

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Neurociências

Viviane Lima Gonçalves

**ORGANIZAÇÃO DA PRÁTICA E O IMPACTO DA PRIVAÇÃO DE SONO NA
RECUPERAÇÃO DE MEMÓRIAS CONSOLIDADAS**

Belo Horizonte

2024

Viviane Lima Gonçalves

**ORGANIZAÇÃO DA PRÁTICA E O IMPACTO DA PRIVAÇÃO DE SONO NA
RECUPERAÇÃO DE MEMÓRIAS MOTORAS CONSOLIDADAS**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de mestre do curso de pós-
graduação em Neurociências da Universidade
Federal de Minas Gerais.

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Menezes Lage
Co-orientador: Prof. Dr. Cleiton Lopes Aguiar

Belo Horizonte

2024

- 043 Gonçalves, Viviane Lima.
Organização da prática e o impacto da privação do sono na recuperação de memórias motoras consolidadas [manuscrito] / Viviane Lima Gonçalves. – 2024. 59 f. : il. ; 29,5 cm.
- Orientador: Prof. Dr. Guilherme Menezes Lage. Co-orientador: Prof. Dr. Cleiton Lopes Aguiar.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.
1. Neurociências. 2. Habilidade motora. 3. Memória. 4. Aprendizagem. 5. Privação do Sono. I. Lage, Guilherme Menezes. II. Aguiar, Cleiton Lopes. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. IV. Título.

CDU: 612.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

FOLHA DE APROVAÇÃO

**ORGANIZAÇÃO DA PRÁTICA E O IMPACTO DA PRIVAÇÃO DO SONO NA RECUPERAÇÃO DE
MEMÓRIAS MOTORAS CONSOLIDADAS**

VIVIANE LIMA GONÇALVES

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em NEUROCIÊNCIAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em NEUROCIÊNCIAS, área de concentração NEUROCIÊNCIAS BÁSICAS.

Aprovada em 06 de novembro de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Lidiane Aparecida Fernandes
UFOP

Prof. Theo Rolla Paula Mota
UFMG

Prof. Cleiton Lopes Aguiar
UFMG

Prof. Guilherme Menezes Lage - Orientador
UFMG

Belo Horizonte, 6 de novembro de 2024.



Documento assinado eletronicamente por Lidiane Aparecida Fernandes, Usuário Externo, em 07/11/2024, às 20:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 3º do [Decreto nº 10.743, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Cleiton Lopes Aguiar, Professor do Magistério Superior, em 11/11/2024, às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 3º do [Decreto nº 10.743, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Guilherme Menezes Lage, Professor do Magistério Superior, em 11/11/2024, às 20:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por Theo Rolla Paula Mota, Professor do Magistério Superior, em 06/12/2024, às 18:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 3680828 e o código CRC SF6C25AF.

A Deus, minha família e principalmente ao
meu pai, que estará sempre em meu coração e pensamento.

AGRADECIMENTOS

“Gratidão, é privilégio de quem vê a vida com o coração” (Rafa Gomes e Reginaldo Manzotti). Começo meus agradecimentos a quem me sustentou até aqui, a Deus. *Ebenézer*.

Agradeço à Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG e seus funcionários que forneceu toda a estrutura para que esse trabalho fosse realizado. Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação da Neurociências e ao colegiado que trabalha para tornar o PPG forte e de qualidade. Agradeço à minha filha, Anna Carolina, meu porto seguro e a razão de tudo que faço. Agradeço pelas inúmeras horas me ouvindo sobre esse trabalho, assistindo com atenção às minhas apresentações e ao acolhimento em todos os momentos de medos, incertezas e ansiedades. Eu te amo. Agradeço à minha mãe Helena Maria de Lima Gonçalves por sempre estar ao meu lado e nunca me deixar sentir sozinha. Desculpe as tantas vezes que não consegui estar presente, mas foi por saber que você estava ali que eu cheguei até aqui. Agradeço ao meu pai que apesar de não estar presente fisicamente, nesse momento, estará sempre comigo, onde quer que eu vá. Obrigada ao meu irmão Wagner de Lima Gonçalves, minha cunhada Sidnéia Souza Gonçalves e minhas sobrinhas Gabriella Thaís e Geovanna Luíza. Obrigada pela torcida, apoio e pelo carinho sempre.

Agradeço a todos os meus familiares, mas principalmente à tia Rosemere Moreira Tocafundo que sempre acreditou e me apoiou. Agradeço aos meus amigos e colegas, especialmente ao Fábio Gomes de Araújo Pêgo que me emprestou seu ombro e ouvido nos momentos de desespero, ansiedade e inseguranças. Você faz parte da minha base. Obrigada ao Sidnei Trindade pela torcida. Agradeço também a ajuda e apoio de todos os colegas do grupo Núcleo do Neuromovimento Nneurom em especial à Beatriz, Cristiani, Joana, Luísa, Sara e Tércio. Se somos a médias de quem nos rodeia, sou melhor devido a vocês. Obrigada.

Agradeço ao meu orientador Professor Doutor Guilherme Menezes Lage, a minha admiração e respeito por você não cabe em palavras. Você foi um grande presente que Deus colocou no meu caminho, daqueles que temos dúvidas se merecemos. Você é o exemplo de professor, pesquisador e humano que quero ser. Obrigada por tudo. Obrigada ao Professor

Doutor Cleiton Lopes Aguiar, pelas orientações sempre de forma generosa e acolhedora. Suas palavras me fizeram, fazem e farão, sem dúvida, uma profissional melhor. Eu fui abençoada em tê-los como orientadores.

Obrigada aos colegas do Laboratório Institucional de Pesquisa em Neurociências Molecular e Comportamental – LIPq LANEC e não poderia deixar de citar as colegas que ajudaram diretamente nesse trabalho, Isabela Hubner e Wanessa Luna, sem vocês tudo seria mais difícil. Obrigada a todos os funcionários do Instituto de Ciências Biológicas – ICB, principalmente ao Cebio, ao grupo de alunos Neurociências UFMG, vocês tornaram a caminhada menos complexa. O presente estudo foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“A maior riqueza do homem é a sua incompletude. Nesse ponto sou abastado.”

(Manoel de Barros, Retrato do artista quando coisa, 1998)

RESUMO

Os benefícios da prática menos repetitiva na aprendizagem motora comparado à prática mais repetitiva suportam a ideia de maior fortalecimento da memória. Há na literatura estudos que explicam esses benefícios identificados principalmente nos testes de transferência. Também já está consolidado na literatura a importância do sono no processo de consolidação e fortalecimento da memória. Contudo não há estudos que investiguem os impactos da privação do sono na recuperação dessas memórias fortalecidas comparando a prática menos repetitiva e a prática mais repetitiva. Desta forma, o objetivo primário do presente estudo foi investigar diferentes modelos de organização da prática e o impacto da privação de sono na recuperação de memórias motoras consolidadas. Os objetivos específicos foram investigar os efeitos da organização da prática na fase de aquisição, nos testes de aprendizagem e os efeitos da organização da prática e privação de sono na recuperação da memória motora de longo prazo. Para isso foram levantadas as hipóteses que (1) a prática constante resultará a melhor desempenho na fase de aquisição, (2) a prática aleatória levará a melhor desempenho nos testes de aprendizagem e (3) os efeitos deletérios da privação de sono serão idênticos entre os grupos após as memórias estarem consolidadas. Foram utilizados ratos wistars (n=32), divididos em 2 grupos, que realizaram a tarefa motora no rotarod por 2 dias consecutivos (fase de aquisição 1 e 2). A divisão de grupos foi definida após realização do piloto (apêndice 1). O grupo de prática constante (a mesma frequência de rotação) ou aleatória (com frequência de rotação aleatorizadas entre 3 frequências de rotação distintas), 24 horas, 10 dias e 16 dias após a fase de aquisição foram realizado os testes de retenção, que demonstra o quanto da aprendizagem ocorrido na fase de aquisição foi retido, e os testes de transferência, que demonstra o quanto que aquele aprendizado se adapta aos parâmetros. Após o teste de 16 dias foi realizado a privação de sono de 4 horas, por 3 dias consecutivos e, após 1 dia de descanso, os animais foram retestados na mesma frequência de rotação do 16º dia. As análises descritivas dos dados sugerem que o melhor desempenho da prática constante sobre a prática aleatória na fase de aquisição e a mudança da curva de aprendizado no teste de aprendizagem também pode ser observado em ratos. Na análise inferencial, a prática constante não apresentou o desempenho esperado na fase de aquisição e a prática aleatória também não apresentou o desempenho esperado nos testes aprendizagem, entretanto a privação de sono realizada após 17 dias da fase de aquisição, como esperado,

teve o mesmo efeito nos grupos pós privação de sono. Os achados do presente estudo possibilitam futuras pesquisas sobre a relação da privação de sono e organização da prática.

Palavras-chave: Aprendizagem motora; memória motora; privação de sono.

ABSTRACT

The benefits of less repetitive practice in motor learning compared to more repetitive practice support the idea of greater memory strengthening. Studies in the literature explain these benefits, primarily identified in transfer tests. Additionally, the importance of sleep in the process of memory consolidation and strengthening is well-established in literature. However, there are no studies investigating the impacts of sleep deprivation on the recovery of these strengthened memories when comparing less repetitive practice to more repetitive practice. Thus, the primary objective of the present study was to investigate different practice organization models and the impact of sleep deprivation on the recovery of consolidated motor memories. The specific objectives were to examine the effects of practice organization during the acquisition phase, on learning tests, and the effects of practice organization and sleep deprivation on the recovery of long-term motor memory. For this purpose, the hypotheses proposed were: (1) constant practice will result in better performance during the acquisition phase, (2) random practice will lead to better performance on learning tests, and (3) the deleterious effects of sleep deprivation will be identical across groups after the memories have been consolidated. Wistar rats ($n=32$) were used, divided into two groups, which performed the motor task on the rotarod for two consecutive days (acquisition phases 1 and 2). Group division was determined after conducting a pilot study (Appendix 1). The constant practice group (same rotation frequency) and the random practice group (rotation frequency randomized among three distinct frequencies) underwent retention tests 24 hours, 10 days, and 16 days after the acquisition phase. These tests demonstrated how much learning from the acquisition phase was retained, while transfer tests showed how well that learning adapted to different parameters. After the 16th-day test, sleep deprivation was induced for four hours over three consecutive days. Following one day of rest, the animals were retested at the same rotation frequency as the 16th-day test. Descriptive data analyses suggested better performance of constant practice compared to random practice during the acquisition phase, and the change in the learning curve observed in the learning test could also be seen in rats. In inferential analysis, constant practice did not show the expected performance in the acquisition phase, and random practice did not exhibit the anticipated performance on the learning tests. However, as expected, sleep deprivation conducted 17 days after the acquisition phase had the same effect on both groups post-sleep deprivation. The findings of this study pave the way for future research on the relationship between sleep deprivation and practice organization.

Keywords: Learning; memory; sleep deprivation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Modelos de organização da prática.....	18
FIGURA 2. Diferença no desempenho de diferentes estruturas de organização da prática na fase de aquisição e nos testes de aprendizagem.....	19
FIGURA 3. Plasticidade sináptica.....	23
FIGURA 4. Rotarod.....	30
FIGURA 5. <i>Design</i> experimental.....	32
GRÁFICO 1. Resultados comportamentais – Fases de aquisição e testes de aprendizagem...	36
GRÁFICO 2. Resultados comportamentais – Mudanças <i>online</i> e <i>offline</i>	37
GRÁFICO 3. Latência na aprendizagem.....	38
GRÁFICO 4. Análise pré e pós privação de sono na prática constante	39
GRÁFICO 5. Análise pré e pós privação de sono na prática aleatória.....	39
GRÁFICO 6. Análise privação de sono nos 2 grupos e 2 condições.....	40

LISTA DE ABREVIACÕES

AMPA:	a-amino-3-hidroxi-5-metil-4.isoxazol-ácido propriônico
Aqu1:	Fase de aquisição 1
Aqu2:	Fase de aquisição 2
CAMK II:	Proteína quinase II
CEBIO:	Centro de bioterismo
CEUA:	Comitê de ética de uso animal
DCS:	D-cicloserina
fMRI:	Ressonância magnética funcional
LTP:	Potencialização de longo prazo
MAPK:	Proteína quinase ativada por mitógenos
mGluR:	Receptores de metabotrópicos glutamatérgicos
NMDA:	N-metil-D-aspartato
NREM:	No Rapid Eye Moviment – Não rem / sem movimentos rápidos dos olhos.
PA:	Prática aleatória
PC:	Prática constante
PKA:	Proteína Kinase A
PKC:	Proteína Kinase C
PMG:	Programa motor generalizado
R:	Retenção
REM:	Rapid Eye Moviment – Movimentos rápidos dos olhos
RT3:	Retenção da transferência 3
T1:	Transferência 1
T2:	Transferência 2
T3:	Transferência 3

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Organização da prática.....	17
2.2	Memória e sono.....	20
2.2.1	Memória.....	20
2.2.2	Sono.....	23
2.3	Justificativa.....	26
3.	OBJETIVOS.....	27
3.1	Objetivos específicos.....	27
4.	HIPÓTESES	28
5.	MÉTODO	29
5.1	Amostra.....	29
5.2	Instrumentos.....	29
5.3	Delineamento experimental e procedimentos.....	30
5.4	Manuseio de animais.....	34
5.5	Tarefa motora.....	34
5.6	Privação de sono.....	34
5.7	Análise de dados.....	35
6.	RESULTADOS.....	37
6.1	Paradigma Experimental.....	37
6.2	Análise de privação de sono.....	39
7.	DISCUSSÃO	42
8.	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS.....	48
	APÊNDICE 1 - Piloto.....	51
	APÊNDICE 2 - Tabela de tentativas de PA.....	57
	ANEXO 1 - Aprovação Comitê de ética de uso animal.....	58

1. INTRODUÇÃO

O papel da organização da prática na aprendizagem motora é um dos principais temas de estudo na área da Aprendizagem Motora. Duas formas de se organizar a prática se destacam nos estudos, a prática constante e prática variada. A prática constante consiste na execução consecutiva de uma única tarefa durante toda a sessão de prática (ex., A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-A). Já a prática variada consiste na execução de mais de uma tarefa ou variação da tarefa durante a sessão de prática. Nesse caso, a forma de organização mais investigada é a prática aleatória que consiste em uma apresentação não consecutiva das habilidades (ex., A-C-B-C-A-C-B-A-B-C-A-B) conforme figura 1. A literatura aponta que a prática aleatória leva a melhor aprendizagem do que a prática constante devido ao maior esforço cognitivo demandado pela apresentação não consecutiva das habilidades (LAGE *et al.*, 2015). Aspectos cognitivos relacionados à memória, percepção e atenção também são mais demandados na prática aleatória levando a uma melhor aprendizagem (LIN *et al.*, 2009). Uma outra área de estudo é a que investiga o papel do sono na aprendizagem motora.

O sono possui papel fundamental nas etapas de formação da memória de longo prazo (codificação, consolidação e recuperação da memória), importantes na aprendizagem motora. As codificações de memórias motoras podem envolver processos implícitos e explícitos. Evidências de que mesmo nas tarefas motoras, há codificação explícita que envolve uma comunicação entre o córtex pré-frontal e o hipocampo enquanto a codificação implícita envolve o tálamo, estriado e neo-córtex. O sono interage, em nível de sistema, com todo o organismo e a privação do sono tem como característica mais marcante a perda do controle comportamental e cognitivo (DIELKMANN; BORN, 2010). O desempenho na execução de tarefas motoras é prejudicado em períodos de vigília prolongados apresentando respostas retardadas e atenuadas de neurônios corticais individuais. Circuitos corticais envolvidos na aprendizagem motora são afetados pela privação de sono em todos os estágios de formação da memória motora relacionada a essa aprendizagem uma vez que essa privação impacta negativamente no controle comportamental e cognitivo (VARGA *et al.*, 2014; CHEE; CHUAH, 2008). Uma forma de avaliar a recuperação da memória consolidada é, após a codificação, permitir dias de sono normal seguidos da privação de sono antes do teste de recuperação da memória. A recuperação da memória explícita de longo prazo, após vários dias de sono normal seguidos de um dia de privação de sono não encontrou prejuízo em várias medidas de recuperação, porém quando o teste de recuperação ocorreu durante a privação de sono, houve um aumento no resultado de

falso reconhecimento (quando os voluntários foram solicitados a reconhecer imagens) (COUSINS; FERNANDEZ, 2019). Entretanto, o impacto da privação de sono na recuperação da memória, principalmente da memória motora raramente tem sido testado.

Apesar de ser conhecida a superioridade da prática aleatória na aprendizagem motora, é possível que na privação de sono após a consolidação da memória motora os efeitos deletérios sejam idênticos entre os grupos. Dessa forma, o presente estudo busca investigar diferentes modelos de organização da prática e o impacto da privação de sono na recuperação de memórias motoras consolidadas. Para essa análise foi considerado como variável independente o modelo de organização da prática e como variável dependente, o desempenho na tarefa motora entre os dois grupos (grupo de prática constante e grupo de prática aleatória). A análise do desempenho foi realizada através do número de quedas em cada tentativa nas fases de aquisição e nos testes de aprendizagem, a mudança *online* (diferença entre o número de quedas da última tentativa para a primeira tentativa dentro da mesma fase), mudança *offline* (diferença entre o número de quedas do teste de aprendizagem para a última tentativa da fase de aquisição 2) (APOLINARIO-SOUZA *et al.*, 2019), a latência na primeira queda (que avalia adaptação à tarefa) e análise pré (T3) e pós (RT3) privação de sono intra e inter grupos. Na análise intra grupo, os animais foram comparados com eles mesmos antes e depois da privação de sono.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Organização da Prática

A aprendizagem motora pode ser definida como alterações no desempenho de uma habilidade e inferida como uma melhoria relativamente permanente no desempenho, devido à prática ou à experiência (MAGILL, 2000). Há um consenso de que a prática é um elemento essencial para a aprendizagem de habilidades motoras. Nas últimas décadas, estudos sobre como a prática poderia ser estruturada de modo a promover a aprendizagem eficaz têm recebido muita atenção na área de aprendizagem motora (LEE; MAGILL, 1985; LIN *et al.*, 2009; LAGE *et al.*, 2011; BICALHO *et al.*, 2019). A maioria desses estudos têm sido realizados com base em dois paradigmas de investigação, o Efeito da Interferência Contextual e a Variabilidade da Prática. Enquanto os estudos sobre o efeito da interferência contextual investigam qual a melhor forma de prática variada (LEE; MAGILL, 1985), os estudos sobre variabilidade da prática investigam o benefício da prática variada em relação à prática constante (LIN *et al.*, 2009; LAGE *et al.*, 2011; BICALHO *et al.*, 2019). O efeito da interferência contextual refere-se ao grau de interferência de uma tarefa sobre a outra quando são praticadas juntas. A prática aleatória promove alto nível de interferência contextual e a prática em blocos promove baixa interferência contextual. A maior interferência contextual leva a desempenho inferior na fase de aquisição, porém a melhor desempenho nos testes de retenção e transferência em comparação à baixa interferência (TANI, 2016, p.151).

Uma das explicações sobre a superioridade da alta interferência contextual em relação à baixa interferência é a hipótese da reconstrução do plano de ação ou do esquecimento. A intenção ou elaboração do plano de ação ocorre antes do início do movimento. Na preparação para uma repetição subsequente demandada na baixa interferência contextual, o indivíduo já tem o plano de ação ativo na memória de trabalho. Ao contrário, na prática com alta interferência contextual o plano de ação deve ser reconstruído a cada tentativa devido a não repetição consecutiva, levando ao fortalecimento da memória motora (LEE; MAGILL, 1985).

O segundo paradigma é o da variabilidade da prática que se refere à variedade de movimentos e das características do contexto que o aprendiz vivência durante a prática de uma habilidade (MAGILL, 2018, p.244). No paradigma da variabilidade da prática, a prática de uma habilidade forma esquemas de controle de habilidades motoras denominada o programa motor generalizado (PMG) que define um padrão de movimento e a flexibilidade nesse programa

produz variações no padrão (LAGE *et al.*, 2011). Segundo a hipótese da variabilidade da prática, as variações de uma habilidade, na fase de aquisição, promovem uma maior capacidade de executar com sucesso variações da habilidade regida pelo mesmo PMG (LAGE *et al.*, 2017) o que pode ser verificado nos testes de transferência. Analisando os testes de transferência, Lage *et al.* (2017) afirmam que o baixo desempenho atribuído à prática constante baseia-se na característica repetitiva dessa prática, sendo assim, a prática constante comparado à prática variada apresenta um desempenho melhor na fase de aquisição, porém inferior nos testes de transferência.



Figura 1 - Organização da prática. O desenho esquemático descreve a organização da execução das habilidade e/ou tarefas nas estruturas de organização de prática. A prática constante apresenta apenas uma tarefa enquanto a prática variada apresenta duas ou mais tarefas. A prática variada pode ser subdividida em prática em blocos, quando você pratica todas as tentativas de uma tarefa antes de iniciar a próxima tarefa, prática em série, quando você pratica uma tentativa de cada tarefa e prática aleatória, quando você pratica as tentativas sem uma ordem sistematizada.

Fonte: Lage *et al.* (2015).

A característica principal que une os paradigmas de estudo sobre a organização da prática é o fenômeno do maior esforço cognitivo demandado pelas práticas mais variadas (prática aleatória e seriada) em relação às práticas mais repetitivas (prática constante e em blocos). A partir de análise eletroencefalográficas e do comportamento óculo motor, a literatura mostra que a prática mais variada demanda maior esforço cognitivo (BICALHO *et al.*, 2019;

LELIS-TORRES *et al.*, 2017). Bicalho *et al.* (2019) observaram que durante a prática aleatória a dilatação pupilar foi maior do que durante a prática mais repetitiva. As análises dos testes de retenção e transferência indicaram que o nível de dilatação pupilar foi maior nesse modelo de prática. Do último bloco da fase de aquisição para o teste de retenção foi observado uma diminuição na atividade pupilar e um melhor desempenho no teste de retenção. Apesar dessa diminuição da atividade pupilar na prática aleatória, no teste de retenção, ela ainda se manteve maior do que na prática constante. Estes resultados sugerem que é necessário um esforço cognitivo mais elevado para a prática aleatória mesmo nos testes de aprendizagem. Da mesma forma, Lelis-Torres *et al.* (2017) verificaram a diferença demandada de esforço cognitivo entre a prática constante e aleatória, mais especificamente (1) o engajamento na tarefa (envolvendo processamentos perceptivo e recursos de atenção) e (2) a carga de memória de trabalho. Os resultados mostraram que a prática mais variada induziu a maior esforço cognitivo do que a prática mais repetitiva. Os índices de carga de memória de trabalho e engajamento na tarefa não mostraram diferenças entre as condições de prática, porém reduziram mais significativamente na condição de prática mais variada nos testes de aprendizagem. A característica de maior demanda cognitiva na prática mais variada (LAGE *et al.*, 2015) relacionados à maior demanda de percepção e atenção (LIN *et al.*, 2009) e a reconstrução constante de programa motor generalizado a cada tentativa levaria a um fortalecimento da memória motora (LEE; MAGILL, 1985) conforme apresentado na figura 2.

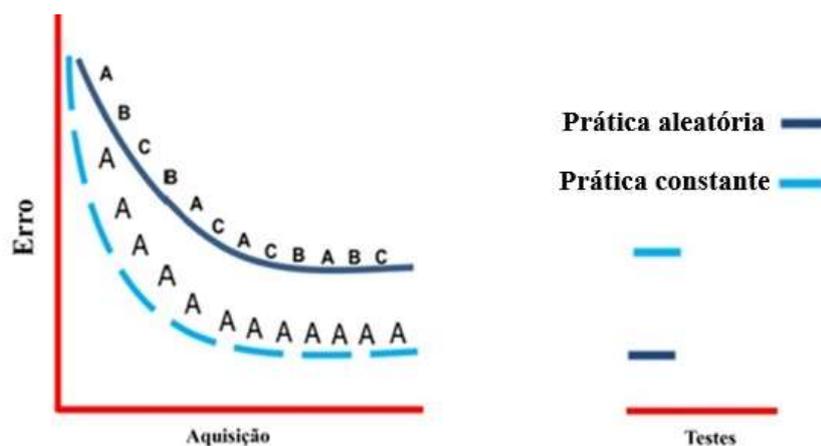


Figura 2 - Diferença no desempenho de diferentes estruturas de organização da prática na fase de aquisição e nos testes de aprendizagem. O desenho esquemático acima mostra como os resultados na fase de aquisição e dos testes de aprendizagem mudam como a prática constante apresentando melhor desempenho na fase de aquisição e a prática aleatória apresentando melhor desempenho nos testes de aprendizagem. Uma explicação para esse efeito é a maior demanda atencional e cognitiva na fase de aquisição exigida na fase de aquisição pela prática aleatória.

Fonte: Adaptado de Apolinário-Souza (2019).

2.2. Memória e sono

2.2.1 Memória

A memória pode ser definida como representação neural de informações e a formação da memória de longo prazo é constituída por 3 estágios: codificação, consolidação e recuperação (DIELKMANN; BORN, 2010). Entre os vários papéis do sono, sua importância na formação da memória parece ser particularmente importante, principalmente no processo de consolidação da memória (DIELKMANN; BORN, 2010). O sono pode ser caracterizado pela ocorrência cíclica do sono do movimento rápido dos olhos (REM) com prevalência na segunda metade do sono e do sono não REM, que inclui o sono de ondas lentas (estágios N1 e N2 como sono mais leve, os estágios N3 e N4, sono mais profundo) com prevalência na primeira metade do sono (DIELKMANN; BORN, 2010). Durante o sono ocorre a reorganização neuronal em que participa todas as regiões cerebrais, incluindo neocórtex, hipocampo, tálamo, hipotálamo e tronco encefálico (BRODT *et al.*, 2023).

Codificação

A codificação refere-se à fase de aquisição de informações o que depende da interação complexa de vários fatores. Há um consenso da importância do sono para preparar o cérebro para a codificação (COUSINS; FERNANDEZ, 2019; BRODT *et al.*, 2023) e de seu impacto na formação da memória de longo prazo. Após a percepção do estímulo, a codificação aconteça devido a alterações na força das conexões neuronais onde a atividade do sono de ondas lentas reduza o peso sináptico, evitando a saturação das redes de memória, facilitando o novo aprendizado (TOTONI; CIRELLI, 2014; COUSINS; FERNANDEZ, 2019; BRODT *et al.*, 2023). Em um teste de reconhecimento facial, após uma noite de privação de sono, o grupo intervenção teve prejuízo no reconhecimento do contexto em relação ao grupo controle demonstrando a participação do sono nos processos atencionais exigidos na codificação (COUSINS; FERNANDEZ, 2019).

Consolidação

Mudanças na atividade do corpo estriado e cerebelo foram observados em diferentes estágios da codificação da memória motora, apesar da atividade do cerebelo reduzir e até se tornar indetectável na fase de consolidação, a atividade do corpo estriado continua sendo significativa mesmo quando o indivíduo atinge o desempenho especializado, demonstrando

sua participação na consolidação de comportamentos bem aprendidos (DOYON *et al.*, 2003). A consolidação é o processo seguinte à codificação e refere-se à estabilização no nível das sinapses e processos cerebrais que ocorrem tanto na vigília quanto no sono, e que podem produzir um fortalecimento de associações e mudanças qualitativas nas representações da memória e que transformam as memórias recém codificadas em memórias de longo prazo (DIELKEMANN; BORN, 2010). Quando uma memória motora é consolidada há uma mudança nas áreas cerebrais ativas das regiões pré-frontais para as estruturas pré-motoras, parietais posteriores e córtex cerebelar. Embora não esteja claro quais áreas participam dos processos primários de formação da memória motora, parece haver participação do córtex motor de alguma forma (MUELLBACKER *et al.*, 2002). Parece que a consolidação da memória motora é dependente do tempo decorrido entre a fase de aquisição e o fim do processo de consolidação e interrupções como a privação de sono e estimulações magnética transcraniana (TMS) após esse tempo não prejudica a consolidação da memória (MUELLBACKER *et al.*, 2002; KANTAK *et al.*, 2010).

A ideia de que a relação entre o sono e a memória de longo prazo envolve as distinções entre os sistemas de memórias, por exemplo: o sistema de memória declarativa que abrange a memória episódica (memórias autobiográficas num contexto temporal e espacial) e a memória semântica (conhecimento geral) difere da memória não declarativa que envolve, entre outros, a memória procedural (habilidades e hábitos adquiridos) revela a participação de áreas encefálicas diferentes (MCDONALD; COTE, 2021, BRODT *et al.*, 2023). A consolidação da memória episódica de longo prazo dependentes do hipocampo possui como característica fundamental a repetição de padrões de disparos de conjuntos de neurônios do hipocampo (KLINIG *et al.*, 2019). Klinzig *et al.* 2019; verificaram em ratos a reativação durante o sono de ondas lentas após tarefas espaciais simples como correr em uma esteira. A interrupção dos picos de ondas durante o sono prejudicou a consolidação indicando seu papel causal. Já a consolidação da memória motora demanda estruturas cortico-estriatal, por exemplo, para a formação da memória motora de longo prazo.

Recuperação

Já a recuperação da memória envolve a reativação de uma rede neural específica, criada nas fases anteriores que leva a reexperimentação de uma memória (COUSINS; FERNANDEZ, 2019). Estudos identificaram que a ativação de sistemas moleculares como

a ativação de receptores de glutamato α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-ácido propiônico (AMPA), proteína quinase A (PKA), MAPK e metabotrópicos (mGluR) nos receptores do glutamato do hipocampo podem ser utilizados tanto na fase de consolidação quanto na recuperação da memória (FELD *et al.*, 2013; APOLINARIO-SOUZA *et al.*, 2019). Os sistemas noradrenérgico, colinérgico, muscarínio e dopaminérgico também modulam a recuperação da memória (APOLINARIO-SOUZA *et al.*, 2019; ABEL; LATTAL, 2001; SZAPIO *et al.*, 2002). O hipocampo parece ter uma participação semelhante tanto no processo de consolidação quanto no processo de recuperação da memória (RIEDEL *et al.*, 1999). Riedel *et al.* (1999) inativaram com o uso de fármaco de inativação reversível (LY326325) o hipocampo dorsal durante o treinamento (para análise da memória relacionada à codificação) e durante o que os autores chamaram de retenção posterior (para análise da memória relacionada à recuperação). Os autores verificaram que os grupos receberam o fármaco por sete dias no hipocampo dorsal começando um ou cinco dias após o treinamento apresentaram uma baixa recuperação da memória, sugerindo que a integridade da atividade neural normal na formação do hipocampo é necessária para a recuperação posterior da memória dependente do hipocampo. A reativação de redes hipocampais e neocorticais envolvendo neurônios glutamatérgicos acoplados às ondas agudas do hipocampo e às oscilações lentas do neocórtex apoiam a plasticidade sináptica relacionadas aos receptores NMDA e AMPA. Feld *et al.* (2013) afirma que essa reativação envolva sinapses glutamatérgicas excitatórias e que induzam plasticidade sináptica nesses conjuntos neurais hipocampais que geralmente contribuem para o fortalecimento das respectivas representações de memória. Um mecanismo que medeia a consolidação da memória é a Potencialização de Longo Prazo (LTP) glutamatérgica, em que o receptor AMPA é responsável pela rápida transferência de sinal e o receptor NMDA age na indução da LTP e quando tem sua resposta ao glutamato facilitada pelo coagonista, D-cicloserina (DCS), melhora a consolidação da memória. A reativação glutamatérgica dessa rede neural durante o sono aumenta LTP e a DCS aumenta o efeito da consolidação das memórias do hipocampo (FELD *et al.*, 2013).

2.2.2 Sono

O sono tem um papel fundamental no processo de retenção de memórias selecionadas e sua integração com memórias preexistentes (GIUDITTA, 2014) e está relacionado à plasticidade sináptica e à formação de representações neuronais de longo prazo (FELD et al., 2013). Os subestados do sono (NREM e REM) não podem ser considerados estados separados, por exemplo, o hipocampo frequentemente entra em REM enquanto áreas corticais permanecem em NREM, porém ainda não está claro como a interação desses fenômenos ocorre em escala espaço-temporal. O sono NREM, após o treinamento motor, promove a formação de espinhas dendríticas em áreas do córtex motor, processo envolvido na formação e fortalecimento de sinapses envolvendo novas memórias motoras conforme Figura 3 (BRODT *et al.*, 2023). Sendo assim, a característica sequencial dos ciclos do sono de ondas lentas (NREM) para as sequências de sono REM possui papel fundamental na plasticidade sináptica, na consolidação e recuperação da memória.

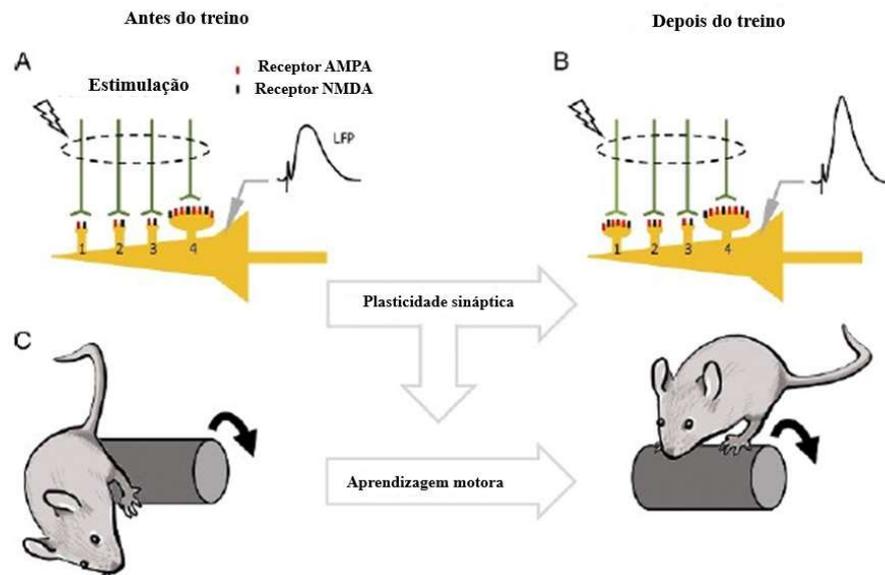


Figura 3 - Plasticidade sináptica. O desenho esquemático acima apresenta uma imagem de como a atividade motora induz a potencialização de longo prazo (LTP), aumentando a plasticidade sináptica. A comparação das redes neurais envolvidas antes (A) e depois (B) revela um aumento no tamanho da cabeça da espinha sináptica refletindo uma maior densidade de receptores. Essas alterações sinápticas são fundamentais para a formação de memórias motoras. Em (C), a figura apresenta uma representação da aprendizagem do animal após a plasticidade sináptica.

Fonte: Wenderoth *et al.*, (2018).

Essa hipótese propõe que o sono NREM contém processos seletivos que enfraquecem memórias não adaptativas antes que o sono REM consolide e integre às memórias preexistentes (MCDONALD; COTE, 2021; GIUDITTA, 2014). A consolidação da memória motora se dá através de processos *online* e *offline* e os processos *online* acontecem durante a execução da tarefa enquanto os processos *offline* se dão, principalmente durante o sono, em especial o sono de ondas lentas com a repetição da atividade neural ocorrida durante a execução da tarefa. Essa atividade pode ser verificada através de sinais eletroencefalográficos (EEG) no córtex motor (RUBIN *et al.*, 2022). As informações de uma memória de longo prazo armazenadas de forma *off-line* dependem da reativação de circuitos neurais envolvidos na codificação. Exames de ressonância magnética (IRM) e tomografia por emissão de prótons (PET) mostram que regiões ativadas durante a codificação da tarefa (por exemplo, córtex motor em uma tarefa de digitação) exibem maior ativação durante o sono subsequente e essa ativação está positivamente correlacionada com a recuperação da memória (BRODT *et al.*, 2023). Essa ativação favoreceria a redistribuição e reorganização da representação da memória quanto alterações sinápticas duradouras necessárias para estabilização (consolidação) da memória (DIELKEMANN; BORN, 2010). O sono REM está associado à consolidação da memória processual como habilidades motoras, porém é preciso destacar a importância do sono NREM tanto para memórias dependentes do hipocampo (por exemplo, espacial e episódica) quanto para memórias não dependentes do hipocampo (por exemplo, memórias de habilidades motoras) envolvendo uma rede cortical pré-frontal hipocampo-medial (GENZEL *et al.*, 2015; BRODT *et al.*, 2023). Em um teste de esquiva ativa com ratos, análises de eletroencefalografia demonstraram que episódios de sono NREM eram nitidamente mais longos em animais expostos ao treinamento em comparação aos animais controle. A concentração de lactato e piruvato cerebrais aumentado após exercícios físicos de intensidade, carga de percepção visual, estresse ou exposição a novidades permaneciam inalteradas durante a vigília, mas diferiam acentuadamente no sono NREM seguinte. Os dados demonstram que a homeostase cerebral só poderia ser restaurada após o sono NREM seguinte (GIUDITTA, 2014).

Como a consolidação necessita da preservação de eventos neurais recuperados pela experiência de aprendizado, qualquer evento que interrompa o ciclo natural do sono presumivelmente interromperia a consolidação e resultaria em uma memória prejudicada (YAROUGH *et al.*, 1971). Yaroush *et al.* (1971) avaliou a consolidação em 3 condições de privação de sono diferentes: privação nas 4 primeiras horas (primeira metade) do sono (sono

rico em ondas lentas), privação nas 4 últimas horas (segunda metade) do sono (rico em sono REM) e condição de vigília. Na primeira condição os voluntários foram expostos ao estímulo de aprendizagem imediatamente antes de dormirem e após 4 horas de sono, depois foram acordados e testados quanto a recordação. Na segunda condição após 4 horas de sono, os voluntários foram acordados, receberam o estímulo de aprendizagem e voltaram a dormir por mais 4 horas, depois da qual foram acordados e testados quanto a recordação. E na terceira condição, os voluntários receberam o estímulo de aprendizagem durante o dia, tiveram 4 horas de atividade normal de vigília e depois foram testados quanto a recordação. A retenção nas primeiras 4 horas de sono foi maior e a condição da segunda metade não superou a condição de vigília demonstrando a importância da primeira metade do sono na retenção da memória. Já Nelson *et al.* (2021) observaram que períodos de cochilos após a aprendizagem melhoram a taxa de acertos e restauram o desempenho aos níveis iniciais, além de melhorar a capacidade de aprendizagem nos testes de adaptação, precisão de trajetória e tempo de reação. Estes benefícios não foram vistos em indivíduos em estado de vigília silenciosa (descanso sem dormir) de pelo menos 20 horas (NELSON *et al.*, 2021).

Os benefícios do sono também foram observados em memórias relacionadas às habilidades perceptuais que são independentes do hipocampo (BRODT *et al.*, 2023). Exames de ressonância magnética funcional (fMRI) em humanos compararam a pós-codificação da vigília e do sono, sendo que o segundo teve um aumento no recrutamento de redes neocorticais e a conexão funcional entre áreas corticais e subcorticais em testes de recuperação (BRODT *et al.*, 2023). Com relação à observação comportamental houve uma melhoria na abstração de regras e regularidade (BRODT *et al.*, 2023). O desempenho e a aprendizagem na execução de tarefas motoras são prejudicados em períodos de vigília prolongados apresentando respostas retardadas e atenuadas de neurônios corticais individuais (VARGA *et al.*, 2014). Circuitos corticais envolvidos na formação da memória motora são afetados pela privação de sono (VARGA *et al.*, 2014). Um estudo realizado em camundongos adultos, revelou que o sono diminui a área de contato entre os terminais do axônio cortical e as espinhas dendríticas (KLINZIG *et al.*, 2019). Em nível molecular o sono reduz receptores de AMPA sinápticos que estão fortemente relacionados à força sináptica funcional (KLINZIG *et al.*, 2019). Exames de imagens estruturais da atividade oscilatória lenta durante o sono de ondas lentas realizados em camundongos indicaram que o sono de ondas lentas após o treinamento em uma tarefa de

rotarod não apenas protege as espinhas recém-formadas como promove a formação de novas espinhas dendríticas (KLINZIG *et al.*, 2019).

2.3. Justificativa

A consolidação da memória motora se dá através de processos *online* e *offline*, como dito anteriormente, e os processos *offline* se dão através da repetição da representação neural idêntico à representação formada nos processos *online* (RUBIN *et al.*, 2022). Fatores como o sono e o tipo de organização da prática afetam a formação da memória. A organização da prática aleatória pode influenciar a consolidação da memória tanto quanto o sono uma vez que a prática aleatória possui uma maior demanda dos processos cognitivos e o sono afeta esses processos através da busca do equilíbrio e da plasticidade sináptica (KIM; WRIGHT, 2021). A manifestação da consolidação bem-sucedida se dá pela preservação do desempenho mesmo diante de interferências ou o ganho de desempenho em um intervalo de tempo significativo (KIM; WRIGHT, 2021). No caso da consolidação da memória em humanos, novas memórias de habilidades podem ser facilitadas quando se tem uma noite de sono. Porém a forma de se organizar a prática de habilidades também pode contribuir para o processamento contínuo de uma memória de habilidade recém-formada (KIM; WRIGHT, 2021). Da mesma forma, a privação do sono pode afetar negativamente todos os estágios de formação de uma memória de longo prazo.

A privação de sono crônica pode ter um efeito negativo na aprendizagem e na memória afetando inclusive, a capacidade de tomada de decisão (NEWBURY *et al.*, 2021), a retenção de memória episódica (TOTONI; CIRELLI, 2014), atenção, memória de trabalho, memórias episódicas emocionais e memória de curto prazo (NEWBURY *et al.*, 2021). Em ratos, perturbações, como privação de sono, utilização de fármacos dentre outros, pós-codificação geralmente têm efeito prejudiciais na recuperação da memória, dependendo do contexto (BRODT *et al.*, 2023). Buscar entender formas mais eficientes para a aprendizagem motora dentre de diferentes contextos (como a privação de sono) fornece ferramentas para desenvolver mecanismos que minimize quaisquer prejuízos no processo de aprendizagem. A recuperação das memórias consolidadas deve sofrer com a privação de sono, mas como as diferentes demandas cognitivas que diferenciam as formas de organizar a prática, após o processo completo de consolidação da memória motora, não estão mais presentes, o impacto no processo de recuperação será idêntico entre os grupos após privação de sono. Diante disso, a proposta

desse trabalho é investigar diferentes modelos de organização da prática e o impacto da privação de sono na recuperação de memórias motoras consolidadas.

3. OBJETIVOS

Investigar diferentes modelos de organização da prática e o impacto da privação de sono na recuperação de memórias motoras consolidadas.

3.1. Objetivos específicos

1 – Investigar os efeitos da organização da prática na fase de aquisição.

2 – Investigar os efeitos da organização da prática nos testes de aprendizagem.

3 – Investigar os efeitos da organização da prática e privação de sono na evocação da memória motora de longo prazo.

4. HIPÓTESES

H1. A prática constante levará a melhor desempenho na fase de aquisição.

H2. A prática aleatória levará a melhor desempenho nos testes de aprendizagem.

H3. Os efeitos da privação de sono na evocação da memória motora de longo prazo serão idênticos entre os grupos.

5. MÉTODO

5.1. Amostra

A amostra foi composta por 52 ratos wistar machos com peso entre 250g e 350g, peso considerado adequado para o rotarod e avaliado através do piloto (apêndice 1). A idade dos animais não foi controlada rigorosamente, mas se manteve entre 3 a 4 meses de idade no início da tarefa motora. Os animais foram fornecidos pelo biotério (CEBIO) situado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os animais foram divididos em caixas plásticas com no máximo 4 e no mínimo 2 animais por caixa, dentro de uma estante ventilada com temperatura ambiente $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade 40-70%, em um ciclo claro-escuro de 12/12 horas quando as luzes se acendem as 7 horas da manhã e se apagam as 19 horas da noite com livre acesso à água e ração. Os ratos são animais noturnos e exploradores, tendo seu momento mais ativo durante a noite. Esses animais dormem por cerca de 12 horas não ininterruptas, mas contendo pequenos intervalos de despertar e possuem um ciclo circadiano semelhante ao humano com presença de sono não REM e REM. A amostra foi dividida aleatoriamente em 2 grupos de 16: grupo de prática constante e grupo de prática aleatória. Todos os procedimentos respeitaram as normas do Comissão de Ética de Uso Animal (CEUA / UFMG) cuja aprovação sobre o protocolo nº. 209/2023 (ANEXO 1).

5.2. Instrumentos

Para avaliar a aprendizagem motora foi utilizado uma tarefa de equilíbrio sobre um rotor em movimento do *rotarod*. O *rotarod* para ratos (Figura 4), é feito de metal e plástico, com diâmetro de cilindro 24,5 centímetros, largura de 59 centímetros, altura de 58 centímetros, com contador de queda automático e parada de tempo automática na queda. O aparelho possui 04 baias com espaço de 10 centímetros para cada animal, altura do rotor até a plataforma de queda é de 29 centímetros e permite o treinamento de até 04 animais, com a mesma frequência de rotação, simultaneamente. Porém, para o teste foram utilizados no máximo 2 baias por vez intercalando com uma baia vazia. Quanto menor o número de quedas melhor será o desempenho. O tempo de permanência dos animais foi medido automaticamente por um sensor localizado na plataforma de queda do aparato. As imagens da privação de sono foram captadas por uma câmera de celular, Samsung Note10 com qualidade de imagem em alta-definição e salvas em disco rígido externo.



Figura 4 – Rotarod. A imagem mostra o *rotarod* usado nas tarefas motoras. O aparato contém quatro baias permitindo a prática de até quatro animais por vez, porém foram utilizados no máximo duas baias por vez, intercalando as baias usadas e não usadas (exemplo: foram usadas as baias 1 e 3 simultaneamente) e um controle de frequência de rotação e contagem de quedas automática. Também foi utilizado a mesma baia para o mesmo animal com o objetivo de reduzir o estresse do animal através do seu cheiro deixado na baia.

Fonte: Bonther (2024).

5.3. Delineamento experimental e procedimentos

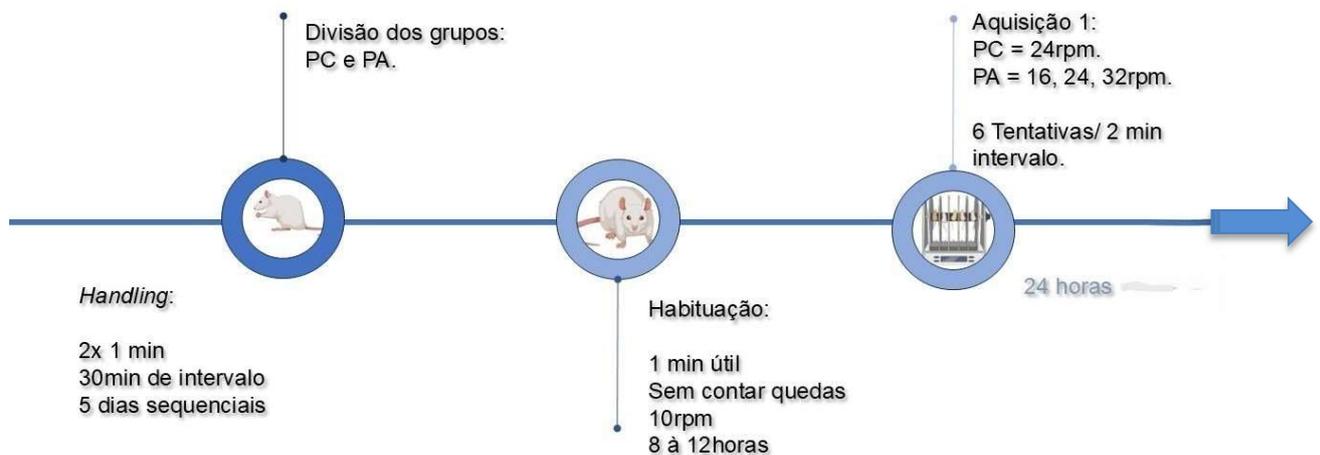
Inicialmente os animais passaram pela habituação com os pesquisadores através do procedimento manuseio de animais (Item 6.3.1) por, pelo menos, 5 dias antes de iniciar os testes e até que os animais chegassem ao peso mínimo (250g). Os animais utilizados nesse estudo foram recebidos em 2 momentos, cada momento com 16 animais. Em cada momento, os 16 animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos de 8 animais e realizado o experimento. Isso significa que a quantidade de estímulo para habituação foi igual para todos os animais naquele momento, porém foi diferente entre os momentos (o primeiro momento com 5 dias e o segundo momento com 28 dias). Os animais foram pesados diariamente até o início da tarefa motora com um ganho médio de peso de 6g/dia, chegando ao final do experimento com um peso médio de 370g.

A tarefa motora foi adaptada do estudo de Apolinário-Souza *et al.* (2019). O experimento foi dividido em 7 fases: aquisição 1, aquisição 2, retenção, transferência 1, transferência 2, transferência 3, privação de sono e retenção da transferência 3. Os testes de retenção (R), transferência 1 (T1), transferência 2 (T2) e a transferência 3 (T3) compuseram os testes de aprendizagem. Além disso, o teste de transferência 3 (T3) e o teste retenção da

transferência 3 (RT3) forma utilizados para análise pré e pós privação de sono, respectivamente. Antes da fase de aquisição 1 foi feita uma habituação do animal ao aparato onde os animais ficaram 1 minuto sobre o rotor à uma frequência de rotação de 10 rotações por minuto (rpm), 1 tentativa, sem contagem de quedas. A fase de aquisição foi composta por duas 2 sessões com 6 tentativas cada com intervalo de 24 horas entre as sessões. A tentativa caracteriza-se pela tentativa do animal se manter por 1 minuto útil sobre o rotor (com parada do tempo nas quedas e retomada do tempo ao reposicionamento do animal sobre o rotor). Não houve intervalo entre as quedas, porém houve um intervalo de 2 minutos entre as tentativas. O teste de retenção e o teste de transferência 1 (T1) foram realizados 24 horas após o teste de aquisição 2 com 1 tentativa em cada teste. No teste de retenção os animais praticaram uma frequência de rotação já conhecida por todos (24 rpm) e no teste de transferência 1 os animais praticaram uma frequência de rotação inédita a todos (T1 = 40 rpm), o teste de transferência 2 (T2 = 42 rpm) foi realizado 10 dias após o teste de aquisição 2, o teste de transferência 3 (T3 = 44 rpm) foi realizado 16 dias após o teste de aquisição 2 ambos com 1 tentativa cada. A privação de sono foi realizada por 3 dias consecutivos, 24 horas após o teste de transferência 3, por 4 horas consecutivas, das 8 horas da manhã ao meio-dia. A última fase foi o teste de retenção da transferência 3 (RT3 = 44 rpm), repetindo a velocidade do T3 também com 1 tentativa. O teste de retenção pode informar quanto da aquisição foi retido na memória após um ciclo completo de sono, ou seja, sem interferências. O teste de transferência 1 pode informar sobre a adaptação da aprendizagem à novos contextos (frequência de rotação diferente) 10 e 16 dias após a prática pode informar o quanto essa memória pode resistir ao tempo e o quanto ela se adapta a novas condições. Todos esses testes apresentam uma curva de aprendizagem. Já o teste pós privação de sono (RT3) pode informar sobre a recuperação de uma memória motora consolidada após sofrer a perturbação da privação de sono. O número de quedas foi considerado erro e usado para análise do desempenho na tarefa. Quanto maior o erro menor o aprendizado.

Para definir o paradigma experimental os animais foram divididos em 2 grupos: grupo de Prática constante (PC), grupo de Prática aleatória (PA). Os animais dos grupos de prática constante foram submetidos a uma frequência de rotação constante de 24 rpm durante a fase de aquisição. Os grupos de prática aleatória foram submetidos a 3 diferentes frequências de rotação, 16, 24 e 32 rpm de forma aleatória na fase de aquisição. Para a aleatoriedade das frequências de rotação foi definido uma sequência em que não houvesse duas frequências

iguais consecutivas e que não houvesse repetição de blocos. No teste de retenção todos os animais foram submetidos a uma tentativa, com frequência de rotação de 24 rpm. No teste de transferência 1 todos os animais foram submetidos a uma nova frequência de rotação de 40 rpm. 10 dias após a fase de aquisição 2 foi realizado o teste de transferência 2 onde todos os animais foram submetidos a uma nova frequência de rotação de 42 rpm. Dezesesseis dias após a fase de aquisição 2 foi realizado o teste de transferência 3 onde todos os animais foram submetidos a uma nova frequência de rotação de 44 rpm. Após o teste de transferência 3 foi realizado a privação de sono por 4 horas, por 3 dias consecutivos, na parte da manhã (de 8 às 12 horas). Após a fase de privação de sono, os animais tiveram um dia de descanso e no dia seguinte foi realizado o teste de retenção da transferência 3 (Figura 5). O *design* experimental pode ser visto na figura 5. Entre os testes de T1 e T2 houve 9 dias de intervalo e entre o teste T2 e T3 houve 6 dias de intervalo, nesses intervalos os animais foram mantidos em suas caixas, não houve qualquer intervenção com os animais além da manutenção normal do biotério (troca de caixas, água e ração) 2 vezes por semana. Foram mantidos alguns objetos dentro das caixas para exploração pelos animais.



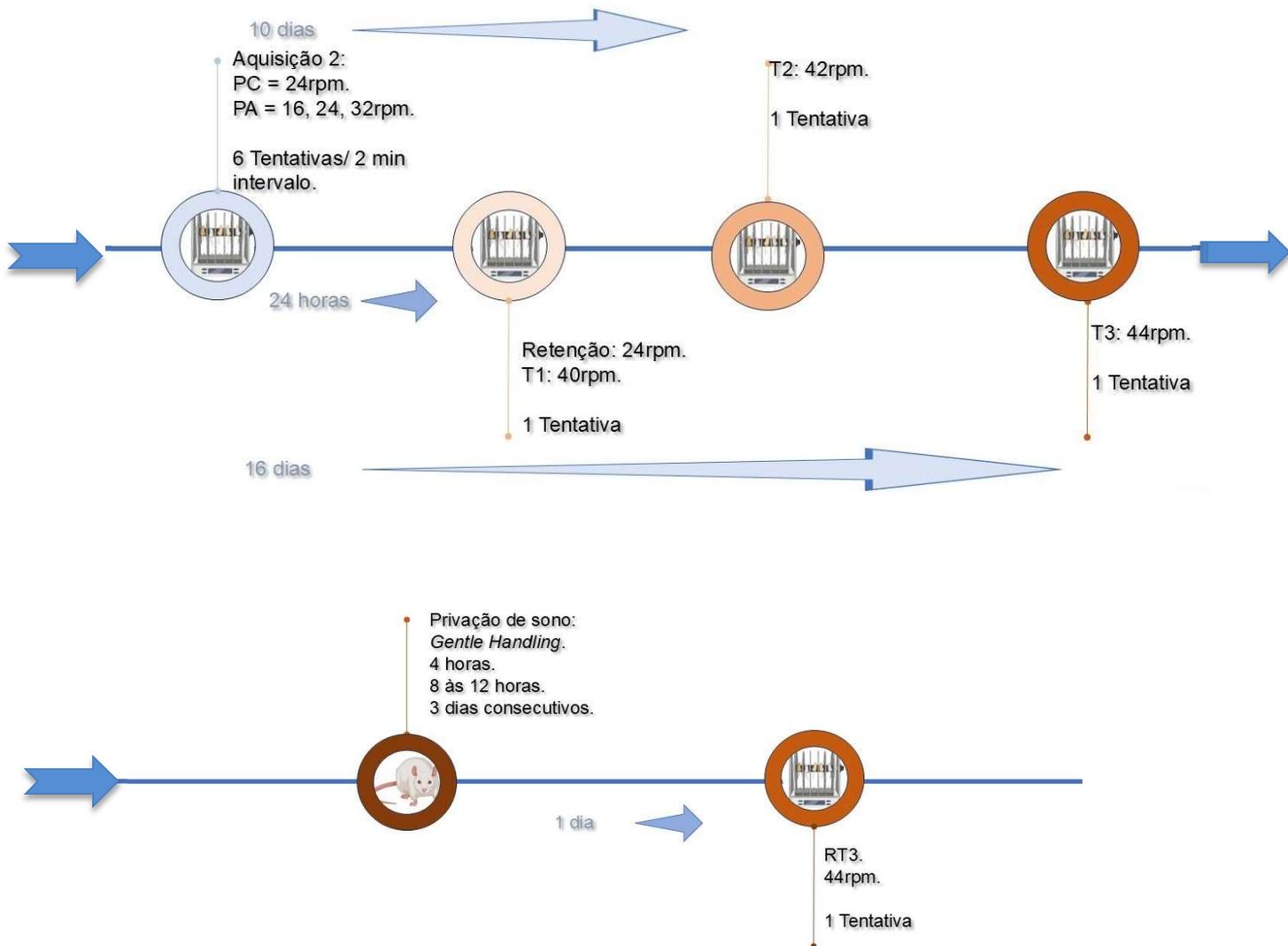


Figura 5 - Desenho experimental. O desenho esquemático apresenta as etapas do experimento. Ao chegar ao laboratório, os animais foram divididos em dois grupos (PA e PC) e passaram pelo handling. Depois os animais tiveram uma tentativa no rotarod para habituação ao aparato e somente após esses protocolos, a tarefa motora foi iniciada. A fase de aquisição foi dividida em 2 dias com 6 tentativas em cada dia, com o objetivo de reduzir o efeito do cansaço. As frequências de rotação foram escolhidas com o objetivo de garantir uma distância percorrida semelhante para todos os animais. Nos testes de aprendizagem, cada animal teve 1 tentativa, uma quantidade suficientemente menor do que na fase de aquisição a fim de não interferir nos efeitos de aprendizagem.

Fonte: Da autora (2024).

5.4. Manuseio do animal

Para que o animal se acostume com o cheiro e toque do pesquisador, a fim de reduzir um possível estresse por estranhamento, logo após os animais serem recebidos do CEBIO, foi realizado o manuseio do animal com toque de áreas como dorso, patas, barriga, pescoço do animal por 1 minuto, com mãos enluvadas, duas vezes com intervalo de aproximadamente 30 minutos entre os estímulos. Esse procedimento se repetiu por 5 dias consecutivos (TAJABADI *et al.*, 2023; HAGEWOUD *et al.*, 2010) e até que os animais chegassem no peso mínimo de 250g.

5.5. Tarefa motora

Para a execução da tarefa motora foi utilizado o *rotarod*, conforme descrito no item 5.3 e na figura 5. A tarefa motora consistiu em o animal caminhar sobre o rotor de rotarod nas frequências pré-determinadas para cada grupo. A variação utilizada para o grupo de prática aleatória foi realizada no parâmetro frequência de rotação. O número de quedas foi considerado o número de erros e juntamente com o tempo sobre o rotor até a primeira queda foi utilizado para avaliar o desempenho do animal. Com o objetivo de habituar o animal ao aparato, foi realizado uma tentativa de 1 minuto antes do primeiro teste de aquisição de cada animal na frequência de rotação de 10 rpm sem contagem de quedas (SHIOTSUKIA *et al.*, 2010). O experimento foi realizado sempre às 8 horas da manhã. A tarefa motora foi baseada no estudo de Apolinário-Souza *et al.* (2019) quando cada animal teve 6 tentativas nas fases de aquisição e 1 tentativa nos testes de aprendizagem. O tempo de cada tentativa era verificado após o final de cada tentativa e registado em uma planilha de excel.

5.6. Privação de sono

O sono é um estado cerebral em que ocorre a reorganização neuronal em que participa todas as regiões cerebrais, incluindo neocórtex, hipocampo, tálamo, hipotálamo e tronco encefálico (BRODT *et al.*, 2023). A privação do sono consiste na interrupção da tentativa de dormir, mantendo uma vigília forçada.

Após o teste de transferência 3, os animais foram levados para a sala de experimento, dentro de suas caixas com maravalha, água e ração. Foram mantidos em privação de sono por 4 horas consecutivas, das 08 horas às 12 horas tendo sua tentativa de dormir perturbada por pequenas batidas na caixa e/ou manuseio gentil do animal. Esse procedimento é eficaz para

manter o animal acordado por várias horas seguidas sem ser um grande fator de estresse (HAGEWOUD *et al.*, 2010). O animal não poderia permanecer mais de 40 segundos imóvel. Aproximadamente a cada hora de privação de sono era oferecido água e comida ao animal. Todo o procedimento de privação de sono foi filmado e gravado e as imagens guardadas em disco rígido externo.

5.7. Análise dos dados

A variável independente desse estudo é a organização da prática e os dados foram analisados em média da variável dependente: número de quedas do rotor que reflete característica do desempenho. A análise descritiva foi realizada utilizando a média e desvio padrão do número de quedas. A análise de normalidade dos dados foi realizada por meio do teste Kolmogorov-Smirnov. Foi utilizado uma ANOVA *two-way* com medidas repetidas no segundo fator para todas as etapas do experimento: a fase de aquisição (2 grupos x 12 tentativas), nos testes de aprendizagem (2 grupos x 5 testes), para análise da privação de sono foi realizado um teste t de *student* pareado para cada análise pré (T3) e pós (RT3) privação de sono, intra grupo, quando o animal foi comparado com ele mesmo e uma ANOVA *two-way* com medidas repetidas (2 grupos x 2 condições). As análises *post-hoc* foram realizadas com o teste Tukey. O tamanho do efeito foi calculado usando o eta parcial (η^2) para a ANOVA e d de Cohen (d) para os testes t. O nível de significância adotado foi de $p \leq 0,05$.

Foram realizadas também duas análises complementares para definição do paradigma experimental: as mudanças *online* e *offline*. As mudanças *online* foram calculadas através da subtração do número de quedas da última e da primeira tentativa de cada dia (*online* 1: 6º tentativa – 1º tentativa da fase de aquisição 1 e *online* 2: 6º tentativa – 1º tentativa da fase de aquisição 2). As mudanças *offline* foram calculadas através da subtração do número de quedas da primeira tentativa do dia e a última tentativa do dia anterior. As mudanças *offline* aquisição foram calculados pela subtração da sétima tentativa pela sexta tentativa (7º tentativa – a 6º tentativa), *offline* retenção, subtração do teste de retenção pela 12º tentativa (R-12º tentativa), *offline* transferência 1, pela subtração dos valores do teste de transferência 1 pela 12º tentativa (T1-12), *offline* transferência 2 pela subtração dos valores da transferência 2 pela 12º tentativa (T2-12), *offline* transferência 3 pela subtração dos valores da transferência 3 pela 12º tentativa (T3-12). Foi realizado uma ANOVA *two-way* com medidas repetidas para análise estatística das mudanças *online* e *offline* (grupos x testes). Além disso, outra variável analisada foi a

latência na primeira queda que refletiu o quanto o animal resistiu a uma nova perturbação. Para isso, foi registrado o tempo em que o animal permaneceu sobre o rotor até a primeira queda. Para análise estatística foi realizado uma ANOVA *two-way* com medidas repetidas nos testes de aprendizagem (grupos x testes)

6. RESULTADOS

6.1. Paradigma experimental

Esse trabalho tem como paradigma experimental verificar os efeitos de diferentes modelos de organização da prática (constante e aleatória) na aprendizagem motora em ratos, que deveria apresentar resultados semelhante a humanos e camundongos (Apolinário-Souza *et al.*, 2019; Lage *et al.*, 2015). A análise do desempenho pelo número de quedas está apresentada abaixo no gráfico 1. Foi realizado o teste de normalidade Kolmogorov-smirnov e os dados foram considerados normais. A ANOVA *two-way* com medidas repetidas no segundo fator na fase de aquisição (2 grupos x 7 fases) não encontrou diferenças entre grupos [$F(1,15) = 0.4862$; $p < 0.5034$, $\eta^2 = 0.03$]. Porém foi observado diferença significativa entre os testes de aprendizagem [$F(4,471, 67.07) = 10.90$; $p < 0.0001$; $\eta^2 = 0.50$]. Também não foi observado interação entre grupos e testes [$F(3,553, 53.30) = 1.031$; $p = 0.4359$; $\eta^2 = 0,06$] (Gráfico 1). Importante ressaltar o tamanho de efeito considerado moderado na análise entre os testes. O tamanho do efeito refere-se à magnitude do efeito da intervenção, ou seja, a magnitude da diferença entre as análises (BECK, 2013).

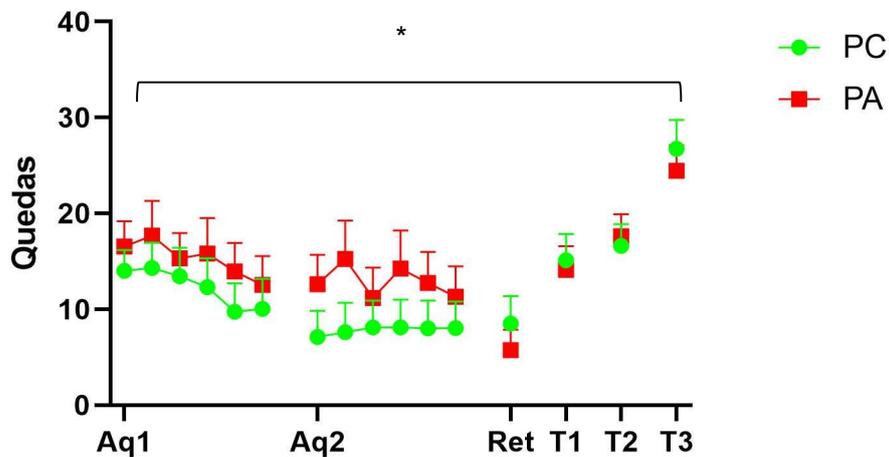


Gráfico 1. Análise descritiva apresentada em média e erro padrão – O eixo X apresenta as fases de aquisição (Aq1 e Aq2) e os testes de aprendizagem (R, T1, T2, T3) e o eixo Y reflete o número de quedas. A ANOVA revelou diferença significativa entre os testes de aprendizagem ($p < 0,0001$), porém não foi observado diferença significativa entre os grupos ($p < 0,5034$) e não houve interação entre grupos e testes ($p = 0,4359$). Descritivamente ambos os grupos diminuíram o número de quedas ao longo das fases de aquisição e o grupo de prática aleatória (PA) que obteve maior número de quedas em relação ao grupo de prática constante (PC) e esse comportamento mudou nos testes de aprendizagem, com exceção em T2.

Fonte: Da autora (2024).

O teste *post-hoc* Tukey indicou diferença, no grupo PC, entre a fase de aquisição 2 e o teste T1 ($p = 0,121$); aquisição 2 e T3 ($p = 0,0215$); R e T3 ($p = 0,0316$). No grupo PA, o *post-hoc* Tukey indicou diferença entre R e T1 ($p = 0,0027$); R e T2 ($p = 0,0181$); R e T3 ($p = 0,0013$).

A análise de mudanças *online* e *offline* foram realizados com o objetivo de verificar a magnitude da mudança ao decorrer do experimento. A análise de normalidade foi realizada com o uso do teste Kolmogorov-smirnov e os dados foram considerados normais. A ANOVA *two-way* com medidas repetidas não encontrou diferença significativa entre os grupos [$F(1,15)=2,740$; $p=0,1187$; $\eta^2=0,13$], por outro lado foi encontrado diferença entre os testes de aprendizagem [$F(5,75)=21,44$; $p < 0,0001$; $\eta^2=0,62$]. Também não foi verificado diferença na interação entre grupos e testes de aprendizagem [$F(5,75)=0,3879$; $p=0,8557$; $\eta^2=0,02$]. Importante destacar que o tamanho do efeito moderado entre os testes (Gráfico 2).

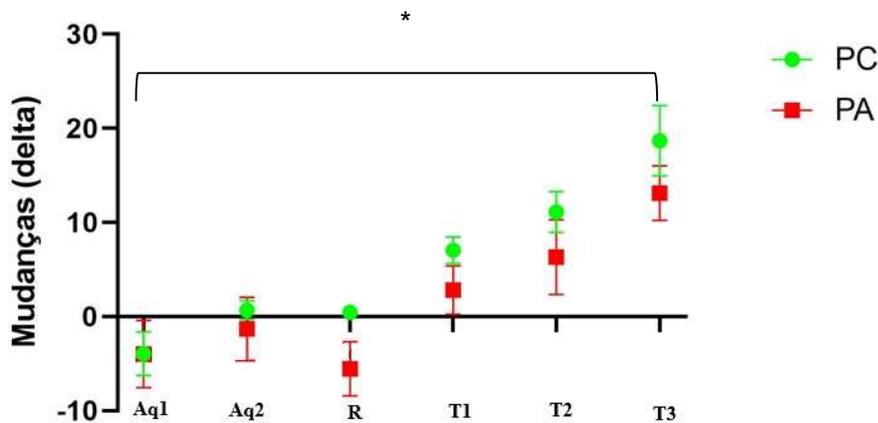


Gráfico 2. Resultados de desempenho – Mudanças *online* e *offline*. O eixo X apresenta as fases (Aq1 e Aq2) e os testes de aprendizagem (R, T1, T2, T3), o eixo Y reflete a mudança dentro das fases (*online*) e entre os testes de aprendizagem (*offline*). O gráfico 2 apresenta os dados em média e erro padrão. A Anova não revelou diferença significativa entre os grupos ($p = 0,1187$) porém foi observado diferença entre os testes de aprendizagem ($p < 0,0001$) com um tamanho de efeito moderado. Nas fases Aq1 e Aq2 referem-se às mudanças *online* e os demais testes referem-se às mudanças *offline*. Apesar de não ter sido encontrado diferença entre os grupos, podemos verificar, descritivamente que as diferenças entre eles aumentam com o decorrer dos testes de aprendizagem com o grupo PA apresentando melhor desempenho nas mudanças *offline*.
Fonte: Da autora (2024).

O teste *post-hoc* realizado na análise de mudança apontou diferenças significativas entre os testes, no grupo PC: aquisição 1 e T2 ($p=0,0119$); aquisição 1 e T3 ($p < 0,0001$); aquisição 2 e T3 ($p=0,0008$); R e T3 ($p=0,0006$). E no grupo PA: aquisição 1 e T3 ($p=0,0019$); aquisição 2 e T3 ($p=0,0199$); R e T3 ($p=0,0004$).

Por fim uma análise adicional, a latência na primeira queda, foi realizada com o objetivo de verificar a adaptação à novas perturbações. Quanto maior o tempo de permanência sobre o rotor em frequências de rotações diferentes, melhor seria o desempenho. A ANOVA *two-way* não revelou diferenças significativas entre os grupos [$F(1,22)=0,4402$; $p=0,5139$; $\eta^2=0,0196$] porém foi observado diferenças significativas entre os testes de aprendizagem [$F(4,88)=3,487$; $p=0,0108$; $\eta^2= 0,1368$] (Gráfico 3).

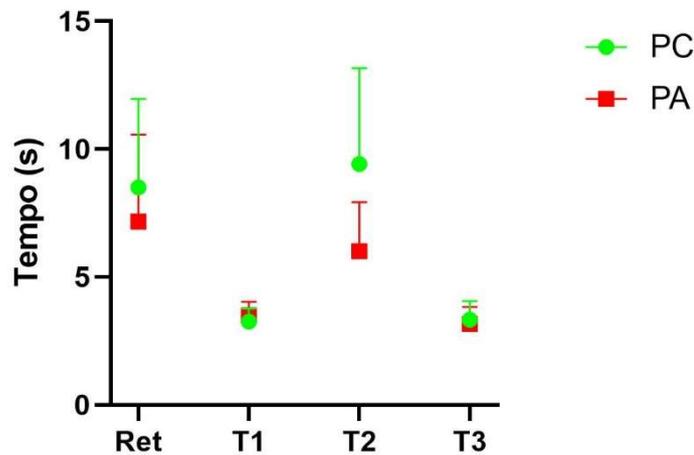


Gráfico 3 – Latência na aprendizagem. O eixo X apresenta os testes de aprendizagem e o eixo Y reflete o tempo, em segundos, que o animal permaneceu sobre o rotor até a primeira queda. Essa análise pode demonstrar a adaptação do animal à tarefa. O gráfico 3 apresenta valores em média e erro padrão. A ANOVA two-way não revelou diferença significativa entre os grupos ($p=0,5139$) porém foi revelado diferença significativa entre os testes de aprendizagem ($p=0,0108$).

Fonte: Da autora (2024).

6.2. Análise da privação do sono

Para avaliar o impacto da privação do sono na recuperação de memórias consolidadas nas distintas formas de organizar a prática foi realizado a privação das 4 primeiras horas de sono dos animais após o teste T3. Para a análise dos dados foi realizado um teste t de *student* pareado intra grupo, quando o animal era comparado com ele mesmo antes e depois da privação de sono e uma ANOVA *two-way* com medidas repetidas entre os grupos (PC e PA) e as condições pré e pós privação de sono (T3e RT3). Na análise intra grupo PC, o teste Kolmogorov-smirnov apresentou normalidade dos dados e não revelou diferença significativa entre os momentos pré e pós privação de sono [$t(df=15) = 0,3174$; $p=0,7553$; $d=0,05$] (gráfico 4).

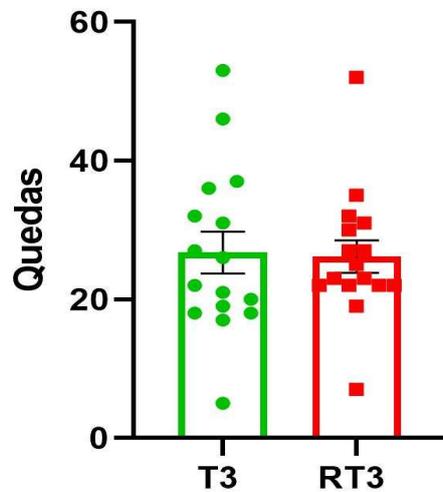


Gráfico 4 – Análise da privação de sono entra grupo PC. Resultados apresentados em média e erro padrão. O teste t pareado, quando os animais foram pareados com eles mesmos, não demonstrou diferença significativa entre os momentos pré e pós privação de sono no grupo PC ($p=0,7553$). A privação de sono não afetou negativamente a recuperação da memória motora consolidada após 20 dias de consolidação no grupo de PC. Fonte: Da autora (2024).

Na análise do grupo PA, o teste Kolmogorov-smirnov apresentou normalidade nos dados e o teste t de *student* não apresentou diferença significativa entre os momentos pré e pós privação de sono [$t(df=15) = 0,3220$; $p=0,7519$; $d= -0,12$] (gráfico 5).

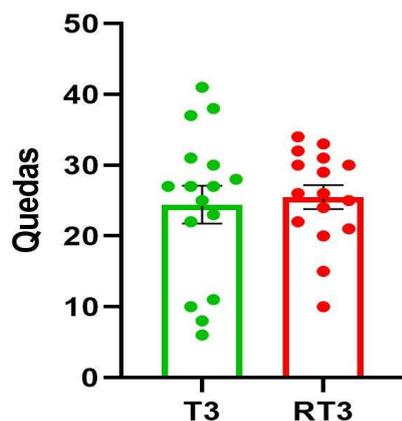


Gráfico 5 – Análise da privação de sono entra grupo PA. Resultados apresentados em média e erro padrão. O teste t pareado, quando os animais foram pareados com eles mesmos, não demonstrou diferença significativa entre os momentos pré e pós privação de sono no grupo PA ($p=0,7519$). A privação de sono não afetou negativamente a recuperação da memória motora consolidada após 20 dias de consolidação no grupo de PA. Fonte: Da autora (2024).

Na análise dos dois grupos (PC e PA) e das duas condições (pré e pós) privação de sono, os dados apresentaram normalidade segundo o teste Kolmogorov-smirnov porém, a

ANOVA *two-way* com medidas repetidas não demonstrou diferença significativa entre os grupos [$F(1,1)=3,408$; $p=0,3160$; $\eta^2=0,0114$] porém foi observado diferença entre os indivíduos [$F(15,15)=2,470$; $p=0,0451$; $\eta^2=0,7118$]. Também foi observado diferença significativa na interação entre indivíduos e testes [$F(15,15) = 2,539$; $p=0,0405$; $\eta^2=0,7174$]. Destaca-se o tamanho do efeito moderado entre os testes e na interação indivíduo-teste (Gráfico 6).

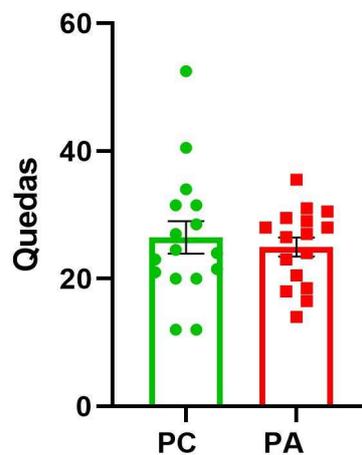


Gráfico 6 – Análise da privação de sono entre grupos. Dados apresentados em média e erro padrão. A ANOVA *two-way* com medidas repetidas realizada ente grupos (PC e PA) e condições (T3 – pré e RT3 – pós) apesentou diferença entre os indivíduos ($p=0,0451$) e na interação indivíduo-condição ($p=0,0405$), porém não revelou diferença significativa entre os grupos e condições ($p=0,3160$) demonstrando que a privação de sono, após 20 dias de consolidação, não afetou a recuperação da memória motora.

Fonte: Da autora (2024).

7. DISCUSSÃO

De forma geral, o resultado desse estudo não encontrou diferença significativa entre a prática constante e a prática aleatória na fase de aquisição, e também não foi observado o melhor desempenho esperado da prática aleatória nos testes de aprendizagem. Entretanto, o desempenho semelhante entre a prática constante e a prática aleatória, especificamente no teste de retenção foi considerado positivo para o grupo de prática aleatória que praticou apenas 1/3 das tentativas, na fase de aquisição, na frequência de rotação aplicada nesse teste. Além disso, os resultados sugerem que a recuperação da memória motora, bem consolidada, depois de pelo menos 16 dias de ciclo de sono normal, não é prejudicada por 3 dias de privação de sono parcial.

Não ter encontrado diferenças na fase de aquisição indica que a prática aleatória não impôs mais dificuldade de execução e controle para os animais do grupo de prática aleatória. Essa dificuldade superior da prática aleatória na fase de aquisição é condição descrita na literatura, porém muitas vezes está latente na fase de aquisição não mostrando explicitamente essa dificuldade no controle motor (LAGE *et al.*, 2015; APOLINARIO-SOUZA *et al.*, 2019). Apesar da hipótese 2 deste estudo esperar uma diferença entre o grupo de PC e PA, o resultado encontrado na retenção não causa surpresa, pois em estudos que comparam os efeitos da prática constante e prática aleatória é comum não encontrar diferenças entre grupos (LIN *et al.*, 2009; LAGE *et al.*, 2011, LAGE *et al.*, 2024). Neste teste de aprendizagem (R), a diferença encontrada entre o grupo de prática aleatória e o grupo de prática constante deve ser interpretado como um resultado positivo em termos de aprendizagem para esse grupo (LAGE *et al.*, 2024). A relação de especificidade deste teste com a aquisição vivenciada pelo grupo constante é muito forte. O grupo de prática constante praticou 100% das tentativas na rotação demandada no teste de retenção, enquanto o grupo de prática aleatória experimentou a rotação demandada somente em 33% das tentativas. Nessa lógica o desempenho similar apresentado pela prática aleatória parece ser positivo, pois a aprendizagem de um parâmetro com menos quantidade de prática específica foi igualmente eficaz (LAGE *et al.*, 2024).

Esse tipo de análise é corroborado por dois outros resultados. O primeiro é a mudança *offline* apresentado pelos grupos entre o final da aquisição e o teste de retenção. A análise descritiva mostra que a diferença significativa encontrada na mudança *offline* foi a favor da melhoria do grupo de prática aleatória quando se compara o desempenho do fim da aquisição

para o teste de retenção. Esse achado sugere que os processos de consolidação e recuperação de uma memória motora 24 horas após a aquisição foram mais ativos na prática aleatória do que na prática constante.

O segundo resultado que fortalece a ideia de que o desempenho apresentado pelo grupo de prática aleatória apresentou melhor resultado no teste de retenção é a diferença encontrada entre os testes na medida de tempo de latência para a primeira queda entre os testes. A análise descritiva indica que a prática constante e a prática aleatória possuem a manutenção no rotarod por tempo similar, com exceção do teste T2, lembrando que a quantidade de prática nessa rotação demandada durante a fase de aquisição foi de somente 33% para o grupo de prática aleatória. Em suma, apesar de não ter sido encontrada diferença no desempenho entre grupos no teste de retenção, análises complementares indicam um processo mais efetivo na prática aleatória do que na prática constante da aquisição para o teste de retenção.

Em relação ao desempenho na análise da latência na primeira queda dos grupos nos testes de transferência, também não foi encontrada superioridade da prática aleatória no desempenho analisado. Esses resultados não eram esperados. Devido à variabilidade vivida pelo grupo de prática aleatória na fase de aquisição, esperava-se um melhor desempenho por parte desse grupo nos testes de transferência. O paradigma da variabilidade da prática se refere à variedade de movimento e das características do contexto que o aprendiz vivência durante a prática de uma habilidade formando um esquema de memória. O esquema de controle e aprendizagem de habilidades motoras formam o programa motor generalizado (PMG) que define um padrão de movimento e a flexibilidade nesse programa produz variações no padrão (LAGE *et al.*, 2011). A literatura aponta que a prática aleatória possui melhor desempenho comparado à prática constante na aprendizagem devido ao maior esforço cognitivo demandado pela apresentação não consecutiva das habilidades (LAGE *et al.*, 2015). Uma possível explicação para os resultados encontrados neste estudo ser diferentes da literatura (APOLINÁRIO-SOUZA *et al.*, 2019) é a diferença de exigência do teste de aprendizagem, uma vez que essa tarefa foi realizada anteriormente com camundongos. Na análise descritiva dos testes de aprendizagem o grupo de prática aleatória teve número de erros menor do que o grupo de prática constante, porém não foi encontrado diferença significativa entre os grupos. A cada teste de transferência, a frequência de rotação foi acrescida de 2rpm se tornando mais desafiadora a tarefa com exceção do teste de retenção da transferência 3 em que os animais praticaram a mesma frequência de rotação do teste de

transferência 3. É importante observar que quando a frequência de rotação se manteve a mesma, não houve aumento no número de quedas em nenhum dos dois grupos.

A análise descritiva indicou que o número de quedas nos testes de aprendizagem foi menos impactado na prática aleatória. Na análise entre os grupos o tamanho de efeito foi pequeno, indicando baixo impacto do tipo de organização da prática no desfecho dessa variável dependente. Essas análises reforçam a hipótese de que a medida que o tempo passou e a rotação aumentou o efeito da organização da prática se dissipou, podendo ser uma interação entre a alta exigência do teste e características de esquecimento da espécie, tendo em vista que o mesmo não ocorreu no estudo de Apolinário-Souza *et al.* (2019). Essas análises também mostram o impacto do tipo de organização da prática em diferentes demandas de adaptabilidade. As análises descritivas dos testes de aprendizagem indicam que a prática aleatória sofreu menor impacto na variável quedas. Na análise da mudança do número de quedas a prática aleatória também apresentou melhor resultado comparado ao grupo de prática constante já na análise da latência na primeira queda o grupo de prática constante apresentou melhor resultado nos testes de retenção e T2, nos demais testes os grupos foram similares.

Na análise descritiva do efeito da privação de sono na recuperação da memória motora não foi observado diferença entre os grupos PC e PA pós privação de sono (RT3) entretanto RT3 teve menos erros comparado ao teste anterior, pré privação de sono (T3) mostrando que a retenção entre esses testes foi positiva e a ausência dos impactos negativos da privação de sono nesse teste de aprendizagem. Importante lembrar que a frequência de rotação de RT3 foi a mesma de T3. A ANOVA *two-way* não identificou diferença entre os grupos, porém identificou uma diferença significativa entre os indivíduos. Também é preciso observar o tamanho de efeito moderado entre os testes e moderado na interação indivíduos x testes de aprendizagem. Este resultado confirma nossa hipótese de que a privação de sono não afetaria a recuperação da memória motora consolidada. A privação de sono crônica pode ter um efeito negativo na aprendizagem e na memória afetando inclusive, a capacidade de tomada de decisão, atenção, memória de trabalho, memórias episódicas emocionais e memória de curto prazo (NEWBURY *et al.*, 2021) contudo, após a consolidação completa perturbações como TMS não prejudicou a recuperação da memória motora (KANTAK *et al.*, 2010).

Na análise descritiva da mudança *offline* entre as condições pré (T3) e pós (RT3) privação de sono, PA apresentou uma mudança semelhante ao grupo PC demonstrando que

a privação de sono não impactou nenhum dos dois grupos. A ANOVA *two-way* não apresentou diferença significativa entre os grupos, mas foi observado diferença significativa entre os testes de aprendizagem. Este resultado corrobora a análise comportamental quando não observamos impacto da privação de sono na recuperação da memória em vez disso, o teste pós privação de sono apresenta um ganho maior em comparação com o teste pré privação de sono. Esse resultado sugere que mesmo após a privação de sono, sendo mantido o contexto, há efeito de aprendizagem.

Por fim, na análise descritiva da latência na primeira queda não foi possível identificar diferença entre os grupos PC e PA, porém quando se compara, descritivamente, as condições pré e pós privação de sono, a condição pós privação de sono apresenta um melhor resultado. A latência na primeira queda tem o objetivo de analisar a adaptação a perturbações e quanto maior o tempo sobre o rotor do rotarod melhor seria a adaptação do animal. A ANOVA não apresentou diferença significativa entre os grupos, mas foi observado diferença significativa entre os testes. Estes resultados estão em concordância com os demais resultados e também difere do esperado. Sendo a prática constante o modelo de prática de menor exigência cognitiva e de atenção, tendo como característica a repetição (LAGE *et al.*, 2015; APOLINARIO-SOUZA *et al.*, 2019) durante a fase de aquisição e levando a uma menor flexibilidade nos testes de aprendizagem esperávamos que o grupo PC sofresse mais os efeitos deletérios da privação de sono, porém o resultado deste estudo apresenta similaridade entre os grupos. Uma observação interessante é que, na análise descritiva, a privação de sono afetou de forma semelhante os dois grupos com relação à latência na primeira queda, ou seja, ambos os grupos permaneceram menos tempo sobre o rotor pós privação de sono comparado com o pré privação de sono.

Em suma, a hipótese 1 deste estudo foi que a prática constante levaria ao melhor desempenho na fase de aquisição, o que não foi comprovado nas análises inferenciais e este resultado é diferente dos resultados encontrado na literatura referenciada neste estudo (LAGE *et al.*, 2015; APOLINARIO-SOUZA *et al.*, 2019; LAGE *et al.*, 2024). Já a hipótese 2 foi que a prática aleatória levaria ao melhor desempenho nos testes de aprendizagem e os resultados deste estudo mostraram um comportamento diferente. Não foi observado diferença entre os grupos nos testes de aprendizagem. O resultado do teste de retenção demonstra o melhor desempenho da prática aleatória, porém os resultados dos testes de aprendizagem não demonstraram diferença entre os grupos, diferente do esperado. Por fim,

para a hipótese 3 a análise dos dados sugere que a privação de metade do ciclo de sono não gerou impacto negativo em nenhum dos grupos.

Para a realização deste estudo foi necessário realizar a adaptação da tarefa motora para ratos além de alguns protocolos como o de manuseio de animais e o de privação de sono utilizando o manuseio gentil destes animais. Estes protocolos tiveram o objetivo de adaptar os animais ao local do experimento, aos experimentadores, ao aparato e reduzir o estresse dos animais. Também foram mantidos os mesmos experimentadores durante as fases do experimento. A tarefa motora e a privação de sono foram realizadas na parte da manhã quando os animais estariam entrando no ciclo de sono. Sugerimos para próximos experimentos a redução do intervalo de tempo entre os testes e verificar outros momentos para a privação de sono.

8. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados nesse estudo não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre a prática constante e a prática aleatória na fase de aquisição, contudo a mudança da curva de aprendizado no teste de retenção também pode ser observada em ratos. Uma possível explicação para os resultados encontrados pode estar relacionada à diferença de exigência da tarefa entre espécies utilizada na literatura referencial da tarefa motora e a deste estudo (camundongos e ratos) e o tempo decorrido entre os testes. Já para o resultado da privação de sono não ter encontrado efeito negativo no teste pós privação de sono, uma possível explicação seria o tempo decorrido entre a fase de aquisição e a privação de sono. Analisando todos os achados deste estudo é possível sugerir que a prática constante não apresentou o melhor resultado esperado na fase de aquisição em ratos, a prática aleatória apresentou resultado semelhante ao da prática constante, o que pode ser considerado melhor desempenho da prática aleatória no teste de retenção, mas não nos testes de aprendizagem. Na privação de sono, da primeira metade do sono, após consolidação da memória motora não apresentou danos à recuperação desta memória motora.

REFERÊNCIAS

ABEL, T.; LATTAL, K. M. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. **Current opinion of neurobiology**, Filadelfia, v. 11, p. 180-187, 2001.

APOLINÁRIO-SOUZA, T. *et al.* Molecular mechanisms associated with the benefits of variable practice in motor learning. **Journal motor behavior**, Belo Horizonte, p. 1-12, jul. 2019.

BECK, T. W. The importance of a priori sample size estimation in strength and conditioning research. **Journal of strength and conditioning research**, Oklahoma, v. 27, n. 8, p. 2323-2337, ago. 2013.

BICALHO, L. E. A. *et al.* Oculomotor behavior and the level of repetition in motor practice: Effects of pupil dilation, eyeblinks and visual scanning. **Human movement science**, Belo Horizonte, v. 64, p. 142-152, jan. 2019.

BRODT, *et al.* Sleep - A brain-state serving systems memory consolidation. **Neuron Review**, Germany, v. 111, p. 1050-1075, 2023.

CHEE, M. W. L.; CHUAH, L. Y. M. Functional neuroimaging insights into how sleep and sleep deprivation affect memory and cognition. **Current opinion in neurology**, Singapore, v. 21, p. 417-423, 2008.

COUSINS, J. N.; FERNANDEZ, G. The impact of sleep deprivation on declarative memory. **Progress in brain research**, Singapura, v. 246, p. 27-53, 2019.

DIEKELMANN, S.; BORN, J. The memory function of sleep. **Nature reviews**, Lubeck, v. 11, p. 114-126, fev. 2010.

DOYON, J.; PENHUNE, V.; UNGERLEIDER, L. G. Distinct contribution of the cortico-striatal and cortico-cerebellar systems to motor skill learning. **Neuropsychologia**, Canada, v. 41, p. 252-262, 2003.

FELD, G. B. *et al.* Sleep-dependent declarative memory consolidation – Unaffected after blocking NMDA or AMPA receptors but enhanced by NMDA coagonist d-cycloserine. **Neuropsychopharmacology**, Alemanha, v. 38, p. 2688-2697, ago. 2013.

GENZEL, L. *et al.* The role of rapid eye movement sleep for amygdala-related memory processing. **Neurobiology of learning and memory**, Munich, p. 1-12, fev. 2015.

GIUDITTA, A. Sleep memory processing: the sequential hypothesis. **Frontiers in systems neuroscience**, Nápoles, v. 8, n. 219, p. 1-8, dez. 2014.

HAGEWOU, R. *et al.* Sleep deprivation impairs spatial working memory and reduces hippocampal AMPA receptor phosphorylation. **Journal of Sleep Research**, Netherlands, v. 19, p. 280-288, ago. 2009.

KANTAK, S. S. *et al.* Neural substrates of motor memory consolidation depend on practice structure. **Nature neuroscience**, v. 13, n. 8, p. 923-925, ago. 2010.

KIM, T.; Wright, D. L. Exposure to sleep, rest, or exercise impacts memory consolidation but so too can a challenging practice schedule. **Eneuro**, Texas, v. 8, n. 5, p. 1-5, set./out. 2021.

KLINZIG, J. G.; NIETHARD, N.; BORN, J. Mechanisms of systems memory consolidation during sleep. **Nature neuroscience**, Tubingen, v. 22, p. 1598-1610, out. 2019.

LAGE, G. M. *et al.* Motor learning and the interactions between working memory and practice schedule. **Journal of motor behavior**, Brazil, v. 20, p. 1-11, 2024.

LAGE, G. M. *et al.* O efeito da interferência contextual na aprendizagem motora: contribuições científicas, após três décadas da publicação do primeiro artigo. **Revista brasileira de ciência e movimento**, Belo Horizonte, v. 19, n. 2, p. 107-119, nov. 2011.

LAGE, G. M. *et al.* Repetition and variation in motor practice: A review of neural correlates. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, Belo Horizonte, v. 57, p. 132-141, ago. 2015.

LAGE, G. M. *et al.* The effect of constant practice in transfer tests. **Motriz**, Rio Claro, v. 23, n. 1, p. 22-32, jan/mar.2017.

LEE, T. D.; MAGILL, R. A. **Can forgetting facilitate skill acquisition? In: Differing perspectives in motor learning, memory and control.** North-Holland: Elsevier science, 1985. 339 p.

LELIS-TORRES, N. *et al.* Task engagement and mental workload involved in variation and repetition of a motor skill. **Scientific Reports**, Belo Horizonte, v. 7, n. 14764, p. 1-10, nov. 2017.

LIN, C. H. J. *et al.* Neural correlate of the contextual interference effect in motor learning: a kinematic analysis. **Journal of motor behavior**, California, v. 41, n. 3, p. 232-242, mai. 2009.

MACDONALD, K. J.; COTE, K. A. Contributions of post-learning REM and NREM sleep to memory retrieval. **Sleep medicine review**, Canadá, v. 59, p. 1-13, jan. 2021.

MACHADO, A. B. M.; HAERTEL, L. M. **Neuroanatomia funcional**, 3. ed. Belo Horizonte: Atheneu, 2014, 344 p.

MAGILL, R. A. **Aprendizagem motora: conceitos e aplicações.** Tradução: Dra. Aracy Mendes da Costa. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2000, 379 p.

MUELLBACKER *et al.* Early consolidation in human. **Nature**, Austria, v. 415, p. 641-647, fev. 2002.

NELSON, A. B. *et al.* Neural fatigue due to intensive learning is reversed by a nap but not by quiet waking. **Sleep research society**, Nova York, v. 44, n. 1, p. 1-14, 2021.

NEWBURY, C. R. *et al.* Sleep deprivation and memory: Meta-analytic reviews of studies on sleep deprivation before and after learning. **American Psychological association**, Londres, v. 147, n. 11, p. 1215-1240, 2021.

RIEDEL, G. *et al.* Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. **Nature America**, Edimburgo, v. 2, n. 10, p. 898-905, out. 1999.

RUBIN, D. B. *et al.* Learned motor patterns are replayed in human motor cortex during sleep. **The journal of neuroscience**, Boston, v. 42, n. 25, p. 5007-5020, jun. 2022.

SHIOTSUKIA, H. *et al.* A rotarod test for evaluation of motor skill learning. **Journal of neuroscience methods**, Saitama, v. 189, p. 180-185, mar. 2010.

SONG, J. H. The role of attention in motor control and learning. **Current opinion in psychology**, Estados Unidos, v. 29, p. 261-265, 2019.

SZAPIO, G. *et al.* Molecular mechanism of memory retrieval. **Neurochemical research**, Buenos Aires, v. 27, n. 11, p. 1491-1498, nov. 2002.

TAJABADI, A. *et al.* Repeated gentle handling or maternal deprivation during the neonatal stage increases adult male rats' baseline orofacial pain responsiveness. **Archives of Oral Biology**, Kerman, v. 151, p. 1-7, abr. 2023.

TANI, G. **Comportamento motor: Conceitos, estudos e aplicações**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016, 292 p.

TOTONI, G.; CIRELLI, C. Sleep and the price of plasticity: From synaptic and cellular homeostasis to memory consolidation and integration. **National institutes of health**, Madison, v. 81, n. 1, p. 12-34, jan. 2014.

VARGA, A. W. *et al.* Effects of acute sleep deprivation on motor and reversal learning in mice. **Neurobiology of learning and memory**, Nova York, v. 114, p. 217-222, jul. 2014.

WENDEROTH, N. Motor Learning Triggers Neuroplastic Processes While Awake and During Sleep. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, Zuric, v. 46, n. 3, p. 152-159, jul. 2018.

YARROUSH, R.; SULLIVAN, M. J.; EKSTRAND, B. R. Effect of sleep on memory. II: Differential effect of the first and second half of night. **Journal of experimental psychology**, Colorado, v. 88, n. 3, p. 361-366, 1971.

APÊNDICE 1 – Piloto 1

No presente estudo havia um desafio de aplicar um protocolo comportamental que se aproxima do comportamento em humanos, ou seja, superioridade da prática menos repetitiva, já validado no estudo de Souza, 2018 com camundongo, usando ratos e com a variável da privação de sono. Foi realizada pesquisas na plataforma Pubmed com os termos Motor *learning*, Rotarod e *Sleep deprivation*. Os termos foram combinados e separados com “and”.

Foi realizado o primeiro piloto com o objetivo de testar os procedimentos, materiais e métodos propostos, possibilitando alterações nos instrumentos e procedimentos na fase que antecede a realização dos estudos. Nesse piloto também foi testado o protocolo de privação de sono (horários, método e número de horas).

1. MÉTODO

1.1. Amostra

Foram utilizados 16 ratos wistar machos com peso entre 200g e 350g fornecidos pelo biotério (CEBIO) situado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os animais serão divididos em caixas plásticas com no máximo 4 e no mínimo 2 animais por caixa, dentro de uma estante ventilada com temperatura ambiente $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade 40-70%, em um ciclo claro-escuro de 12/12 horas e livre acesso à água e ração. Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos de 4: grupo de prática constante sem privação de sono, grupo de prática aleatória sem privação de sono, grupo de prática constante com privação de sono e grupo de prática aleatória com privação de sono. Sendo os grupos sem privação de sono grupos espelhos, ou *yoked*, dos respectivos grupos em privação de sono (Figura 6). Todos os procedimentos respeitaram as normas do Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA / UFMG) cuja aprovação sobre o protocolo n°. 209/2023 (ANEXO 1).

1.2. Tarefa

Para avaliar a aprendizagem motora foi utilizado a mesma tarefa descrita acima e procedimentos similares, salvo pelo tamanho da amostra, o horário de privação de sono, da execução da tarefa e a não realização da habituação do animal à tarefa (1 minuto à uma

frequência de rotação de 10 rpm). A privação de sono foi realizada das 8 horas às 11 horas da manhã e as tarefas iniciadas às 11 horas.

1.3. Análise de dados

O procedimento de análise de dados desse piloto se deu conforme a análise de dados da dissertação no que diz respeito a análise comportamental. Foi realizado um teste *Shapiro-wilk* para cada grupo e para cada fase avaliar a normalidade dos dados. Nenhum grupo ou fase apresentou normalidade total. Foi realizado uma ANOVA *two-way* com medidas repetidas (4 grupos x 12 tentativas) para a fase de aquisição (aquisição 1 + aquisição 2) e uma ANOVA *one-way* para amostras independentes para as fases de aprendizagem. Também foram analisados a mudança *online* que se refere à diferença entre a última e a primeira tentativa de uma determinada fase (Exemplo, tentativa 6 – tentativa 1 na fase de aquisição 1) e a mudança *offline* que se refere à diferença entre a primeira tentativa – a última tentativa da fase anterior desde que haja pelo menos 24 horas após a fase anterior (Exemplo, tentativa 1 da fase de Transferência 1 – tentativa 6 da fase de aquisição 2). Outra análise usada foi a latência na primeira queda que se refere ao tempo que o animal permanece em cima do rotor até a primeira queda (quanto maior, melhor).

2. RESULTADOS

Os dados foram organizados em 12 tentativas na fase de aquisição e uma tentativa nas fases de aprendizagem (retenção e transferências). Os resultados foram analisados em termos de número de quedas e tempo médio de permanência na fase de aquisição e nos testes de retenção e transferências.

2.1. Número de quedas

Na fase de aquisição, a análise descritiva dos grupos indicou uma maior estabilização e melhor desempenho, caracterizado pela redução do número de quedas, a partir da 7^o tentativa, ou seja, no segundo dia da fase de aquisição (gráfico 1). O teste de normalidade *Shapiro-wilk* não apresentou normalidade em nenhum dos grupos. O teste ANOVA *two-way* não apresentou diferenças significativas entre os grupos (N=9, p=0.9825).

Na fase de retenção e transferências foi realizado o teste ANOVA *one-way* para cada fase e também não encontrou diferença significativa em nenhuma interação entre os grupos

[retenção (N=16, $p=0.4962$), transferência 1 (N=16, $p=0.5751$), transferência 2 (N=16, $p=0.4767$).

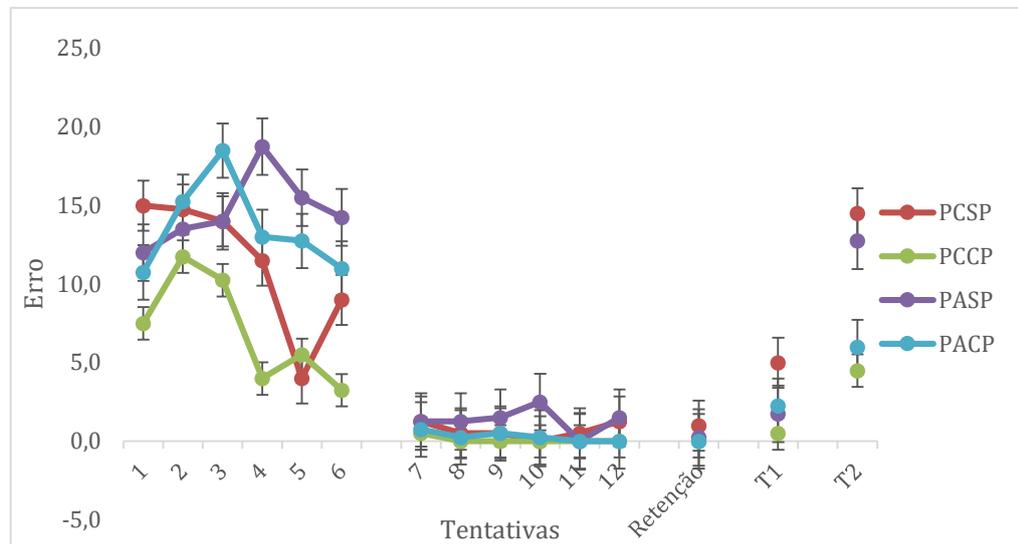


Gráfico 1 – Resultado comportamentais.
Fonte: elaborado pela autora.

2.2. Latência na primeira queda

Uma forma de avaliar a aprendizagem é analisando o desempenho do animal em se equilibrar sobre o rotor do rotarod. Para isso foi avaliado a latência na primeira queda que se refere ao tempo em que o animais permaneceu sobre o rotor até a sua primeira queda. Foi comparado o tempo gasto até a primeira queda no teste de transferência 1 com o tempo gasto até a primeira queda no teste de aquisição 2 (gráfico2).

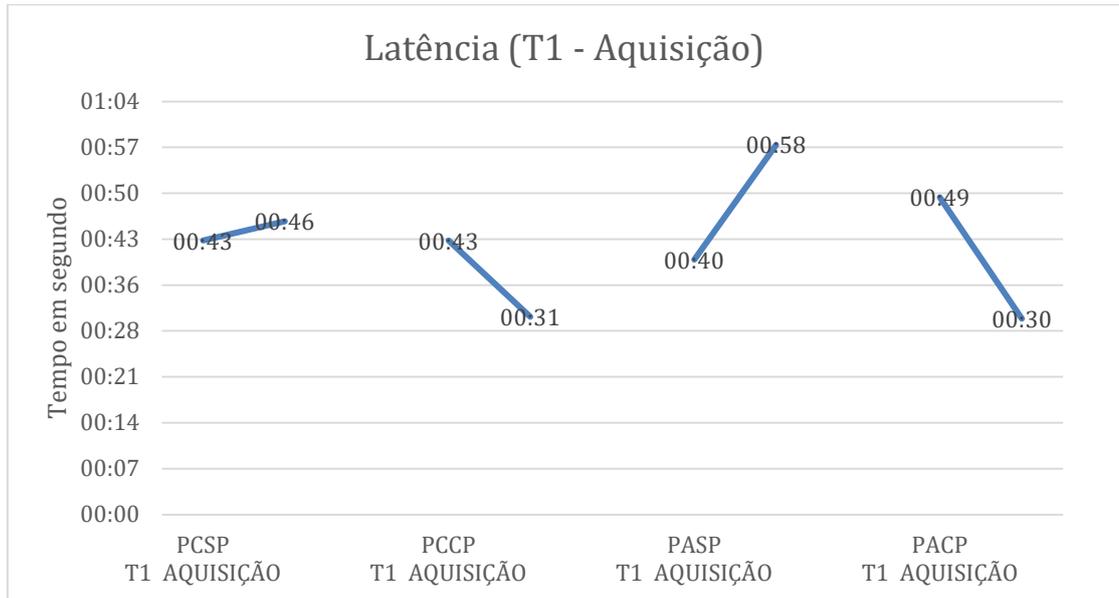


Gráfico 2 – Latência na 1ª queda.
Fonte: elaborado pela autora (2024).

A análise da latência na primeira queda nos mostrou que, do teste de transferência 1 comparado à fase de aquisição 2 houve melhora nos grupos PCSP e PASP, ou seja, os animais que não fizeram privação de sono apresentaram melhora no aprendizado em se equilibrar sobre o rotor.

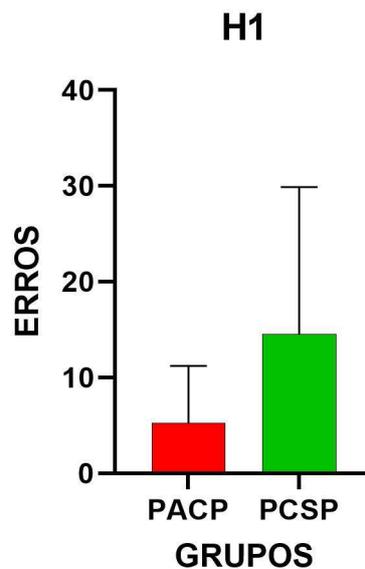


Gráfico 3 – H1.
Fonte: elaborado pela autora (2024).

O gráfico acima apresenta os resultados da análise da H1. Compara o número de erros do grupo de prática aleatória com privação de sono e do grupo de prática constante sem privação de sono. Os dados foram retirados do teste de aprendizagem T2.

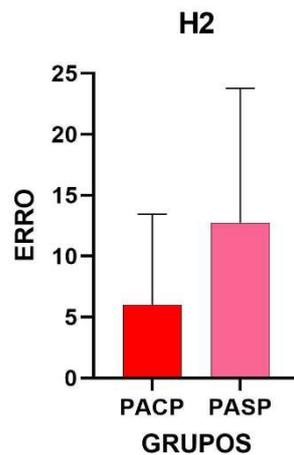


Gráfico 4 – H2.
Fonte: elaborado pela autora (2024).

O gráfico acima apresenta os resultados da análise a H2. Compara o número de erros do grupo de prática aleatória com privação de sono e do grupo de prática aleatória sem privação de sono. Os dados foram retirados do teste de aprendizagem T2.

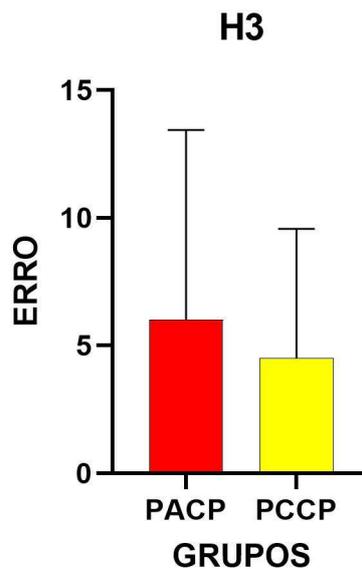


Gráfico 5 – H3.
Fonte: elaborado pela autora (2024).

O gráfico acima apresenta os resultados da análise a H3. Compara o número de erros do grupo de prática aleatória com privação de sono e do grupo de prática constante com privação de sono. Os dados foram retirados do teste de aprendizagem T2.

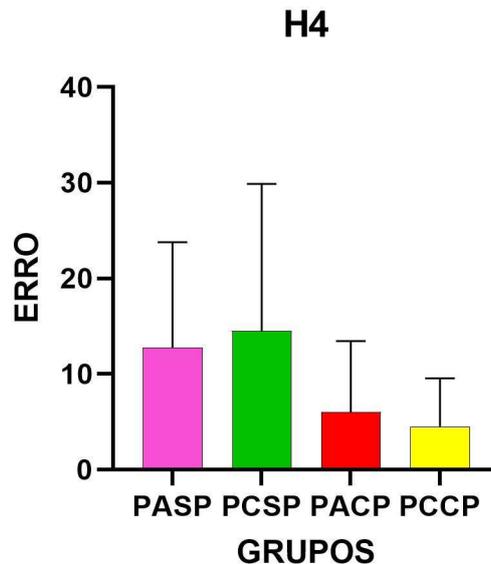


Gráfico 6 – H4.
Fonte: elaborado pela autora (2024).

O gráfico acima apresenta os resultados da análise da H4. Compara o número de erros de todos os grupos. Os dados foram retirados do teste de aprendizagem T2.

Esse piloto teve como objetivo testar as frequências, a quantidade de prática e sessões para ratos uma vez que esse protocolo havia sido testado com camundongos. Também teve o objetivo de validar o protocolo de privação de sono. Pode-se observar que os grupos sem privação de sono tiveram maior número de erros do que os grupos em privação de sono. Acredita-se que o horário em que os testes foram executados (às 11 horas da manhã) tenha influenciado nesse resultado uma vez que os animais sem privação de sono foram acordados no meio do seu período de descanso. A quantidade de prática e sessões foi considerado adequado. O protocolo de privação de sono através do manuseio gentil também foi considerado adequado.

As seguintes alterações foram sugeridas para o piloto 2.

- Alterar o momento da privação de sono.

APÊNDICE 2 – Tabela de aleatorização das tentativas do grupo de PA

Tabela 1. Sequência das tentativas do grupo PA

Animal	Frequência de rotação					
A	16rpm	24 rpm	32 rpm	24 rpm	16 rpm	32 rpm
B	24 rpm	32 rpm	16 rpm	32 rpm	24 rpm	16 rpm
C	32 rpm	16 rpm	24 rpm	16 rpm	32 rpm	24 rpm

Fonte: elaborado pela autora (2024)

A tabela 1 apresenta como foi aleatorizado as frequências de rotação para o grupo PA. As letras A, B e C representam as 3 sequências obtidas com as 3 frequências de rotação usadas. As regras para sequenciamento foram as seguintes: não poderia ter a mesma rotação 2x seguidas, a sequência B não poderia ser igual à A ou C. As letras A, B, C também foram utilizadas para os animais, exemplo: caixa1, animal1, sequência A. Caixa 1, animal2, sequência B. Caixa 1, animal3, sequência C. Caixa 1, animal4, sequência A. Caixa 2, animal1, sequência B etc.

ANEXO 1 – Aprovação do comitê de ética de uso animal - CEUA**CEUA**
COMISSÃO DE ÉTICA NO
USO DE ANIMAIS

Prezado(a):

Esta é uma mensagem automática do sistema Solicite CEUA que indica mudança na situação de uma solicitação.

Protocolo CEUA: 209/2023

Título do projeto: Relação entre organização da prática e privação do sono na aprendizagem motora

Finalidade: Pesquisa

Pesquisador responsável: Cleiton Lopes Aguiar

Unidade: Instituto de Ciências Biológicas

Departamento: Departamento de Fisiologia e Biofísica

Situação atual: **Decisão Final - Aprovado**

Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 23/10/2023. Validade: 23/10/2023 à 22/10/2028.

Belo Horizonte, 23/10/2023.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG

https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus
Pampulha