresentam uma média de intervalos entre respostas em torno de 20 s, enquanto os animais do Grupo Lesado apresentam uma média de intervalos entre resposta em torno de 16 s. Apesar da pequena diferença entre os grupos, esta diferença permanece ao longo das sessões. Estes resultados mostram que os animais *sham* estão espaçando (em média) suas respostas de pressão à barra com

intervalos em torno de 20 s, enquanto os animais lesados espaçam suas respostas com um intervalo em torno de 16 s.

Assim, os animais lesados continuam sendo capazes de realizar a tarefa de DRL satisfatoriamente espaçando suas respostas por um determinado intervalo, porém este tempo é diminuído. Estes resultados não sugerem um comprometimento da memória operacional. Portanto, lesões das células do giro denteado parecem levar a uma alteração no processamento de informações temporais e não a um prejuízo da memória operacional. Neste caso, o processamento de informações temporais poderia estar prejudicado devido a uma deficiência no relógio interno.

Na tarefa de discriminação condicional espacial (NMTS), na qual os animais lesados apresentaram um prejuízo no desempenho, tal deficiência pode não ser devida ao envolvimento do giro denteado com a memória operacional. Esse prejuízo poderia estar relacionado com uma maior rapidez com que os animais contam o tempo e/ou maior rapidez de esquecimento, assim como a um prejuízo na capacidade de processar informações espaciais, como sugere a teoria do mapa cognitivo.

A recuperação de desempenho dos animais lesados na tarefa espacial, observada no presente experimento, confirma as descrições prévias da literatura. Emerich e Walsh (1989) realizaram um experimento de NMTS em um labirinto em T e obtiveram resultados com animais lesados no Giro Denteado por colchicina muito semelhantes aos aqui obtidos: uma deficiência inicial de desempenho seguida de melhora depois de algumas sessões. Os autores atribuem essa recuperação à natureza incompleta da lesão e a extensivos treinos pré e pós operatórios.

No caso do presente trabalho não se pode atribuir tal recuperação a treinos extensivos, uma vez que foram realizadas apenas seis sessões.

De fato, uma lesão incompleta do Giro Denteado poderia explicar a recuperação, uma vez que a projeção de fibras musgosas para o CA3 se dá de forma paralela mas divergente (Blackstad e col., 1970; Gaarskjaer, 1978; Claiborne e col., 1986). Além disso, há extensivas interações laterais entre as células do Giro Denteado (Hjorth-Simonsen & Laurberg, 1977; Swanson e col., 1981), através de interneurônios excitatórios localizados no hilus. É possível, portanto, que a recuperação comportamental observada por Emerich e Walsh (1989) esteja relacionada com uma lesão incompleta da estrutura. Essa interpretação provavelmente não se aplica aos resultados do presente experimento. A análise histológica realizada, mostra uma redução de 86% da área do giro denteado nos animais lesados quando comparados aos animais *sham*, o que não é o caso no experimento de Emerich e Walsh (1989). É importante notar que a estratégia neurocirúrgica adotada por estes autores difere substancialmente daquela adotada no presente trabalho. Emerich e Walsh (1989) injetaram dois pontos por hemisfério enquanto no presente caso injetou-se nove pontos por hemisfério, o que certamente resulta em uma lesão mais completa e seletiva da estrutura. Essa recuperação comportamental observada neste experimento pode ser interpretada como uma reaquisição da tarefa pós-operatoriamente, com base em uma estratégia diferente, como o uso de pistas visuais extra-labirinto.

Segundo O'Keefe e Nadel (1978) animais privados de seu hipocampo ainda são capazes de aprender tarefas, as quais possam ser solucionadas por meio das hipóteses (ou estratégias) de guiamento e/ou orientação. Segundo os autores, é importante lembrar que o mesmo problema pode ser solucionado pelo animal, utilizando diferentes hipóteses. Por exemplo, um animal que aprende a dirigir-se para o braço direito de um labirinto em T para obter alimento, pode estar resolvendo tal problema (tarefa) baseando-se (1) em uma hipótese de lugar (ir para o lugar definido pela sua posição na sala) ou (2) em uma hipótese de orientação (virar a direita 90° no ponto de escolha) ou (3) em uma hipótese de guiamento (aproximar-se da pista que está próxima

do braço direito e afastar-se da pista que esta próxima do braço esquerdo).

EXPERIMENTO II

Neste experimento realizou-se um teste de *delayed-non-matching-to-sample* (DNMTS). Este teste permite uma avaliação da retenção da informação crítica na tarefa para os animais *sham* e lesados em função da passagem do tempo. Com este experimento pretendeu-se verificar: (a) a extensão da recuperação do desempenho dos animais lesados encontrada no Experimento I. Esta recuperação pode ser uma recuperação funcional ou uma recuperação do desempenho comportamental baseado em uma outra estratégia. (b) se a lesão do giro denteado interfere no desempenho dos animais em uma tarefa de retenção de uma informação crítica ao longo do tempo.

Método

Os sujeitos e o equipamento empregados foram os mesmos utilizados no Experimento I.

Após um período de trinta dias do final do Experimento I, quatorze animais, sete pertencentes ao grupo *Sham* e sete ao grupo Lesado, foram retestados. O reteste foi um procedimento idêntico aos treinos e testes do Experimento I, com a única diferença dos animais, entre uma fase e outra, serem recolocados em suas gaiolas por aproximadamente 3 s.

Foram realizadas 9 sessões de reteste, após os quais os animais que atingiram o critério* foram submetidos ao procedimento de DNMTS. Este procedimento consistiu da introdução de diferentes intervalos - 1, 2, 4, 8 e 16 minutos - entre as fases de informação e de escolha na tarefa espacial.

* O critério utilizado consistiu de seis tentativas corretas em duas sessões consecutivas. Tal critério foi estabelecido a partir da Distribuição Binomial, $p < 0.05$.

Intercaladas às sessões de testes com intervalos, foram realizadas sessões de teste com intervalo virtualmente zero, cujo procedimento foi idêntico ao de reteste, portanto com um intervalo entre as fases de informação e escolha de aproximadamente 3s. Este intervalo foi chamado de T0.

Cada animal foi testado em cada um dos intervalos 1, 2, 4, 8 e 16 minutos. Cada intervalo foi realizado em uma sessão com oito tentativas. Portanto, foram realizadas cinco sessões de teste com *delays* e cinco sessões com intervalo T0=3s para cada animal. Os intervalos foram distribuídos randomicamente entre as sessões e animais.

Resultados

Na Figura 5a são apresentadas as médias dos Índices de Eficiência nas sessões de reteste. Nesta Figura são apresentadas as curvas: (1) Grupo *Sham* (N=7), (2) Grupo Lesado, todos os animais (N=7) e (3) Grupo Lesado, apenas os animais que atingiram o critério (N=5). Dois animais do Grupo Lesado que não atingiram o critério nas nove sessões de reteste continuaram a ser retestados. Foram realizadas, ao todo, 16 sessões de reteste com estes dois animais e eles mantiveram um nível baixo de desempenho, não atingindo critério, e portanto, não sendo testados em DNMTS.

No primeiro bloco, o Grupo Lesado, todos os animais e o Grupo Lesado, animais que atingiram critério, apresentam um menor Índice de Eficiência que o Grupo *Sham*. O Grupo Lesado dos animais que atingiram critério mostra uma recuperação de desempenho ao longo das sessões de reteste, igualando-se ao Grupo *Sham*. O Grupo Lesado com todos os animais, apresenta um nível de desempenho inferior ao Grupo *Sham*.

Os grupos *Sham* e Lesado, todos os animais, apresentam diferenças significativas com relação ao grupo ($F(1,12)=4.60$; $p=0.05$) e sessão ($F(2,24)=7.76$; $p=0.00$), mas não apresentam diferenças com relação a interação grupoxsessão ($F(2,24)=0.33$; $p=0.72$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que os grupos *Sham* e Lesado (todos) diferem entre si nos primeiro, segundo e terceiro blocos. O Grupo *Sham* não apresenta diferenças significativas entre os blocos, porém no Grupo Lesado, o primeiro bloco é significativamente diferente dos dois últimos blocos. Assim, verifica-se que os animais *sham* mantiveram um desempenho alto ao longo das sessões, porém o grupo lesados, todos os animais, mantém um desempenho inferior ao do grupo *sham*, ao longo de todas as sessões.

Quando comparados, os grupos *Sham* e Lesado, animais que atingiram o critério, encontram-se apenas diferenças significativas com relação às sessões (efeito de grupo: $F(1,10)=1.78$; $p=0.21$; efeito de sessão: $F(2,20)=10.92$; $p=0.00$; efeito de interação grupo x sessão: $F(2,20,24)=1.35$; $p=0.28$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que os grupos *Sham* e Lesado (critério) apresentam diferenças entre si apenas no primeiro bloco de sessões. No Grupo Lesado (critério), o primeiro bloco é significativamente diferente dos dois últimos blocos. Estes resultados mostram que os animais lesados, no início do reteste, voltam a apresentar um desempenho inferior ao dos animais *sham*, contudo, esse desempenho eleva-se ao longo das sessões e os animais lesados passam a apresentar um desempenho equivalente aos dos animais *sham*.

O teste de DNMTS foi realizado com o Grupo Lesado, animais que atingiram critério e Grupo *Sham*. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 5b.

A média dos IEfs. das cinco sessões intercaladas de intervalo zero, mostra que o Grupo *Sham* mantém um nível de desempenho em torno de 85%, enquanto os animais do Grupo Lesado apresentam um IEf.=72%. O Grupo *Sham* apresenta um declínio no desempenho a medida que aumenta-se o tempo de intervalo entre as fases de informação e escolha. O Grupo Lesado acompanha esse comportamento, porém não atingindo o nível de desempenho dos animais *sham*. A análise de variância com repetição, mostra diferença entre os grupos ($F(1,10)=10.93$ $p=0.00$) e entre os intervalos ($F(5,50)=11.35$ $p=0.00$), não apresentando diferença dos grupos ao longo das sessões ($F(5,50)=1.86$ $p=0.11$). A análise de comparações múltiplas complementar à Anova (Teste de Newman-Keuls) mostra que os grupos *Sham* e Lesado (critério) apresentam diferenças entre si nos intervalos T4 e T8. No Grupo *Sham* o desempenho dos animais no intervalo T16 difere de todos os outros intervalos, com exceção do

intervalo T8. Já no Grupo Lesado, os intervalos T8 e T16 diferem de todos os outros intervalos, sendo iguais entre si.

Na Tabelas 5 e 6 do Apêndice são apresentadas as médias e desvios padrão dos IEf. dos grupos *sham* e lesado, nas sessões de reteste e DNMTS, da tarefa espacial.

Discussão

Uma discriminação condicional com intervalo (*delayed conditional discrimination*) pode manipular interferências por meio da variação dos parâmetros temporais (duração dos intervalos entre as fases de informação e escolha). A duração do intervalo durante o qual determinada informação crítica deve ser armazenada (guardada) provoca interferências no desempenho de animais normais (Wright, Urcuioli & Sands, 1986).

Em muitos casos, lesões do sistema hipocampal aumentam a susceptibilidade à interferência. A magnitude da deficiência na tarefa de DNMTS ou DMTS está diretamente relacionada à duração do intervalo (*delay*) entre as fases de informação e escolha. Os níveis de desempenho dos animais aproximam-se do acaso (*chance levels*), a medida que aumenta a duração dos intervalos. Lesões do sistema hipocampal podem ter pouco efeito, tendo uma interferência mínima quando apenas um item deve ser lembrado e é utilizado um curto intervalo. Uma interferência substancial, como uma longa duração de intervalo pode produzir uma deficiência mais severa (Shapiro & Olton, 1994).

Entretanto, mesmo os animais com lesões do sistema hipocampal que apresentam um nível de desempenho casual em longos intervalos, demonstram ter uma aprendizagem e retenção intactas dos procedimentos para realizar a tarefa. Ou seja, os ratos continuam correndo no labirinto para obter o reforço na fase de informação e procuram pelo reforço na fase de escolha. Seu único problema está em escolher corretamente o braço reforçado na fase de escolha, isto se houver um intervalo suficientemente longo desde a apresentação da informação para sua escolha correta (Cohen & Eichenbaum, 1994).

Os resultados obtidos na tarefa de DNMTS mostram um decaimento do desempenho, com declínio no Índice de Eficiência (IEf.)

com o aumento do intervalo (delay) entre as fases de informação e escolha. Ou seja, tanto os animais *sham* quanto os animais lesados diminuem sua capacidade de retenção de uma informação quando aumenta-se o intervalo durante o qual esta informação deve ser retida. Contudo há diferenças de desempenho entre os animais lesados e os *sham* quando os tempos de intervalo entre a informação e a decisão (escolha) são aumentados. Os animais lesados apresentam um prejuízo maior que o dos animais *sham* com o aumento do intervalo.

Os resultados do reteste confirmam que os animais lesados, apesar de inicialmente terem seu desempenho na tarefa espacial prejudicado, são capazes de, ao longo dos treinos, recuperarem o desempenho comportamental, igualando-se aos animais *sham*. Essa recuperação mantém-se, se o intervalo entre a fase de informação e escolha é pequeno ($T_0=3$ s). Entretanto, os animais lesados apresentam um prejuízo de desempenho maior que os animais *sham* nos diferentes intervalos.

Supondo que os animais tenham recuperado a capacidade de utilizar informações espaciais, durante o reteste, esse processamento sofre interferência da lesão quando as informações precisam ser guardadas durante um período maior de tempo (*delays*). Quando os animais devem processá-las ao longo de intervalos maiores (DNMTS), há um prejuízo neste processamento. Em outras palavras, pode haver uma recuperação da capacidade de processar informações espaciais sob certas circunstâncias específicas, neste caso, quando uma informação é separada temporalmente da resposta a ser dada por um intervalo pequeno de tempo (reteste e intervalo zero do DNMTS). Quando aumenta-se o intervalo entre a informação (caixa reforçada) e a escolha que o animal deve fazer entre uma e outra caixa, o desempenho dos animais fica prejudicado (DNMTS, intervalos 2, 4, 8 e 16 minutos). Talvez os animais lesados “esqueçam” mais rapidamente informações relevantes, que permitiriam o desempenho otimizado da tarefa, ou, os animais lesados não seriam capazes de reter essas

informações por um período de tempo tão longo quanto os animais *sham*. De qualquer forma, para se avaliar essa hipótese são necessários experimentos complementares.

Por outro lado os animais lesados podem estar utilizando uma estratégia não-espacial para a realização da tarefa: A teoria do mapa espacial cognitivo (O'Keefe & Nadel, 1978) considera o hipocampo como a estrutura responsável pelo mapa espacial. Lesões nesta estrutura impediriam os animais de utilizarem a estratégia de lugar (orientação por relações espaciais), porém tais animais seriam capazes de utilizar outras duas estratégias para resolver a tarefa: orientação por guiamento (ou dicas) e orientação corpórea egocêntrica. A utilização de uma destas estratégias (guiamento ou corpórea) provocaria uma recuperação (ou permitiria a aprendizagem) de desempenho de animais lesados em uma tarefa espacial sem o uso da estratégia de lugar (O'Keefe & Nadel, 1978).

Para resolver a tarefa de NMTS, os animais lesados do Experimento I podem ter recorrido às estratégias de guiamento ou corpórea. O'Keefe e Nadel (1978) propõem que quando o animal não está utilizando a hipótese de lugar (espacial), seu desempenho pode não ser tão eficiente e/ou ser mais sujeito a interferências do que quando está-se utilizando desta hipótese. Assim, em determinadas circunstâncias, neste caso a introdução de intervalos entre a apresentação da informação e o momento de usá-la, pode-se observar uma dissociação de desempenho entre animais *sham* e lesados. As curvas de desempenho dos dois grupos de animais difere, sendo a interferência causada pela duração do intervalo mais acentuada nos animais lesados.

EXPERIMENTO III

Neste experimento, os animais, na fase de escolha, ao invés de saírem da caixa **I** (Inicial), saíram da caixa (**A** ou **B**) da qual acabaram de visitar na fase de informação. Todos os corredores e caixas estavam acessíveis aos animais, assim eles poderiam ir em frente para a caixa **A** ou **B** ou virarem à esquerda ou à direita, dirigindo-se para as caixas **I** ou **I'**. Se os animais estivessem utilizando uma estratégia corpórea para resolver a tarefa, então eles deveriam virar à esquerda ou à direita. Este teste permitiu uma melhor avaliação do tipo de estratégia que os animais estariam utilizando para resolver a tarefa de NMTS. Assim, para descartar a possibilidade da recuperação do desempenho dos animais lesados ser devida à utilização de uma estratégia corpórea egocêntrica, realizou-se o Experimento III.

Método

Os sujeitos e equipamento empregados foram os mesmos utilizados no Experimento II.

Um dia após o término do Experimento II iniciou-se o teste do Experimento III. Este teste consistiu de três sessões diárias com quatro tentativas por sessão.

Em cada uma das tentativas, os animais, na fase de escolha, ao invés de saírem da caixa Inicial (**I**), saíram da caixa **A** ou **B**, a qual haviam visitado na fase de informação. Ou seja, na fase de informação os animais dirigiam-se para a única caixa (**A** ou **B**) disponível, comiam a pelota de alimento e eram colocados em suas gaiolas. Imediatamente em seguida, na fase de escolha, os animais eram recolocados na caixa da qual tinham acabado de sair (**A** ou **B**). Todas as portas eram abertas e os animais podiam escolher entre:

1. *ir em frente* para a caixa oposta (**A** ou **B**), onde se encontravam as pelotas, caixa esta, cuja localização espacial, foi a caixa correta durante todos os treinos e testes anteriores.

2. *virar à direita ou esquerda*, dirigindo-se para as caixas **I** ou **I'**. cuja localização espacial sempre foi de caixas de saída, e nunca reforçadas, portanto escolha incorreta. Contudo, o virar a direita ou esquerda, a partir da saída sempre foi necessário para a realização da tarefa nos treinos e testes anteriores.

Na terceira sessão houve uma mudança no procedimento na **fase de informação** (o procedimento da fase de escolha manteve-se idêntico ao das duas sessões anteriores): o animal saía da caixa Inicial **I** e era reforçado ao chegar nas caixas **A** ou **B**, porém a porta do corredor **I'** estava aberta. Desta forma, a fase de informação não era totalmente forçada, pois o animal deveria escolher entre *ir em frente*, em direção à caixa Inicial **I'** (onde jamais tinha sido reforçado anteriormente) ou *virar* - à direita ou esquerda, dependendo do corredor que estivesse aberto - em direção as caixas **A** ou **B**. Considerou-se como acerto quando o animal, virava à direita ou esquerda, em direção às caixas **A** ou **B**, e, como erro, quando o animal seguia em frente, em direção à caixa **I'**.

Resultados

Na Figura 6 são apresentadas as médias dos Índices de Eficiência dos Grupos *Sham* e Lesado (todos os animais e animais que atingiram o critério), nas tentativas das três sessões de testes. Na primeira tentativa da primeira sessão, tanto os animais *sham* quanto os experimentais apresentam um nível de desempenho elevado (Grupo *Sham*: IEf.=71,4%; Grupo Lesado (todos): IEf.=85.7% e Grupo Lesado (critério): IEf.=80.0%). Os Grupos Lesado (todos e critério) e *Sham* apresentam uma queda no desempenho nas tentativas dois e três, sendo que na quarta tentativa o Grupo *Sham* acentua a queda. Nas segunda e terceira sessões, tanto os animais *sham* quanto os experimentais apresentam um nível de desempenho elevado.

A análise de variância mostra que não existem diferenças entre os três grupos (efeito de grupo: $F(2,16)=0.00$ $p=1.00$) e tentativas (efeito de tentativa: $F(3,48)=0.04$ $p=1.00$), somente existindo diferenças entre as sessões (efeito de sessão: $F(2,32)=6.10$ $p=0.00$); não existem diferenças entre os grupos ao longo das sessões e tentativas (efeito grupoxsessão: $F(4,32)=1.67$ $p=0.18$; efeito grupoxtentativa: $F(6,48)=0.50$ $p=0.81$). As comparações (Teste de Newman Keuls) dos grupos ao longo das sessões mostram que a primeira sessão do Grupo Controle difere significativamente da segunda e terceira sessões.

Na terceira sessão, as médias de acertos das quatro tentativas na **fase de informação** para os grupos foram:

| | |
|--|-------|
| Grupo <i>Sham</i> | 77.5% |
| Grupo Lesado - todos os animais | 77.5% |
| Grupo Lesado - animais que atingiram critério no reteste | 75.0% |

Discussão

Os resultados obtidos neste teste sugerem que os animais lesados estariam utilizando-se de uma estratégia espacial ou visual para resolverem a tarefa. Apesar das guilhotinas de acesso às caixas esquerda e direita estarem abertas, os animais saem da caixa **A** ou **B** e seguem em frente. Os resultados mostram que, apesar de nunca terem saído da caixa alvo **A** ou **B**, eles a reconhecem como a caixa na qual acabaram de estar - fase de informação - e dirigem-se, acertadamente, para a caixa oposta, onde encontram o reforço.

Além disso, os resultados obtidos na terceira sessão mostram que os animais não estavam “indo em frente na fase de escolha” por uma possível tendência a seguir em frente. Na fase de informação da terceira sessão era possível aos animais irem em frente ao invés de virarem à esquerda ou direita, mas eles não o fazem, tendo um IEF elevado. Ou seja, na fase de informação os animais viram à esquerda ou direita, onde encontra-se o reforço, enquanto na fase de escolha, eles seguem em frente, também obtendo o reforço.

Com esses resultados pode-se descartar a hipótese de que a recuperação de desempenho dos animais lesados acima referida esteja associada à utilização de uma estratégia corpórea egocêntrica; contudo, não se pode descartar a hipótese da utilização de pistas (estratégia por guiamento).

DISCUSSÃO GERAL

Na tabela abaixo pode-se observar os efeitos de lesões hipocâmpais no desempenho de ratos em tarefas espaciais e temporais:

| Teste Comportamental | Lesão | Desempenho | Autores |
|---|---|--|-------------------------------|
| Labirinto em T - Alternação espontânea | septo-hipocâmpal destruição mecânica | - | Freeman, Stanton, 1991 |
| Labirinto em T - discriminação simples de posição | septo hipocâmpal destruição mecânica | + | Freeman, Stanton, 1991 |
| Labirinto radial de 12-braços, 6 reforçados na fase de informação, na fase de escolha, reforço localiza-se nos braços não reforçados (NMTS) | estimulação do CA1 por corrente elétrica, aplicada no final da fase de informação | - animais retornam aos braços visitados na fase de informação. | Knowlton et al, 1989 |
| Labirinto em T - NMTS espacial | fímbria-fórnix rádio-frequência | - | Markowaska et al, 1989 |
| Labirinto em T - NMTS | CA3 ácido caínico | - animais apresentam recuperação do desempenho | Handelmann, Olton, 1981 |
| Labirinto em T - NMTS | giro denteado colchicina | - animais apresentam recuperação | Emerich, Walsh, 1989 |
| DRL-20s | hipocampo - aspiração | - | Clark e Isaacson, 1965 |
| DRL-20s | CA1 alveus | + + | Jarrard, Becker, 1977 |
| DRL-20s | hipocampo completo fímbria CA1+Fímbria | - - - | Jarrard, Becker, 1977 |
| DRL-20 | septo eletrolítica | - | Brookes, et al, 1983 |
| DRL-20 | hipocampo - aspiração | - | Rawlins, Wincour e Gray, 1983 |
| DRL-20 | hipocampo - eletrolítica | - | Finger et al, 1990 |

+ não houve prejuízo no desempenho da tarefa

- houve prejuízo no desempenho da tarefa

Observa-se que lesões hipocâmpais provocaram um prejuízo em uma tarefa de alternância espontânea, mas não em uma discriminação simples (Freeman, Stanton, 1991). Os resultados obtidos no Experimento

I estão de acordo com tais resultados, pois, embora não tenha sido testada uma discriminação simples, existe uma semelhança entre a tarefa de NMTS e a alternância espontânea, sendo as duas uma discriminação condicional.

Prejuízos de animais lesados em uma tarefa de NMTS (Experimento I) também são observados em outras tarefas de NMTS, tanto em um labirinto radial, como em um labirinto em T (Knowlton et al, 1989; Markowaska et al, 1989). Porém, no caso destes trabalhos, não houve uma recuperação de desempenho como o ocorrido no presente estudo. Tal diferença poderia ser explicada pela extensão das lesões produzidas. Como se pode observar, os resultados de Handelsmann & Olton (1981) e Emerich e Walsh (1989), onde são produzidas lesões restritas ao C3 e giro denteado, respectivamente, mostram uma recuperação no desempenho dos animais, semelhante a recuperação encontrada no Experimento I.

Na tarefa de DRL-20s constatou-se que lesões por aspiração ou eletrolítica do hipocampo produzem um prejuízo no desempenho dos animais (Clark e Isaacson, 1965; Jarrard, Becker, 1977; Brookes, et al, 1983; Rawlins, Wincour e Gray, 1983; Finger et al, 1990). Tais prejuízos são mais severos que os encontrados no Experimento I, porém, mais uma vez, tal severidade seja devida à extensão das lesões. Cabe ressaltar que Jarrard & Becker (1977) não encontraram prejuízo em animais lesados no campo CA1 e alvéolo, contudo, não se pode afirmar que isto se deva a não participação destas estruturas no processamento desta tarefa. Pois, a deficiência de desempenho pode ser pequena, de tal forma que não possa ser observada pela análise do no. de respostas reforçadas/pelo total de respostas. Neste caso, torna-se importante a análise da eficiência do desempenho como a realizada no presente estudo.

Assim, os resultados aqui obtidos são consistentes com os resultados encontrados na literatura: lesões hipocâmpais promovem prejuízos no desempenho de ratos em tarefas espaciais e temporais.

Cabe agora, uma discussão das teorias acerca da participação do hipocampo no processamento de informações para a realização de tais tarefas.

As deficiências encontradas em animais hipocampais em tarefas de NMTS, em um labirinto em T ou Y, segundo O'Keefe e Nadel (1978), refletem a inability dos animais em distinguirem entre vários eventos (pistas ou objetos) idênticos, somente em termos da sua localização espacial.

Em uma tarefa de NMTS os animais, na fase de informação, aprendem que o LOCAL A é igual a reforço (alimento), enquanto na fase de escolha o LOCAL B é igual a reforço e LOCAL A é igual a não reforço. Neste caso, um evento - reforço - está associado a diferentes locais do ambiente (local A e B); os animais hipocampais não podendo utilizar o sistema de mapeamento, teriam dificuldades para solucionar tal problema. Além disso, em um momento (fase de informação), o LOCAL A é igual a reforço e em outro momento (fase de escolha) o mesmo local, o LOCAL A é igual a não reforço. Neste caso, um mesmo local, tem valores (significado, informação) diferentes - ora é um local de reforço, aproximação, ora é um local a ser evitado, pois não é reforçado. Mais uma vez, os animais hipocampais desprovidos do seu sistema de mapeamento têm dificuldades de resolver tal ambigüidade.

Mesmo estando disponível aos animais hipocampais o sistema de taxon, as estratégias de guiamento ou orientação não conseguem resolver adequadamente a distinção entre 1 evento (reforço) que ocorre em 2 locais distintos (local A e B). Estas estratégias também não conseguem resolver a ambigüidade da ocorrência de diferentes efeitos, reforço e não-reforço em um mesmo local.

Segundo Olton e colaboradores (Olton, 1986; Meck, Church & Olton, 1984) a tarefa de NMTS realizada em um labirinto em T é considerada uma tarefa típica, onde os animais para realizarem a tarefa adequadamente processam as informações na memória operacional.

Neste caso, os animais precisam armazenar na memória operacional a informação da caixa reforçada, que foi obtida na fase de informação. Na fase de escolha os animais precisam recuperar essa informação da memória operacional para poderem decidir qual a caixa que nesta fase é a caixa reforçada. Em outras palavras, a resposta adequada em um momento depende da informação obtida em um momento anterior, e esta informação varia de tentativa para tentativa. Esse processamento, segundo a teoria, é realizado na memória operacional. Os animais hipocampais apresentariam um prejuízo de desempenho nesta tarefa, pois estão impossibilitados de processarem informações na memória operacional.

Portanto, segundo a teoria do mapa cognitivo, os animais com lesão da estrutura hipocampal apresentariam um prejuízo de desempenho em tarefas de NMTS em um labirinto em T. Os resultados, obtidos nos experimentos realizados, confirmam um prejuízo na capacidade de utilização de informações espaciais pelos animais lesados, ou um prejuízo na capacidade de processamento na memória operacional.

Contudo, o desempenho em uma tarefa espacial é recuperado com o treino repetitivo (Experimento I). Estes resultados podem ser devidos à utilização de uma estratégia de guiamento (teoria do mapa espacial). A estratégia corpórea egocêntrica foi descartada pelos resultados obtidos no Experimento III.

Mesmo encontrando-se na literatura experimentos que mostram que animais lesados no hipocampo são capazes de realizar tarefas como uma discriminação condicional espacial (Markowska et al, 1989) a teoria do mapa espacial sustenta que tais tarefas podem estar sendo resolvidas pelo sistema de taxon. Neste caso, o limite entre atribuições exclusivas do hipocampo (sistema de mapeamento) e outras estruturas responsáveis pelo sistema de taxon não se torna claro, pois permite-se, sempre, atribuir ao sistema de taxon a resolução da tarefa. Por outro lado, poderia-se em hipotetizar que o hipocampo não seja responsável

pelo sistema de mapeamento, mas sim, pela resolução de tarefas que demandem um número maior de processamento de informações. O número de informações relacionadas a uma aprendizagem espacial em geral é maior que a quantidade de informações necessárias para a aprendizagem de uma associação entre uma pista visual e um evento (local do reforço, por exemplo). O mesmo raciocínio poderia ser aplicado à teoria da memória operacional. Em uma tarefa processada na memória operacional inclui-se um elemento a mais: o componente temporal à tarefa - no caso, o intervalo entre a informação adquirida e o momento no qual essa informação precisa ser utilizada (fase de escolha). Neste caso, o processamento na memória operacional é mais complexo que na memória de referência, onde um evento associado à um segundo, independente do contexto temporal da ocorrência dos eventos.

Quando os animais são testados em uma tarefa de DNMTS, observa-se que a interferência causada pela introdução de intervalos entre uma fase e outra, possui uma magnitude diferente para os dois grupos. O desempenho dos animais lesados mostra sofrer uma maior interferência do que os animais *sham*.

Segundo a teoria do mapa cognitivo, é possível que no reteste do Experimento II, os animais lesados apresentem-se iguais aos controles, pois desenvolveram uma outra estratégia, que não a de lugar, para resolver a tarefa. Entretanto, no experimento de DNMTS, quando intervalos são inseridos, a tarefa torna-se mais complexa, e os animais lesados, não dispendo da hipótese de lugar, apresentariam uma curva de desempenho que refletiria a utilização da hipótese por guiamento. É possível que a utilização desta estratégia afete mais o desempenho de animais ao longo do tempo do que se o animal estiver utilizando-se de uma estratégia de lugar.

A teoria da memória operacional prevê o prejuízo de desempenho de animais com o sistema hipocampal lesado em uma tarefa de DNMTS, por considerar que a informação crítica deve ser armazenada na memória operacional (Cohen & Eichenbaum, 1994). Entretanto, a

explicação do porquê animais lesados apresentam igual desempenho aos dos animais controles em intervalos de poucos segundos e apresentam um maior prejuízo em intervalos maiores, não é clara.

Mais uma vez, observa-se que quando a exigência ou complexidade de informações a serem processadas aumenta, os animais lesados apresentam desempenho abaixo dos animais *sham*. Cabe ressaltar que a realização de um experimento de DNMTS visual poderia trazer alguns esclarecimentos: se a curva de decaimento da memória dos animais lesados reflete a utilização de uma estratégia de taxon é razoável supor que a curva de decaimento da memória de animais não-lesados em uma tarefa de DNMTS visual seja muito semelhante a dos animais lesados em uma tarefa de DNMTS espacial. Por outro lado, se o desempenho dos animais lesados refletir uma dificuldade no processamento da memória operacional, em uma tarefa de DNMTS visual, os animais lesados apresentarão um desempenho abaixo dos animais *sham*.

O'Keefe e Nadel (1978) não apoiam a idéia de que tempo tenha o mesmo status do espaço. Os autores acreditam que o tempo seja muito importante, mas eles vêem poucas evidências que o tempo seja codificado diretamente, da mesma maneira que o espaço parece ser.

Os autores pensam ser improvável que animais, como um rato ou um pombo, sejam capazes de contar o tempo. A explicação mais razoável para que tais animais sejam capazes de resolver tarefas temporais, tais como um esquema de intervalo fixo (FI) e de reforçamento diferencial de baixas taxas (DRL), é a utilização de comportamentos colaterais, durante o intervalo, como um relógio externo: após um dado número de atividades, o animal pode retornar à barra.

Os comportamentos colaterais como relógio externo podem ser desenvolvidos e muito eficientemente propiciar aos animais uma avaliação (ou estimativa) do intervalo de tempo quando seu sistema de mapeamento está intacto. Assim, um mesmo evento (comportamento

colateral A) pode ser realizado em diferentes locais do ambiente (no caso, a caixa de Skinner), ou, diferentes comportamentos colaterais podem ser realizados em um mesmo local da caixa.

No caso da DRL, a ambigüidade: barra=não-reforço durante o intervalo e barra=reforço no tempo x, pode ser resolvida por meio do sistema de mapeamento. Contudo o desenvolvimento e a eficiência desses comportamentos tornam-se prejudicados quando o sistema de mapeamento não está disponível. Neste caso, os animais precisam desenvolver uma estratégia de guiamento ou orientação para realizarem os comportamentos colaterais adequadamente.

Em um esquema de FI, onde, barra=reforço no tempo x

barra=não-reforço no intervalo,

os animais hipocampais conseguiriam desenvolver alguma forma de comportamentos colaterais por meio de outras estratégias. Apesar do desenvolvimento desta estratégia não ser tão eficiente quanto a hipótese de lugar. Isto pode ser observado, quando analisa-se os resultados de animais lesados, que em uma tarefa de FI, tem sua curva de distribuição de pressões à barra deslocada para a esquerda. Ou seja, esses animais conseguem desenvolver comportamentos colaterais para contarem o intervalo de tempo, porém, esta estratégia não é tão eficiente, provocando uma sub-estitmativa do intervalo de tempo. Ou seja, os animais respondem com um intervalos de tempo menores do que o tempo transcorrido de fato. (ex.: se os animais devem responder com intervalos de 20s para serem reforçados, eles passam a responder com intervalos de 16s)

Por outro lado, o esquema de DRL é mais complexo: enquanto que em FI o fato do animal pressionar a barra antes do intervalo correto não acarretar nenhuma punição, em DRL, se isto ocorrer, o animal é punido, pois o tempo de intervalo de reforçamento é adiado. Assim em DRL tem-se:

tempo x: barra=reforço, aproximação do local da barra

intervalo: barra=punição, local da barra deve ser evitado.

Como já foi visto, o animal que não tenha seu sistema de mapeamento intacto e esteja utilizando-se de uma estratégia de guiamento ou orientação tem dificuldade para resolver problemas nos quais um local (barra) tenha significados diferentes (tempo x-reforço, intervalo-punição). Além disso, antes de serem treinados em DRL, os animais são pré-treinados em um esquema de CRF (1 pressão = 1 reforço). Segundo os autores, as conseqüências desse pré-treino dificultariam aos animais hipocampais encontrarem, durante os treinos em DRL, os comportamentos colaterais adequados e fortes o bastante para competirem com as hipóteses estabelecidas durante o treino em CRF: barra=reforço.

Por outro lado, a teoria da memória operacional/relógio interno apresenta explicações diferentes da proposta por O'Keefe e Nadel (78).

Meck e colaboradores (1984) sugerem que a deficiência no desempenho da DRL apresentada por animais com lesão do hipocampo é devida mais a um prejuízo da memória operacional do que a uma deficiência na habilidade de contar o tempo. Segundo esses autores, os resultados obtidos em experimentos com o esquema de DRL apoiam a teoria da memória operacional (*working memory theory*). A tarefa de DRL, diferiria de um esquema de intervalo fixo (FI), na medida em que em FI o sujeito deve lembrar-se de um intervalo de tempo que independe do contexto em que ele ocorre, portanto seria processado pela memória de referência. Por outro lado, em um esquema de DRL, o animal deve espaçar as suas respostas por um intervalo de tempo dependente do contexto. O animal deve lembrar-se de quando ocorreu a última pressão à barra, sendo essa tarefa, portanto, processada na memória operacional e sujeita a prejuízos de desempenho em animais com estruturas hipocampais lesadas.

Na tarefa de DRL do presente trabalho, os resultados mostram que os animais lesados continuam capazes de espaçar suas respostas de pressão à barra, porém, esse intervalo é subestimado. Os animais lesados não realizam a tarefa tão eficientemente quanto os animais *sham*. Este resultado pode ser explicado pela teoria do mapa cognitivo, que prevê um prejuízo em tarefas temporais, já que não podendo utilizar a hipótese de lugar, os animais hipocampais teriam dificuldade de desenvolver comportamentos colaterais e, portanto, dificuldade de discriminar intervalos temporais. Esta idéia poderia ser testada variando-se o espaço - tamanho da caixa experimental - onde é realizada a tarefa. Em um ambiente maior os animais hipocampais teriam uma maior oportunidade de desenvolver comportamentos colaterais e poderiam resolver a tarefa mais eficientemente. Vários autores mostram que existindo elementos que propiciam o desenvolvimento de comportamentos colaterais, como uma roda de atividade ou objetos “extras” colocados dentro da caixa experimental, permitem aos animais hipocampais melhorarem seu desempenho (Rawlins, Wincour e Gray, 1983).

Os resultados obtidos na tarefa de DRL são muito semelhantes aos obtidos em tarefas de FI. Segundo Meck e colaboradores (1987) o valor do intervalo de reforço em uma tarefa temporal de intervalo fixo (FI) é obtido na memória de referência e o efeito de deslocamento para esquerda da curva de distribuição de pressões à barra dos animais hipocampais pode ser interpretado como uma mudança na velocidade de armazenamento da informação. Ou seja, uma alteração na velocidade do relógio ou marca-passo (no. de pulsos/segundo) (ver Introdução - Relógio Interno) e não um problema na memória. Por outro lado, os autores interpretam o prejuízo em uma tarefa de DRL como sendo devido a uma deficiência na memória operacional e não a uma deficiência no relógio interno, ou velocidade de armazenamento.

Entretanto, os animais poderiam estar com uma deficiência no relógio interno. A curva deslocada para a esquerda poderia indicar uma

aceleração do relógio interno, tanto para as tarefas de FI, quanto para as tarefas de DRL. Desta forma, os resultados obtidos na tarefa de DRL não confirmariam a idéia proposta pela teoria da memória operacional/relógio interno, que propõe que o processamento daquelas duas tarefas seja diferente (memória de referência e operacional).

Assim, segundo a Teoria do Mapa Cognitivo, animais privados de seu sistema hipocampal perderiam a capacidade de utilizarem estratégias de lugar (sistema de mapeamento) podendo apenas utilizarem estratégias de guiamento ou orientação (sistema de taxon). Conseqüentemente, tais animais apresentariam prejuízos em tarefas espaciais, como a tarefa de NMTS e em tarefas temporais, como a DRL. Tarefas estas, que por sua complexidade só podem ser adequadamente realizadas por meio do sistema de mapeamento. Os resultados obtidos nos Experimentos I, II e III podem ser explicados por tal teoria. Segundo a Teoria da memória operacional/relógio interno, os animais hipocampais não são capazes de realizar uma tarefa espacial de NMTS e uma tarefa temporal de DRL, pois estas tarefas requerem a utilização da memória operacional, que estaria prejudicada pela lesão do sistema hipocampal. Os resultados obtidos nos Experimentos I, II e III não podem ser explicados em seu conjunto por esta teoria, pelo menos, não da forma como ela tem sido proposta.

Os experimentos realizados mostram haver uma participação efetiva das células do giro denteado no processamento de informações necessárias ao desempenho de ratos em tarefas espaciais e temporais. A partir de então, abre-se a perspectiva do estudo de qual a relação entre tais processamentos: mapa espacial/comportamentos colaterais? memória operacional/relógio interno? e também, qual o papel desempenhado por outras estruturas hipocampais nesses processos.

Além disso, cabe ressaltar a idéia de um gradiente de complexidade de tarefas, sendo a mais simples, uma tarefa não-espacial cujas informações são processadas na memória de referência ou uma tarefa temporal de FI - para a realização destas tarefas os animais

podem prescindir do hipocampo. No outro extremo tem-se uma tarefa espacial cujas informações são processadas na memória operacional ou uma tarefa temporal de DRL - neste caso, o hipocampo parece desempenhar uma função essencial. Explorar experimentalmente e teoricamente o gradiente de complexidade de demanda de informações de diferentes tarefas, além de um estudo acerca das diferenças de desempenhos encontradas nessas tarefas quando realizadas lesões em diferentes sub-campos do hipocampo torna-se um desafio estimulante à continuidade desse trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ades, C., 1987. Por que memória? **Psicologia**, **1**, 1-4.
- Ades, C., 1993. Por uma história natural da memória. **Psicologia USP**, **4**, 25-48.
- Blackstad, T.W., Brink, K., Hem, J. & Jeune, B., 1970. Distribution of hippocampal mossy fibers in the rats. An experimental study with silver impregnation methods. **Journal of Comparative Neurology**, **138**, 433-450.
- Boitano, J.J., Dokla, P.M., Misikonis, S. & Kaluzynski, T., 1980. Effects of Hippampectomy in an Incremental-Step DRL Paradigm. **Physiology & Behavior**, **25**, pp.273-278.
- Bouffard, J.P. & Jarrard, L.E., 1988. Acquisition of a complex place task in rats with selective ibotenate lesions of hippocampal formation: combined lesions of subiculum and enthrhinal cortex versus hippocampus. **Behavioral Neuroscience**, **102**, 828-84.
- Brookes, S., Rawlins, J.N. & Gray, J.A., Feldon, J., 1983. DRL performance in rats with medial or lateral septal lesions. **Physiological Psychology**, **11**, 178-184.
- Bueno, J.L.O., 1989. O comportamento animal é mediado por representações. **Ciência e Cultura**, **41**, 677-689.
- Claiborne, B.J., Amaral, D.Grupo & Cowan, W.M., 1986. A light and electron microscopic analysis of mossy fibers of the rat dentate gyrus. **Journal of Comparative Neurology**, **246**, 435-458.
- Church, R.M. & Broadbent, H.A., 1990. Alternative representations of time, number and rate. **Cognition**, **37**, 55-81.
- Church, R.M. & Gibbon, J., 1982. Temporal generalization. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, **8**, 165-186.
- Clark, C.V.H. & Isaacson, R.L., 1965. Effect of Bilateral hippocampal Ablation on DRL Performance. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **59**, 137-140.
- Cohen, N.J. & Eichenbaum, H., 1994. **Memory, Amnesia and The Hippocampal System**. Cambridge: MIT Press.
- Emerich, D.F. & Walsh, T.J., 1989. Selective working memory impairments following intradentate injections of colchicine: attenuations of the behavioral but not the neuropathological effects by gangliosides GM1 and AGF2. **Physiology & Behavior**, **45**, 93-101.

- Emerich, D.F. & Walsh, T.J., 1991. Ganglioside AGF2 prevents the cognitive impairments and cholinergic cell loss following intraventricular colchicine. **Experimental Neurology**, **112**, 328-337.
- Finger, S., Green, L., Tarnoff, M.E., Mortman, K.D., Andersen, A., 1990. Nimopidipine enhances new learning after hippocampal damage. **Experimental Neurology**, **109**, 279-285.
- Flaherty, C.F., Rowan, G.A., Emerich, D.F., Walsh, T.J., 1989. effects of intrahippocampal administration of colchicine on incentive contrast and on radial maze performance. **Behavioral Neuroscience**, **103**:319-328.
- Gaarskjaer, F.B., 1978. Organization of the mossy fiber system of the rat studied in extended hippocampi. II. Experimental analysis of fiber distribution with silver impregnation methods. **Journal of Comparative Neurology**, **178**, 73-88.
- Gallistel, C.R., 1989. Animal Cognition: The Representation of Space, Time and Number. **Annual Review Psychology**, **40**, 155-189.
- Gallistel, C.R., 1990. Representations in animal cognition: an introduction. **Cognition**, **37**, 1-22.
- Gibbon, J. & Church, R.M., 1990. Representation of time. **Cognition**, **37**, 23-54.
- Goldschmidt, R.B. & Steward, O., 1982. Neurotoxic effects of colchicine: Differential susceptibility of CNS neuronal populations. **Neuroscience**, **7**, 655-669.
- Gould, J.L. & Marler, P., 1987. Learning by instinct. **Scientific American**, 62-73.
- Hanson, M. & Estron, A., 1978. Mitosis inhibitors and axonal transport. **International Reviews in Cytology**, **7** (Suppl.), 373-402.
- Handelmann, G.E. & Olton, D.S., 1981. Recovery of Function after Neurotoxic Damage to the Hippocampal CA3 Region: Importance of Postoperative Recovery Interval and Task Experience. **Behavioral and Neural Biology**, **33**, 453-464.
- Hjorth-Simonsen, A. & Laurberg, S., 1977. Commissural connections of the dentate area in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, **174**, 591-606.
- Honig, W.K., 1978. Studies of working memory in the pigeon. In S.H. Hulse, H.Fowler and W.K. Honig (Eds.), **Cognitive processes in animal behavior**. Hillsdale, N.Y.: Erlbaum, 211-248.

- Honig, W.K., 1982. Working memory and the temporal map. In R.L. Isaacson and N.E. Spear (Eds.), **Expression of Knowledge**. New York: Academic Press.
- Jarrard, L.E. & Becker, J.T., 1977. The Effects of Selective Hippocampal Lesions on DRL Behavior in Rats. **Behavioral Biology**, **21**, 393-404.
- Jarrard, L.E., 1980. Selective hippocampal lesions and behavior. **Physiological Psychology**, **8**, 198-206.
- Jr. Barone, S., Tandon, P., McGinty, J.F., Tilson, H.A., 1991. The effects of NGF and fetal cell transplants on spatial learning after intradentate administration of colchicine. **Experimental Neurology**, **114**:351-363.
- Kesner, R.P., 1986. Neurobiological Views of Memory. In Joe L. Martinez Jr. and Raymond P. Kesner (Eds.), **Learning and Memory. A Biological View**. San Diego: Academic Press, 399-438.
- Knowlton, B.J., Shapiro, M.L. & Olton, D.S., 1989. Hippocampal seizures disrupt working memory performance but not reference memory acquisition. **Behavioral Neuroscience**, **103**, 1144-1147.
- Laurberg, R.L., 1979. Commissural and intrinsic connections of the hippocampus. **Journal of Comparative Neurology**, **184**, 685-708.
- Markowaska, A.L., Olton, D.S., Murray, E.A. & Gaffan, D., 1989. A comparative analysis of the role of fornix and cingulate cortex in memory: rats. **Experimental Brain Research**, **74**, 187-201.
- Meck, W.H., 1983. Selective Adjustment of Speed of Internal Clock and Memory Processes. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, **9**, 171-201.
- Meck, W.H. & Church, R.M., 1982. Abstraction of Temporal Attributes. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, **8**, 226-243.
- Meck, W.H., Church, R.M. & Olton, D.S., 1984. Hippocampus, Time, and Memory. **Behavioral Neuroscience**, **98**, 3-22.
- Meck, W.H., Church, R.M., Wenk, G.L. & Olton, D.S., 1987. Nucleus basalis magnocellularis and medial septal area lesions differentially impair temporal memory. **Journal Neuroscience**, **404**, 3505-3511.
- M'Harzi, M., Jarrard, L.E., Willig, F. Palacios, A. & Delacour, J., 1991. Selective Fimbria and Thalamic Lesions Differentially Impair Forms of working Memory in Rats. **Behavioral and Neural Biology**, **56**, 221-239.

- Murray, E.A., Davidson, M., Gaffan, D., Olton, D.S. & Suomi, S., 1989. Effects of fornix transection and cingulate cortical ablation on spatial memory in rhesus monkeys. **Experimental Brain Research**, **74**, p.173-186.
- O'Keefe, J., 1989. Computations the Hippocampus Might Perform. In L. Nadel, L.A. Cooper, P. Culicover and R.M. Harnish (Eds.), **Neural Connections, Mental Computation**. Cambridge, Mass.: Mit Press, 255-284.
- O'Keefe J. and Nadel, L., 1978. **The Hippocampus as a Cognitive Map**. Oxford: Oxford University Press.
- Olton, D.S., 1979. Mazes, Maps and Memory. **American Psychologist**, **34**, 583-596.
- Olton, D.S., 1986. Hippocampal Function and Memory for Temporal Context. In R.L. Isaacson and K.A. Pribran (Eds.), **The Hippocampus**. Vol 4, New York: Plenum Press, 281-298.
- Olton, D.S., 1990. Mnemonic Functions of the Hippocampus: Past, Present and Future. In Larry R. Squire and Elke Lindenlaub (Eds.), **The Biology of Memory: Symposium Bernried, Germany October 15th-19th, 1989**. Stuttgart: Schattauer Verlag, 427-443.
- Olton, D.S., Becker, J.T. & Handelmann, G.E., 1979. Hippocampus, space and memory. **Behavioral and Brain Sciences**, **2**, 313-322.
- Olton, D.S., Meck, W.H. & Church, R.M., 1987. Separation of hippocampal and amygdaloid involvement in temporal memory dysfunctions. **Brain Research**, **404**, 180-188.
- Olton, D.S., Wenk, G.L., Church, R.M. & Meck, W.H., 1988. Attention and the frontal cortex as examined by simultaneous temporal processing. **Neuropsychologia**, **26**, 307-318.
- Paxinos, G. & Watson, C., 1986. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**. London: Academic Press.
- Raffaele, K.C. & Olton, D.S., 1988. Hippocampal and amygdaloid involvement in working memory for nonspatial stimuli. **Behavioral Neuroscience**, **102**, 349-355.
- Rawlins, J.N.P., Winocur, G. & Gray, J.A., 1983. The Hippocampus, Collateral Behavior, and Timing. **Behavioral Neuroscience**, **97**, 857-872.
- Renner, M., 1959. Über ein weiteres Versetzungs-Experiment zur Analyse des Zeit-sinns und der Sonnenorientierung der Honigbiene. **Z. Vergleichl. Physiol.**, **42**, 449-483. Apud Gallistel, 1989.

- Rescorla, R.A. & Holland, P.C., 1982. Behavioral studies of associative learning in animals. **Annual Review of Psychology**, **33**, 264-308.
- Richelle, M. & Lejeune, H., 1980. **Time in Animal Behaviour**. Oxford: Pergamon Press.
- Santos, A.M.G., 1995. **Secção da via perfurante lateral e lesão seletiva do córtex entorrinal lateral dorsal resultam em pequenos prejuízos de memória de referência espacial, sem interferirem na memória operacional espacial**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. São Paulo, 126 págs.
- Shapiro, M.L. & Olton, D.S., 1994. Hippocampal Function and Interference. In Daniel L. Schacter and Endel Tulving (Eds.), **Memory Systems**. Cambridge: MIT Press, 87-117.
- Staddon, J.E.R., 1983. **Adaptative behavior and learning**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Staddon, J.E.R. & Ettinger, R.H., 1989. **Learning: An Introduction to the Principles of Adaptative Behavior**. Orlando, Florida: Harcourt Brace Jovanovich Inc.
- Swanson, L.W., Sawchenko, P.E. & Cowan, W.M., 1981. Evidence for collateral projections by neurons in Ammon's horn, the dentate gyrus, and the subiculum: A multiple retrograde labeling study in the rat. **Journal of Neuroscience**, **1**, 548-559.
- Tilson, H.A., Harry, G.J., MacLamb, R.L., Peterson, N.J., Rodgers, B.C., Pediaditakis, P. & Ali, S.F., 1988. Role of Dentate Gyrus Cells in Retention of a Radial Arm Maze Task and Sensitivity of Rats to Cholinergic Drugs. **Behavioral Neuroscience**, **102**, 835- 842.
- Thompson, R., 1981. Rapid Forgetting of a Spatial Habit in Rats with Hippocampal Lesions. **Science**, **212**, 959-960.
- Wahl, O., 1932. Neue Untersuchungen uber das Zeitgedachtnis der Bienen. **Z. Vergl. Physiol.**, **16**, 529-589. Apud Gallistel, 1989.
- Walker, J.A. & Olton, D.S., 1984. Fimbria-fórnix lesions impair spatial working memory but not cognitive mapping. **Behavioral Neuroscience**, **98**, 226-242.
- Wright, A.A., 1992. Learning Mechanisms in Matching to Sample. **Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes**, **18**, 67-79.

Wright, A.A., Urcuioli, P.J. & Sands, S.F., 1986. Proactive interference in animal memory. In DF Kendrick, ME Rieling & MR Denny (Eds), **Theories of Animal Memory**. Hillsdale, NJ: Erlbaum, 101-125.

Xavier, G.F., 1985. **Atividade exploratória em ratos com lesões no hipocampo e secção do fórnix. Implicações para as teorias sobre a função hipocampal**. Tese de Doutorado apresentada à Escola Paulista de Medicina. São Paulo, 288 págs.

Tabela 1. Média e Desvio Padrão dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino e testes da tarefa espacial (Experimento I).

Grupo Sham

| Treino | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 85.94 | 85.94 | 84.38 | 85.94 | 85.94 | 89.06 |
| Desvio Padrão | 10.43 | 18.22 | 12.94 | 12.39 | 8.01 | 8.01 |

Teste

| | | | | | | |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 79.69 | 79.69 | 87.50 | 89.06 | 92.19 | 89.06 |
| Desvio Padrão | 11.45 | 11.45 | 9.45 | 10.43 | 9.30 | 10.43 |

Grupo Lesado

| Treino | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 82.81 | 84.38 | 73.44 | 84.38 | 89.06 | 89.06 |
| Desvio Padrão | 14.85 | 8.84 | 18.22 | 8.84 | 12.39 | 8.01 |

Teste

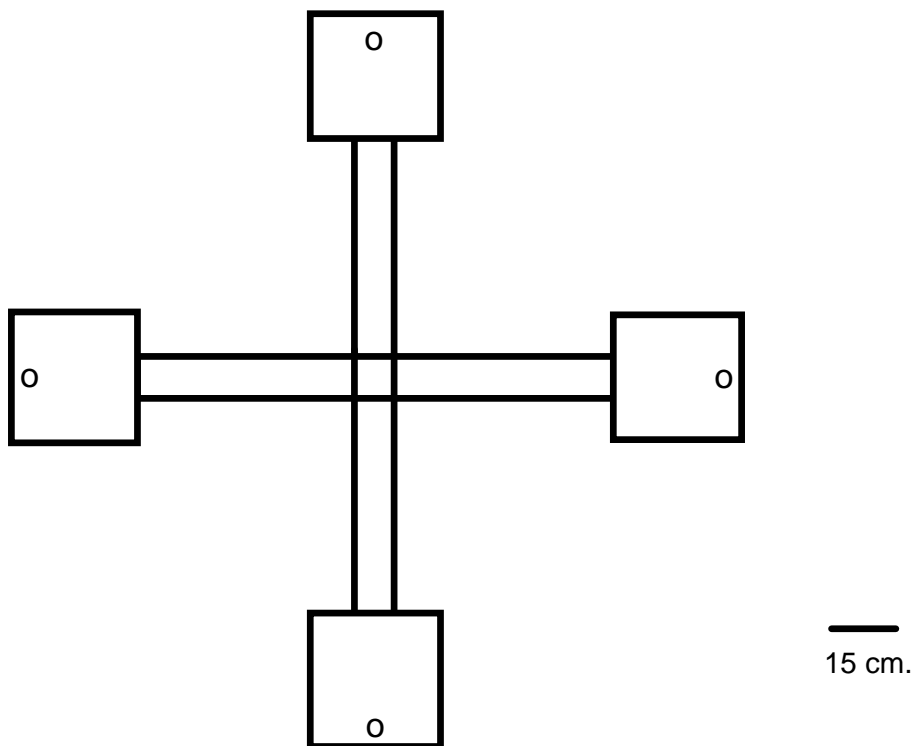
| | | | | | | |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 70.31 | 64.06 | 70.31 | 62.50 | 67.19 | 84.38 |
| Desvio Padrão | 17.60 | 16.95 | 14.85 | 17.68 | 17.60 | 12.94 |

| Tabela 3a. Análise dos Intervalos entre respostas (IER) dos grupos Sham e Lesado nas sessões de Treinos (pré-lesão) da tarefa temporal (DRL) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|----------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Grupos: | Sessões | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| Sham | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 6.33 | 7.99 | 9.41 | 10.03 | 11.05 | 11.80 | 11.88 | 12.40 | 12.39 | 12.81 | 12.40 | 12.96 | 12.21 | 12.75 | 11.31 | 12.69 | 12.15 | 11.84 | 13.36 | 14.85 | 14.94 | 15.98 | 17.11 | 20.04 |
| Desvio Padrão | 1.53 | 1.23 | 1.46 | 1.82 | 2.35 | 2.08 | 1.92 | 3.03 | 1.87 | 1.95 | 2.02 | 2.23 | 2.32 | 1.58 | 1.23 | 2.13 | 1.57 | 1.72 | 4.07 | 2.43 | 2.65 | 2.92 | 3.86 | 7.71 |
| Erro Padrão | 0.54 | 0.43 | 0.52 | 0.64 | 0.83 | 0.74 | 0.68 | 1.07 | 0.66 | 0.69 | 0.71 | 0.79 | 0.82 | 0.56 | 0.44 | 0.75 | 0.55 | 0.61 | 1.44 | 0.86 | 0.94 | 1.03 | 1.37 | 2.73 |
| Mediana | 3.40 | 6.30 | 8.30 | 8.95 | 10.45 | 10.45 | 11.45 | 11.30 | 11.55 | 12.55 | 12.00 | 11.95 | 11.40 | 12.35 | 11.80 | 12.80 | 12.25 | 11.85 | 13.05 | 14.90 | 14.60 | 15.40 | 16.50 | 17.05 |
| Lesado | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 5.45 | 6.81 | 7.80 | 8.89 | 10.24 | 10.91 | 11.28 | 13.20 | 11.64 | 11.63 | 11.39 | 12.15 | 12.15 | 12.53 | 11.96 | 12.16 | 12.60 | 12.64 | 13.70 | 14.50 | 14.85 | 16.34 | 17.01 | 19.58 |
| Desvio Padrão | 0.70 | 1.30 | 0.96 | 1.05 | 1.06 | 2.34 | 3.56 | 3.65 | 1.16 | 1.54 | 1.24 | 1.42 | 1.27 | 1.56 | 0.92 | 1.04 | 1.41 | 1.70 | 3.01 | 1.67 | 2.23 | 3.39 | 3.00 | 5.37 |
| Erro Padrão | 0.25 | 0.46 | 0.34 | 0.37 | 0.38 | 0.83 | 1.26 | 1.29 | 0.41 | 0.55 | 0.44 | 0.50 | 0.45 | 0.55 | 0.33 | 0.37 | 0.50 | 0.60 | 1.06 | 0.59 | 0.79 | 1.20 | 1.06 | 1.90 |
| Mediana | 3.25 | 5.00 | 7.30 | 8.60 | 9.65 | 9.65 | 9.75 | 10.35 | 11.50 | 11.05 | 11.35 | 11.95 | 12.60 | 12.40 | 12.40 | 13.00 | 12.45 | 13.20 | 13.95 | 14.45 | 15.35 | 16.40 | 18.55 | |
| ANOVA - fator duplo com repetição | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <i>F</i> | <i>p</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Grupo <i>F</i> (1,14) | 0.34 | 0.57 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sessão <i>F</i> (23,322) | 32.03 | 0.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GrupoxSessão <i>F</i> (23,322) | 0.43 | 0.99 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Tabela 3b. Análise dos Intervalos entre respostas (IER) (segundos) dos grupos Sham e Lesado nas sessões de Testes (pós-lesão) da tarefa temporal (DRL) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Grupos: | Sessões | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| Sham | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 12.40 | 13.68 | 15.18 | 14.93 | 15.65 | 18.46 | 17.28 | 17.68 | 20.76 | 19.65 | 19.56 | 20.21 | 22.74 | 18.28 | 17.46 | 17.14 | 18.49 | 19.35 | 20.59 | 20.59 | 19.49 | 20.50 | 19.38 | 18.51 |
| Desvio Padrão | 1.83 | 1.77 | 2.46 | 1.85 | 2.08 | 4.80 | 2.79 | 3.27 | 6.46 | 3.09 | 2.95 | 3.42 | 3.58 | 4.27 | 3.18 | 4.28 | 3.02 | 3.98 | 3.94 | 5.30 | 3.79 | 4.66 | 3.99 | 2.53 |
| Erro Padrão | 0.65 | 0.63 | 0.87 | 0.66 | 0.73 | 1.70 | 0.99 | 1.16 | 2.28 | 1.09 | 1.04 | 1.21 | 1.27 | 1.51 | 1.12 | 1.51 | 1.07 | 1.41 | 1.39 | 1.87 | 1.34 | 1.65 | 1.41 | 0.90 |
| Mediana | 11.45 | 12.80 | 14.25 | 14.90 | 14.70 | 17.40 | 16.30 | 18.70 | 18.00 | 18.10 | 17.70 | 19.15 | 22.25 | 16.50 | 17.10 | 18.80 | 17.80 | 18.75 | 20.10 | 19.45 | 18.80 | 19.60 | 18.65 | 18.15 |
| Lesado | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| (N) | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 |
| Média | 13.30 | 13.63 | 13.61 | 13.93 | 15.83 | 15.95 | 16.15 | 16.30 | 17.55 | 16.21 | 16.78 | 16.80 | 16.88 | 16.89 | 16.54 | 18.59 | 15.75 | 15.89 | 15.94 | 15.65 | 15.13 | 16.29 | 17.20 | 15.90 |
| Desvio Padrão | 1.72 | 2.30 | 3.06 | 3.67 | 1.46 | 1.64 | 3.19 | 3.34 | 2.97 | 1.86 | 3.54 | 4.50 | 2.46 | 2.37 | 3.54 | 5.10 | 3.02 | 3.27 | 1.85 | 3.50 | 2.40 | 3.12 | 4.14 | 2.31 |
| Erro Padrão | 0.61 | 0.81 | 1.08 | 1.30 | 0.52 | 0.58 | 1.13 | 1.18 | 1.05 | 0.66 | 1.25 | 1.59 | 0.87 | 0.84 | 1.25 | 1.80 | 1.07 | 0.80 | 0.65 | 1.24 | 0.85 | 1.10 | 1.46 | 0.82 |
| Mediana | 12.40 | 13.05 | 12.80 | 13.00 | 15.50 | 14.60 | 15.25 | 16.35 | 16.90 | 15.70 | 15.95 | 15.35 | 17.15 | 16.70 | 15.35 | 16.15 | 16.45 | 15.10 | 15.80 | 15.15 | 15.15 | 15.95 | 16.35 | 16.10 |
| ANOVA - fator duplo com repetição | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <i>F</i> | <i>p</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Grupo <i>F</i> (1,14) | 4.08 | 0.06 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Sessão <i>F</i> (23,322) | 7.52 | 0.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| GrupoxSessão <i>F</i> (23,322) | 2.23 | 0.00 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

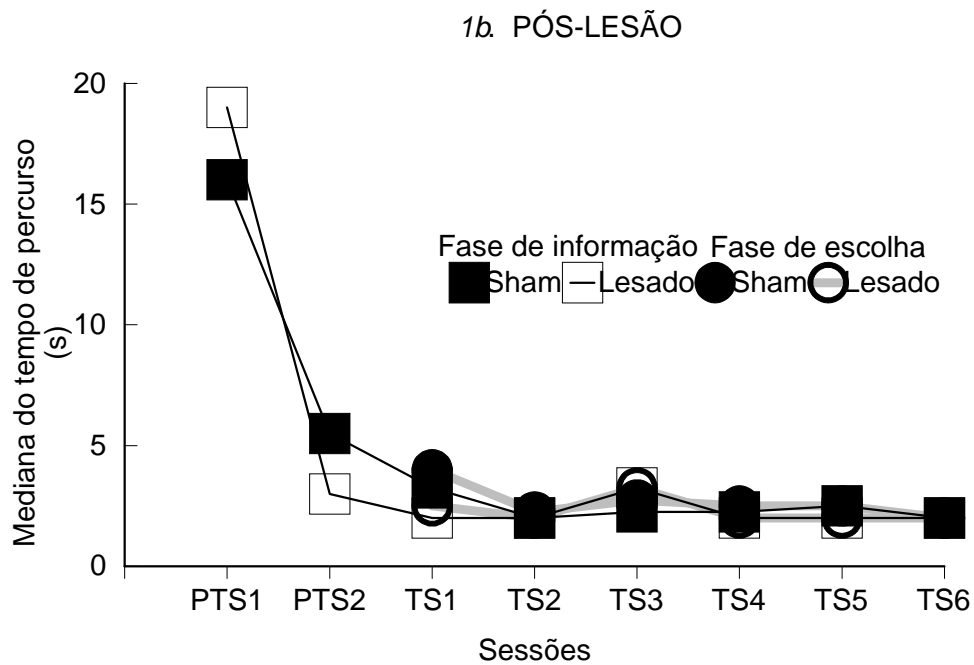
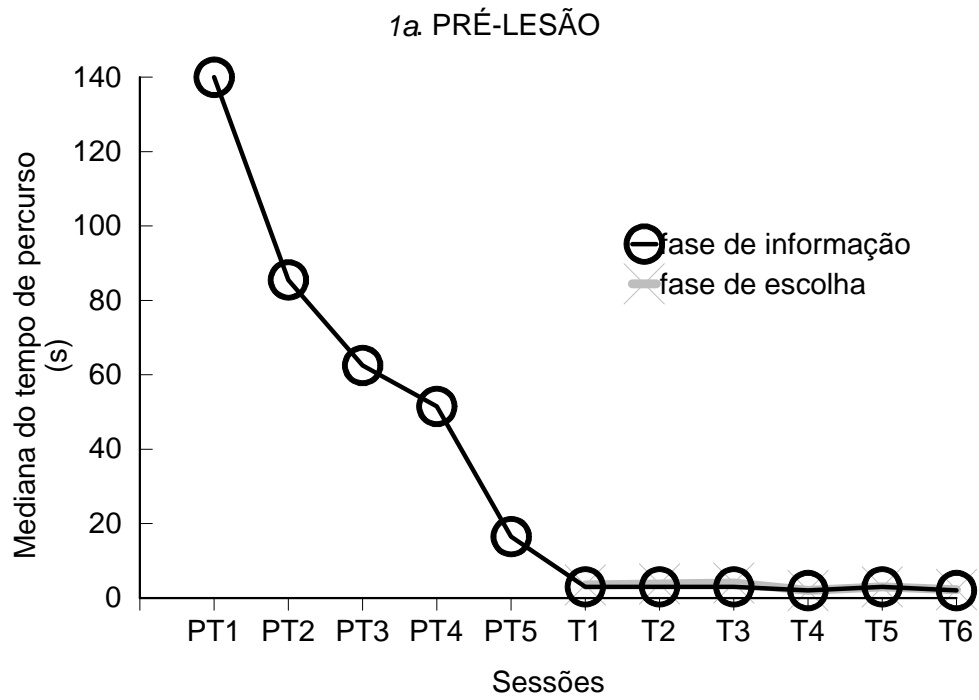
| Tabela 4. Porcentagem de respostas reforçadas dos grupos Sham e Lesado nas sessões de Treinos e Testes da tarefa temporal (DRL). | | | | | |
|---|-------------|---------------|--|---------------|---------------|
| | Sham | | | Lesado | |
| | Média (%) | Desvio Padrão | | Média (%) | Desvio Padrão |
| Sessões de Treino | | | | | |
| 1 | 7.8 | 5.8 | | 3.3 | 1.9 |
| 2 | 5.7 | 1.9 | | 2.7 | 1.4 |
| 3 | 6.3 | 2.8 | | 3.3 | 0.7 |
| 4 | 6.7 | 5.0 | | 2.8 | 1.5 |
| 5 | 10.5 | 10.8 | | 3.3 | 1.4 |
| 6 | 13.0 | 11.2 | | 8.1 | 11.2 |
| 7 | 13.2 | 12.7 | | 9.7 | 13.4 |
| 8 | 13.2 | 16.7 | | 16.9 | 17.9 |
| 9 | 10.5 | 8.7 | | 7.1 | 2.6 |
| 10 | 11.4 | 10.3 | | 5.1 | 2.9 |
| 11 | 14.0 | 19.6 | | 3.7 | 1.7 |
| 12 | 12.1 | 11.1 | | 5.1 | 2.5 |
| 13 | 11.5 | 13.0 | | 6.6 | 4.2 |
| 14 | 11.3 | 9.7 | | 7.9 | 5.9 |
| 15 | 5.6 | 3.5 | | 4.9 | 2.8 |
| 16 | 11.9 | 11.0 | | 5.0 | 2.7 |
| 17 | 8.5 | 5.9 | | 6.2 | 2.3 |
| 18 | 11.5 | 13.3 | | 7.4 | 7.3 |
| 19 | 19.0 | 25.8 | | 13.5 | 15.1 |
| 20 | 20.2 | 9.3 | | 14.2 | 8.5 |
| 21 | 19.8 | 14.1 | | 17.9 | 12.9 |
| 22 | 22.6 | 12.2 | | 24.7 | 16.8 |
| 23 | 27.2 | 16.0 | | 25.9 | 16.2 |
| 24 | 27.3 | 15.1 | | 31.1 | 16.2 |
| Sessões de Teste | | | | | |
| 1 | 13.5 | 5.6 | | 18.4 | 7.3 |
| 2 | 14.0 | 7.7 | | 16.1 | 9.0 |
| 3 | 20.4 | 13.4 | | 16.9 | 15.3 |
| 4 | 16.8 | 9.5 | | 13.1 | 15.0 |
| 5 | 22.4 | 14.3 | | 21.3 | 8.6 |
| 6 | 30.8 | 16.4 | | 21.5 | 11.1 |
| 7 | 27.0 | 9.7 | | 25.6 | 16.8 |
| 8 | 35.6 | 18.7 | | 26.0 | 15.0 |
| 9 | 37.8 | 15.7 | | 34.9 | 16.8 |
| 10 | 40.8 | 13.3 | | 26.0 | 11.9 |
| 11 | 39.3 | 14.4 | | 25.5 | 19.4 |
| 12 | 47.8 | 18.5 | | 27.5 | 15.3 |
| 13 | 56.3 | 17.3 | | 34.9 | 10.2 |
| 14 | 32.9 | 22.1 | | 28.2 | 11.7 |
| 15 | 33.5 | 19.4 | | 29.8 | 18.7 |
| 16 | 39.4 | 14.8 | | 29.5 | 16.5 |
| 17 | 36.1 | 15.6 | | 23.2 | 15.8 |
| 18 | 43.1 | 20.9 | | 26.6 | 14.7 |
| 19 | 43.5 | 18.5 | | 26.0 | 8.8 |
| 20 | 45.6 | 24.8 | | 20.7 | 8.5 |
| 21 | 41.6 | 21.3 | | 22.0 | 12.7 |
| 22 | 46.3 | 20.6 | | 27.7 | 16.7 |
| 23 | 38.8 | 18.6 | | 27.5 | 14.0 |
| 24 | 34.7 | 13.7 | | 26.0 | 12.4 |

| Tabela 5. Média e Desvio Padrão dos Índices de Eficiência dos grupos Sham, Lesado - todos os animais e Lesado - animais que atingiram critério, nas sessões de Reteste. | | | | | | | | | |
|--|----------|--------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Sham | | | | | | | | | |
| Reteste | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| (N) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Média | 71.43 | 76.79 | 85.71 | 83.93 | 80.36 | 92.86 | 75.00 | 92.86 | 85.71 |
| Desvio padrão | 9.45 | 16.81 | 13.36 | 6.10 | 15.91 | 9.83 | 17.68 | 6.68 | 13.36 |
| Lesado - todos animais | | | | | | | | | |
| Reteste | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| (N) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Média | 64.29 | 69.64 | 58.93 | 67.86 | 76.79 | 78.57 | 75.00 | 71.43 | 78.57 |
| Desvio padrão | 19.67 | 15.91 | 22.49 | 15.91 | 26.45 | 17.25 | 17.68 | 21.30 | 20.04 |
| Lesado -animais que atingiram critério | | | | | | | | | |
| Reteste | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| (N) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Média | 65.00 | 72.50 | 67.50 | 70.00 | 90.00 | 87.50 | 82.50 | 82.50 | 85.00 |
| Desvio padrão | 27.04 | 18.54 | 20.92 | 16.77 | 16.30 | 8.84 | 14.25 | 11.18 | 10.46 |
| ANOVA | | | | | | | | | |
| Sham x Lesado (todos): | | Sham x Lesado (critério): | | | | | | | |
| Grupo $F(1,12)=4.60$ $p=0.05$ | | Grupo $F(1,10)=1.78$ $p=0.21$ | | | | | | | |
| Sessão $F(8,96)=2.22$ $p=0.03$ | | Sessão $F(8,80)=3.10$ $p=0.00$ | | | | | | | |
| GrupoxSessão $F(8,96)=1.33$ $p=0.23$ | | GrupoxSessão $F(8,80)=1.28$ $p=0.26$ | | | | | | | |

| Tabela 6. Média e Desvio Padrão dos Índices de Eficiência dos grupos Sham e Lesado na tarefa espacial de DNMTS (Experimento II) | | | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Sham | | | | | | |
| | <i>T0</i> | <i>T1</i> | <i>T2</i> | <i>T4</i> | <i>T8</i> | <i>T16</i> |
| (N) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Média | 85.36 | 87.50 | 76.79 | 75.00 | 67.86 | 51.79 |
| Desvio padrão | 8.71 | 12.50 | 13.36 | 14.43 | 6.68 | 11.25 |
| Lesado | | | | | | |
| | <i>T0</i> | <i>T1</i> | <i>T2</i> | <i>T4</i> | <i>T8</i> | <i>T16</i> |
| (N) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Média | 72.00 | 72.50 | 75.00 | 52.50 | 47.50 | 52.50 |
| Desvio padrão | 16.71 | 10.46 | 19.76 | 5.59 | 16.30 | 10.46 |



Labirinto em *MA*/Sem acrílico transparente.
Altura das paredes de 10cm



Figuras 1a e 1b. Mediana dos tempos de percurso nas tentativas forçadas das sessões de pré-treino (PT) e pré-teste (PTS) e nas fases de informação e de escolha das sessões de treino (T) e teste (TS) dos Grupos Sham e Lesado.

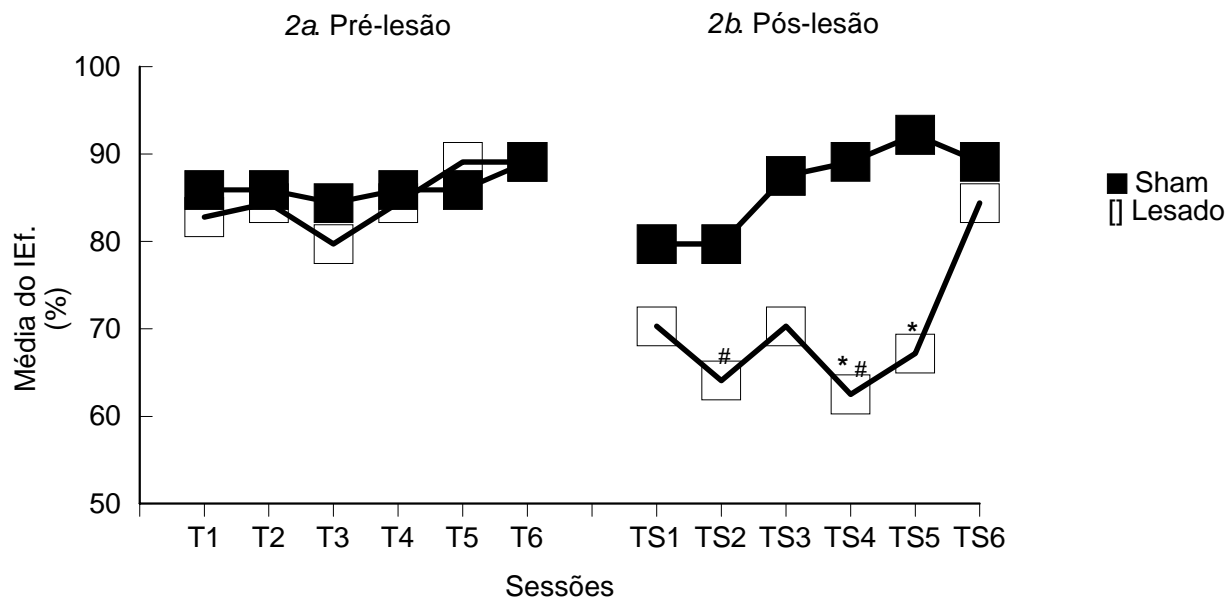


Figura 2. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino pré-lesão (T) e teste pós-lesão (TS) da Tarefa Espacial (NMTS).

* diferença significativa em relação ao Grupo Sham, na respectiva sessão;

diferença significativa em relação à 6a. sessão de treino pré-lesão (T6) - Newman-Keuls, $p < 0.05$.

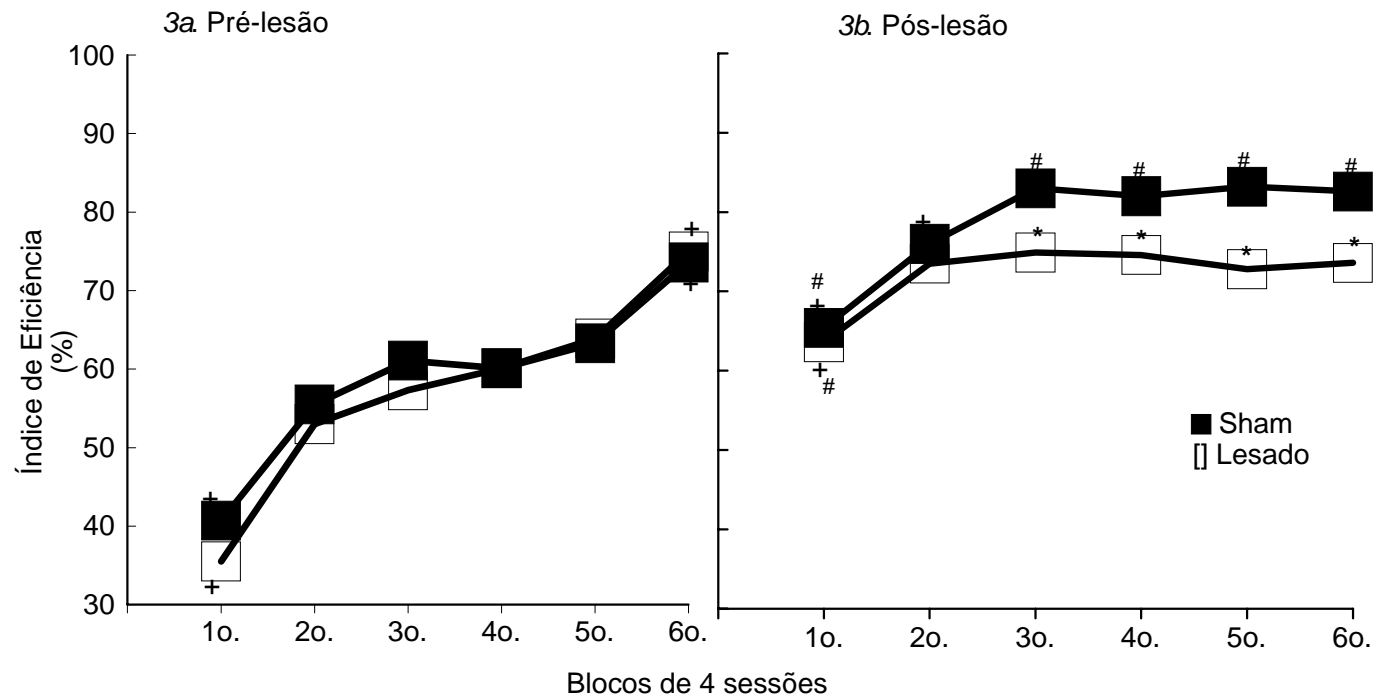


Figura 3. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino pré-lesão e teste pós-lesão da Tarefa Temporal (DRL).

* diferença significativa em relação ao Grupo Sham, no respectivo bloco;

+ diferença significativa, intra-grupo, em relação aos demais blocos de sessões pré-lesão ou pós-lesão;

diferença significativa em relação ao 6o. bloco de sessões de treino pré-lesão -

Newman-Keuls, $p < 0.05$.

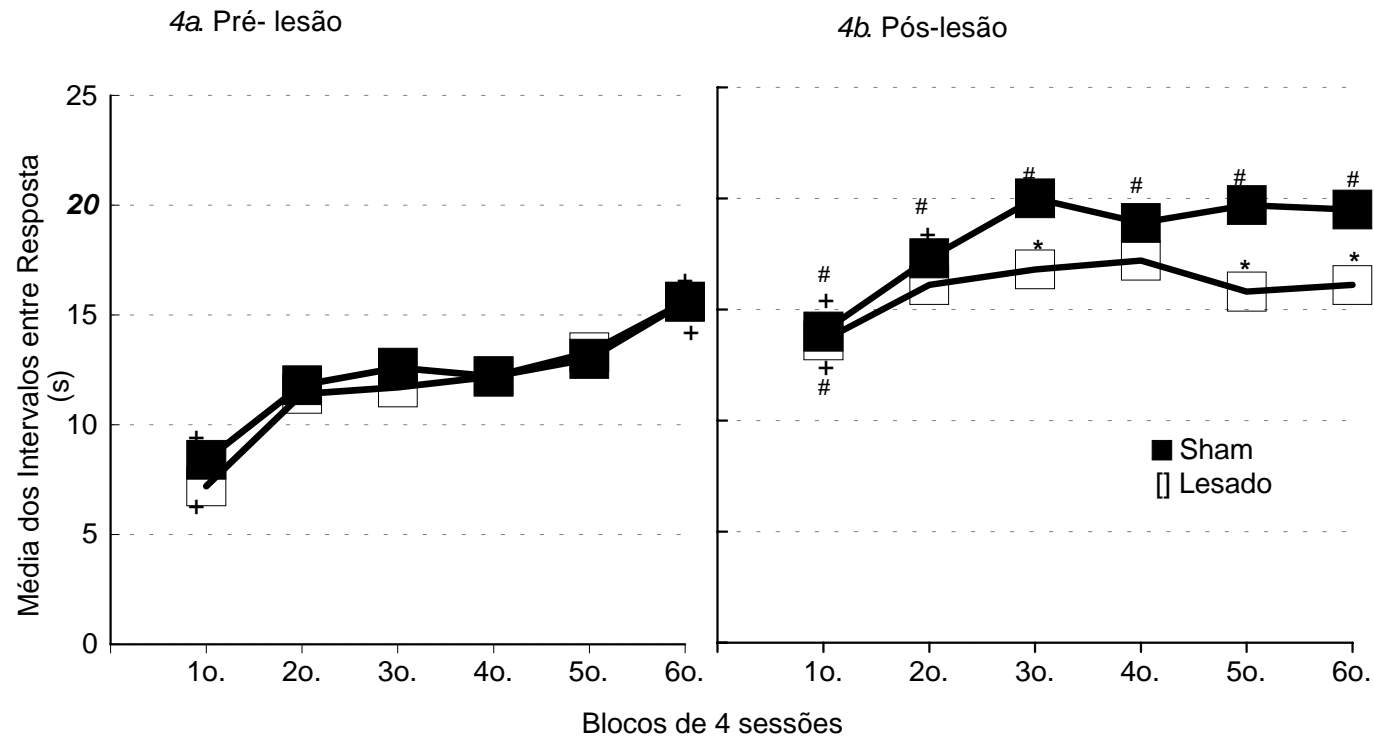


Figura 4. Média dos Intervalos entre Resposta (IER), em segundos, dos grupos Sham e Lesado, nas sessões de treino pré-lesão e teste pós-lesão da Tarefa Temporal (DRL).

* diferença significativa em relação ao Grupo Sham, no respectivo bloco;
 + diferença significativa, intra-grupo, em relação aos demais blocos de sessões pré-lesão ou pós-lesão;
 # diferença significativa em relação ao 6o. bloco de sessões de treino pré-lesão - Newman-Keuls, $p < 0.05$.

4c. Treinos pré-lesão

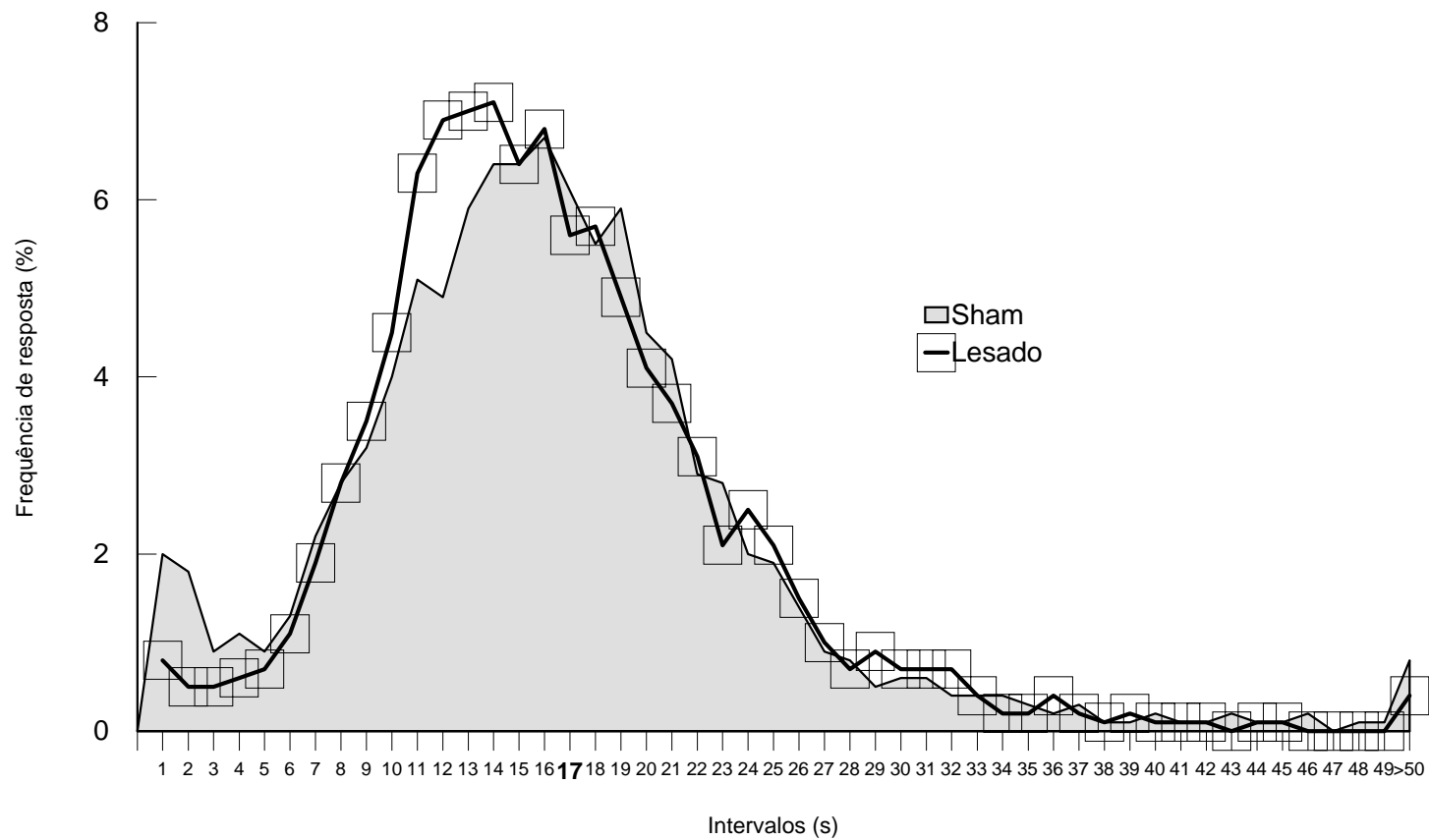


Figura 4c Distribuição dos Intervalos entre Resposta (s), nas sessões 21, 22, 23 e 24 de treinos pré-lesão dos Grupos Sham e Lesado da Tarefa Temporal (DRL-20).

4d. Testes pós-lesão

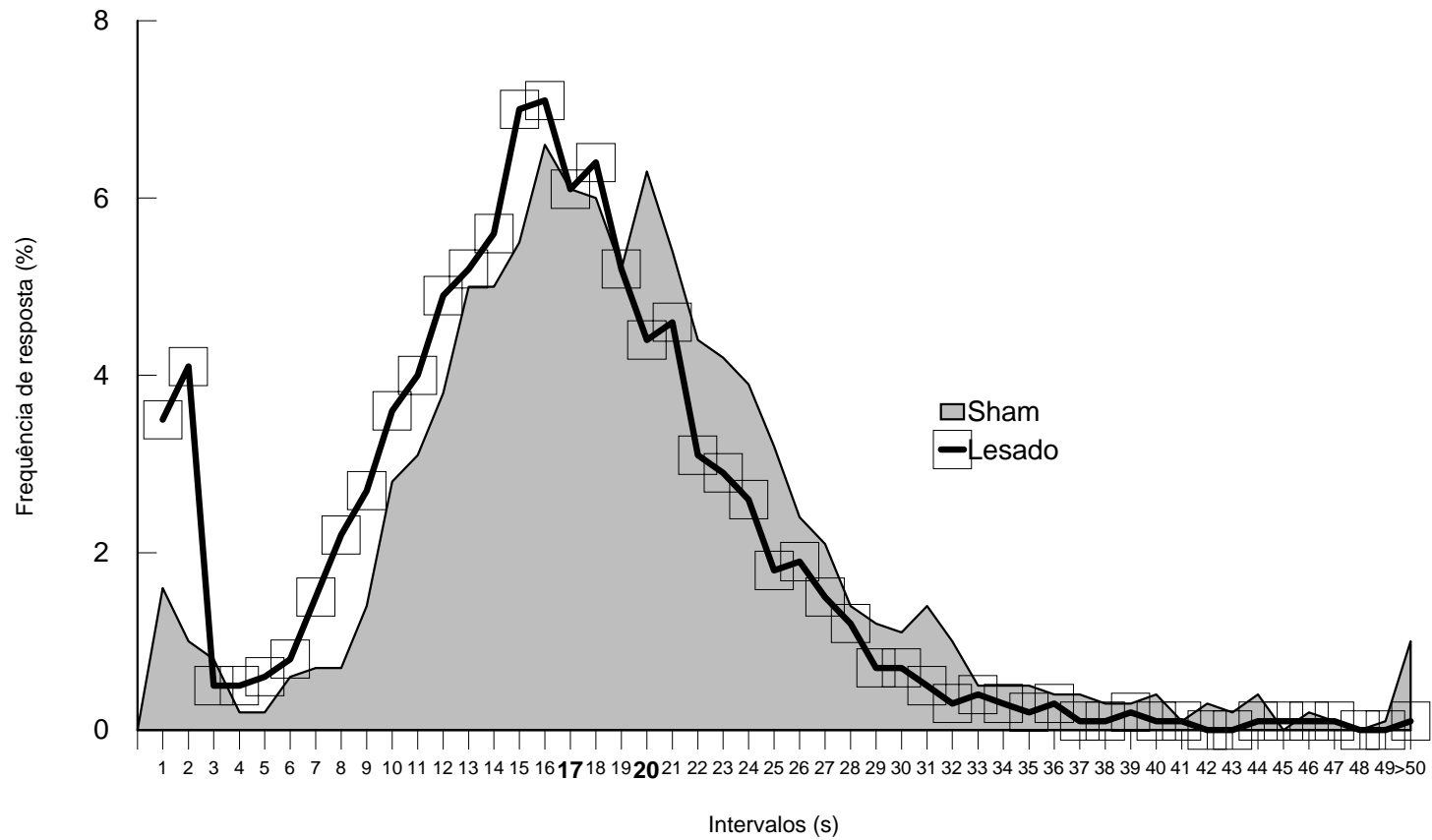


Figura 4d Distribuição dos Intervalos entre Resposta (s), nas sessões 21, 22, 23 e 24 de testes pós-lesão dos Grupos Sham e Lesado da Tarefa Temporal (DRL-20).

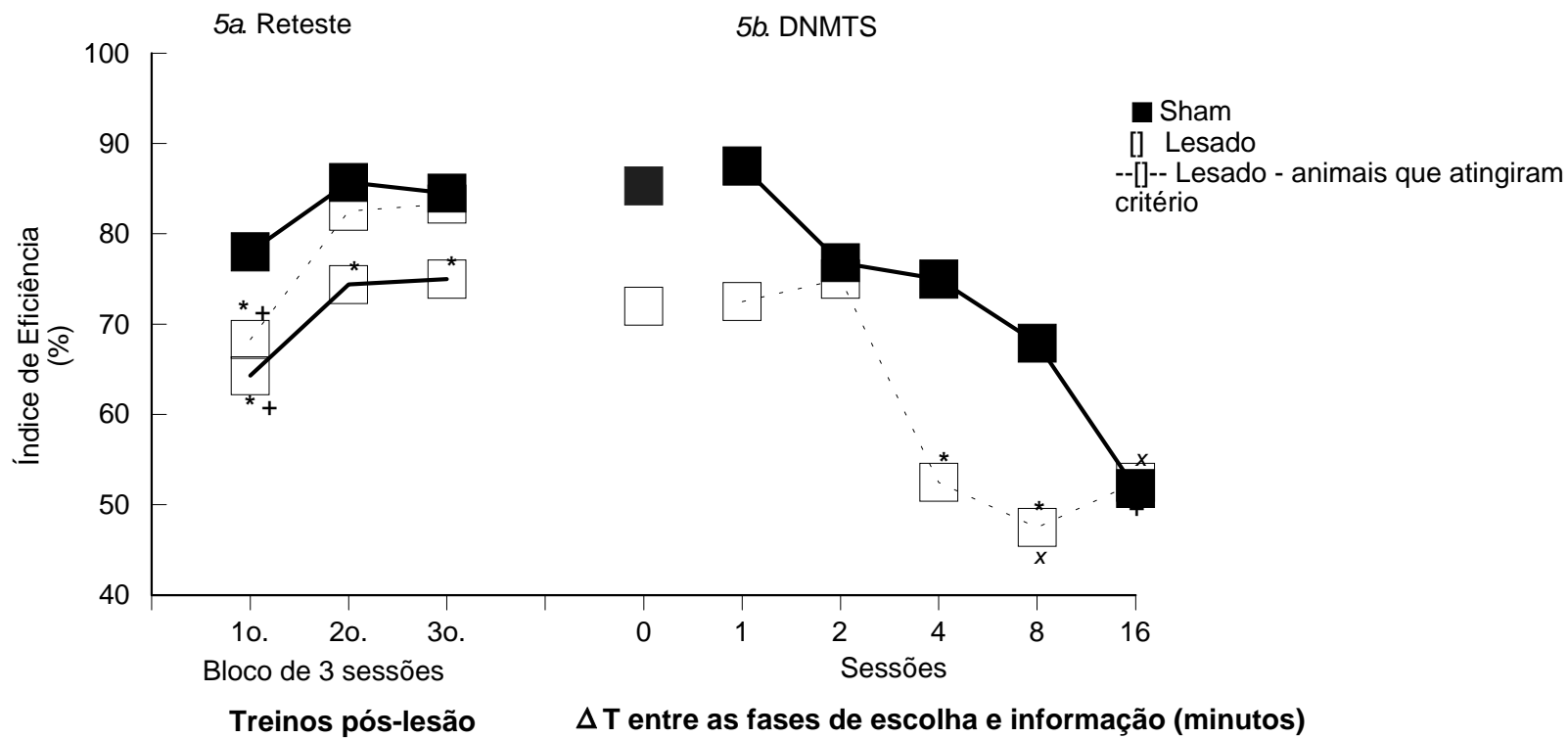


Figura 5. Média dos Índices de Eficiência (%) dos Grupo Sham e Lesado, nas sessões de Reteste (blocos de 3 sessões) e sessões de DNMTS nos intervalos 0, 1, 2, 4, 8 e 16 minutos da Tarefa Espacial, Experimento II.

* diferença significativa em relação ao Grupo Sham, no respectivo bloco (Reteste) ou intervalo (DNMTS);

+ diferença significativa, intra-grupo, em relação aos demais blocos de sessões (Reteste) ou intervalos (DNMTS);

x diferença significativa, intra-grupo, em relação aos demais intervalos (DNMTS) e iguais entre si -

Newman-Keuls, $p < 0.05$.

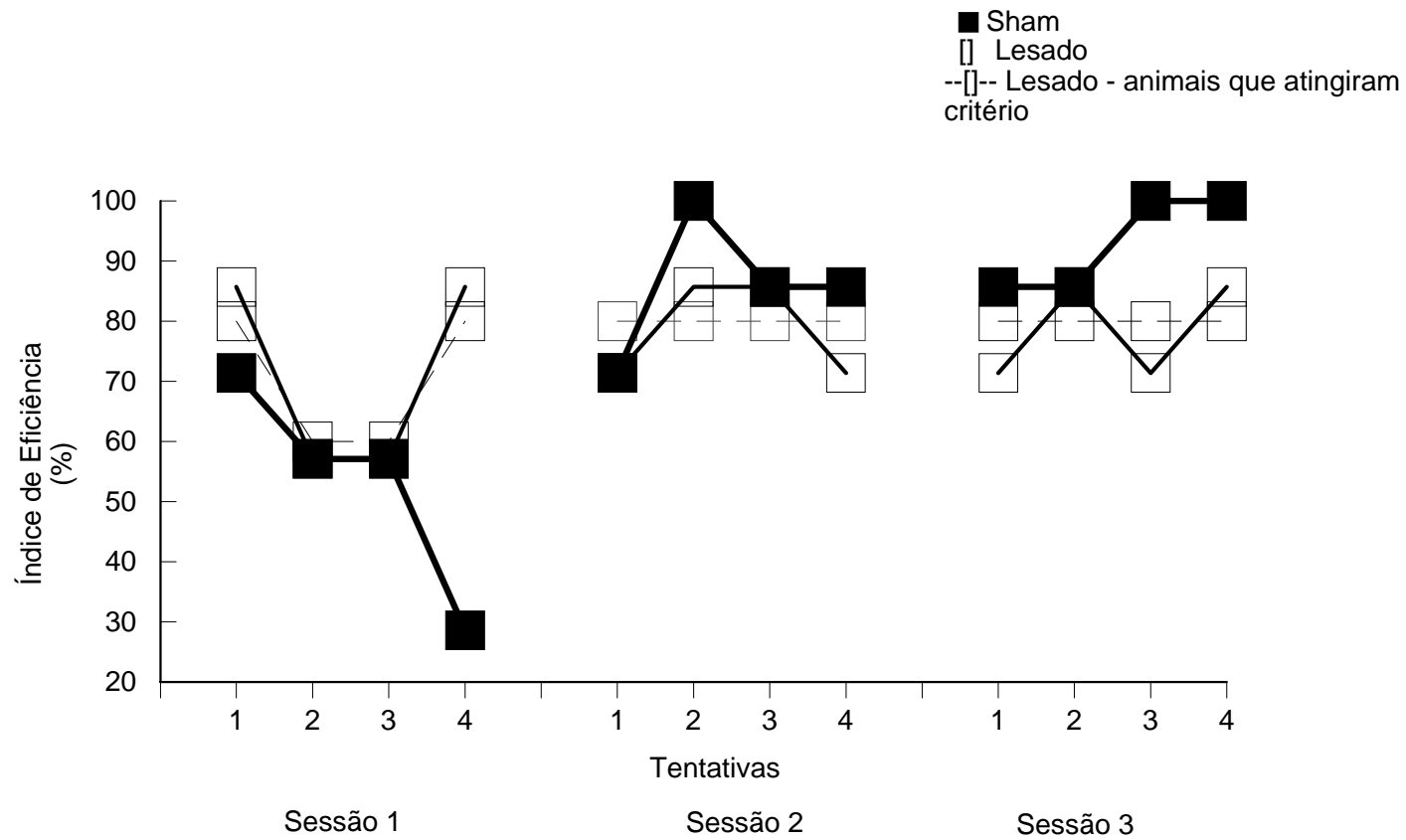


Figura 6. Média dos Índices de Eficiência (%) dos grupos Sham, Lesado, todos os animais, e Lesado, animais que atingiram o critério, nas sessões de teste da Tarefa Espacial, Experimento III.