



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCAR  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E CIÊNCIAS HUMANAS – CECH  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA – PPGPSI**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO  
COMPORTAMENTO DE CAMUNDONGOS EXPOSTOS A UM MODELO DE  
TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO**

Marília Bazan Blanco

**São Carlos – SP**

**2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS – UFSCAR**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO E CIÊNCIAS HUMANAS – CECH**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA - PPGPSI**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NO  
COMPORTAMENTO DE CAMUNDONGOS EXPOSTOS A UM MODELO DE  
TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO**

Marília Bazan Blanco

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Psicologia da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Psicologia.

Linha de pesquisa: Análise Comportamental da Cognição

Orientadora: Dra. Azair Liane Matos do Canto de Souza

**São Carlos – SP**

**2015**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

B641ae Blanco, Marília Bazan.  
Avaliação dos efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento de camundongos expostos a um modelo de transtorno de estresse pós-traumático / Marília Bazan Blanco. -- São Carlos : UFSCar, 2015.  
112 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2015.

1. Memória. 2. Ansiedade. 3. Recordação (Psicologia). 4. Enriquecimento ambiental. I. Título.

CDD: 153.12 (20ª)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PSICOLOGIA

COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO

Marília Bazan Blanco

São Carlos, 27/03/2015

*Azair Liane Matos do Canto de Souza*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Azair Liane Matos do Canto de Souza (Orientadora e Presidente)  
Universidade Federal de São Carlos /UFSCar

*Silvio Morato de Carvalho*

Prof. Dr. Silvio Morato de Carvalho  
Universidade de São Paulo/ USP

*Raquel Vecchio Fornari*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raquel Vecchio Fornari  
Universidade Federal do ABC/ UFABC

*Camila Domeniconi*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Domeniconi  
Universidade Federal de São Carlos /UFSCar

*Amanda Ribeiro de Oliveira*

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Amanda Ribeiro de Oliveira  
Universidade Federal de São Carlos /UFSCar

Submetida à defesa em sessão pública  
realizada às 14:00h no dia 27/03/2015.

Comissão Julgadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Azair Liane Matos do Canto de Souza

Prof. Dr. Silvio Morato de Carvalho

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raquel Vecchio Fornari

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Camila Domeniconi

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Amanda Ribeiro de Oliveira

Homologada pela CPG-PPGpsi na

\_\_\_\_<sup>a</sup> Reunião no dia \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elizabeth Joan Barham  
Coordenadora do PPGpsi

**Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
(CAPES)**

***Dedico este trabalho a todos os sujeitos  
que, literalmente, deram a vida pela  
ciência.***

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup> Azair, e a todos os meus amigos e companheiros de LPA: Prof.<sup>a</sup> Amanda, a técnica Lara (para quem deixo de herança minhas caixas de enriquecimento ambiental), Rimenez (meu apoio técnico/científico e socorro nos momentos de sufoco), Lígia, Elke, Vinícius, Dani, Lucas, Carol, Isabela, Vítor, Caio e Kairo. Sentirei muita falta de nossas risadas, reclamações e “gordices”!

Aos meus familiares, pelo apoio incondicional em todos os momentos, especialmente a minha avó, pelas velas acesas para Nossa Senhora Aparecida e ao Vini (meu apoio técnico em Informática!) por consertar a formatação do trabalho todas as inúmeras vezes que eu a estraguei!

Aos meus amigos e companheiros de UENP, em especial a Roberta (rainha das normas da ABNT!) e João Coelho pela amizade, apoio e compreensão em meus momentos de ausência, mas principalmente, pelas lamentações compartilhadas!

Aos membros da minha banca de qualificação: Prof.<sup>a</sup> Raquel Fornari, Prof.<sup>a</sup> Camila Domeniconi e Rimenez Rodrigues de Souza pelas contribuições apresentadas e que foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

Aos professores do PPGPsi-UFSCar, que muito contribuíram para minha formação, e a secretária Marinéia, sempre atenciosa e pronta a ajudar na solução de meus questionamentos.

Aos meus professores da graduação e pós graduação em Psicologia da UEL, que foram fundamentais no desenvolvimento do meu amor pela Psicologia.

Aos passageiros da Viação Garcia, das linhas Londrina/Ribeirão Preto e Maringá/Franca, por me proporcionarem, desde 2010, viagens cheias de histórias para contar!

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para o término desta importante etapa da minha vida.

***“A ciência é mais do que um corpo de conhecimento, é um modo de pensar”***  
(Carl Sagan, 1996)

***“reducionismos são limitações”*** (Bueno, Lino de Oliveira. XXXVI Congresso Brasileiro de Neurociências e Comportamento, 2012)

***“...deve-se considerar o ser humano como um organismo biopsicossocial”***  
(Haydu & Rezende, 1995)

BLANCO, Marília Bazan (2015). Avaliação dos efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento de camundongos expostos a um modelo de Transtorno de Estresse Pós-traumático. Tese de doutorado. Programa de Pós Graduação em Psicologia. Universidade Federal de São Carlos- 112pp.

## Resumo

O Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT) pode aparecer após a vivência de uma situação estressora e se caracteriza por evitação de situações que lembrem o trauma e hiperexcitação persistente, podendo vir associado à ansiedade excessiva e dificuldades cognitivas. Embora seu tratamento seja geralmente farmacológico, intervenções não-farmacológicas têm-se mostrado eficazes. Enquanto estratégia não farmacológica, o enriquecimento ambiental resulta em diminuição da ansiedade e melhoria da memória em diversos experimentos com animais. Dessa forma, este estudo avaliou os efeitos do enriquecimento ambiental nos comportamentos relacionados à ansiedade e memória de camundongos submetidos a um modelo de TEPT, com diferentes reexposições à situação de lembrança (1 ou 10 minutos). Para tanto, camundongos machos, suíço-albinos, expostos ou não ao enriquecimento ambiental foram submetidos ao modelo de TEPT, realizado na caixa claro-escuro (CCE). Após o procedimento aversivo (choque *scrambled* de 0,5 mA, por 10 segundos, seguido por reexposições a situação de lembrança), os animais foram testados na CCE e numa Caixa Claro-Escuro Modificada (CCEm), no labirinto em cruz elevado (LCE) e no teste de reconhecimento de objetos (RO). Os resultados demonstraram que nos animais não enriquecidos, a estimulação aversiva aumentou os parâmetros relacionados à ansiedade e memória traumática na CCE, mas não na CCEm; a estimulação aversiva com situação de lembrança de um minuto aumentou esses parâmetros na CCE e na CCEm e no LCE, enquanto a estimulação aversiva com situação de lembrança de 10 minutos diminuiu os parâmetros de ansiedade e memória traumática na CCE, CCEm e LCE. O enriquecimento ambiental atenuou os efeitos do choque nos animais não submetidos à situação de lembrança, não alterou os comportamentos relacionados à ansiedade e memória nos animais com situação de lembrança de um minuto na CCE e CCEm mas reverteu a sensibilização comportamental no LCE, enquanto produziu aumento dos parâmetros de ansiedade e memória na CCE e CCEm nos animais com situação de lembrança de 10 minutos. Esses resultados sugerem que a reexposição à situação de lembrança por um minuto aumenta os comportamentos relacionados à ansiedade e induz sensibilização comportamental, favorecendo a reconsolidação da memória traumática, enquanto reexposições à situação de lembrança por 10 minutos resultam em redução dos comportamentos relacionados à ansiedade e extinção da memória traumática. Além disso, o enriquecimento ambiental não foi capaz de amenizar os efeitos induzidos pela reexposição à situação de lembrança por um minuto na memória traumática e favoreceu a sua manutenção quando os animais foram reexpostos à situação de lembrança por 10 minutos, mas reverteu os efeitos desse procedimento na sensibilização comportamental. Assim, os efeitos do enriquecimento ambiental no modelo de TEPT proposto são complexos, e dependem da duração das situações de lembrança e dos comportamentos avaliados.

**Palavras-chave:** TEPT. Memória traumática. Ansiedade. Situação de lembrança. Enriquecimento ambiental.

BLANCO, Marília Bazan (2015). Evaluation of the effects of environmental enrichment on the mice behavior exposed to a Post-Traumatic Stress Disorder model. PhD thesis. Graduate Program in Psychology. Federal University of São Carlos - 112pp.

### **Abstract**

A Post Traumatic Stress Disorder (PTSD) may appear after experiencing a stressful situation and is characterized by avoidance of situations that remind the trauma and persistent hyperarousal, and may come associated with anxiety and cognitive disabilities. Although their treatment is usually pharmacological, non-pharmacological interventions has been shown to be effective. While nonpharmacologic strategy, an environmental enrichment (EE) results in decreased anxiety and improving memory in several animal experiments. Thus, this study aimed to evaluate the effects of environmental enrichment on anxiety like behavior and memory in mice submitted to a model of PTSD, with different re-exposure to the situational reminders (1 or 10 minutes). For this, male Swiss mice, exposed or not to environmental enrichment, were submitted to a model of PTSD, in a dark-light box (DL-box). After this aversive procedure (scrambled shock of a 0.5mA and re-exposure to situational reminders), the animals were tested in a DL-box and a modified DL-box (mDL-box), in an elevated plus maze (EPM) and to a new object recognition test. The results demonstrated that, in non-enrichment animals, aversive stimulation without situational reminders increased anxiety like behaviors and traumatic memory in DL-box, but not in the mDL-box. Aversive stimulation with situational reminder of one minute increased anxiety like behaviors and traumatic memory in DL-box, in mDL-box and in EPM, while the aversive stimulation with 10 minutes situational reminders reduced anxiety like behaviors and traumatic memory. Environmental enrichment attenuated the effects of the shock. On groups with situational reminders of one minute, environmental enrichment did not change anxiety like behaviors and memory but reverted the sensitization in the EPM, and on groups with one-minute situational reminders, resulted in increased anxiety like behaviors and traumatic memory in DL-box, as well as decrease in total entries in the dark side of mDL-box. These results suggest that re-exposure to situational reminders of one-minute increases anxiety like behaviors and induces behavioral sensitization, furthering reconsolidation of traumatic memory, while reexposure to 10 minutes situational reminders results in reduced anxiety like behaviors and extinction of traumatic memory. Further, environmental enrichment has not been able to mitigate the effects induced by re-exposure to one-minute situational reminders on traumatic memory, and favored the maintenance of traumatic memory, even when animals are re-exposed to situational reminders for 10 minutes, damaged their extinction, but reversed the effects of this procedure in behavioral sensitization. Thus, the effects of the environmental enrichment on the proposed model of PTSD are complex, and depend on the length of the situational reminders and the behaviors that are evaluated.

**Key-words:** PTSD. Traumatic memory. Situational reminders. Environmental enrichment.

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>18</b>
<b>2. ANSIEDADE E O TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO</b> .....	<b>21</b>
2.1. O EIXO HIPOTÁLAMO-PITUITÁRIA-ADRENAL (HPA) COMO MEDIADOR DA RESPOSTA DE ESTRESSE .....	25
<b>3. MEMÓRIA</b> .....	<b>28</b>
3.1. MECANISMOS NEURAIIS DA MEMÓRIA .....	32
<b>4. MODELOS ANIMAIS PARA O ESTUDO DO TEPT</b> .....	<b>36</b>
<b>5. ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL</b> .....	<b>39</b>
<b>6. OBJETIVOS</b> .....	<b>42</b>
6.1. OBJETIVO GERAL .....	42
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	42
<b>7. MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>43</b>
7.1. SUJEITOS .....	43
7.2. EQUIPAMENTOS .....	43
7.2.1. Enriquecimento ambiental .....	43
7.2.2. Caixa Claro-Escuro (CCE).....	44
7.2.3. Caixa Claro-Escuro modificada (CCEm) .....	45
<b>8. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	<b>47</b>
8.1. ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL (EA) .....	48
8.2. PROCEDIMENTO AVERSIVO .....	48
8.2.1. Condicionamento aversivo – 32º dia .....	49
8.2.2. Procedimento de reexposição à Situação de Lembrança (SL) – 39º, 46º e 53º dias .....	49
8.3. EXPERIMENTO 1: .....	50
8.3.1. Experimento 1A- Teste de memória aversiva na CCE – 60º dia .....	50
8.3.2. Experimento 1B- Teste de generalização da memória aversiva na CCEm – 62º dia .....	51
8.4. EXPERIMENTO 2 .....	52
8.4.1. Experimento 2A- Avaliação da ansiedade no LCE- 60º dia .....	52
8.4.2. Experimento 2B- Teste de memória de reconhecimento de objetos- 62º dia ..	52
<b>9. ÉTICA</b> .....	<b>54</b>
<b>10. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b> .....	<b>55</b>

<b>11. RESULTADOS.....</b>	<b>56</b>
11.1.    AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA LATENCIA DE ENTRADA E PERMANÊNCIA NO LC DA CCE NO 32º DIA DO PROCEDIMENTO .....	56
11.2.    AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO AVERSIVA E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA IMOBILIDADE DURANTE AS REEXPOSIÇÕES À SL.....	57
11.3.    EXPERIMENTO1: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA MEMÓRIA TRAUMÁTICA EM CAMUNGONGOS .....	59
11.3.1. <b>Experimento 1A- Teste de memória na caixa claro/escuro (CCE) .....</b>	<b>59</b>
11.3.2. <b>Experimento 1B- Teste de generalização da memória aversiva na caixa claro/escuro modificada (CCEm) .....</b>	<b>66</b>
11.4.    EXPERIMENTO 2- AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA ANSIEDADE E MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS .....	69
11.4.1. <b>Experimento 2A- Avaliação da ansiedade no labirinto em cruz elevado (LCE) .....</b>	<b>69</b>
11.4.2. <b>Experimento 2B- teste de memória de reconhecimento de objetos (RO) .....</b>	<b>75</b>
<b>12. DISCUSSÃO.....</b>	<b>78</b>
12.1.    EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA LATENCIA DE ENTRADA E PERMANÊNCIA NO LC DA CCE NO 32º DIA DO PROCEDIMENTO .....	78
12.2.    EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO AVERSIVA E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA IMOBILIDADE AVALIADA DURANTE AS REEXPOSIÇÕES À SL DE 1 OU 10 MINUTOS .....	80
12.3.    EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA MEMÓRIA TRAUMÁTICA EM CAMUNGONGOS.....	81
12.4.    EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA ANSIEDADE E MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO EM CAMUNDONGOS .....	87
<b>13. CONCLUSÃO .....</b>	<b>91</b>
<b>14. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>93</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>108</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Respostas emocionais em função da distância do estímulo ameaçador e estruturas envolvidas na organização de cada resposta emocional.....	22
<b>Figura 2</b> - Resposta do eixo HPA em situação de estresse.....	26
<b>Figura 3</b> - Classificação da memória de longo prazo .....	30
<b>Figura 4</b> - Mecanismos subjacentes à LTP .....	33
<b>Figura 5</b> - Alterações pós-sinápticas na LTP .....	34
<b>Figura 6</b> - Caixa de Enriquecimento Ambiental.....	44
<b>Figura 7</b> - Caixa Claro-Escuro .....	45
<b>Figura 8</b> - Caixa Claro-Escuro Modificada.....	45
<b>Figura 9</b> - Labirinto em cruz elevado .....	46
<b>Figura 10</b> - Arena .....	46
<b>Figura 11</b> - Objetos C, A e B, respectivamente, utilizados no teste RO .....	46
<b>Figura 12</b> - Esquema geral do delineamento experimental .....	47
<b>Figura 13</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental na latência de entrada no LC da CCE .....	56
<b>Figura 14</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental no tempo de permanência no LC da CCE .....	57
<b>Figura 15</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental na % de tempo em imobilidade nas reexposições à SL de 1 minuto.....	58
<b>Figura 16</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental na % de tempo em imobilidade nas reexposições à SL de 10 minutos .....	58
<b>Figura 17</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na Latência de entrada no LE da CCE .....	60
<b>Figura 18</b> - Efeito do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na permanência no LE da CCE.....	61
<b>Figura 19</b> - Efeito do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo no total de entradas no LE da CCE .....	62
<b>Figura 20</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na latência de entrada no LE da CCEm .....	66
<b>Figura 21</b> - Efeito do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na permanência no LE da CCEm.....	67
<b>Figura 22</b> - Efeito do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo no total de entradas no LE da CCEm .....	68
<b>Figura 23</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na %TBA no LCE ....	70

<b>Figura 24</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na %EBA do LCE ....	71
<b>Figura 25</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na frequência total de esticar do LCE.....	71
<b>Figura 26</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo no total de EBF do LCE .....	72
<b>Figura 27</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na porcentagem de tempo em contato com os objetos A e B no dia do treino.....	76
<b>Figura 28</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo na porcentagem de tempo em contato com os objetos A e C no dia do teste RO .....	76
<b>Figura 29</b> - Efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL na latência de entrada no LE da CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo .....	108
<b>Figura 30</b> - Efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL no tempo total de permanência no LE da CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo.....	109
<b>Figura 31</b> - Efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL no total de entradas no LE da CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo .....	109
<b>Figura 32</b> - Efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL na latência de entrada no LE da CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo.....	109
<b>Figura 33</b> - Efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL no tempo total de permanência no LE da CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo .....	109
<b>Figura 34</b> - Efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL no total de entradas no LE da CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo.....	109

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Grupos experimentais formados durante o procedimento.....	50
<b>Tabela 2</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo em outras medidas comportamentais apresentadas no LC da CCE .....	64
<b>Tabela 3</b> - Efeitos do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo em outras medidas comportamentais apresentadas no LCE .....	74

## Lista de Siglas

ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico, do inglês, <i>adrenocorticotropic hormone</i>
AMPA	Receptores de glutamato do tipo alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
BA	Braços abertos do labirinto em cruz elevado
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês, <i>brain derived neurotrophic factor</i>
BF	Braços fechados do labirinto em cruz elevado
CCE	Caixa Claro-Escuro
CCEm	Caixa Claro-Escuro Modificada
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina, do inglês <i>Corticotropin-releasing hormone</i>
DSM	Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais
EA	Enriquecimento ambiental
EA1MIN	Grupo de animais enriquecidos, com choque e com situação de lembrança de um minuto
EA10MIN	Grupo de animais enriquecidos, com choque e com situação de lembrança de dez minutos
EASCH	Grupo de animais enriquecidos, sem choque e sem situação de lembrança
EASSL	Grupo de animais enriquecidos, com choque e sem situação de lembrança
EBA	Entrada nos braços abertos do labirinto em cruz elevado
EBF	Entradas nos braços fechados do labirinto em cruz elevado
EC	Estímulo condicionado
EI	Estímulo incondicionado
Eixo HPA	Eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal
EMDR	Dessensibilização e Reprocessamento Através dos Movimentos Oculares, do inglês <i>Eye Movement Desensitization and Reprocessing</i>
EN	Estímulo neutro
ISRS	Inibidor seletivo de recaptção de serotonina

LC	Lado claro da caixa claro-escuro
LCE	Labirinto em Cruz Elevado
LE	Lado escuro da caixa claro-escuro
LF	Latência de fuga
LTP	Potenciação de longa duração, do inglês, <i>long term potentiation</i>
NE1MIN	Grupo de animais não-enriquecidos, com choque e com situação de lembrança de um minuto
NE10MIN	Grupo de animais não-enriquecidos, com choque e com situação de lembrança de dez minutos
NESCH	Grupo de animais não enriquecidos, sem choque e sem situação de lembrança
NESSL	Grupo de animais não enriquecidos, sem situação de lembrança e sem choque
NMDA	Receptor de glutamato do tipo N-metil-D-aspartato
RC	Resposta condicionada
RI	Resposta incondicionada
SAP	Do inglês, <i>stretch attend posture</i> ou esticar
RO	Reconhecimento de objetos
SL	Situação de lembrança
TBA	Tempo nos braços abertos do labirinto em cruz elevado
TCC	Terapia cognitivo-comportamental
TEPT	Transtorno de Estresse Pós-Traumático

## 1. INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que o número de indivíduos que sofrem de algum transtorno mental vem aumentando progressivamente nos últimos anos (Maragno, Goldbaum, Gianimi, Novaes & Cesar, 2006). De acordo com estudo realizado por Demyttenaere *et al.* (2004), a prevalência de transtornos mentais no mundo varia bastante, atingindo 4,3% da população em cidades da China e chegando a 26,4% nos Estados Unidos, sendo que os transtornos de ansiedade foram considerados os mais frequentes na população de praticamente todos os países avaliados, com prevalência de 2,4% a 18,2%.

Em 1997, um estudo realizado em três capitais brasileiras (Brasília, São Paulo e Porto Alegre) mostrou que a porcentagem de pessoas que apresentaram algum transtorno psiquiátrico durante a vida foi de 30% em São Paulo, 43% em Brasília e 51% em Porto Alegre, e assim como demonstrado em outros países, os transtornos de ansiedade foram os mais frequentes (11-18%) (Almeida-Filho *et al.*, 1997).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde os prejuízos causados pelos transtornos mentais são superiores aos das doenças cardiovasculares, resultando em sofrimento e incapacidade do indivíduo, perda de produtividade, além de gastos com recursos médicos (WHO, 2002 *apud* Ventura, 2010).

Diversas áreas como a Psiquiatria, a Psicologia, a Farmacologia e a Neurociência têm se dedicado ao estudo desses transtornos, resultando num aumento da produção tanto de pesquisas básicas, quanto de aplicação clínica (Ventura, 2010), e das atualmente denominadas pesquisas translacionais, que buscam levar os achados da pesquisa básica de laboratório para ambientes aplicados (Guimarães, 2013).

O uso de modelos animais para o estudo dos transtornos mentais tem sido fundamental para a compreensão não só da neurobiologia desses transtornos, mas também para o entendimento da influência dos fatores ambientais e para o desenvolvimento de terapias mais eficazes (Valvassori, Arent & Quevedo, 2011). Considerando a semelhança de alguns sistemas neurais entre as espécies de mamíferos, por exemplo, estudos com modelos animais podem auxiliar no entendimento de transtornos comportamentais em humanos, dentre eles, o Transtorno de Estresse Pós-Traumático (TEPT), objeto de estudo desta pesquisa.

Segundo Kessler *et al.* (1995), a exposição a um trauma severo, como um desastre natural ou violência sexual, resulta em respostas de estresse e ansiedade na maioria das

pessoas, sendo que tais respostas tendem a diminuir ao longo de um mês após o trauma. No entanto, cerca de 10 a 20% dessas vítimas permanecem com os sintomas, desenvolvendo o TEPT, que se caracteriza por memórias intrusivas e angustiantes do evento traumático, e evitação persistente de situações que lembrem o trauma.

O tratamento do TEPT é geralmente farmacológico, principalmente com drogas inibidoras seletivas da recaptação de serotonina (ISRS), agonistas benzodiazepínicos (Baldwin, Anderson & Nutt, 2005; Stein, Ipser & Seedat, 2006) e antiadrenérgicas (Vaiva *et al.*, 2003; Berger *et al.*, 2007) sendo que grande parte dos estudos desenvolvidos na área avaliam a eficácia dessas intervenções farmacológicas, e poucos estudos investigam alternativas não-farmacológicas.

A Terapia Cognitivo-Comportamental (TCC), com técnicas embasadas no procedimento de extinção, como a Dessensibilização Sistemática, ou no treinamento de habilidades de manejo e enfrentamento das situações de medo, como no Treinamento de Inoculação do Estresse, tem-se mostrado eficaz em alguns casos (Knapp & Caminha, 2003; Monfils, Cowansage, Klann, & Ledoux, 2009; Orsini & Maren, 2012), sendo que muitas vezes são utilizadas combinações de terapia farmacológica e TCC (Hetrick, Purcell, Garner & Parslowet, 2010). A terapia EMDR (Dessensibilização e Reprocessamento Através dos Movimentos Oculares, do inglês *Eye Movement Desensitization and Reprocessing*), que se utiliza dos movimentos sacádicos dos olhos e procedimentos de outras terapias como a TCC, orientada pelo modelo de processamento de informação, também tem apresentado resultados promissores no tratamento do TEPT (Shapiro, 1989; Bergmann, 2014, Hendriksen, Olivier & Oosting, 2014).

Já Zschucke, Gaudlitz e Ströhle (2013) afirmam que exercícios físicos voluntários podem prevenir o desenvolvimento ou amenizar os sintomas de diferentes transtornos mentais, inclusive no TEPT, apresentando benefícios terapêuticos quando utilizados como tratamento único ou combinado.

De acordo com Hutchinson *et al.* (2012), a exposição a uma combinação de diversas oportunidades de aprendizagem, redes sociais e exercícios físicos parece ser essencial na promoção e manutenção da integridade cerebral em animais e humanos, e o enriquecimento ambiental, que consiste na exposição de sujeitos a ambientes ricos em estimulação física, sensorial e social, apresentou efeito terapêutico em diversos modelos animais de psicopatologia (Pang & Hannan, 2013) inclusive num modelo animal de TEPT, e acredita-se que a exposição a ambientes enriquecidos possa tornar os animais mais resilientes às

consequências da exposição a situações aversivas (Hendriksen, Prins, Olivier & Oosting, 2010; Hutchinson *et al.*, 2012). Além disso, Segundo Hendriksen, Olivier e Oosting (2014), o enriquecimento ambiental pode ser relacionado, embora com ressalvas, a diferentes terapias em humanos, como grupos terapêuticos ou de apoio, exercícios físicos e ao treinamento de inoculação do estresse. Dessa forma, o presente estudo buscou avaliar os possíveis efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento de camundongos expostos a um modelo animal de TEPT.

## 2. ANSIEDADE E O TRANSTORNO DE ESTRESSE PÓS-TRAUMÁTICO

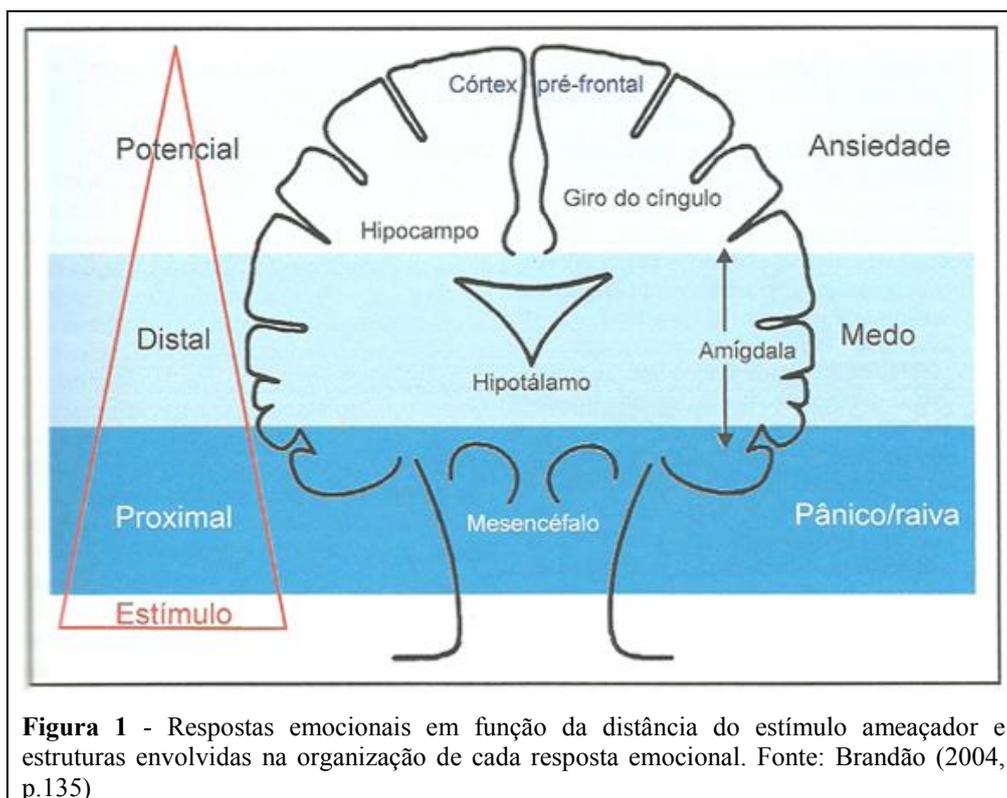
De acordo com Tabach (2011), os transtornos de ansiedade acometem aproximadamente 750 milhões de pessoas, estando dentre os transtornos mentais mais estudados. Para Brunoni (2008), o sintoma comum de todos os transtornos ansiosos é a experimentação de ansiedade, que pode ser do tipo cognitiva (antecipação negativa de eventos) ou física (respostas autonômicas, como taquicardia, sudorese, entre outras).

Embora o termo ansiedade traga uma conotação negativa, de caráter patológico e relacionada a transtornos, ela é uma resposta habitual dos indivíduos ao seu meio, sendo necessária e não patológica, pois adverte sobre a possibilidade de danos físicos, punição, separação ou ameaças à sua integridade, estimulando o organismo a tomar medidas necessárias para impedir tais ameaças ou reduzir suas consequências (Brandão, 2004; Corr, 2011; Robinson, Charney, Overstreet, Vytal, & Grillon, 2012). Dessa forma, a ansiedade tem um importante valor adaptativo, assim como o medo. Para Brandão (2004)

[...] a ansiedade pode ser definida como um estado subjetivo de apreensão ou tensão, difuso ou vago, frequentemente acompanhado por uma ou mais sensações físicas- por exemplo, aumento da pressão arterial, da frequência cardíaca, da respiração, urgência de micção ou defecação- induzido pela expectativa de perigo, dor ou necessidade de um esforço especial [...] O medo difere da ansiedade na medida em que é uma resposta a uma ameaça conhecida, externa, definida (p. 141).

Deste modo, a ansiedade seria uma resposta apresentada em situações de perigo incerto ou ameaça potencial, quando existe um conflito entre a necessidade de aproximação e de evitação, induzindo o organismo a realizar avaliação de potenciais riscos. Já o medo ocorre em situações de perigo real, frente a qual o animal foge (caso uma rota de fuga seja possível), exhibe intenso congelamento ou luta (Blanchard & Blanchard, 1988; McNaughton & Corr, 2004).

Brandão (2004) apresenta uma figura na qual são demonstradas as respostas exibidas em relação à distância do estímulo aversivo, assim como as áreas encefálicas envolvidas nessas respostas.



De acordo com a Figura 1 acima, observa-se que estímulos mais distantes ou a ameaça potencial ativam estruturas como a amígdala, hipotálamo, hipocampo e córtex pré-frontal, resultando em respostas de medo e ansiedade. Já estímulos aversivos muito próximos, que colocam em risco a vida do indivíduo, ativam estruturas mais caudais mesencefálicas, como a substância cinzenta periaquedutal (PAG), resultando em respostas de pânico e ataque.

Assim, medo e ansiedade são respostas apresentadas em situações de ameaça à integridade física do sujeito, relacionadas às reações de defesa<sup>1</sup>, e nos transtornos de ansiedade, essas respostas são exacerbadas ou ocorrem em situações nas quais elas não deveriam ser apresentadas (Rosen & Schulkin, 1998; Belzung & Griebel, 2001; Valvassori *et al.*, 2011).

<sup>1</sup> Para o presente trabalho, utilizou-se a terminologia “respostas de medo e ansiedade”, embora existam na literatura discussões sobre a separação dessas duas respostas. De acordo com Steimer (2002), alguns etólogos não distinguem medo e ansiedade em animais, incluindo as respostas de aproximação e evitação nos chamados comportamentos defensivos, que são desencadeados pelo medo. Assim, esta definição de medo incluiria os aspectos da ansiedade. Além disso, Ledoux (2013; 2014) alerta que o termo medo deve ser avaliado com cautela, uma vez que pode referir-se ao sentimento consciente de medo, presente nos humanos e de difícil avaliação nos animais, e as respostas de defesa eliciadas por uma ameaça, presentes em todas as espécies.

Segundo a quarta edição do Manual Diagnóstico e Estatístico dos Transtornos Mentais (DSM-IV) (American Psychiatric Association, 1994), fazem parte dos Transtornos de Ansiedade as Fobias, o Transtorno do Pânico, Transtorno Obsessivo-Compulsivo, Transtorno de Estresse Pós-Traumático, Transtorno de Ansiedade Generalizada e outros transtornos relacionados à ansiedade. A partir da quinta edição do DSM (DSM-V), lançado em 2013, o Transtorno de Estresse Pós-Traumático passou a formar uma categoria separada, a de Transtornos Relacionados a Traumas e Estresse, embora do ponto de vista sintomatológico e terapêutico continue mantendo estreita relação com os Transtornos de Ansiedade (American Psychiatric Association, 2013).

Segundo Kaplan, Sadock e Grebb (1997), o TEPT pode aparecer após a vivência de uma situação estressora, como por exemplo, uma catástrofe natural, violência física ou acidente, e se caracteriza por: revivência do trauma por meio de pensamentos, evitação de situações que lembrem o trauma e hiperexcitação persistente. Pode estar associado também ao desenvolvimento de depressão, ansiedade excessiva e dificuldades cognitivas (Bremner *et al.*, 1993).

Estudos mostram que o transtorno acomete de 1 a 3% da população, embora formas subclínicas possam ser identificadas em 5 a 15% dos indivíduos (Kaplan, Sadock & Grebb, 1997). Bernik, Laranjeiras e Corregiari (2003) apresentam uma prevalência de TEPT na população civil urbana de 10% para homens e 18% em mulheres, chegando a alcançar índices de 60 a 80% em populações submetidas a traumas constantes, como por exemplo, terremotos (Kapczinski & Margis, 2003).

O quadro a seguir apresenta, de forma resumida, os critérios para o diagnóstico do TEPT, segundo DSM-V:

**Quadro 1** – Critérios para o diagnóstico do TEPT, segundo o DSM-V:

A - Exposição real ou a ameaças de morte, danos severos ou violência sexual, seja por experiência direta do evento traumático, testemunhando o evento ocorrido com outra pessoa, ter conhecimento de trauma sofrido por parente ou amigo próximo, ou passar por experiências repetidas ou exposição extrema a situações traumáticas.
B - Presença de um ou mais sintomas como: memórias intrusivas recorrentes, involuntárias e angustiantes do evento traumático; sonhos aflitivos e recorrentes relacionados ao trauma; reações dissociativas, nas quais o indivíduo sente ou age como se o evento traumático estivesse ocorrendo novamente; sofrimento intenso e prolongado na presença de pistas que lembram o trauma e reações psicológicas intensas na presença de pistas que lembram o trauma.
C - Evitação persistente de estímulos associados ao trauma, com evitação ou esforço para evitar memórias, pensamentos e sentimentos relacionados ao trauma, e também lembretes externos, como pessoas, lugares e situações.
D - Alterações negativas na cognição e humor, evidenciados por inabilidade em se lembrar de aspectos importantes do trauma, crenças negativas sobre si mesma e em relação aos outros, cognição distorcida sobre a causa e consequências do evento traumático, estado emocional negativo, interesses ou participação restrita em atividades, sentimento de distanciamento dos outros e inabilidade persistente em experienciar emoções positivas.
E - Alterações marcantes na excitação ou reatividade associada com o trauma, como irritação e agressividade, comportamentos imprudentes e autolesivos, hipervigilância, resposta exagerada de sobressalto, problemas de concentração e distúrbios do sono.
Os sintomas descritos devem ter duração de mais de um mês, causar sofrimento ou prejuízo no funcionamento social e ocupacional e não serem decorrentes do uso de substâncias.

Fonte: Adaptado de APA, 2013, p. 271-272.

O TEPT também está caracterizado, com sintomatologia semelhante, na décima edição da Classificação Internacional de Doenças (CID-10) da Organização Mundial de Saúde, pertencendo ao grupo dos Transtornos Neuróticos, Relacionados ao Estresse e Somatoformes, juntamente com os Transtornos de Ansiedade e Transtornos Fóbico-ansiosos (OMS, 1993).

De acordo com o modelo cognitivo-comportamental, o desenvolvimento do TEPT se dá por meio do condicionamento clássico Pavloviano, no qual o trauma é considerado o estímulo incondicionado (EI) capaz de evocar respostas incondicionadas (RI) de medo. Estímulos neutros (EN) presentes na situação, como, por exemplo, estímulos contextuais, tornam-se capazes de eliciar respostas de ansiedade, passando então a serem denominados de estímulos condicionados (EC), capazes de evocar respostas condicionadas de ansiedade (RC).

A manutenção do transtorno se dá por meio do condicionamento operante Skinneriano, visto que a ansiedade intensa faz com que ocorra a evitação de situações que

lembrem o trauma (EC), o que geraria um alívio momentâneo. Assim, a evitação dos ECs passa a ser reforçada negativamente, impedindo a extinção da associação entre o EI e EC, que normalmente ocorreria quando o EC é apresentado sem o EI (Knapp & Caminha, 2003; Brewin & Holmes, 2003; Sbardelloto, Schaefer, Lobo, Caminha & Kristensen, 2012). Além disso, inúmeros estímulos presentes na situação podem adquirir a capacidade de evocar respostas de ansiedade por meio de processos de generalização e condicionamentos de ordem superior (Brewin & Holmes, 2003). De acordo com Hendriksen, Olivier e Oosting (2014), a etiologia e sintomatologia do TEPT sugerem o envolvimento de diversos sistemas comportamentais, como um condicionamento aversivo exagerado, dificuldade na extinção da memória traumática e sensibilização comportamental, que se caracteriza por um responder intenso frente a estímulos estressores moderados, não relacionados ao trauma.

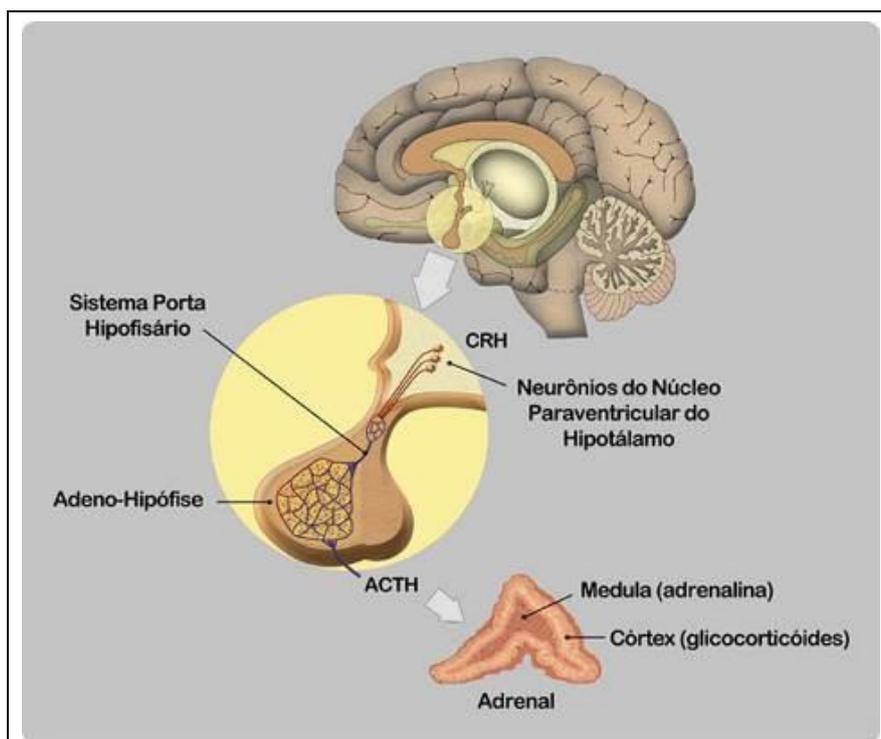
Em relação à neurobiologia do transtorno, sugere-se uma redução do volume do hipocampo, uma responsividade exagerada da amígdala, com deficiência da sua modulação pelo córtex pré-frontal ventro-medial e hipocampo (Rauch, Shin & Phelps, 2006, Hendriksen, Olivier & Oosting, 2014)), hiperfunção do eixo simpato-adrenal e hipofunção do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (eixo HPA), com consequente diminuição dos níveis de corticosteroides circulantes (Graeff, 2003; Lucassen *et al.*, 2014). Logo, o TEPT relaciona-se a uma alteração no funcionamento do eixo HPA e das respostas autonômicas frente ao estresse.

## 2.1. O EIXO HIPOTÁLAMO-PITUITÁRIA-ADRENAL (HPA) COMO MEDIADOR DA RESPOSTA DE ESTRESSE

As respostas neuroendócrinas apresentadas em situações de perigo relacionam-se com a estimulação do sistema nervoso simpático, que prepara o organismo para fuga ou luta. Essa estimulação resulta em aumento da pressão arterial e frequência cardíaca, redistribuição do suprimento sanguíneo da pele e vísceras para os músculos e cérebro, dilatação dos brônquios e da pupila, estimulação do sistema linfático e liberação de adrenalina (Brandão, 2004; Guilliams & Edwrads, 2010).

No entanto, uma das respostas mais características ao estresse é a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e corticosteroides na corrente sanguínea (corticosterona em roedores e cortisol em humanos), como resultado da ativação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (eixo HPA) (Graeff, 2007, Guilliams & Edwrads, 2010). De

forma simplificada, frente a situações estressoras, ocorre a ativação de estruturas corticais e límbicas responsáveis pela detecção de ameaças, como por exemplo, o córtex pré-frontal e o núcleo basolateral da amígdala, que enviam projeções a um grupo de neurônios do hipotálamo, o núcleo paraventricular. A estimulação desta região resulta na liberação do hormônio liberador de corticotrofina (CRH) na circulação portal, estimulando a glândula pituitária. Na pituitária anterior, o CRH estimula a secreção de ACTH, que é conduzido pela corrente sanguínea e atinge o córtex da glândula adrenal, promovendo a liberação de corticosteroides na corrente sanguínea (De Kloet, Vreugdenhil, Oitzl, & Joëls, 1998; Juruena, Cleare, & Pariante, 2004; Graeff, 2007). O estresse ativa ainda o sistema nervoso autônomo simpático, resultando na liberação de adrenalina e noradrenalina na corrente sanguínea pela medula adrenal (Graeff, 2007; Williams & Edwards, 2010). Desta forma, os hormônios do estresse atuam de forma coordenada, controlando ações rápidas via sistema nervoso simpático, e lentas, via eixo HPA.



**Figura 2** - Resposta do eixo HPA em situação de estresse. Fonte: <https://corticoides.wordpress.com/2012/06/>

Além de atuarem em diversos órgãos, os corticosteroides atuam também no próprio eixo HPA, sendo responsáveis pela retroalimentação negativa da secreção de CRH pelo hipotálamo e ACTH pela pituitária. Anormalidades na função do eixo HPA têm sido descritas

em pessoas com transtornos mentais, sendo que estas parecem estar relacionadas com a capacidade dos receptores corticosteroides exercerem seu papel nas alças de retroalimentação (De Kloet, Oitzl, & Joëls, 1999; Juruena, Cleare, & Pariante, 2004). Depressão melancólica, transtorno obsessivo-compulsivo e transtorno de pânico relacionam-se a uma ativação aumentada do eixo HPA, enquanto no transtorno de estresse pós-traumático parece existir uma hipoativação desse eixo (Juruena, Cleare, & Pariante, 2004).

Nesta linha, estudos apontam que a neurobiologia do TEPT envolveria uma falha do organismo em retornar aos níveis normais de hormônios do estresse após um evento altamente estressante, com hipoativação do eixo HPA, altos índices de CRH e níveis baixos de cortisol, provavelmente relacionados a um aumento do *feedback* negativo do cortisol e da sensibilidade dos receptores corticosteroides, além de níveis aumentados de catecolaminas. Uma vez que essas alterações podem ocasionar a consolidação exacerbada da memória traumática (Yehuda, 2002; 2006; Lucassen *et al.*, 2014), o TEPT, além de configurar-se como um transtorno relacionado à ansiedade, envolve também os mecanismos de memória (Izquierdo, 2002; Rauch et al, 2006; Siegmund & Wotjak, 2006).

### 3. MEMÓRIA

De modo geral, memória pode ser definida como a capacidade de armazenamento de todas as informações adquiridas pelo indivíduo em suas relações com o meio. Seria a capacidade de aprender coisas novas e relacioná-las com outras informações já armazenadas, permitindo a construção de novas ideias. É devido a tal função cerebral que o ser humano é capaz de dar sentido aos eventos (Alvarez, Taub, Carvalho & Yassuda, 2005).

Para Izquierdo (2011a), o termo “memória” significa a capacidade geral de aquisição, formação, conservação e evocação de informações, sendo que a aquisição pode também ser chamada de aprendizagem, enquanto a evocação refere-se à recordação ou lembrança.

Considerando os diversos critérios para a classificação das memórias, estas podem ser classificadas quanto ao tipo de informação ou conteúdo armazenado (declarativas e de procedimento) e quanto ao tempo de manutenção da informação (sensorial, imediata ou de curta duração, longa duração e remota) (Izquierdo, 1989; Squire, 1992; Xavier, 1993; Kandel, 2009a; Kandel, 2009b; Izquierdo, 2011a; Izquierdo 2011b; Baddeley, Anderson & Eysenck, 2011).

Em relação ao seu conteúdo, as memórias podem ser declarativas ou não declarativas (Squire & Zola-Morgan, 1991; Squire, 1992). As memórias declarativas são assim denominadas pela possibilidade de serem declaradas ou relatadas. Essas memórias podem ser subdivididas em episódicas, autobiográficas e semânticas. Memórias episódicas relacionam-se a fatos e eventos; a autobiográfica, com as experiências pessoais e as semânticas, a materiais linguísticos e conhecimentos gerais sobre o mundo. Já as de procedimento são memórias relacionadas a habilidades motoras, que são comumente chamadas de hábitos (Izquierdo, 2011a; Baddeley, Anderson & Eysenck, 2011).

Quanto ao tempo de manutenção da informação, as memórias são classificadas de acordo com a sua duração. A memória sensorial é definida por Carneiro (2008) como registros sensoriais durante segundos após o desaparecimento do estímulo. A memória de curto prazo, como o próprio nome diz, tem curta duração, de alguns segundos ou minutos, e embora seja limitada em sua capacidade (em torno de sete a nove itens), ela é essencial para o sentido de continuidade na interação do organismo com o meio (Oliveira, 2007). Embora apresente um rápido esquecimento, a informação pode ser mantida por mais tempo na memória de curto prazo por meio da reverberação (Oliveira & Bueno, 1993). Segundo

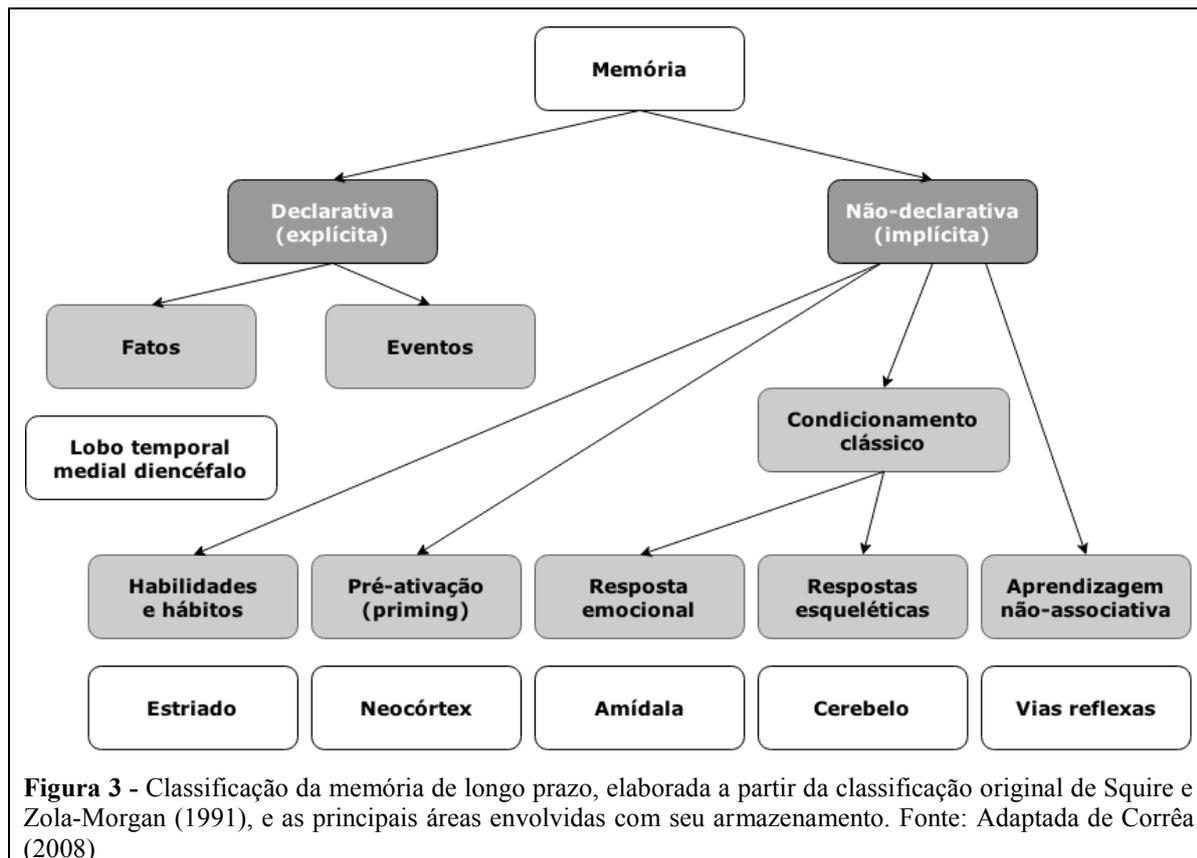
Oliveira e Bueno (1993), a noção de memória de curto prazo tem sido estendida, dando lugar à denominada memória operacional ou de trabalho.

Para Izquierdo (2011a; 2011b), a memória de trabalho é um tipo diferente de memória de curto prazo, por não deixar traços ou produzir arquivos e exercer um papel gerenciador. Segundo ele, é a memória de trabalho que avalia se a informação é nova e de relevância para o organismo, devendo então ser armazenada na memória propriamente dita (Izquierdo, 2011a). Assim, a memória de curto-prazo não seria apenas uma instância de armazenamento temporário da informação, mas exerceria também o papel de processar as informações provenientes do ambiente e da própria memória do indivíduo durante a execução de tarefas cognitivas, e por isto passou a ser denominada de memória de trabalho (Oliveira, 2007).

As memórias de longo prazo são armazenadas por um tempo mais prolongado, sendo passíveis de evocação por tempo indeterminado; as memórias de longo prazo com duração de meses ou anos são denominadas memórias remotas (McGaugh, 2000).

As memórias diferem-se também quanto às áreas envolvidas em seu armazenamento. De forma bastante simplificada, a memória de trabalho relaciona-se ao córtex pré-frontal, (Xavier, 1993; Izquierdo, 2011a), as memórias declarativas envolvem o lobo temporal medial e o diencéfalo, enquanto as memórias implícitas, o estriado, néocórtex, amígdala, cerebelo e vias reflexas (Squire & Zola, 1996). O armazenamento das memórias de curta duração recentes envolvem o hipocampo, e as de longa duração, várias áreas do córtex cerebral, dependendo do tipo de informação armazenada (Thompson, 1986; Purves *et al.*, 2005). As memórias adquiridas pelo uso predominante de um sistema sensorial serão armazenadas no córtex secundário dessa via sensorial (Izquierdo, 2011b).

Corrêa (2008) traz um esquema de classificação das memórias de longo prazo, além das principais áreas envolvidas com essas memórias:



A memória emocional é definida como a memória relacionada a eventos ou experiências com carga emocional (Akgun, Keskin & Byrne, 2012), sendo mais vívida e acurada do que as memórias relacionadas a eventos neutros (Talmi, 2013). Neste contexto, a amígdala, o hipocampo e o córtex pré-frontal são estruturas importantes, relacionadas às memórias emocionais aversivas (Phillips & LeDoux, 1992; Milad & Quirk, 2002).

Os processos de aprendizagem e memória podem ser divididos em fases: aquisição, consolidação ou armazenamento e evocação da informação, além da reconsolidação e da extinção (Izquierdo, 2011a; Soares, Galvão, Moreira & Ferreira, 2011).

A aquisição, também denominada de aprendizagem, é a fase inicial do processo de memória, quando as informações são recebidas pelas vias sensoriais (Izquierdo, 1989). Entende-se por consolidação o processo pelo qual novas memórias são armazenadas após a aprendizagem (Tronson & Taylor, 2007). Essa terminologia foi introduzida por Georg Elias Muller e Alfons Pilzecker, em 1900, que propuseram que as memórias permanentes não se fixam imediatamente após a aprendizagem, permanecendo ainda vulneráveis por um determinado período (Lechner, Squire & Byrne, 1999).

Assim, quando uma nova informação é adquirida, sua manutenção na memória é bastante vulnerável, passível de ser alterada ou perdida, ou então, de tornar-se mais

fortalecida com o passar do tempo (Izquierdo, 2011b). Embora fortalecidas, isso não significa se tornem fixas e não possam ser mais alteradas (Cammarota, Bevilaqua, Medina & Izquierdo, 2004).

De acordo com Tronson e Taylor (2007), a recuperação ou evocação consiste num retorno a consciência de memórias já estabilizadas, durante a reexposição do sujeito ao ambiente original de aprendizagem ou estímulos relacionados, podendo resultar em sua labilidade. Uma vez que essas memórias se tornam novamente lábeis, elas seriam passíveis de modificação, podendo então ser reconsolidadas (Nader, Schafe & Le Doux, 2000; Nader, 2003) ou extintas (Cammarota *et al.*, 2005), e ainda, estudos indicam que a duração do episódio de reexposição, a semelhança entre o contexto original e a situação de lembrança, o tempo e força da memória influenciam nesse resultado (Suzuki *et al.*, 2004, Besnard, Caboche & Laroche, 2012). Sessões curtas de reexposição à situação de lembrança do trauma, com breve apresentação do estímulo condicionado, na ausência do estímulo incondicionado, resultam em reconsolidação, enquanto exposições mais prolongadas e repetidas ao estímulo condicionado resultam principalmente em extinção (Pedreira & Maldonado, 2003; Lee, Milton & Everitt, 2006; Eisenhardt & Menzel, 2006; Besnard *et al.*, 2012). Segundo Hendiksen, Olivier e Oosting (2014), reconsolidação e extinção podem ocorrer numa mesma sessão de reexposição, sendo que a reconsolidação se dá primeiramente, enquanto a extinção ocorre posteriormente.

Entende-se por reconsolidação o processo pelo qual as memórias previamente consolidadas são novamente estabilizadas após a recuperação (Tronson & Taylor, 2007), com atualização ou integração de novas informações (Nader, 2003).

A extinção é um processo diferente do esquecimento, sendo que no segundo há um enfraquecimento da resposta pela passagem do tempo (Orsini & Maren, 2012), enquanto a extinção é um processo ativo, no qual se observa uma diminuição da resposta comportamental, quando o estímulo condicionado é reapresentado na ausência do estímulo incondicionado (Bouton, 1993). A diminuição da taxa de resposta não se deve ao enfraquecimento da memória antiga, mas sim a uma nova associação que se sobrepõe a associação inicial (Suzuki *et al.*, 2004; Cammarota *et al.*, 2005; Besnard *et al.*, 2012). Então, do mesmo modo que a consolidação, a extinção também exige síntese de proteínas (Nader *et al.*, 2000).

Uma vez que o processo de extinção não apaga as memórias, mas forma uma nova, que suprime a inicial, essas memórias suprimidas podem reemergir quando o estímulo

condicionado é apresentado em outro contexto que não o de extinção, quando o estímulo incondicionado é apresentado inesperadamente ou após longo tempo, ou mesmo a partir de um processo de recuperação espontânea (Bouton, 2004; Monfils, Cowansage, Klann & LeDoux, 2009). Além disso, a extinção parece ser mais eficaz quando realizada na chamada “janela de reconsolidação” (período no qual as memórias estariam lábeis), enquanto o oposto é observado quando ele acontece imediatamente após o aprendizado inicial, ou seja, ela não é retida (Orsini & Maren, 2012).

De acordo com Van Praag (2004), o TEPT apresenta um estado cognitivo bastante característico: parte da memória traumática torna-se hiperconsolidada, enquanto outras partes são um tanto obscuras, e o indivíduo apresenta ainda uma dificuldade para armazenar e recuperar novas informações. Além da hiperconsolidação da memória traumática, o TEPT ainda se caracteriza por dificuldades na extinção dessa memória, e generalização das respostas de evitação para situações não relacionadas ao trauma (Brewin & Holmes, 2003; Hendriksen, Olivier & Oosting, 2014)

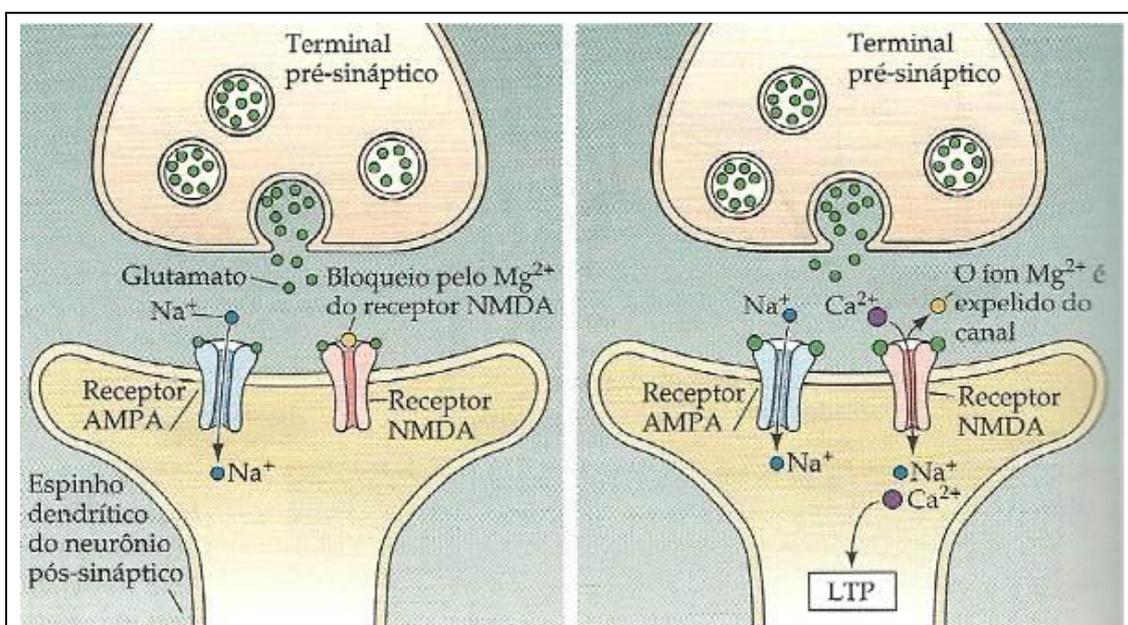
### 3.1. MECANISMOS NEURAIIS DA MEMÓRIA

Fisiologicamente as memórias são causadas por variações da sensibilidade da transmissão sináptica entre neurônios, como consequência da atividade neural prévia, levando ao desenvolvimento de vias facilitadas ou de novas vias de transmissão (Thompson, 1986; Guyton & Hall, 2002). Para Kandel (2009a; 2009b), a memória é resultado de mudanças sinápticas num circuito neural, sendo que na memória de curto prazo ocorrem mudanças funcionais, enquanto na memória de longo prazo, estas são estruturais.

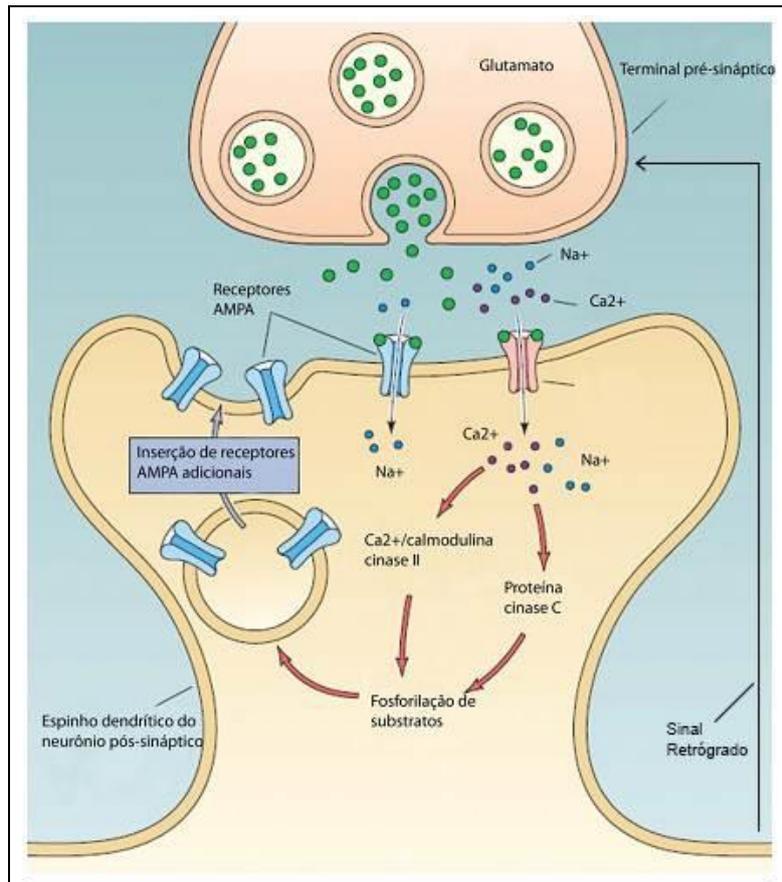
A memória de curto prazo é regulada pelo hipocampo e pelo córtex entorrinal, por meio de processos moleculares reversíveis. A atividade neural é iniciada por eventos ambientais, e mantida por certo tempo em função da ação reverberativa em uma alça neuronal (Thompson, 1986; Brandão, 2004, Fransén, 2005)

Em termos neuroquímicos, a atividade neural inicia-se por estímulos ambientais percebidos pelo organismo, e em decorrência dessa estimulação, ocorre despolarização dos terminais pré-sinápticos seguida de influxo de  $Ca^{2+}$ , promovendo uma liberação sustentada de neurotransmissores, por um tempo determinado. Assim, a liberação de neurotransmissores após o término do estímulo seria o correlato fisiológico da memória de curto prazo (Thompson, 1986; Bliss & Collingridge, 1993; Brandão, 2004; Izquierdo, 2011b).

O fenômeno da LTP (do inglês, *Long-Term Potentiation*) ou potenciação de longa duração é considerado o substrato neuroquímico da memória de longo prazo (Izquierdo *et al.*, 2008; Clarke, Cammarota, Gruart, Izquierdo & Delgado-García 2010). Inicia-se com a liberação de glutamato pelos terminais pré-sinápticos e ativação de receptores pós-sinápticos glutamatérgicos do tipo alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropioico (AMPA) e cainato, e posteriormente, de receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) e receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR). Essa ativação resulta na entrada  $\text{Ca}^{2+}$  na célula e liberação das reservas intracelulares deste mesmo íon, induzindo diferentes cascatas de eventos intracelulares, como a ativação de proteínas cinases que participam de processos de fosforilação e promovem aumento da capacidade de ligação de receptores a seus neurotransmissores, bem como induzem eventos transcrpcionais que resultarão em modificações estruturais e funcionais nos neurônios envolvidos (Bliss & Collingridge, 1993; Abel & Lattal, 2001; Brandão, 2004; Rang, Dale, Ritter & Moore, 2004). A memória de longo prazo depende da reestruturação física das próprias sinapses, sendo estas o aumento do número de sítios de liberação de vesículas para a secreção de transmissores, aumento do número das vesículas, do número de terminações pré-sinápticas e alterações das estruturas das espinhas dendríticas (Thompson, 1986; Guyton & Hall, 2002).



**Figura 4** - Mecanismos subjacentes à LTP. Na imagem da esquerda, o glutamato liberado pelo neurônio pré-sináptico se liga aos receptores do tipo AMPA, permitindo a entrada de  $\text{Na}^+$ . À direita, o influxo de  $\text{Na}^+$ , resultante de uma estimulação contínua desses receptores, despolariza a célula pós-sináptica, resultando em saída dos íons  $\text{Mg}^{2+}$  dos receptores do tipo NMDA e seu consequente desbloqueio. A estimulação então, tanto dos receptores AMPA quanto dos receptores NMDA aumentam a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, disparando a LTP. Fonte: Purves *et al.*, 2005, p.546.



**Figura 5** - Alterações pós-sinápticas na LTP. A ligação do glutamato aos receptores AMPA e NMDA resulta em aumento de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, com ativação de proteínas cinases que participam de processos de fosforilação intracelular, resultando em alterações no neurônio pós-sináptico, como aumento do botão sináptico e do número de receptores AMPA; além disso, ocorre sinalização retrógrada, levando a uma maior liberação de glutamato pelo neurônio pré-sináptico. Fonte: modificado de Ruggiero *et al.*, 2011.

Uma propriedade importante da LTP é o “*synaptic tagging*” (etiquetamento sináptico) de outros dendritos próximos àquele que sofreu um processo de LTP, desenvolvendo uma alteração molecular semelhante (Izquierdo, 2011b; Redondo & Morris, 2011; Viola, Ballarini, Martínez & Moncada, 2014). Desta forma, outras sinapses próximas, além daquela que foi estimulada, são também potenciadas. O “*tagging*” seria a base dos processos associativos de memória.

Funcionalmente, estudos sugerem que o TEPT é caracterizado por alterações no processamento da memória, resultantes de uma consolidação excessiva da memória traumática e generalização para outras situações, além de deficiência no processo de extinção da memória (Siegmund & Wotjak, 2006; Rauch *et al.*, 2006; De Quervain, Aerni, Schelling,

& Roozendaal, 2009). Estudos com neuroimagem em pacientes com TEPT demonstraram um aumento da atividade das estruturas relacionadas com a formação e expressão do medo condicionado, como a amígdala e cíngulo posterior, e uma atividade diminuída de áreas relacionadas à extinção, como o córtex pré-frontal, tanto durante o condicionamento quanto em respostas aos estímulos condicionados (Bremner, 2002, Siegmund & Wotjak, 2006; Hughes & Shin, 2011). Possíveis explicações para esse fenômeno seriam uma alteração nos níveis de catecolaminas e corticosteroides durante o trauma, além de redução da inibição de estruturas límbicas pelo córtex pré-frontal e uma responsividade exagerada da amígdala (Williams *et al.*, 2006; Stevens *et al.*, 2013). Além disso, como os indivíduos evitam as situações que lembram o trauma, e quando as exposições a essas situações ocorrem, elas são muito breves, as memórias traumáticas podem ser reforçadas por reconsolidação, e não extintas (Eisenhardt & Menzel, 2006; De Quervain *et al.*, 2009; Alves *et al.*, 2009).

#### 4. MODELOS ANIMAIS PARA O ESTUDO DO TEPT

A compreensão do comportamento humano depende, em grande parte, do estudo do comportamento dos outros animais. Segundo Darwin (1872/2009), o homem, assim como os outros animais, expressa suas emoções por meio de alterações comportamentais semelhantes, sugerindo o compartilhamento de alguns sistemas neurais entre as espécies. Deste modo, estudos com modelos animais podem auxiliar no entendimento de transtornos mentais em humanos, tanto em seus aspectos neurobiológicos quanto no desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes (Fries & Magalhães, 2010; Izquierdo, 2011a; Valvassori *et al.*, 2011).

Existem diferentes critérios para a validação de modelos animais para os transtornos psiquiátricos. Entende-se por validade aparente (ou de representação) a capacidade do modelo de reproduzir os comportamentos ou sintomas relacionados à doença. Já a validade de construto avalia se o modelo reproduz os mecanismos neurobiológicos da doença, e a validade preditiva, se os mecanismos avaliados são modificados por substâncias utilizadas no tratamento clínico do transtorno estudado. Desta forma, diferentes modelos apresentam diferentes graus de validação (Yehuda & Antelman, 1993; Fries & Magalhães, 2010, Gottschalk, Sarnyai, Guest, Harris & Bahn, 2012).

A exposição a um evento aversivo resulta em alterações persistentes em diversos modelos animais, como a evitação de situações que se relacionam com o trauma e apresentação de respostas comportamentais e fisiológicas excessivas em diversas situações não relacionadas ao trauma, um fenômeno chamado sensibilização. Dentre esses modelos, destacam-se os que fazem uso de breves sessões de choque, confronto com predador ou a estímulos ligados a ele, agressão coespecífica e derrota social ou ainda, os que fazem uso da combinação de diversos estressores em uma única sessão (Liberzon, Khan & Young, 2005; Stam, 2007; Hendriksen, Olivier & Osting, 2014), sendo que, além de avaliar as respostas dos animais no paradigma de condicionamento, deve-se também avaliar as respostas em outras situações não relacionadas ao trauma. Sendo assim, um modelo animal de TEPT deve fazer uso de uma combinação de diferentes paradigmas comportamentais (Siegmund & Wotjak, 2006).

Em um modelo de TEPT em roedores, proposto inicialmente por Pynnos, Ritzmann, Steinberg, Goenjian e Prisecaru (1996), um estímulo aversivo (choque nas patas), seguido por reexposições à situação de lembrança aumentou os índices de ansiedade em um ambiente

aversivo, no reflexo de sobressalto e na agressividade em camundongos. Os efeitos desse modelo foram também demonstrados em ratos fêmeas por Louvart, Maccari, Ducroq, Thomas e Darnaudery (2005), sendo que um estímulo aversivo, seguido de reexposições à situação de lembrança, aumentou as respostas de ansiedade no labirinto em cruz elevado (LCE), promoveu generalização da memória traumática para um ambiente semelhante ao ambiente traumático e diminuiu os parâmetros de interação social. Além disto, também foi observada uma hipotativação do eixo HPA, com atenuação dos níveis circulantes de corticosterona nos animais após as reexposições às situações de lembrança (Louvart *et al.*, 2005). Zhang *et al.* (2015) utilizaram-se desse mesmo modelo em camundongos, e seus resultados indicaram que choque inescapável nas patas, seguido de três situações de lembrança, aumentou as respostas de congelamento e ansiedade, com diminuição da porcentagem de entradas e de tempo nos braços abertos do LCE, assim como a evitação de ambientes semelhantes ao ambiente traumático inicial. Neste estudo ainda, a cetamina, um antagonista de receptores NMDA, apresentou efeitos terapêuticos, revertendo os comportamentos induzidos pelo modelo de TEPT citado.

Costa (2008) avaliou os efeitos comportamentais do modelo de TEPT proposto por Pynoos *et al.* (1996) em camundongos machos, utilizando a Caixa Claro-Escuro (CCE). Neste procedimento, os animais foram expostos a um evento aversivo (choque nas patas) no primeiro dia de teste, quando entraram no lado escuro (LE) da CCE. No sétimo, décimo quarto e vigésimo primeiro dia após o condicionamento, os animais foram reexpostos ao LE (ambiente onde o choque foi apresentado) ou lado claro (LC) da caixa (ambiente anterior a apresentação do evento aversivo). No vigésimo nono dia, os animais foram testados no LCE e no trigésimo quarto dia foram expostos novamente a CCE. Os resultados obtidos mostraram que um breve e único choque nas patas, seguido de situações de lembrança, induz alterações comportamentais por mais de um mês após o evento aversivo, e a reexposição às situações de lembrança no LC da CCE aumentos os parâmetros convencionais de ansiedade avaliados no LCE e no teste na CCE, sugerindo uma sensibilização comportamental induzida pelo modelo (Costa, 2008). Por outro lado, a exposição ao local onde o choque foi apresentado (LE) não resulta em aumento das respostas emocionais de defesa, sugerindo a ocorrência de extinção. Ainda, a sensibilização das respostas emocionais induzidas pela exposição às situações de lembrança é reduzida pela administração sistêmica de midazolam (agonista GABA-benzodiazepínico) ou de sertralina (inibidor seletivo de receptação de serotonina).

Assim, o modelo de TEPT com choque inescapável nas patas mostrou-se capaz de reproduzir as alterações comportamentais e fisiológicas do transtorno, e de responder ao uso de medicamentos utilizados no tratamento clínico, sugerindo que o modelo de TEPT para camundongos pode ser uma ferramenta útil no entendimento dos mecanismos subjacentes a este transtorno (Louvard *et al.*, 2005; Stam, 2007; Costa, 2008; Hendriksen, Olivier & Oosting, 2014).

## 5. ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

A influência do enriquecimento ambiental (EA) tem sido estudada em diversas espécies, como peixes (Roberts, Taylor & Leaniz, 2012), porcos (Douglas, Bateson, Walsh, Bedué, & Edwards, 2012), ursos (Anderson, Arun & Jensen, 2010), ratos (Simpson & Kelly, 2011), camundongos (Gross, Richter, Engel & Würbel, 2012) entre outras, e tem apresentado efeitos benéficos em diversos modelos animais de doenças do sistema nervoso e psicopatologias, como doença de Alzheimer, Parkinson, síndrome do X frágil, síndrome de Down e esquizofrenia (Nithianantharajah & Hannan, 2006; Pang & Hannan, 2013). A estimulação ambiental também tem sido estudada em humanos, para tratamento de pessoas com lesões cerebrais graves, tendo como resultado a regressão completa ou quase completa do quadro patológico (Izquierdo, 2011a).

O enriquecimento ambiental consiste na exposição de animais jovens ou adultos, por semanas ou meses, a ambientes ricos em estimulação sensorial, os quais proporcionam a apresentação de padrão comportamental variado, levando a efeitos comportamentais e neurobiológicos duradouros (Rosenzweig, Bennett & Diamond, 1972; Fernandez-Teruel *et al.*, 2002). Um ambiente enriquecido pode ser considerado como uma combinação de aumento de relações sociais, de exercícios físicos e interações com estímulos não-sociais que geram modificações comportamentais e neuronais (Leggio *et al.*, 2005). Segundo Harris, D'Eath e Healy (2009), o enriquecimento ambiental permite o contato dos animais com novos objetos e situações desafiadoras sem consequências aversivas, o que os permite lidarem melhor com a novidade.

De forma resumida, Hirase e Shinohara (2014) destacam três considerações sobre o enriquecimento ambiental: 1) são ambientes amplos, e possuem diferentes objetos, tais como brinquedos, tuneis e rodas de exercício, que promovem experiência motora e sensorial; 2) os objetos são trocados semanalmente, mantendo a curiosidade e alta exploração; e 3), os animais são alojados em grupo, promovendo a interação social.

Segundo Simpson e Kelly (2011), os procedimentos de enriquecimento ambiental apresentam variações quanto à duração, tamanho das caixas, objetos e idade no início do procedimento, dificultando a comparação dos resultados obtidos. Além disso, muitos estudos comparam os efeitos do enriquecimento ambiental com os do isolamento social, o que prejudica a identificação de seus reais efeitos, já que o próprio isolamento social resulta em alterações comportamentais.

De modo geral, diversos estudos indicam que animais expostos ao enriquecimento ambiental apresentam desempenho melhor em muitas tarefas, se comparados a animais criados em ambientes pobres em estimulação (para uma revisão, ver, Simpson & Kelly, 2011). Os resultados da exposição de animais a ambientes enriquecidos têm mostrado uma melhora na aprendizagem, principalmente espacial (Fernandez-Teruel *et al.*, 2002; Arnaiz *et al.*, 2004; Arnaiz *et al.*, 2006), na memória de curto prazo (Soffié, Hahn, Terão & Eclancher, 1999; Fernandez-Teruel *et al.*, 2002; Bruel-Jungerman, Laroche & Rampon, 2005), memória emocional (Woodcock & Richardson, 2000), resolução de problemas (Diamond, 2001; Fernandez-Teruel *et al.*, 2002) e prevenção do declínio cognitivo relacionado ao envelhecimento (Harati *et al.*, 2009; Blanco, Gon & Estanislau, 2012), apresentando ainda efeito antidepressivo (Brenes, Rodríguez & Fornaguera, 2008; Brenes, Padilla & Fornaguera, 2009) e ansiolítico (Benaroya-Milshtein *et al.*, 2004; Duman, Schlesinger, Russell & Duman, 2008).

Além disso, de acordo com Mitra e Sapolsky (2012), o enriquecimento ambiental favorece o aumento de comportamentos protetivos que são importantes para a sobrevivência da espécie, como evitação ao predador e avaliação de risco no teste de aversão ao odor do predador, resultando numa menor exposição desses animais ao perigo iminente, aumentando assim suas chances de sobrevivência.

Em relação às alterações neurobiológicas, o enriquecimento ambiental resulta em aumento da espessura do córtex cerebral e do tamanho dos neurônios (Rosenzweig *et al.*, 1972), favorece a neurogênese hipocampal, ramificação dendrítica e formação sináptica, reforço do potencial de longa duração e aumento da atividade central monoaminérgica e colinérgica (Van Praag, Kempermann & Gage, 2000; Hughes & Collins, 2010, Hirase & Shinohara, 2014). Andin, Hallbeck, Mohammed & Marcusson (2007) relataram também o aumento dos receptores de glutamato do tipo AMPA e NMDA no hipocampo, além de redução dos transportadores de glutamato, e Zhu *et al.* (2006) e Ickes *et al.* (2000), relataram que animais enriquecidos apresentam aumento no índice de BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*) no cerebelo, hipocampo dorsal (relacionado à memória espacial) e ventral (comportamento emocional) e em áreas corticais.

E ainda, de acordo com Sampedro-Piquero, Begega & Arias (2014), o EA resulta em aumento nos receptores de glicocorticoides no hipocampo, o que se relacionaria com uma melhor adaptação frente a estressores e estratégias mais ativas em situações ansiogênicas.

Benaroya-Milshtein, Hollander, Apter & Kukulansky (2004) avaliaram os efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento e níveis de corticosterona em camundongos expostos ao modelo de TEPT proposto por Pynoos *et al.* (1996), e sugerem que os animais enriquecidos são menos afetados pelo estresse. Larsson *et al.* (2002) e Hendriksen *et al.* (2010) também demonstraram que animais enriquecidos são mais resilientes a estressores fortes e se recuperam mais rapidamente dos efeitos do condicionamento aversivo e ainda, Hutchinson *et al.* (2012) afirmaram que o enriquecimento ambiental antes, durante ou após o procedimento de estresse crônico foi capaz de atenuar os déficits de aprendizagem espacial induzidos por este. Considerando as informações apresentadas, o presente trabalho levanta a hipótese de que o enriquecimento ambiental possa amenizar os efeitos do estresse induzido nos camundongos pelo modelo de TEPT.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos do enriquecimento ambiental nos comportamentos relacionados à ansiedade e memória em camundongos submetidos a um modelo de TEPT.

### 6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar a influência da estimulação aversiva nos comportamentos relacionados à ansiedade e memória em camundongos, por meio dos testes CCE, LCE e RO.

Verificar a influência de diferentes reexposições à situação de lembrança do evento traumático nos comportamentos relacionados à ansiedade e memória em camundongos.

Avaliar a influência do enriquecimento ambiental nos comportamentos relacionados à ansiedade e memória em camundongos, por meio dos testes CCE, LCE e RO.

Investigar os efeitos do enriquecimento ambiental no modelo de TEPT, com reexposições à situação de lembrança de diferentes durações.

## 7. MATERIAL E MÉTODO

### 7.1. SUJEITOS

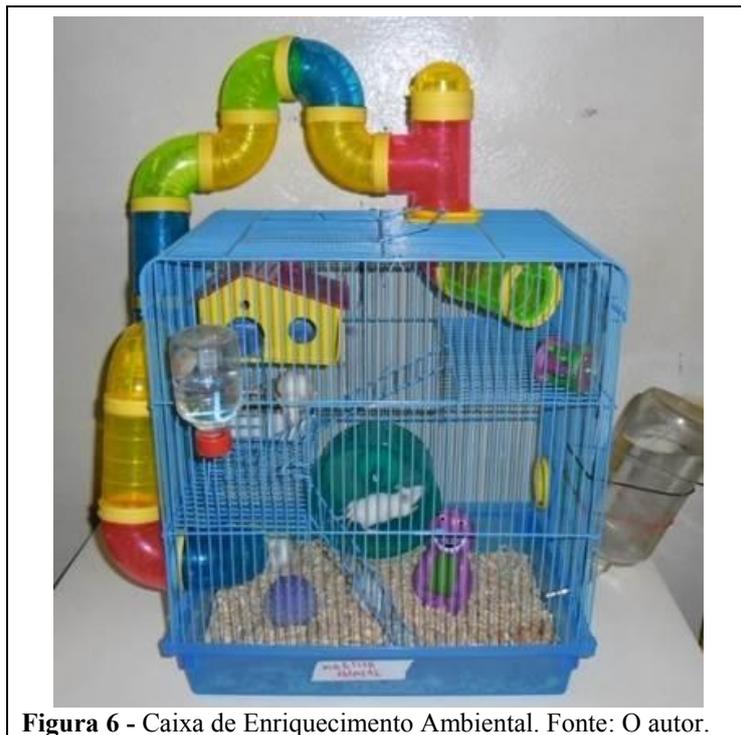
Foram utilizados 161 camundongos machos, da linhagem suíço-albino, com 21 dias de idade no início do experimento (imediatamente após o desmame), provenientes do biotério central da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, pesando entre 45-50 gramas no dia da estimulação aversiva. Os animais foram agrupados em caixas coletivas convencionais (41 x 34 x 16 cm) ou em caixas de ambiente enriquecido, 8-10 animais por caixa, mantidos em condições controladas de temperatura ( $24 \pm 1$  °C), umidade ( $55 \pm 5\%$ ), luz (ciclo claro/escuro de 12/12 horas, luzes acessas às 7:00 horas) e livre acesso ao alimento e água, exceto durante as sessões de teste.

A idade dos animais para início do experimento foi selecionada com base em estudos que demonstram que as experiências no primeiro mês de vida contribuem significativamente para o desenvolvimento posterior, por este ser um período bastante sensível (Simpson & Kelly, 2011).

### 7.2. EQUIPAMENTOS

#### 7.2.1. Enriquecimento ambiental

A caixa de enriquecimento ambiental (Figura 6) consistiu em uma caixa de metal, com medidas de 38 x 42,5 x 26 cm, e três andares interligados por escadas (importada por American Pets, Brasil). Internamente a caixa possuía tubos coloridos que davam acesso a diferentes partes da caixa, uma roda de exercícios, uma casa colorida, um bebedouro, 2 reservatórios para comida que eram colocados em diferentes locais da caixa. Semanalmente, dois diferentes objetos foram colocados no interior da caixa, sendo estes: bolas coloridas de diferentes tamanhos, peças de jogo de encaixe (tipo Lego®), animais de plástico, sinos, tubo, bola com pontas e escova com cerdas macias (modificado de Sztainberg & Chen, 2010; Simpson & Kelly, 2011).



**Figura 6** - Caixa de Enriquecimento Ambiental. Fonte: O autor.

### **7.2.2. Caixa Claro-Escuro (CCE)**

A CCE foi feita de acrílico escuro, medindo 60 x 47 x 29 cm (Insight®, Brasil), formada por um compartimento claro (28 x 47 x 29 cm) e um compartimento escuro (20 x 47 x 29 cm), interligados por uma porta do tipo guilhotina (7 x 7 cm). O assoalho dos compartimentos era formado por 35 barras de metal, estando as barras do compartimento escuro ligadas a um emissor de choque (Insight®, Brasil). No teto do lado claro encontrava-se uma lâmpada de LED de 275 lux, que podia ser acesa manualmente (Figura 7).



**Figura 7** - Caixa Claro-Escuro. Fonte: O autor.



**Figura 8** - Caixa Claro-Escuro Modificada. Fonte: O autor.

### 7.2.3. Caixa Claro-Escuro modificada (CCEm)

A CCEm (Figura 8) consistiu em uma caixa de madeira de 50 x 40 x 60 cm, formada por um compartimento claro (50 x 40 x 30 cm) e um escuro (50 x 40 x 30 cm), interligados por uma porta guilhotina (10 x 10cm). O compartimento claro possuía paredes com listras pretas verticais, sendo iluminado por uma lâmpada de aproximadamente 300 lux (adaptado de Bourin & Hascoet, 2003).

### 7.2.4. Labirinto em cruz elevado (LCE)

O LCE (Figura 9) consistiu em um labirinto de madeira em forma de cruz, com braços de 30 cm de comprimento por 5 cm de largura, unidos por uma plataforma central de 5 x 5 cm e paredes dos braços fechados com 15 cm de altura, permanecendo a 38,5 cm do solo (adaptado de Lister, 1987).



**Figura 9** - Labirinto em cruz elevado. Fonte: O autor.

### 7.2.5. Teste de memória de reconhecimento de objetos (RO)

Para o desenvolvimento do teste de reconhecimento de objetos, foi utilizado uma arena redonda de acrílico transparente (Insight®, Brasil), com 28 cm de diâmetro e 30 cm de altura (Figura 10). Os objetos consistiram de duas peças idênticas de metal, medindo 4 cm de altura e 3 cm de diâmetro (objetos A e B), e uma garrafa de vidro fumê, com 8,5 cm de altura e 3,5 cm de diâmetro (objeto C), apresentados na Figura 11 (adaptado de Akkerman *et al.*, 2012).



**Figura 10** - Arena. Fonte: O autor.

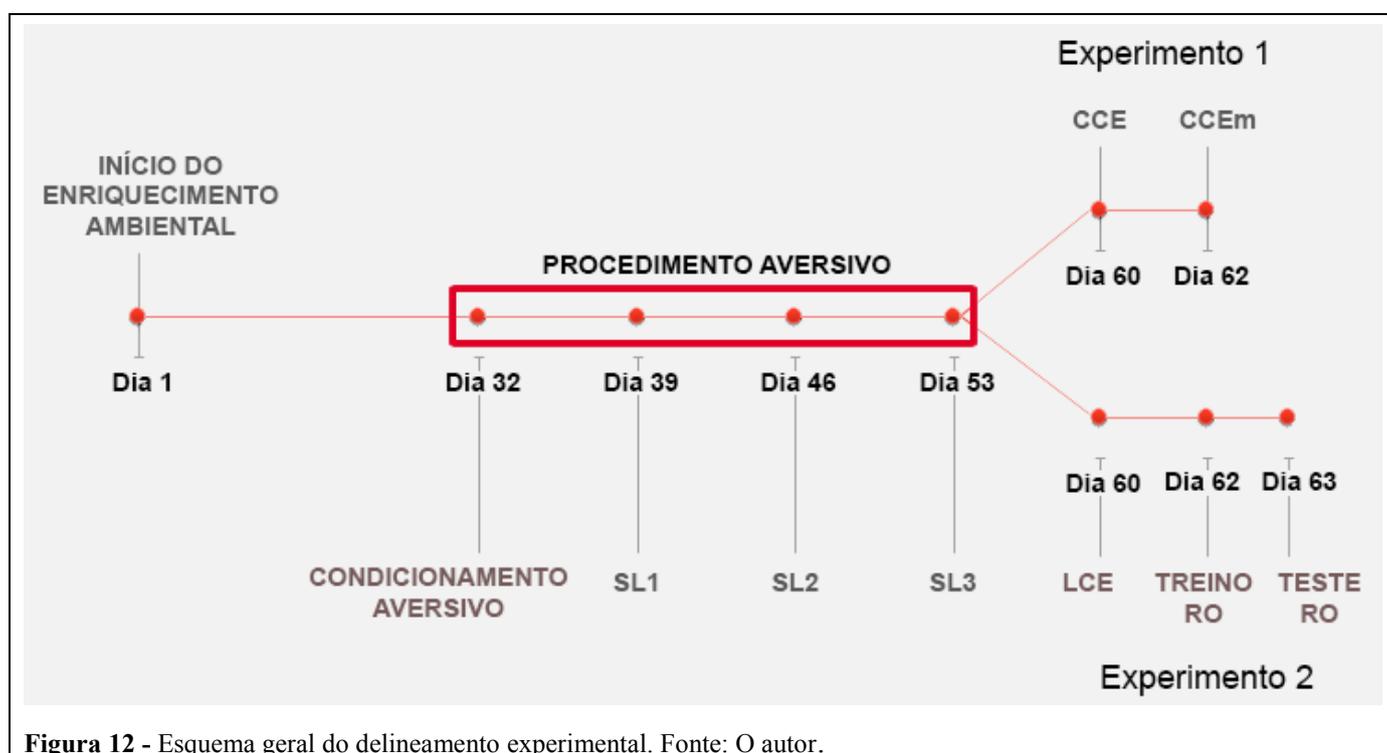


**Figura 11** - Objetos C, A e B, respectivamente, utilizados no teste RO. Fonte: O autor.

## 8. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi dividido em procedimento de enriquecimento ambiental, procedimento aversivo, com uma sessão de condicionamento aversivo e três sessões de reexposição à situação de lembrança (SL), Experimento 1, com testes de retenção e generalização da memória aversiva (CCE e CCEm) e Experimento 2, com testes de ansiedade (LCE) e de memória de reconhecimento (RO).

A Figura 12 abaixo apresenta um esquema geral do delineamento experimental.



**Figura 12** - Esquema geral do delineamento experimental. Fonte: O autor.

Ao final de cada sessão, os animais foram devolvidos para as respectivas caixas de alojamento, enriquecimento ambiental ou convencional, conforme estabelecido previamente. Em todos os testes, após a retirada de cada animal, o aparato foi limpo com solução de álcool 20%. Os objetos utilizados no teste RO foram limpos com solução de álcool 70%. Os testes foram conduzidos durante a fase clara do ciclo de luz (08h30 - 17h00), e todas as exposições foram filmadas para posterior análise, com o auxílio do software para registro comportamental X-PLO-RAT V.1.1.0, 2005 (Garcia, Cardenas & Morato, 2011).

### 8.1. ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL (EA)

Para o procedimento de enriquecimento ambiental, os animais foram divididos em dois grupos: animais não enriquecidos (NE) e animais enriquecidos (EA).

Os animais não enriquecidos (NE) foram alojados em caixas padrão (8-10 animais por caixa) e os animais com enriquecimento ambiental (EA) permaneceram alojados em caixas enriquecidas (8-10 animais por caixa) com tubos coloridos, roda de exercícios e casa colorida, mantidos constantes durante o experimento. Os outros objetos, tais como, bolas coloridas de diferentes tamanhos, peças de jogo de encaixe (tipo Lego®), animais de plástico, sinos, tubo, bola com pontas e escova com cerdas macias, foram trocados semanalmente (adaptado de Sztainberg & Chen, 2010; Simpson & Kelly, 2011, Blanco *et al.* 2012). Nos dois tipos de alojamento, NE e EA, os equipamentos foram limpos e a maravalha trocada três vezes por semana.

Antes do início do procedimento aversivo, os animais dos grupos NE e EA permaneceram por 32 dias alojados em suas respectivas caixas, conforme descrito acima, e as mesmas condições de alojamento foram mantidas durante a realização de todo o protocolo experimental, aproximadamente oito semanas.

### 8.2. PROCEDIMENTO AVERSIVO

Para a realização do procedimento aversivo, os animais foram divididos em: grupos que não receberam estimulação aversiva (sem choque- NESCH e EASCH) e grupos que receberam estimulação aversiva (com choque- NESSL, NE1MIN e NE10MIN e EASSL, EA1MIN e EA10MIN). O procedimento aversivo foi realizado na CCE, adaptado de Costa (2008)<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> No procedimento de Costa (2008), o condicionamento aversivo foi realizado com a apresentação de 10 choques de 0,3mA, ao longo de 10 segundos, com os animais pesando entre 28-33 gramas. As reexposições à SL tiveram duração de 2 minutos. Em função de estudos prévios realizados em nosso laboratório (dados não mostrados), no presente estudo utilizou-se um choque *scrambled* contínuo de 0,5 mA por 10 segundos, visto que os animais pesavam entre 45-50 gramas no dia do procedimento aversivo, e reexposições à SL por 1 ou 10 minutos, uma vez que com reexposições de 2 minutos ocorreu uma variabilidade comportamental bastante alta, e alguns animais já apresentaram possível extinção dos comportamentos.

### **8.2.1. Condicionamento aversivo – 32º dia**

No dia do condicionamento, os animais foram colocados individualmente no centro do compartimento escuro (LE) da CCE, onde permaneceram por 2 minutos. Após este período, a porta guilhotina foi aberta, permitindo que o animal explorasse o compartimento claro (LC) da caixa. A luminária do LC foi mantida apagada até a entrada do animal nesse compartimento. Quando o animal retornou ao compartimento escuro, a passagem foi novamente fechada, e então realizada a estimulação elétrica nas patas (choque *scrambled* contínuo de 0,5 mA por 10 segundos). Em seguida, o animal foi retirado do aparato e devolvido para a caixa de enriquecimento ambiental ou caixa convencional para agrupamento em colônia, de acordo com o grupo. Os animais do grupo SCH permaneceram por 10 segundos no LE da CCE, mas não receberam estimulação aversiva.

### **8.2.2. Procedimento de reexposição à Situação de Lembrança (SL) – 39º, 46º e 53º dias**

Nos dias 39, 46 e 53, os animais foram expostos ao LC do aparato por um (grupos NE1MIN e EA1MIN) ou dez minutos (NE10MIN e EA10MIN) com a passagem fechada e a luminária acesa. Passado esse tempo, o animal foi retirado do aparato. Os animais dos grupos NESCH, EASCH, NESSL e EASSL não passaram por reexposição à situação de lembrança.

A Tabela 1 a seguir apresenta uma síntese dos grupos formados durante todo o procedimento.

**Tabela 1**

Grupos experimentais formados durante o procedimento:

<b>Grupos</b>	<b>Enriquecimento ambiental (EA)</b>	<b>Choque</b>	<b>Situação de lembrança (SL)</b>	<b>Número de sujeitos Experimento 1</b>	<b>Número de sujeitos Experimento 2</b>	<b>Número total de sujeitos</b>
<b>NESCH</b>	Não	Não	Não	9	11	20
<b>EASCH</b>	Sim	Não	Não	11	11	22
<b>NESSL</b>	Não	Sim	Não	9	11	20
<b>EASSL</b>	Sim	Sim	Não	9	11	20
<b>NE1MIN</b>	Não	Sim	1 minuto	10	9	19
<b>EA1MIN</b>	Sim	Sim	1 minuto	10	11	21
<b>NE10MIN</b>	Não	Sim	10 minutos	10	11	21
<b>EA10MIN</b>	Sim	Sim	10 minutos	8	10	18

Fonte: O autor.

Sete dias após a última reexposição à SL, os animais foram submetidos a apenas uma das sequencias de experimentos: Experimento 1: teste de memória aversiva na CCE e de generalização da memória aversiva na CCEm, ou Experimento 2: teste de sensibilização comportamental no LCE e de memória de reconhecimento de objetos (RO).<sup>3</sup>

### 8.3. EXPERIMENTO 1:

#### 8.3.1. Experimento 1A- Teste de memória aversiva na CCE – 60º dia

Sete dias após a última SL, os animais do Experimento 1 foram individualmente colocados no centro do compartimento claro da caixa (com a luz acesa e passagem entre

<sup>3</sup> Os experimentos foram divididos em duas sequencias, pois segundo Ribeiro, Ferreira, Costa e Costa (2010), Ribeiro (2010) e estudos prévios realizados em nosso laboratório (dados não mostrados), a pré exposição ao LCE resultou em alterações nos comportamentos avaliados no CCE, assim como a exposição prévia a CCE também resultou em alteração das respostas apresentadas no LCE.

compartimentos aberta) com a cabeça voltada para a abertura de passagem, permitindo a exploração do ambiente por 5 minutos no aparato. As medidas comportamentais avaliadas foram latência: de entrada no LE (tempo que o animal levou do momento em que foi colocado no compartimento claro até a primeira passagem com as quatro patas para o lado escuro), tempo de permanência no LE (tempo total que o animal permaneceu com as 4 patas no lado escuro) e total de entradas no LE (número total de vezes que o animal entrou com as 4 patas no ambiente escuro), assim como outros comportamentos como autolimpeza (limpar qualquer superfície corporal com a língua, dentes ou patas dianteiras), imobilidade (ausência de movimentos corporais, com exceção de movimentos respiratórios), total de levantamentos (elevação do corpo sobre as patas traseiras) e de esticar (*stretch attend posture*, movimentos de esticar o corpo e retornar a posição inicial) no lado claro do aparato (Cruz, Frei & Graeff, 1994; Rodgers & Johnson, 1995; Bourin & Hascoet, 2003). De acordo com Bourin e Hascoet (2003) o aumento da entrada no lado claro da CCE, assim como aumento da atividade nesse compartimento relaciona-se a um efeito ansiolítico.

### **8.3.2. Experimento 1B- Teste de generalização da memória aversiva na CCEm – 62º dia**

No 62º dia, quarenta e oito horas após o teste na CCE, os animais do Experimento 1 foram individualmente colocados no centro do LC da CCEm (com a luz acesa e passagem entre compartimentos aberta) com a cabeça voltada para a abertura de passagem, tendo seus comportamentos registrados por cinco minutos. Em seguida os animais foram retirados do aparato.

Durantes o teste, foram observadas a latência de entrada no LE, o tempo de permanência e total de entradas no LE.

## 8.4. EXPERIMENTO 2

### 8.4.1. Experimento 2A- Avaliação da ansiedade no LCE- 60º dia

Sete dias após a última reexposição a SL, os animais do Experimento 2 foram colocados individualmente no centro do LCE, com a cabeça voltada para um dos braços abertos, tendo seus comportamentos registrados por 5 minutos.

Os parâmetros avaliados incluíram as seguintes medidas comportamentais: total de entradas nos braços fechados (EBF, quando o animal entrou com as 4 patas em um dos braços fechados), porcentagem de entrada nos braços abertos (%EBA, calculada pelo total de EBA/total de entradas em todos os braços\*100), porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (%TBA, calculada pelo TBA/dividida por 300\*100), frequência total de levantamentos (elevação do corpo sobre as patas traseiras), esticar (*stretch attend posture-SAP*, quando o animal estica o corpo e retorna a posição inicial, sem locomoção), frequência total de mergulhos (*head dipping*, movimentos exploratórios com a cabeça em direção ao solo) e de mergulhos desprotegidos (realizados nos braços abertos do labirinto) e tempo total em imobilidade (ausência de movimentos do corpo, com exceção de movimentos respiratórios) (Lister, 1990; Cruz, Frei & Graeff, 1994; Rodgers & Johnson, 1995; Carobrez & Bertoglio, 2005; Tabach, 2011). De acordo com Rodgers, Cao, Dalvi e Holmes (1997), a % de EBA e %TBA correspondem a medidas de ansiedade no LCE, o esticar (SAP) a avaliação de risco, enquanto os índices de EBF e mergulhos avaliam atividade locomotora e exploratória, respectivamente.

### 8.4.2. Experimento 2B- Teste de memória de reconhecimento de objetos- 62º dia

Vinte e quatro horas após o LCE, os animais do Experimento 2 foram submetidos ao teste de memória de reconhecimento de objetos, um teste de memória não aversiva, que se baseia na tendência do animal a explorar mais o objeto novo do que o familiar, que foi composto por uma sessão de habituação ao aparato, uma sessão de treino e uma sessão de teste.

Na sessão de habituação, os animais foram colocados individualmente no centro da arena, sem nenhum objeto, onde permaneceram por 10 minutos explorando livremente o ambiente. Vinte e quatro horas após a sessão de habituação, na sessão de treino, os animais

foram colocados individualmente na arena, com o focinho voltado para a parte posterior da arena, com os objetos A e B dispostos paralelamente, onde permaneceram por 10 minutos. A sessão de teste foi realizada vinte e quatro horas após a sessão de treino, sendo o animal colocado na parte posterior da arena, com os objetos A e C dispostos paralelamente para exploração por 10 minutos (Braidá *et al.*, 2013; Kazlauckas *et al.*, 2011).

Para a análise do teste, utilizou-se como medidas a porcentagem de tempo em contato com os objetos A (%TA) e B (%TB) no dia do treino, a porcentagem de tempo em contato com o objeto A (%TA) e C (%TC) no dia do teste e o índice de discriminação  $d1$  ( $d1=TC/TA+TC$ ) (Akkerman *et al.*, 2012).

## 9. ÉTICA

Os experimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de São Carlos- UFSCar (CEUA-UFSCar), protocolo CEUA nº 010/2012 e estão de acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

## 10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos na CCE no dia do condicionamento aversivo e a porcentagem de tempo no teste de RO foram submetidos ao teste  $t$  de Student para amostras independentes.

Os resultados da porcentagem de tempo em imobilidade durante as reexposições à SL foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para medidas repetidas.

Os resultados dos testes da CCE, CCEm, LCE e o índice de discriminação do teste RO foram submetidos a análise de variância (ANOVA) de dois fatores (fator1: alojamento x fator 2: procedimento aversivo).

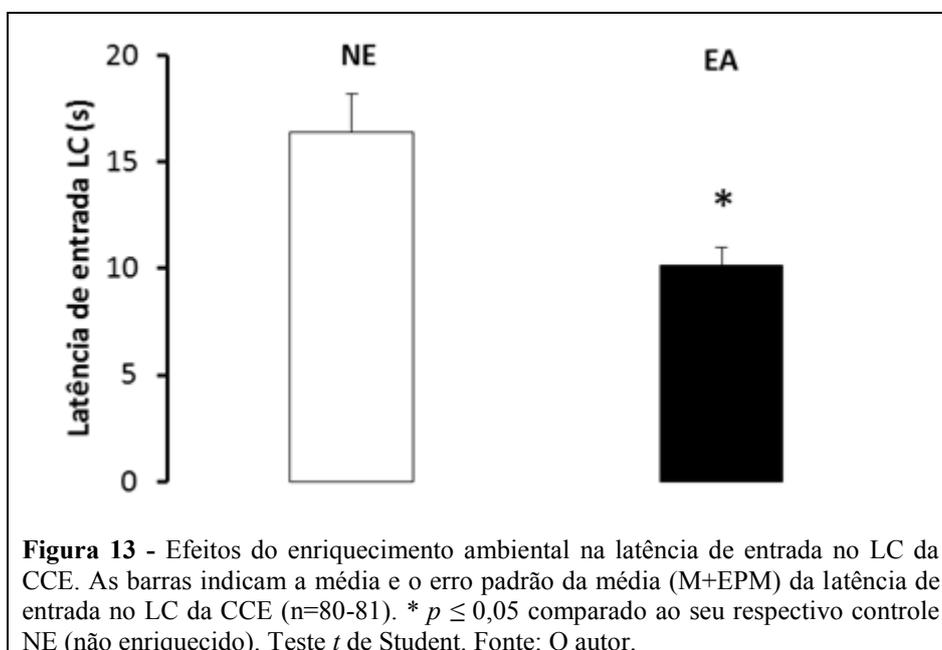
Os valores de  $p$  menores ou iguais a 0,05 foram considerados significativos. Quando os valores de  $p$  foram significativos, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Duncan.

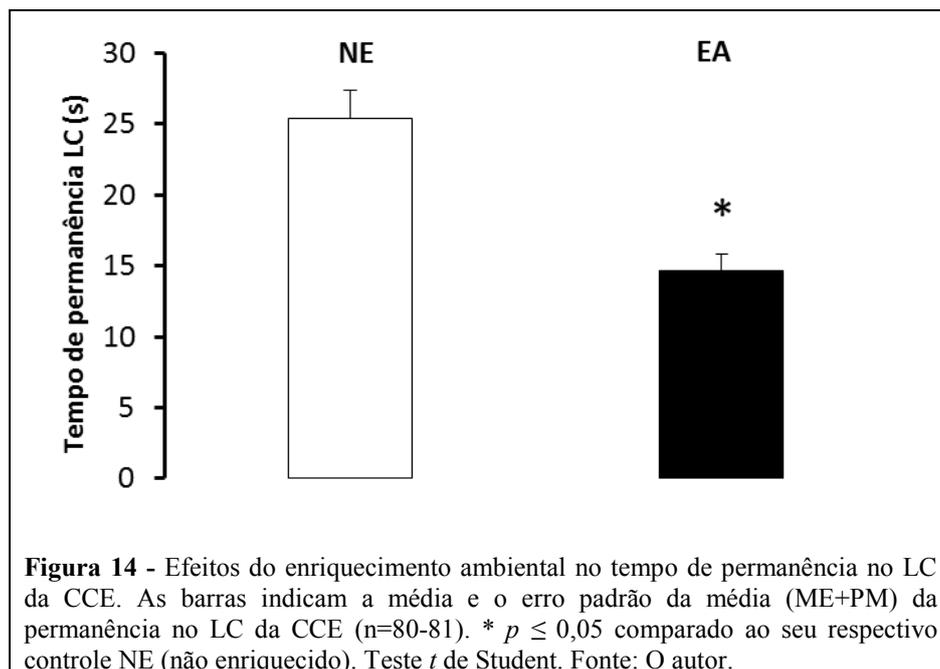
## 11. RESULTADOS

Os resultados são apresentados da seguinte forma: inicialmente apresentam-se os resultados de latência de entrada e permanência no LC da CCE no 32º dia do procedimento (condicionamento aversivo, anterior ao choque) e a porcentagem de tempo em imobilidade durante as reexposições à situação de lembrança (39º, 46º e 53º dias). Após, são descritos os resultados do Experimento 1: teste de retenção da memória aversiva na CCE [60º dia] e de generalização da memória aversiva na CCEm [62º dia] e do Experimento 2: teste de ansiedade no LCE [60º dia] e de memória de reconhecimento de objetos [62º dia]).

### 11.1. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA LATENCIA DE ENTRADA E PERMANÊNCIA NO LC DA CCE NO 32º DIA DO PROCEDIMENTO

As Figuras 13 e 14 apresentam os comportamentos avaliados na CCE, no 32º dia do procedimento (condicionamento aversivo), durante o período anterior a apresentação do choque.





A Figura 13 apresenta o efeito do enriquecimento ambiental sobre a latência de entrada no LC da CCE. O teste  $t$  de Student mostrou que os animais enriquecidos apresentaram redução na latência de entrada no LC quando comparados aos animais não enriquecidos [ $t_{(159)} = 3,18, p < 0,05$ ].

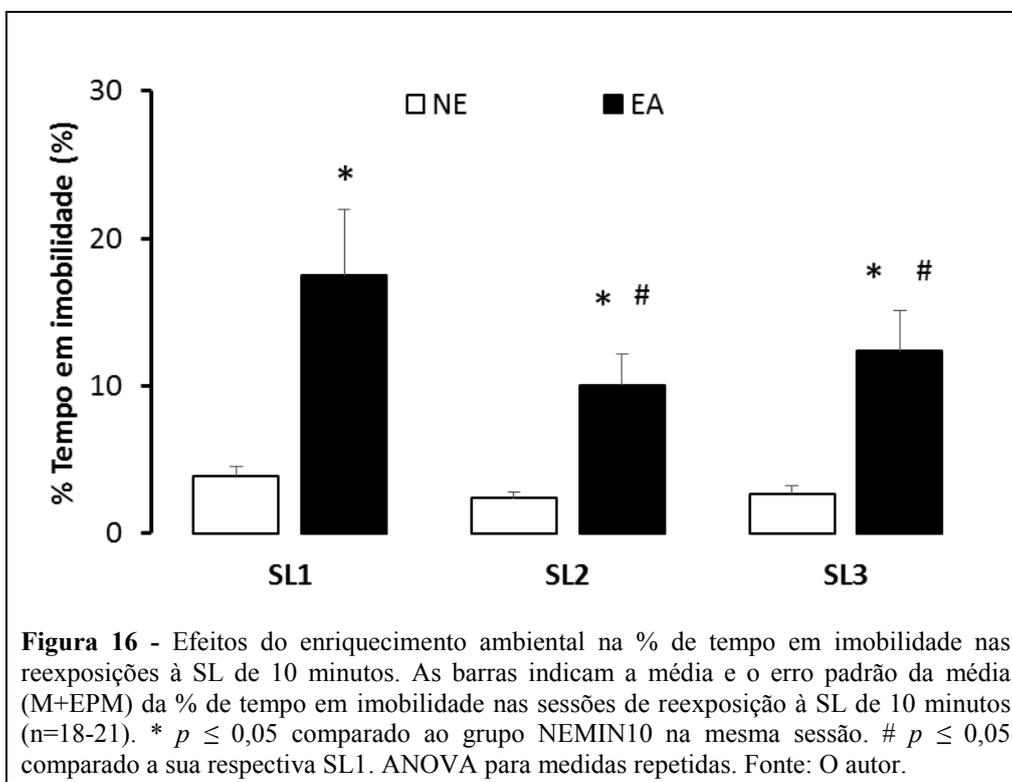
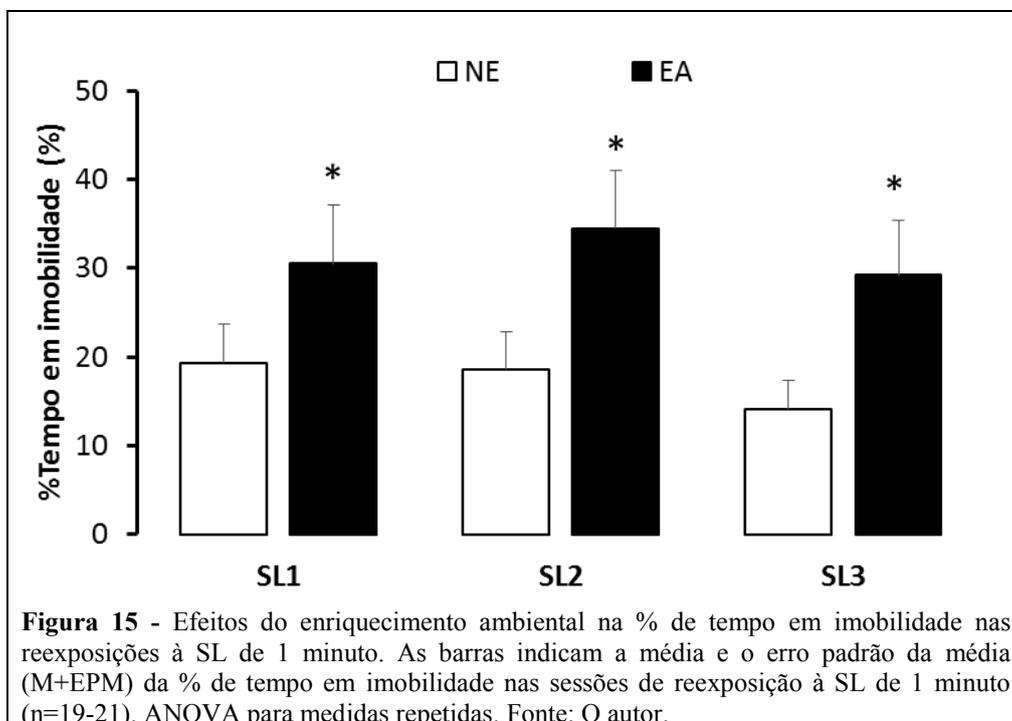
A Figura 14 apresenta o efeito do enriquecimento ambiental sobre o tempo de permanência no LC da CCE. O teste  $t$  de Student mostrou que os animais enriquecidos permaneceram menos tempo no LC que os animais não enriquecidos [ $t_{(159)} = 4,64, p < 0,05$ ].

## 11.2. AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO AVERSIVA E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA IMOBILIDADE DURANTE AS REEXPOSIÇÕES À SL

As Figuras 15 e 16 apresentam a porcentagem de tempo em imobilidade durante as reexposições à SL de 1 e 10 minutos.

A Figura 15 apresenta a porcentagem de tempo em imobilidade dos grupos NE1MIN e EA1MIN durante as sessões de reexposição à SL de 1 minuto. A ANOVA para medidas repetidas mostrou efeito do alojamento [ $F(1,38) = 4,23, p < 0,05$ ], indicando que os animais EA1MIN apresentam maior tempo em imobilidade do que os animais NE1MIN. Em relação

às reexposições, não houve alteração do tempo em imobilidade ao longo das sessões [F(2,76) = 1,17,  $p > 0,05$ ]



A Figura 16 apresenta a porcentagem de tempo em imobilidade dos grupos NE10MIN e EA10MIN durante as sessões de reexposição à SL de 10 minutos. A ANOVA para medidas repetidas mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,37)}=15,06, p<0,05$ ] na porcentagem de tempo em imobilidade nas sessões de reexposição à SL de 10 minutos. De acordo com o teste de Duncan, o grupo EA10MIN apresenta maior tempo em imobilidade na SL1, SL2 e SL3, e ainda, o grupo EA10MIN apresentou redução no tempo total de imobilidade nas SL2 e SL3 em comparação à SL1 [ $F_{(2,74)}=5,74, p<0,05$ ]

Assim, os animais EA10MIN apresentam maior tempo de imobilidade do que o grupo NE10MIN, em todas as sessões de reexposição. E ainda, nos animais EA, houve redução no tempo total de imobilidade ao longo das reexposições.

### 11.3. EXPERIMENTO1: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA MEMÓRIA TRAUMÁTICA EM CAMUNGONGOS

#### 11.3.1. Experimento 1A- Teste de memória na caixa claro/escuro (CCE)

As Figuras 17, 18 e 19 apresentam os efeitos do procedimento aversivo e enriquecimento ambiental nos comportamentos avaliados no teste de memória na CCE.

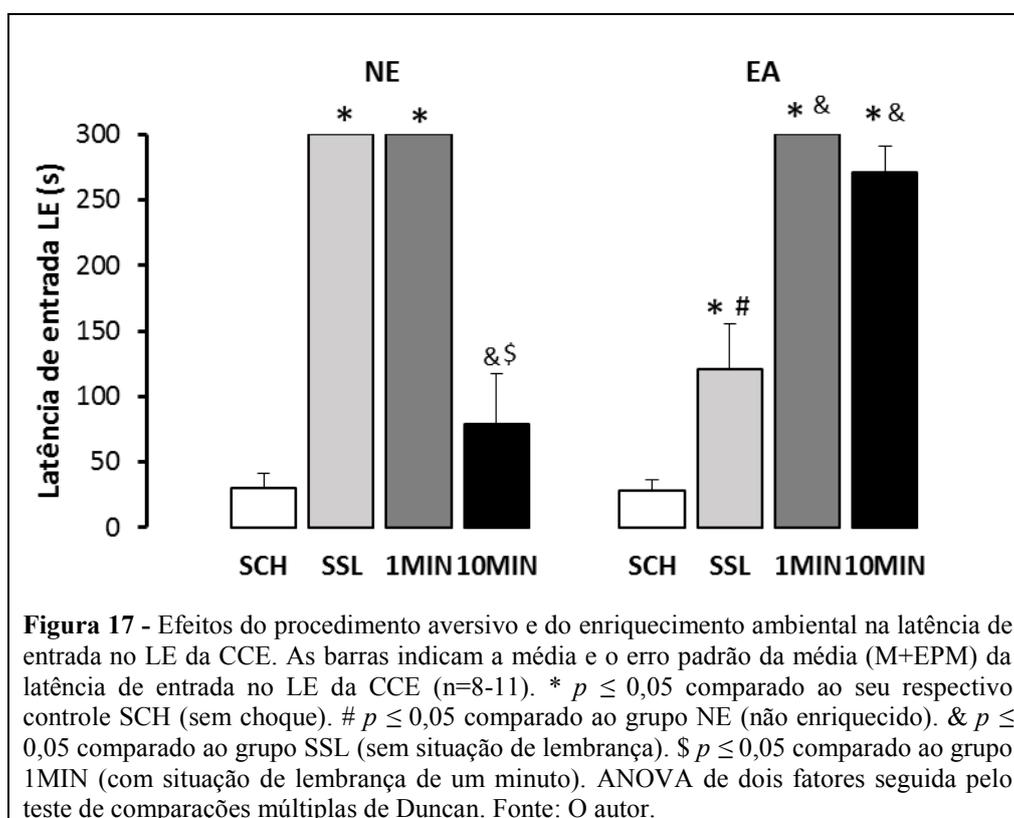
A Figura 17 apresenta o efeito procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental sobre a latência de entrada no LE da CCE em camundongos. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do procedimento aversivo [ $F(3,68)=66,54, p<0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F(3,68)=27,28, p<0,05$ ], sem demonstrar efeito do alojamento [ $F(1,68)=0,03, p>0,05$ ], na latência de entrada no LE da CCE.

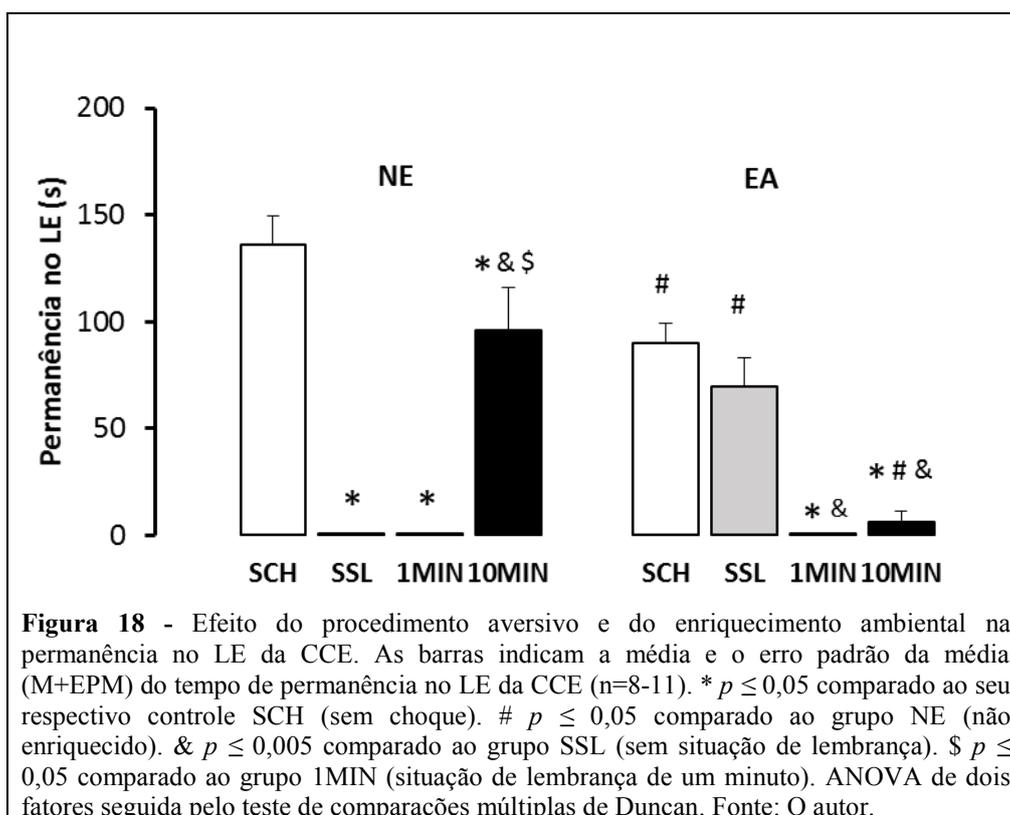
De acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan, o grupo NESSL e NE1MIN apresentaram aumento da latência de entrada no LE quando comparados ao grupo NESCH mostrando o efeito do choque e da reexposição à SL por um minuto nesse parâmetro comportamental.

O grupo NE10MIN apresentou redução da latência de entrada no LE quando comparado aos grupos NESSL e NE1MIN, demonstrando que a reexposição à SL por 10 minutos reduziu este parâmetro comportamental.

Os grupos EASSL, EA1MIN e EA10MIN apresentaram aumento na latência de entrada no LE quando comparados ao grupo EASCH, mostrando o efeito do choque e das reexposições à SL por um e 10 minutos. Além disso, a estimulação ambiental promoveu aumento na latência de entrada no LE nos grupos EA1MIN e EA10MIN quando comparados ao grupo EASSL.

O grupo EASSL apresentou redução na latência de entrada no LE quando comparado ao grupo NESSL, e ainda, o grupo EA10MIN apresentou aumento da latência de entrada no LE quando comparado ao grupo NE10MIN.





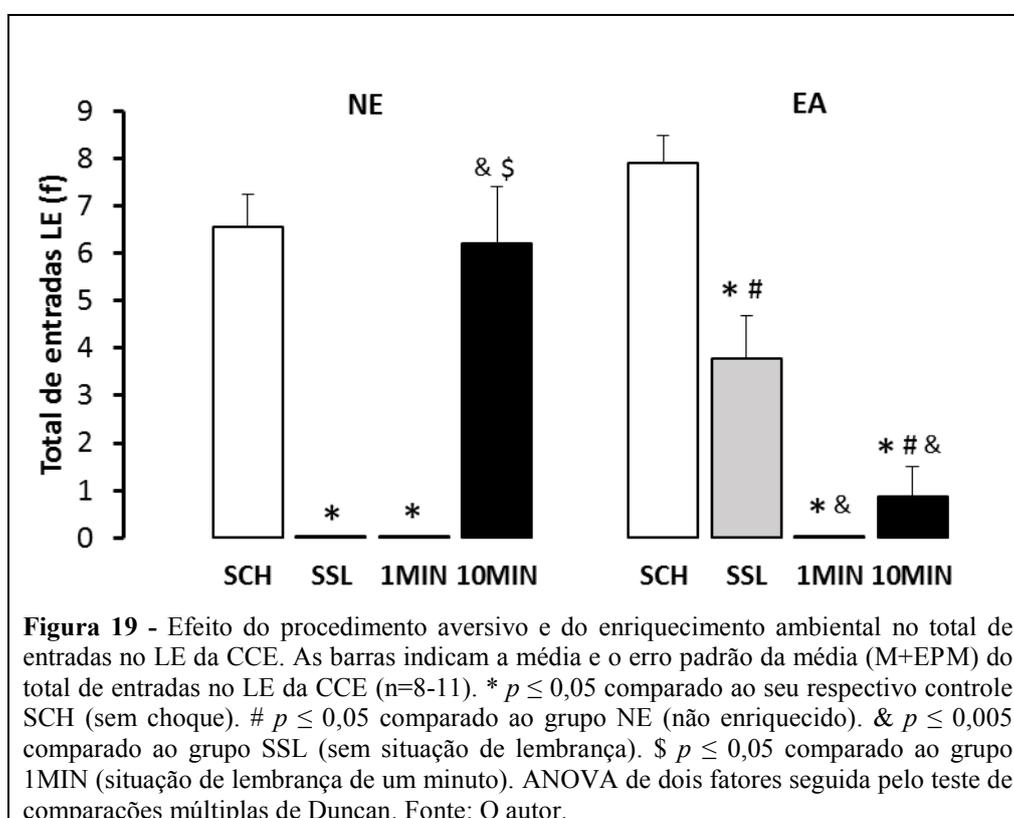
A Figura 18 exhibe o efeito do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo no tempo total de permanência no LE da CCE. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,68)} = 4,96$ ,  $p < 0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 42,10$ ,  $p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 19,89$ ,  $p < 0,05$ ] na latência de entrada no LE da CCE.

De acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan, os grupos NESSL, NE1MIN e NE10MIN apresentaram redução no tempo de permanência no LE, demonstrando o efeito do choque e das reexposições à SL por um ou 10 minutos neste parâmetro comportamental. O grupo NE10MIN apresentou aumento na permanência no LE quando comparado aos grupos NESSL e NE1MIN.

Nos grupos enriquecidos, os grupos EA1MIN e EA10MIN apresentaram diminuição do tempo total de permanência quando comparados ao grupo EASCH, demonstrando o efeito do choque com reexposições à SL por um ou 10 minutos nesse parâmetro comportamental. O grupo EASSL não apresentou diferença na permanência no LE quando comparado ao grupo EASCH.

O grupo EASCH apresentou menor permanência no LE do que o grupo NESCH, sugerindo que, na ausência do choque, o enriquecimento ambiental reduziu a ansiedade dos animais. O grupo EASSL apresentou aumento na permanência no LE quando comparado ao grupo NESSL, sugerindo que o enriquecimento ambiental ameniza o efeito do choque nesse parâmetro comportamental. O grupo EA10MIN apresentou redução na permanência no LE quando comparado ao grupo NE10MIN.

O grupo EASSL apresentou aumento do total de entradas quando comparado ao grupo NESSL, e o grupo EA10MIN apresentou redução do total de entradas no LE quando comparado ao grupo NE10MIN.



A Figura 19 mostra o efeito do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo no total de entradas do LE da CCE. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 45,11, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 16,06, p < 0,05$ ], sem mostrar efeito significativo do alojamento [ $F_{(1,68)} = 0,01, p > 0,05$ ] no total de entradas no LE da CCE.

De acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan, os grupos NESSL e NE10MIN apresentaram redução do total de entradas no LE quando comparados ao grupo

NESCH, indicando o efeito do choque e das reexposições à SL por um minuto neste parâmetro comportamental. O grupo NE10MIN apresentou aumento no total de entradas quando comparado aos grupos NESSL e NE1MIN, indicando que a reexposição à SL por 10 minutos reverteu os efeitos do choque e da reexposição à SL por 1 minuto.

Nos grupos enriquecidos, os grupos EASSL, EA1MIN e EA10MIN apresentaram redução no total de entradas no LE quando comparados ao grupo EASCH, indicando o efeito do choque e das reexposições à SL por um ou 10 minutos. Os grupos EA1MIN e EA10MIN apresentaram redução no total de entradas quando comparados ao grupo EASSL.

A Tabela 2 apresenta outras medidas comportamentais exibidas pelos animais no LC da CCE no dia do teste:

**Tabela 2**

Efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental em outras medidas comportamentais apresentadas no LC da CCE

Comportamentos	NE				EA			
	SCH	SSL	1MIN	10MIN	SCH	SSL	1MIN	10MIN
<b>Esticar</b>	5,3±0,6	1,8±0,5	3,5±0,9	5,6±2,4	2,9±0,4	3,5±0,7	6,3±1,8	<b>8,4±1,9* &amp;</b>
<b>Levantar</b>	11,6±1,5	<b>3,6±1,3*</b>	<b>1,7±0,7*</b>	7,8±1,4	<b>21±2,2#</b>	<b>21±3,6#</b>	<b>10,8±3,1#* &amp;</b>	<b>10,7±2,6* &amp;</b>
<b>Imobilidade</b>	0±0	<b>105,1±18,8*</b>	<b>70,2±14,2*</b>	<b>2,5±0,9 &amp; \$</b>	0,9±0,4	<b>14,±5,8#</b>	64,3±18,6* &	<b>49,6±1,4#* &amp;</b>
<b>Autolimpeza</b>	2,2±0,8	2,2±1,0	1,6±0,5	<b>8,6±1,4* &amp; \$</b>	3,4±0,8	2,0±1,7	3,0±1,0	<b>16,9±4,7#* &amp; \$</b>

Tabela 2. Os valores representam a média e erro padrão da média (M±EPM) das outras medidas comportamentais apresentadas no LC da CCE no dia do teste (n=8-11). \*  $p \leq 0,05$  comparado ao seu respectivo controle SCH (sem choque). #  $p \leq 0,05$  comparado ao grupo NE (não enriquecido). &  $p \leq 0,05$  comparado ao grupo SSL (sem situação de lembrança). \$  $p \leq 0,05$  comparado ao grupo 1MIN (situação de lembrança de um minuto). ANOVA de dois fatores seguida pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Fonte: O autor.

Conforme apresentado na Tabela 2, para a frequência total de esticar, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 3,30, p < 0,05$ ], sem mostrar efeito significativo do alojamento [ $F_{(1,68)} = 1,53, p > 0,05$ ] nem da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 1,67, p > 0,05$ ]. Segundo o teste de comparações múltiplas de Duncan, o grupo EAMIN10 apresentou aumento no total de esticar quando comparado ao grupo EASCH e EASSL.

Para a frequência total de levantamentos, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,68)} = 33,12, p < 0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 6,85, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 2,96, p < 0,05$ ].

Segundo o *post hoc* de Duncan, os grupos NESSL e NEMIN1 apresentaram redução no total de levantamentos quando comparados ao grupo NESCH, indicando o efeito do choque e das reexposições à SL por um minuto no comportamento exploratório. Os grupos EA1MIN e EA10MIN apresentaram redução do total de levantamentos quando comparados aos grupos EASCH e EASSL, indicando o efeito do choque com reexposições à SL por um ou 10 minutos nesse parâmetro comportamental. Os grupos EASCH, EASSL e EA1MIN apresentaram aumento no total de levantamentos quando comparados aos respectivos grupos NESCH, NESSL e NE1MIN.

Quanto à imobilidade, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 12,65, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 10,05, p < 0,05$ ], sem mostrar efeito significativo do alojamento [ $F_{(1,68)} = 1,88, p > 0,05$ ].

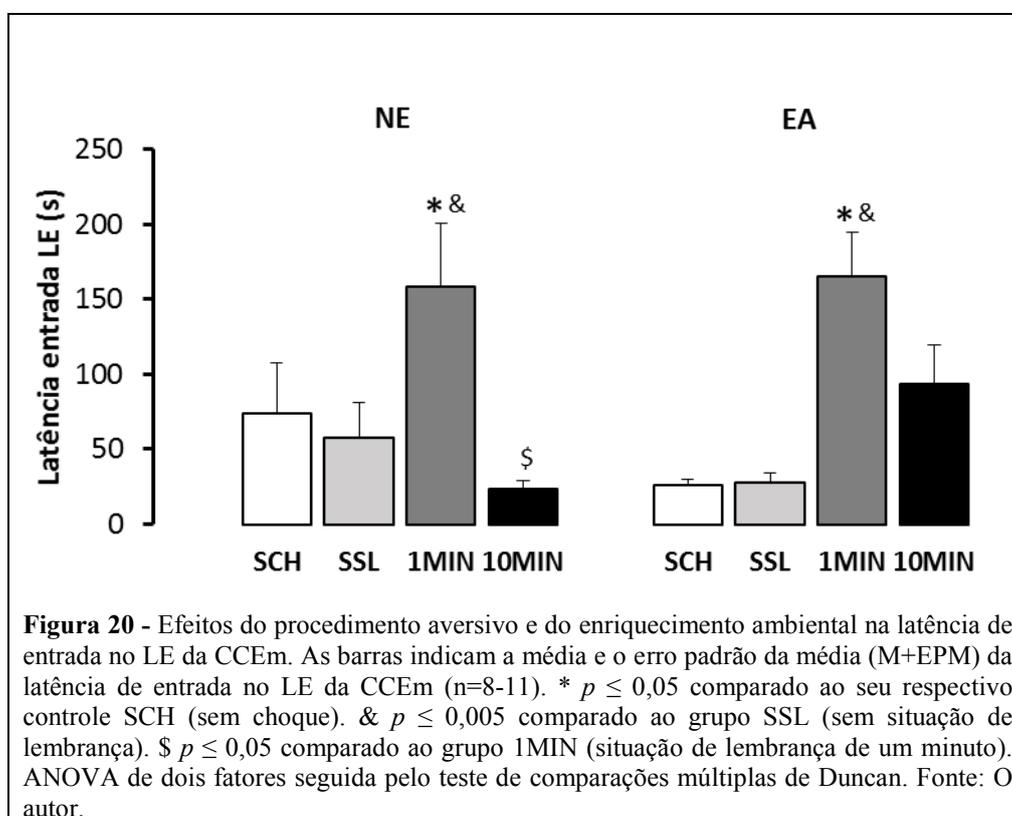
Segundo o *post hoc*, os grupos NESSL e NE1MIN apresentaram aumento no tempo total de imobilidade quando comparados ao grupo NESCH, demonstrando o efeito do choque e das reexposições à SL por um minuto nesse parâmetro comportamental. Os grupos EA1MIN e EA10MIN apresentaram aumento na imobilidade quando comparados ao grupo EASCH e EASSL, demonstrando o efeito do choque com SL de um ou 10 minutos nesse parâmetro.

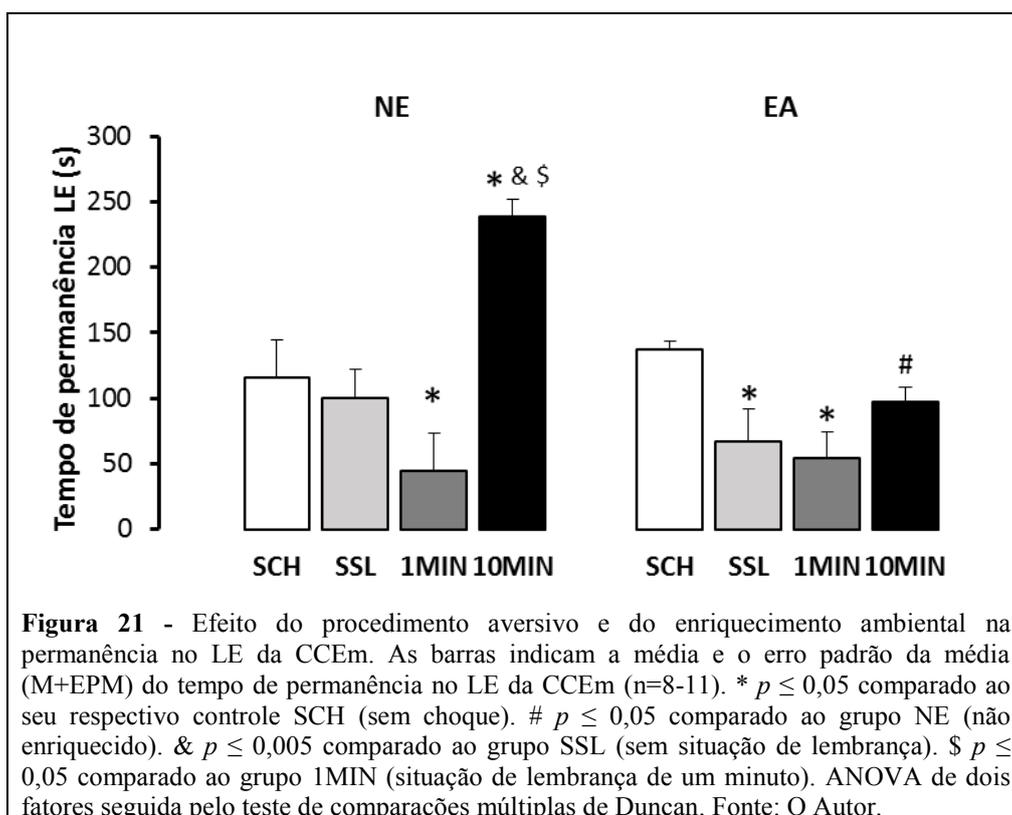
O grupo EASSL apresentou redução no tempo total de imobilidade quando comparado ao grupo NESSL, sugerindo que o enriquecimento ambiental, na ausência de SL, diminuiu esse parâmetro comportamental. O grupo EA10MIN apresentou aumento no tempo total de imobilidade quando comparado ao grupo NE10MIN.

Em relação à autolimpeza, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,68)} = 3,92, p=0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 14,12, p<0,05$ ] mas não da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 1,87, p>0,05$ ] no tempo total de autolimpeza. De acordo com o teste de Duncan, o grupo NE10MIN apresentou aumento o no tempo total de autolimpeza quando comparado aos grupos NESCH, NESSL e NE1MIN. O grupo EA10MIN apresentou aumento no tempo total de autolimpeza quando comparado aos grupos EASCH, EASSL e EA1MIN. Quando comparados entre si, o grupo EA10MIN apresentou maior tempo de autolimpeza do que o grupo NE10MIN.

### 11.3.2. Experimento 1B- Teste de generalização da memória aversiva na caixa claro/escuro modificada (CCEm)

As Figuras 20, 21 e 22 apresentam os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental e do procedimento aversivo nos comportamentos avaliados no teste de generalização da memória na CCEm.





A Figura 20 mostra o efeito do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na latência de entrada no LE da CCEM. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 10,25, p < 0,05$ ], sem mostrar efeito significativo do alojamento [ $F_{(1,68)} = 0,00, p > 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 2,09, p > 0,05$ ], na latência de entrada no LE da CCEM

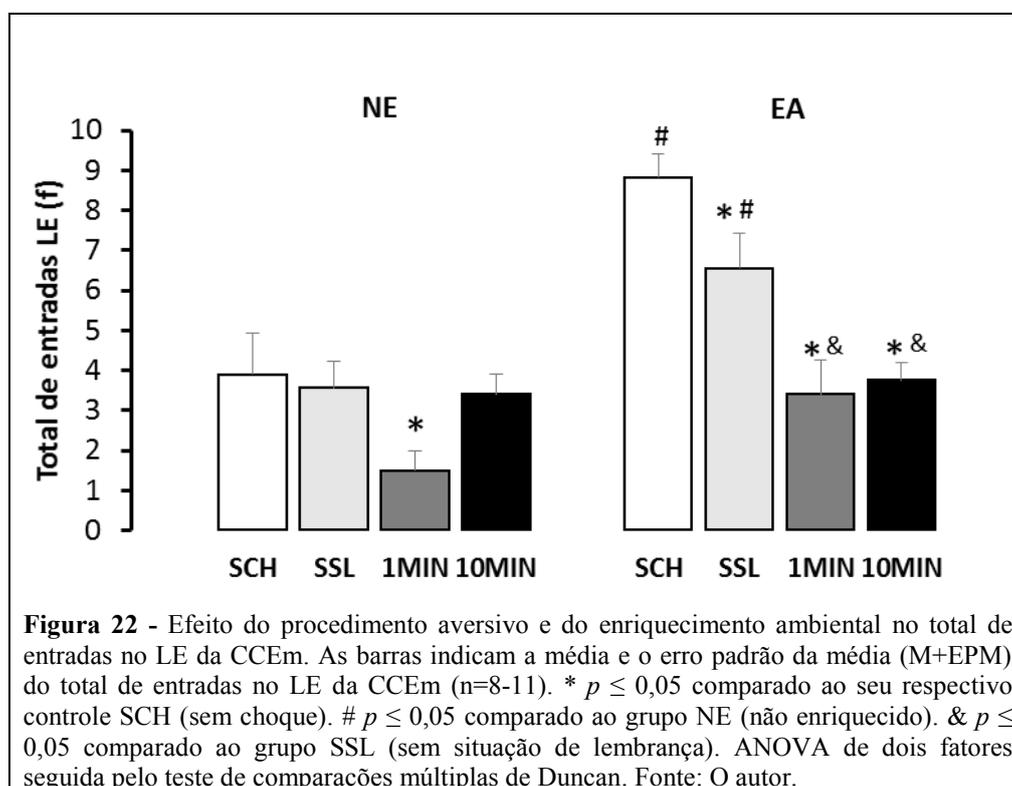
De acordo com o teste de comparação múltiplas de Duncan, os grupos NEMIN1 e EAMIN1 apresentaram aumento da latência de entrada no LE quando comparados aos respectivos grupos NESCH e NESSL, EASCH e EASSL, sugerindo que os animais com reexposição à SL por um minuto evitaram a entrada no LE da CCEM, generalizando esse comportamento para um ambiente com características semelhantes ao ambiente aversivo. O grupo NE10MIN apresentou redução na latência de entrada quando comparado ao grupo NE1MIN.

A Figura 21 exibe o efeito do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na permanência no LE da CCE Modificada. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,68)} = 6,05, p < 0,05$ ], do

procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 12,24, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 6,26, p < 0,05$ ] na latência de entrada no LE da CCEm.

Segundo o *post hoc*, o grupo NE1MIN apresentou redução na permanência no LE quando comparado ao grupo NESCH, demonstrando o efeito do choque com SL de um minuto. O grupo NE10MIN apresentou aumento na permanência no LE da CCEm quando comparado aos grupos NESCH, NESSL e NE1MIN, demonstrando o efeito das reexposições à SL por 10 minutos.

Os grupos EAMIN1 e EASSL apresentaram redução na permanência no LE da CCEm quando comparado ao grupo EASCH, demonstrando o efeito do choque e das reexposições à SL por um minuto neste parâmetro. O grupo EA10MIN apresentou redução na permanência no LE quando comparado ao grupo NE10MIN.



A Figura 22 expõe o efeito do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental no total de entradas do LE da CCEm. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,68)} = 25,78, p < 0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 12,06, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,68)} = 3,70, p < 0,05$ ] no total de entradas no LE da CCEm.

De acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan, o grupo NE1MIN apresentou redução no total de entradas no LE quando comparado aos grupos NESCH, NESSL e NE10MIN, indicando o efeito do choque com reexposição à SL por um minuto.

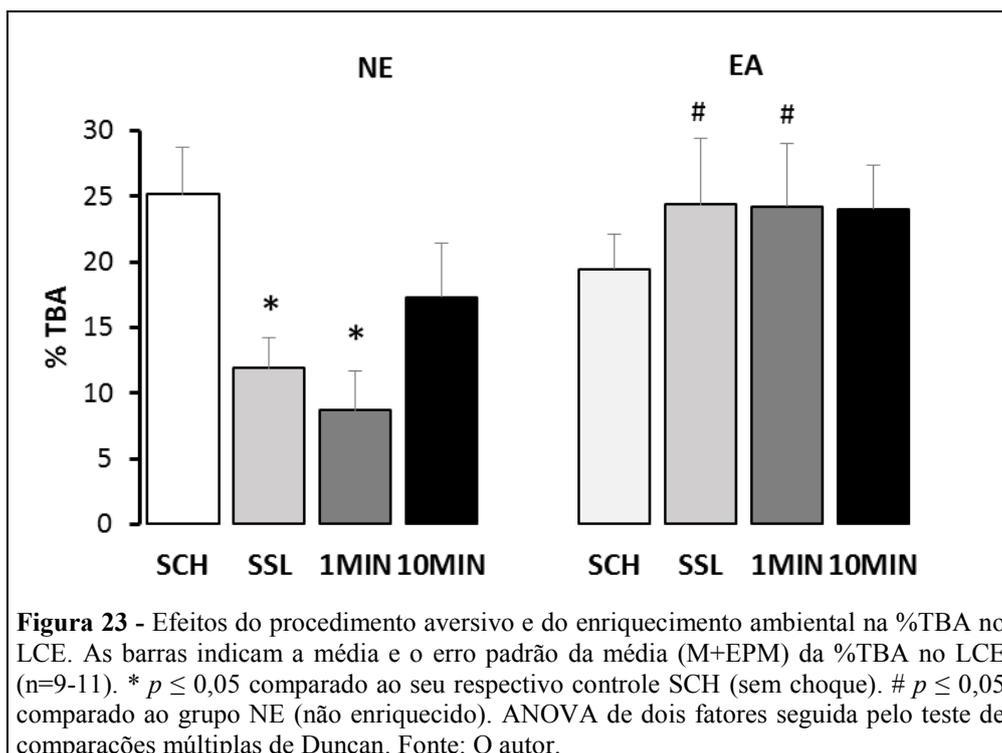
Os grupos EASSL, EA1MIN e EA10MIN apresentaram redução no total de entradas quando comparados ao grupo EASCH, sugerindo o efeito do choque e das reexposições à SL por um ou 10 minutos neste parâmetro. Os grupos EA1MIN e EA10MIN apresentaram redução do total de entradas quando comparado ao grupo EASSL, sugerindo o efeito das reexposições à SL, por um ou 10 minutos, neste parâmetro.

Os grupos EASCH e EASSL apresentaram aumento no total de entradas no LE quando comparados aos respectivos grupos NESCH e NESSL (Figura 22), sugerindo que o enriquecimento ambiental, na ausência do choque ou das reexposições à SL, aumentou a atividade exploratória e amenizou os efeitos do choque neste parâmetro.

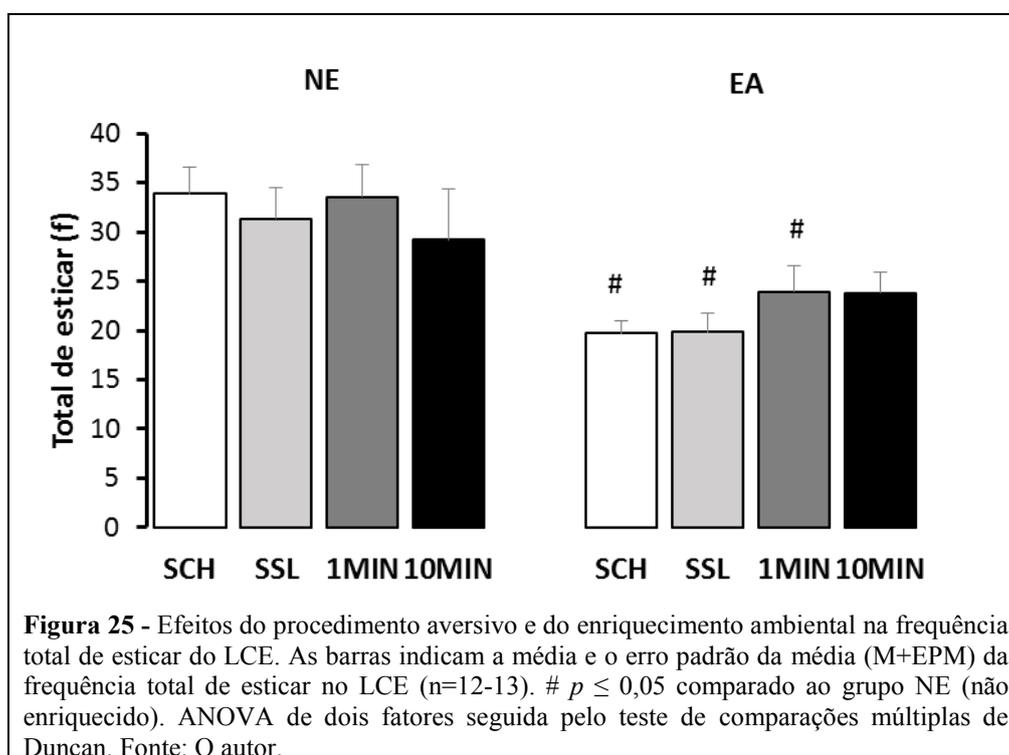
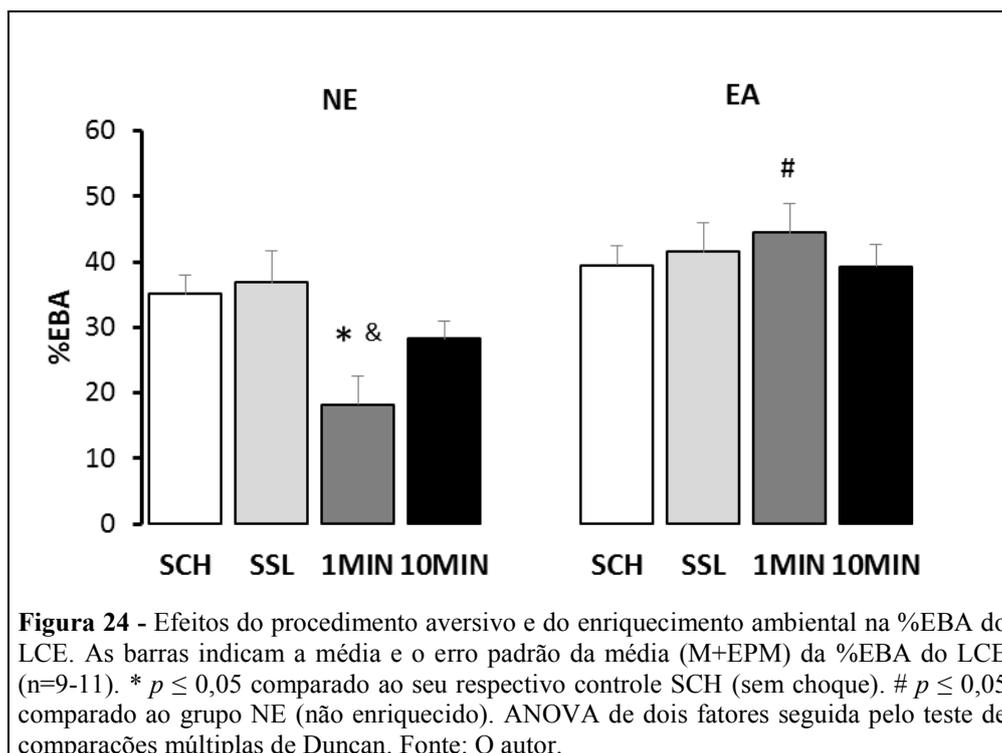
#### 11.4. EXPERIMENTO 2- AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA ANSIEDADE E MEMÓRIA EM CAMUNDONGOS

##### **11.4.1. Experimento 2A- Avaliação da ansiedade no labirinto em cruz elevado (LCE)**

As Figuras 23, 24, 25 e 26 apresentam os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental nos comportamentos avaliados no Teste de sensibilização comportamental no LCE.



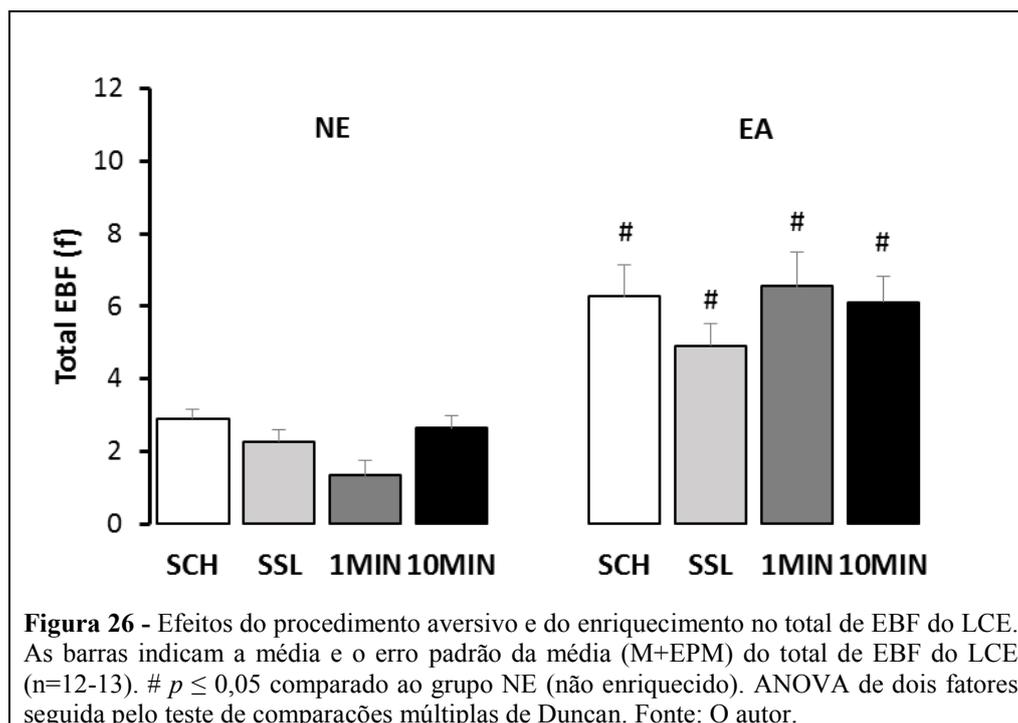
A Figura 23 mostra o efeito do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental sobre a porcentagem de tempo gasto nos braços abertos (%TBA) no LCE. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,77)} = 7,20, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 3,06, p < 0,05$ ], sem demonstrar efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,91, p > 0,05$ ] na %TBA no LCE. De acordo com o teste de comparações múltiplas de Duncan, nos animais NE, o procedimento aversivo sem situação de lembrança (NESSL) e com SL de 1 minuto (NE1MIN) produziu diminuição da %TBA quando comparados ao grupo NESCH. Os animais enriquecidos EASSL e EA1MIN apresentaram aumento na %TBA quando comparados aos respectivos grupos NESSL e NE1MIN.



A Figura 24 apresenta os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na porcentagem de entrada nos braços abertos (%EBA) do LCE. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito alojamento [ $F_{(1,77)}$

=18,33,  $p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 3,43$ ,  $p > 0,05$ ], sem demonstrar efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 1,66$ ,  $p > 0,05$ ] na %EBA do LCE. O *post hoc* mostrou que o grupo NE1MIN apresentou redução na %EBA quando comparado aos grupos NESCH e NESSL, e o grupo EA1MIN apresentou aumento na %EBA quando comparados ao respectivo grupo NE1MIN.

A Figura 25 expõe os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na frequência total de esticar (SAP) do LCE. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito alojamento [ $F_{(1,77)} = 21,79$ ,  $p < 0,05$ ], sem demonstrar efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,35$ ,  $p > 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,72$ ,  $p > 0,05$ ] na frequência total de esticar no LCE. O *post hoc* mostrou que os grupos EASCH, EASSL e EA1MIN apresentaram redução na frequência total de esticar quando comparados aos seus respectivos grupos NESCH, NESSL e NE1MIN.



A Figura 26 demonstra os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental no total de entradas nos braços fechados (EBF) do LCE. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito alojamento [ $F_{(1,77)} = 69,731$ ,  $p < 0,05$ ], sem demonstrar efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 1,05$ ,  $p > 0,05$ ] nem da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 1,49$ ,  $p > 0,05$ ] no total de EBF

do LCE. O teste de comparações múltiplas de Duncan mostrou que os grupos de animais enriquecidos (EASCH, EASSL, EA1MIN e EA10MIN) apresentaram aumento no total de EBF quando comparados aos seus respectivos grupos NE (NESCH, NESSL, NE1MIN e NE10MIN).

A Tabela 3 mostra os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental sobre os outros comportamentos avaliados no LCE.

**Tabela 3**

Efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental em outras medidas comportamentais apresentadas no LCE.

Comportamentos	NE				EA			
	SCH	SSL	1MIN	10MIN	SCH	SSL	1MIN	10MIN
<b>Levantar</b>	8,3±1,4	5,6±1,4	8,3±2,3	9,8±1,3	10,2±1,2	6,9±1,2	6,4±1,9	6,8±1,2
<b>Imobilidade</b>	3,7±3,3	7,2±2,6	2,5±1,3	2,6±2,5	0±0	<b>1,0±0,7#</b>	0,2±0,2	0,1±0,1
<b>Mergulhar</b>	27,2±1,6	22,8±2,2	22,3±2,7	<b>33,4±6,6&amp;\$</b>	26,7±1,8	27,5±3,0	<b>42,0±3,0*#&amp;</b>	<b>33,6±3,7\$</b>
<b>Mergulhar Desprotegido</b>	13±1,6	5,8±1,1	<b>3,6±1,3*</b>	9,4±2,6	8,8±1,6	10,5±2,8	<b>13,9±3,0#</b>	11,7±2,7

Tabela 3. Os valores representam a média e erro padrão da média (M±EPM) dos outros índices comportamentais apresentados no LCE (n=12-13). \*  $p \leq 0,05$  comparado ao seu respectivo controle SCH (sem choque). #  $p \leq 0,05$  comparado ao grupo NE (não enriquecido). &  $p \leq 0,05$  comparado ao grupo SSL (sem situação de lembrança). \$  $p \leq 0,05$  comparado ao grupo 1MIN (situação de lembrança de um minuto). ANOVA de dois fatores seguida pelo teste de comparações múltiplas de Duncan. Fonte: O autor.

De acordo com a Tabela 3, para a frequência total de levantamentos, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) não mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,77)} = 0,15, p > 0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 1,45, p > 0,05$ ] nem da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 1,20, p > 0,05$ ].

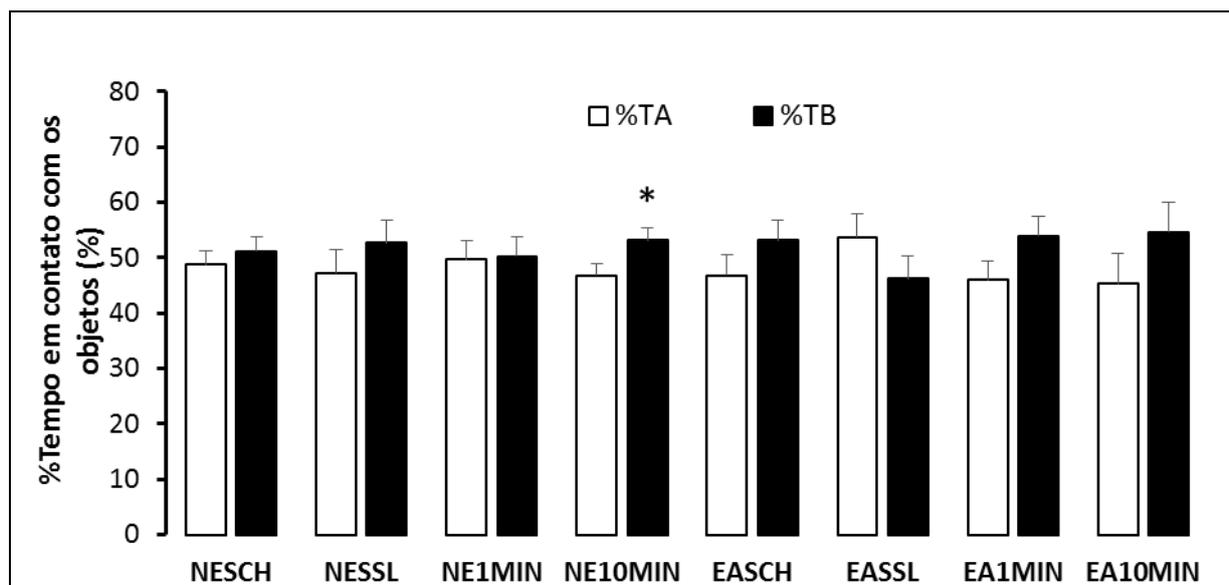
Quanto à imobilidade, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,77)} = 7,40, p < 0,05$ ] mas não para o procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,94, p > 0,05$ ] e interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,41, p > 0,05$ ]. De acordo com o *post hoc*, os animais EASSL apresentaram redução do tempo total de imobilidade quando comparados aos animais do grupo NESSL.

Para a frequência total de mergulhos, a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,77)} = 10,17, p < 0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 4,56, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 6,01, p < 0,05$ ]. Segundo o teste de comparações múltiplas de Duncan, o grupo NE10MIN apresentou aumento no total de mergulhos quando comparado aos grupos NESSL e NE1MIN. O grupo EA1MIN apresentou aumento no total de mergulhos quando comparado aos grupos EASCH, EASSL, EA10MIN e NE1MIN.

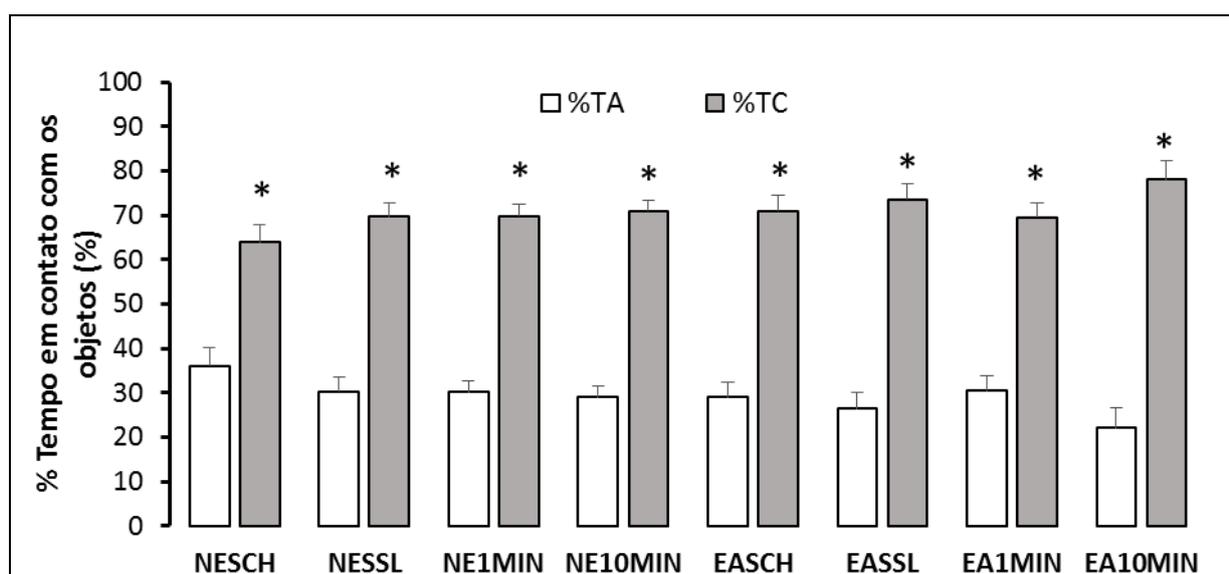
Em relação à frequência de mergulhos desprotegidos (apresentados nos braços abertos do LCE), a ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,77)} = 4,07, p < 0,05$ ] e da interação entre alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 3,39, p < 0,05$ ], mas não mostrou efeito do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,69, p > 0,05$ ]. Segundo o teste de comparações múltiplas de Duncan, o grupo NE1MIN apresentou redução na frequência de mergulhos desprotegidos no LCE quando comparado aos grupos NESCH enquanto o grupo EA1MIN apresentou aumento na frequência de mergulhos desprotegidos quando comparado aos grupos NEMIN1.

#### **11.4.2. Experimento 2B- teste de memória de reconhecimento de objetos (RO)**

As Figuras 27, 28 e 29 apresentam os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental no teste de Reconhecimento de Objetos.



**Figura 27** - Efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na porcentagem de tempo em contato com os objetos A e B no dia do treino. As barras indicam a média e o erro padrão da média (M+EPM) da porcentagem de tempo em contato com os objetos A e B (n=9-11). \*  $p \leq 0,05$  em relação a porcentagem de tempo em contato com o objeto A no mesmo grupo (teste *t* de Student). Fonte: O autor.

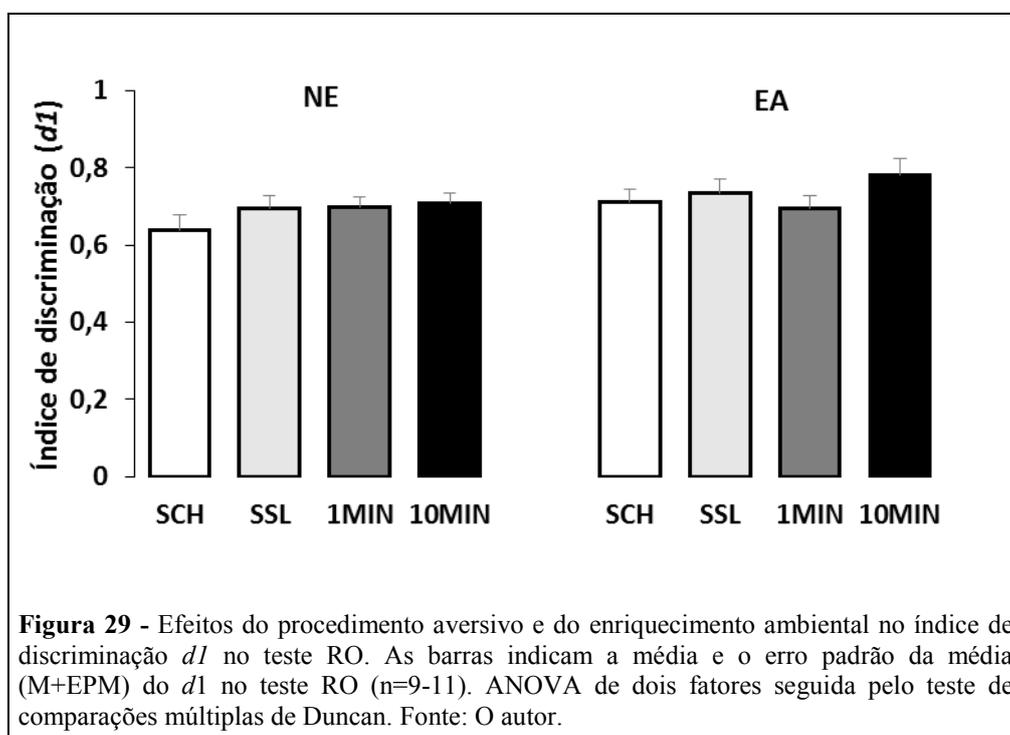


**Figura 28** - Efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na porcentagem de tempo em contato com os objetos A e C no dia do teste RO. As barras indicam a média e o erro padrão da média (M+EPM) da porcentagem de tempo em contato com os objetos A e C (n=9-11). \*  $p \leq 0,05$  em relação a porcentagem de tempo em contato com o objeto A no mesmo grupo (teste *t* de Student). Fonte: O autor.

A Figura 27 mostra o efeito do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na porcentagem de tempo em contato com os objetos A e B no dia do treino. O teste *t* de Student mostrou que os grupos NESCH [ $t_{(9)} = -0,65, p > 0,05$ ], NESSL [ $t_{(9)} = -0,91, p > 0,05$ ], NE1MIN [ $t_{(7)} = -0,12, p > 0,05$ ], EASCH [ $t_{(9)} = -1,22, p > 0,05$ ], EASSL [ $t_{(9)} = 1,28, p > 0,05$ ],

EA1MIN [ $t_{(9)} = -1,63, p > 0,05$ ] e EA10MIN [ $t_{(8)} = -1,20, p > 0,05$ ] não apresentaram diferença na porcentagem de tempo em contato com o objeto A e B. O grupo NE10MIN apresentou aumento na porcentagem de tempo em contato com o objeto B quando comparado ao objeto A [ $t_{(9)} = -2,09, p < 0,05$ ].

A Figura 28 mostra o efeito do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na porcentagem de tempo em contato com os objetos A e C no dia do teste RO. O teste  $t$  de Student mostrou que todos os grupos NESCH [ $t_{(9)} = -4,89, p < 0,05$ ], NESSL [ $t_{(9)} = -8,69, p < 0,05$ ], NE1MIN [ $t_{(7)} = -10,61, p < 0,05$ ], NE10MIN [ $t_{(9)} = -11,99, p < 0,05$ ], EASCH [ $t_{(9)} = -11,99, p < 0,05$ ], EASSL [ $t_{(9)} = -9,52, p < 0,05$ ], EA1MIN [ $t_{(9)} = -8,33, p < 0,05$ ] e EA10MIN [ $t_{(8)} = -8,86, p < 0,05$ ] apresentaram maior porcentagem de tempo em contato com o objeto C em comparação ao tempo em contato com o objeto A.



A Figura 29 apresenta os efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental no índice de discriminação ( $d1$ ) no dia do teste RO. A ANOVA de dois fatores (alojamento e procedimento aversivo) não mostrou efeito do alojamento [ $F_{(1,77)} = 3,30, p > 0,05$ ], do procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 1,49, p > 0,05$ ] nem da interação entre o alojamento x procedimento aversivo [ $F_{(3,77)} = 0,49, p > 0,05$ ] no índice de discriminação ( $d1$ ) no dia do teste RO.

## 12. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram o efeito do procedimento aversivo, com ou sem situação de lembrança (SL), no comportamento dos camundongos, assim como a influência do enriquecimento ambiental nesse procedimento. De forma resumida, os dados do Experimento 1 sugerem que a reexposição à SL por um minuto potencializou o efeito da estimulação aversiva, e favoreceu sua generalização. No entanto, as reexposições à SL por 10 minutos, resultaram numa possível extinção da memória traumática. Neste procedimento, o enriquecimento ambiental pareceu reverter os efeitos da estimulação aversiva. No entanto, com as reexposições à SL, por um ou 10 minutos, resultou em intensificação da memória traumática.

De acordo com os resultados do Experimento 2, o procedimento aversivo com situação de lembrança de 1 minuto potencializou a estimulação aversiva e resultou em diminuição da %TBA e %EBA no LCE, sugerindo sensibilização comportamental, e o enriquecimento ambiental reverteu esse efeito, além de aumentar a atividade exploratória e reduzir a avaliação de risco. Já em relação ao teste de reconhecimento de objetos (RO), nem o procedimento aversivo nem o enriquecimento ambiental alteraram a memória visual de reconhecimento. A discussão dos resultados segue descrita abaixo e apresenta, primeiramente, os efeitos do enriquecimento ambiental na latência de entrada e permanência no LC do CCE no 32º dia do procedimento e os efeitos da estimulação aversiva e do enriquecimento ambiental na imobilidade durante as reexposições à situação de lembrança; posteriormente, apresenta-se então, a discussão dos efeitos do procedimento aversivo e do enriquecimento ambiental na memória aversiva (Experimento 1) e nos parâmetros de ansiedade no LCE e de memória não emocional (Experimento 2).

### 12.1. EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA LATENCIA DE ENTRADA E PERMANÊNCIA NO LC DA CCE NO 32º DIA DO PROCEDIMENTO

De acordo com os resultados apresentados, a exposição ao enriquecimento ambiental reduziu a latência de entrada e a permanência no LC da CCE no dia do condicionamento aversivo (anterior ao choque), sugerindo que os animais enriquecidos apresentam melhora da atividade exploratória e da habituação à novidade (Figuras 13 e 14).

Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo já foram anteriormente descritos na literatura, em outros procedimentos. Logo, foi demonstrado que roedores expostos ao enriquecimento ambiental apresentaram maior exploração e aumento da atividade no labirinto em cruz elevado e no teste de campo aberto (Roy, Belzung, Delarue & Chapillon, 2001; Larsson *et al.*, 2002; Hoffmann, Schutte, Koch & Schwabe, 2009; Lima *et al.*, 2014) assim como aumento da exploração no teste da tábua perfurada (Peña, Prunell, Rotllant, Armario & Escorihuela, 2009), indicando aumento da atividade exploratória.

Segundo Sampedro-Piquero, Begega & Arias (2014), ratos enriquecidos por 69 dias apresentaram aumento da atividade locomotora, aumento no tempo nas áreas abertas e aumento no total de mergulhos nas áreas fechadas do labirinto em zero elevado, relacionado a aumento na atividade exploratória e diminuição da ansiedade.

Segundo Costall *et al.* (1989) e Bourin e Hascoet (2003), a permanência no lado claro (LC) da caixa claro-escuro (CCE) é considerada um índice de ansiedade, sendo que drogas ansiolíticas aumentam a permanência neste compartimento. No presente estudo, no 32º do procedimento, antes do condicionamento aversivo, os animais enriquecidos, apesar de entrarem mais rápido no lado claro, permaneceram menos tempo nesse ambiente, o que poderia, então, indicar efeito ansiogênico induzido pelo enriquecimento ambiental.

Uma possível explicação para essa redução no tempo de permanência no lado claro seria a de que, no procedimento utilizado, os animais foram colocados no lado escuro da caixa, e após dois minutos foi permitida a exploração do lado claro, tendo a latência de entrada e a permanência no LC avaliadas somente na primeira entrada do animal nesse compartimento. Nesse caso, entrar no LC e permanecer nesse compartimento envolve explorar um novo ambiente, ainda desconhecido e potencialmente aversivo. Assim, sugere-se que a permanência no LC durante a primeira entrada nesse compartimento esteja mais relacionada com atividade exploratória e habituação a um novo ambiente, do que com aumento de ansiedade.

Neste sentido, já foi demonstrado que ratos enriquecidos apresentaram redução da latência de entrada no LC da CCE, e os autores sugeriram que este efeito tenha sido decorrente de melhora na atividade exploratória (Schrijver, Bahr, Weiss & Wurbel, 2002). Além disso, como sugerido por Larsson *et al.* (2002), uma vez que o ambiente enriquecido permite o contato dos animais com diversos objetos e situações novas, sem a apresentação de consequências aversivas, este pode resultar em uma melhor preparação para explorar ambientes novos.

## 12.2. EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO AVERSIVA E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA IMOBILIDADE AVALIADA DURANTE AS REEXPOSIÇÕES À SL DE 1 OU 10 MINUTOS

No presente estudo, a avaliação da imobilidade durante as reexposições à SL sugere que os animais EA apresentam maior imobilidade do que os animais NE, respondendo de forma mais intensa ao contexto com lembretes do trauma. Este resultado vai ao encontro dos apresentados por Woodcock e Richardson (2000), que descreveram que ratos Sprague-Dawley, criados em ambientes enriquecidos, apresentam maior imobilidade quando reexpostos ao ambiente onde receberam estimulação aversiva, sugerindo que esse aumento na imobilidade relaciona-se a um melhor processamento de pistas contextuais. Em seu estudo, os animais enriquecidos e não enriquecidos permaneceram em uma caixa de condicionamento por quatro, 16 ou 120 segundos antes de receberem o choque de 0,5mA, e foram avaliados 24 horas depois neste mesmo ambiente. Animais NE e EA que permaneceram por apenas quatro segundos na caixa apresentaram índices baixos de imobilidade, enquanto os animais que permaneceram por 120 segundos apresentaram altos índices.

Em relação aos animais que permaneceram por 16 segundos na caixa de condicionamento anteriormente ao choque, os animais enriquecidos apresentaram maior imobilidade que os animais controle. Então, animais enriquecidos conseguiriam elaborar uma representação mais acurada do contexto na memória, mesmo permanecendo por pouco tempo no ambiente. Segundo os autores, esse aumento na velocidade do processamento de informações pelo enriquecimento ambiental estaria relacionado a um aumento da eficácia de processamento em áreas como hipocampo, córtex visual e bulbo olfatório, devido a uma melhora da atividade neural, com aumento da bainha de mielina e diâmetro dos axônios desses neurônios (Woodcock & Richardson, 2000). Convém mencionar que, no presente estudo, os animais permaneceram no LC da CCE por, em média, 15-30 segundos antes do procedimento aversivo, sendo este tempo suficiente para que os animais enriquecidos processassem de forma eficiente as pistas contextuais.

Vivinetto, Suárez e Rivarola (2013) também demonstraram aumento da memória emocional em ratos como resultado do enriquecimento ambiental, indicado pelo aumento na latência de descida da plataforma e aumento da imobilidade na esQUIVA inibitória do tipo *step-down*, assim como os resultados obtidos no presente estudo.

Mitra e Sapolsky (2012) relataram diminuição da exploração da área com odor de gato e aumento da avaliação de risco no teste de aversão ao odor do predador, sugerindo que o EA intensifica comportamentos protetivos característicos da espécie, importantes para a sua sobrevivência.

Ademais, o grupo EAMIN10 apresentou redução do tempo total de imobilidade nas SL2 e SL3 quando comparados à SL1 (Figura 16), sugerindo que os animais enriquecidos foram capazes de evocar a memória aversiva durante a primeira exposição, mas também, que o enriquecimento ambiental facilitou a habituação ao longo das reexposições às SL. De acordo com Hendiksen, Olivier e Oosting (2014), reconsolidação e extinção podem ocorrer numa mesma sessão de reexposição, sendo que inicialmente ocorre a reconsolidação, e depois, a extinção. Deste modo, sugere-se que nos animais enriquecidos, as reexposições à SL por 10 minutos resultaram em redução dos comportamentos relacionados à ansiedade e possível extinção da memória traumática, o que não ocorreu nos animais não enriquecidos.

### 12.3. EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA MEMÓRIA TRAUMÁTICA EM CAMUNGONGOS

De acordo com os resultados apresentados no Experimento 1, a estimulação aversiva aumentou a latência de entrada e reduziu a permanência e total de entradas no LE da CCE (Figuras 17, 18 e 19), indicando que 28 dias após o choque, os animais exibem a memória aversiva e evitam o ambiente aversivo. Resultados semelhantes foram apresentados pelos animais com reexposição à SL de um minuto. Em relação às outras medidas comportamentais, a estimulação aversiva (NESSL), assim como o procedimento aversivo com SL de um minuto (NE1MIN) aumentou o tempo total de imobilidade e reduziu o total de levantamentos na CCE (Tabela 2).

No teste de generalização da memória aversiva na CCEm, a estimulação aversiva por si só (NESSL) não alterou os parâmetros avaliados, mas o procedimento aversivo com SL de um minuto (NE1MIN) aumentou a latência de entrada no LE e reduziu a permanência e o total de entradas no LE (Figuras 20, 21 e 22), sugerindo que as reexposições à SL por um minuto favorecem a generalização da memória traumática a contextos que lembram o ambiente aversivo inicial.

Segundo Stam (2007), animais submetidos ao choque apresentam aumento nas respostas de medo condicionado quando expostos ao ambiente onde receberam essa

estimulação aversiva ou a ambientes relacionados, além de respostas emocionais exacerbadas em ambientes novos ou a eventos estressores, como por exemplo, aumento da latência de entrada no ambiente condicionado da CCE ou elevados índices de imobilidade.

Siegmund e Wotjak (2007) demonstraram que choques inescapáveis em camundongos resultam em aumento de imobilidade em reexposição ao contexto aversivo, diminuição da interação social e neofobia, afirmando ainda que a intensidade das respostas relaciona-se com a intensidade da estimulação aversiva. E ainda, Khoda *et al.* (2007) também demonstraram os efeitos de um modelo de TEPT com estresse único prolongado em ratos, e seus resultados sugerem que o modelo foi capaz de induzir aumento da memória contextual de medo.

De acordo com Pynoos *et al.* (1996), Louvart *et al.* (2005), Costa (2008) e Zhang *et al.* (2015), breves reexposições à SL do evento traumático potencializam os efeitos da estimulação aversiva, e favorecem a generalização das respostas a outros contextos. Tais reexposições também podem tornar essas memórias novamente lábeis, durante a reconsolidação (Nader, 2003; Lee *et al.*, 2006), e conseqüentemente, aumentar as respostas relacionadas à ansiedade e evitação do ambiente aversivo, como evidenciado nos resultados do presente estudo.

Em contrapartida, enquanto o procedimento aversivo com SL de 1 minuto resultou em aumento das respostas emocionais, reexposições à SL por 10 minutos (NE10MIN) diminuíram essas respostas tanto na CCE quanto na CCEm, sugerindo extinção da memória traumática e redução dos parâmetros de ansiedade (Figuras 17, 18, 19, 20, 21 e 22).

A reexposição dos animais à SL por 10 minutos consiste em uma exposição prolongada às pistas contextuais do ambiente aversivo (estímulos condicionados) sem a apresentação do estímulo aversivo (estímulo incondicionado), permitindo uma nova associação e a formação de uma nova memória, que se sobrepõe à memória aversiva inicial. Este processo de extinção resultou numa diminuição das respostas relacionadas à ansiedade e de evitação do ambiente aversivo, como já apresentado por Cammarota *et al.* (2005) e Besnard *et al.* (2012). Ainda, segundo Hendiksen, Olivier e Oosting (2014), reconsolidação e extinção podem ocorrer numa mesma sessão de reexposição, sendo que a reconsolidação se dá primeiramente, enquanto a extinção ocorre posteriormente. Dessa forma, as reexposições mais prolongadas induziriam inicialmente a reconsolidação, mas posteriormente a extinção da memória traumática, com conseqüente redução dos comportamentos relacionados à ansiedade, como os apresentados no presente estudo.

A análise dos resultados da CCE indica que, mesmo na ausência das situações de lembrança (NESSL), a estimulação aversiva por si só foi capaz de aumentar a latência de entrada no LE e de reduzir o total de entradas e a permanência nesse compartimento. De acordo com Stam (2007), embora em alguns modelos os animais sejam reexpostos a situações de lembrança do trauma, isso não é estritamente necessário para a indução dessas respostas. Nesse mesmo sentido, Blanco e Canto-de-Souza (resultados em preparação, Apêndice A) utilizaram-se do procedimento aversivo na CCE num experimento em longo prazo, testando os efeitos do estímulo aversivo (choque *scrambled* de 0,5mA nas patas, durante 10 segundos) e de reexposições mensais à SL por 1 minuto no comportamento de camundongos machos na CCE, 6 e 12 meses após a apresentação desse estímulo aversivo.

Nesse estudo, os camundongos que receberam o estímulo aversivo e foram ou não reexpostos a SL por 1 minuto mensalmente apresentaram aumento da latência de entrada no LE da CCE, assim como redução da permanência e do total de entradas no LE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo. Quando testados 12 meses após a apresentação desse estímulo, apenas os animais que não foram reexpostos à SL apresentaram aumento da latência de entrada e redução da permanência e do total de entradas no LE, sendo que os animais com reexposição mensal à SL apresentaram apenas redução no tempo de permanência no LE. A estimulação aversiva resultou em alteração no comportamento dos camundongos mesmo 12 meses após sua apresentação. Em relação às reexposições à SL, estas não potencializaram o efeito da estimulação aversiva no teste na CCE (ambiente aversivo original), quando este foi realizado seis meses após a sua apresentação, e ainda, resultou em redução desses comportamentos no teste após 12 meses. De acordo com esse estudo, não só a duração, mas também a frequência das reexposições à SL podem interferir em seu efeito, favorecendo a extinção da memória traumática com consequente redução dos comportamentos relacionados à ansiedade.

Por conseguinte, os resultados apresentados sugerem que a estimulação aversiva por si só, na ausência de situações de lembrança, é capaz de induzir alterações comportamentais em longo prazo quando os animais são testados no ambiente aversivo inicial, sendo que as SL por 1 minuto favoreceram a generalização dessas respostas para ambientes semelhantes (Figuras 20, 21 e 22), além de sensibilização comportamental, que será discutida posteriormente (Figura 24 e Tabela 3). Uma vez que a generalização das respostas de ansiedade a situações semelhantes à traumática inicial, assim como aumento de ansiedade em situações não relacionadas ao trauma, a sensibilização comportamental, caracterizam-se

como sintomas do TEPT (Kaplan, Sadock & Grebb, 1997; Siegmund & Wotjak, 2006, American Psychiatric Association, 2013), o procedimento aversivo com situações de lembrança de 1 minuto mostrou-se como um modelo potencialmente válido (validade aparente ou de representação) para o estudo do transtorno (Stam, 2007; Zhang *et al.*, 2015).

No que se refere aos efeitos do enriquecimento ambiental, na ausência do procedimento aversivo (EASCH), este diminuiu o tempo de permanência no LE da CCE (Figura 18), sugerindo efeito ansiolítico. Em relação às outras medidas comportamentais, o enriquecimento ambiental aumentou o total de levantamentos, sugerindo aumento da atividade exploratória (Tabela 2). Na CCEm, os animais enriquecidos (EASCH) apresentaram aumento no total de entradas no LE (Figura 22), o que também estaria relacionado ao aumento da atividade exploratória.

Quando submetidos ao procedimento aversivo sem situação de lembrança (EASSL), os animais enriquecidos evitaram o LE tanto da CCE quanto da CCEm (Figuras 17, 19, 21 e 22), apresentando o mesmo padrão de resposta frente a um ambiente bastante semelhante ao ambiente aversivo inicial. Em comparação aos animais não enriquecidos (NESSL), o grupo EASSL apresentou redução dos comportamentos relacionados a ansiedade e aumento no total de levantamentos, sugerindo que o EA amenizou os efeitos do choque nestes parâmetros. Na CCEm, os animais enriquecidos (EASSL) apresentaram aumento no total de entradas no LE quando comparado ao grupo NESSL (Figura 22), sugerindo que o enriquecimento ambiental atenuou os efeitos do choque nesse parâmetro e aumentou a atividade exploratória.

Esses resultados corroboram os resultados encontrados por Larsson *et al.* (2002), demonstrando que, embora o comportamento de animais enriquecidos seja alterado por um estressor forte, esses efeitos são atenuados quando comparados aos dos animais não enriquecidos. O contato com um número maior de objetos e situações, assim como a variação na estimulação sensorial semanalmente, proporciona um nível moderado de estresse nos animais em enriquecimento ambiental; no entanto, a exploração desses novos objetos e situações não resulta em nenhuma consequência aversiva. Logo, o reforçamento dessas respostas exploratórias favoreceria o seu melhor desempenho frente a situações estressoras futuras (Larsson *et al.*, 2002).

Sabe-se que o eixo HPA é facilmente ativado em resposta a estressores, e sua atividade pode ser mensurada pelas concentrações de corticosteroides e ACTH (Simpson & Kelly, 2011). Em ratos e camundongos, os efeitos do enriquecimento ambiental nas respostas comportamentais frente a situações de estresse são relacionados a um aumento dos níveis

basais de corticosterona (Moncek, Duncko, Johansson & Jezova, 2004) e de ACTH (Bakos, Hlavacova & Rajman, 2009), quando comparados aos animais criados em ambientes padrão. No entanto, após situações estressoras, os animais criados em ambientes enriquecidos apresentam índices mais baixos de corticosterona e ACTH do que animais controle (Roy *et al.*, 2001, Moncek *et al.*, 2004). Hutchinson *et al.* (2012) também demonstraram que ratos enriquecidos não apresentam alterações nos níveis de corticosterona frente ao estresse crônico. Assim, sugere-se que o enriquecimento resultaria em menor reatividade do eixo HPA a situações estressoras (Simpson & Kelly, 2011), com consequente diminuição das respostas defensivas frente ao estresse, o que explicaria os resultados encontrados pelos autores. Todavia, análises neuroquímicas não foram realizadas no presente estudo, sendo necessária a realização de estudos posteriores para avaliar esta hipótese.

Embora, na ausência das situações de lembrança, o enriquecimento tenha atenuado os efeitos do choque, este não foi capaz de reverter os efeitos das reexposições à SL por 1 minuto (EA1MIN), sugerindo que mesmo com o enriquecimento ambiental, as reexposições à SL por um minuto aumentaram os parâmetros de ansiedade e o fortalecimento da memória traumática (Figuras 17, 18 e 19). Ademais, com as reexposições à SL por 10 minutos, o enriquecimento ambiental resultou em fortalecimento da memória aversiva, com aumento dos comportamentos relacionados à ansiedade, tanto na CCE quanto na CCEm. Juntos, esses resultados sugerem que, na presença de reexposições à situação de lembrança, o enriquecimento ambiental resultou em fortalecimento da memória aversiva.

Inúmeros estudos apresentam os efeitos facilitatórios do enriquecimento ambiental nos processos de aprendizagem e memória (Leggio *et al.*, 2005; Larsson *et al.*, 2002; Bruehl-Jungerman, Laroche & Rampon, 2005). Por outro lado, a memória emocional também é potencializada pelo enriquecimento ambiental, como sugerido por Woodcock e Richardson (2000) e Vivinetto *et al.* (2013), no modelo de condicionamento contextual de medo e esquiva inibitória.

A melhora na aprendizagem e memória pelo enriquecimento é relacionada a uma melhor discriminação e velocidade de processamento de pistas contextuais, assim como alterações estruturais e bioquímicas no sistema nervoso, como aumento da neurogênese hipocampal, ramificação dendrítica, formação sináptica e reforço do potencial de longa duração, além de aumento dos níveis de serotonina e noradrenalina no hipocampo e córtex pré-frontal (Brenes *et al.*, 2008), aumento dos receptores de glutamato do tipo AMPA e

NMDA no hipocampo, redução dos transportadores de glutamato (Andin *et al.*, 2007) e aumento dos índices de BDNF no hipocampo e córtex cerebral (Ickes *et al.*, 2000).

Além disso, Mitra e Sapolsky (2012) discutem a relação do enriquecimento com comportamentos que são importantes para a sobrevivência da espécie. De acordo com esses autores, animais enriquecidos apresentam aumento da evitação ao predador e de avaliação de risco no teste de aversão ao odor de gato, e redução da permanência nos braços abertos do LCE. Esses resultados sugerem que os animais enriquecidos se expõem menos ao perigo iminente, e com isso, aumentam suas chances de sobrevivência. Neste mesmo sentido, a manutenção da memória traumática poderia reduzir os riscos de reexposição a situações perigosas.

Hendriksen *et al.* (2010) avaliaram o potencial terapêutico e protetivo do enriquecimento ambiental em ratos machos Sprague Dawley, submetidos a um modelo de TEPT com choque inescapável nas patas. Três semanas após a apresentação do choque, os animais controle, que passaram pela estimulação aversiva, apresentam redução na atividade locomotora quando comparados ao grupo sem choque, enquanto os animais enriquecidos (que passaram pelo enriquecimento ambiental 3 vezes por semana, a partir de uma semana após o choque) não apresentam alteração na atividade locomotora quando comparados ao grupo sem choque. No teste de estresse induzido por silêncio repentino (do inglês *stress of sudden silence*), os animais não enriquecidos que receberam choque apresentaram aumento da imobilidade quando comparados aos animais sem choque, e esse aumento não foi observado nos animais enriquecidos. Quando avaliados na CCE, os animais enriquecidos que receberam choque apresentaram maior latência e diminuição no número de entradas no lado escuro quando comparados com os animais não enriquecidos, sendo que ambos os grupos permaneceram menos tempo no LE da CCE. Segundo os autores, os animais enriquecidos se recuperam mais rapidamente dos efeitos do choque do que animais não enriquecidos, embora a memória traumática avaliada na CCE não seja prejudicada pelo enriquecimento, assim como demonstrado no presente estudo.

Conforme descrito então, nos animais não enriquecidos, a situação de lembrança de um minuto potencializou os efeitos da estimulação aversiva e favoreceu sua generalização para ambiente semelhante ao traumático inicial, enquanto as SL por 10 minutos diminuíram as respostas emocionais; nos animais enriquecidos não expostos as situações de lembrança, o enriquecimento amenizou os efeitos da estimulação aversiva, mas na presença das SL, por 1

ou 10 minutos, ele resultou em aumento dos comportamentos relacionados a ansiedade e prejudicou a extinção da memória traumática.

#### 12.4. EFEITOS DO PROCEDIMENTO AVERSIVO E DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA ANSIEDADE E MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO EM CAMUNDONGOS

No LCE, o procedimento aversivo sem situação de lembrança (NESSL) resultou em diminuição da %TBA (Figura 23), enquanto o com SL de 1 minuto (NE1MIN) reduziu tanto a %TBA quanto a de %EBA (Figuras 23 e 24), assim como os mergulhos desprotegidos (Tabela 3), sugerindo que as reexposições à SL por 1 minuto aumentaram os parâmetros de ansiedade e induziram sensibilização comportamental. Nos animais EA10MIN, observou-se aumento do total de mergulhos quando comparado aos grupos SSL e SL1MIN, sugerindo que as reexposições à SL por 10 minutos amenizaram os efeitos do choque e das SL por 1 minuto.

Os resultados encontrados vão ao encontro aos apresentados por Pynoos *et al.* (1996), Louvart *et al.* (2005), Costa (2008) e Zhang *et al.* (2015), que sugerem que breves reexposições à SL do evento traumático potencializam os efeitos da estimulação aversiva, e favorecem a generalização das respostas a outros contextos, não relacionados ao trauma. E ainda, de acordo com Hendriksen *et al.* (2010), choque inescapável nas patas de ratos resultam em redução da atividade no teste de campo aberto, mesmo 10 semanas após o procedimento aversivo. Geerse, van Gurp, Wiegant e Stam (2006) também demonstraram que choques inescapáveis resultam em alterações comportamentais, como aumento da imobilidade frente a um ruído e aumento da resposta cardiovascular, indicando alteração das respostas emocionais em situações não relacionadas ao trauma.

Em relação aos efeitos do enriquecimento ambiental, na ausência do procedimento aversivo, este resultou em redução da frequência total de esticar e aumentou o total de entradas nos braços fechados (EBF) (Figuras 25 e 26). De modo geral, o enriquecimento ambiental apresenta efeito ansiolítico no LCE (Simpson & Kelly, 2011); no entanto, alguns estudos apresentam resultados conflitantes. De acordo com Benaroya-Milshtein *et al.* (2004), camundongos machos expostos ao enriquecimento ambiental por 6 semanas apresentaram aumento na porcentagem de tempo e de entradas nos braços abertos do LCE, assim como aumento no total de entradas nos braços fechados e Duman, Schlesinger, Russell e Duman (2008) demonstraram aumento da porcentagem do número de entradas e do tempo nos braços

abertos do LCE, sugerindo efeito ansiolítico. Já Peña *et al.* (2009) demonstraram que ratos Sprague-Dawley, que permaneceram 12 semanas em ambiente enriquecido apresentaram aumento no total de entradas nos braços abertos do LCE, sem alteração no tempo gastos nesses braços e nem no total de entradas nos braços fechados. Hoffmann, Schütte, Koch e Schwabe (2009) demonstraram que ratos Wistar submetidos ao procedimento de enriquecimento ambiental não apresentaram aumento no total de entradas nem no tempo gasto nos braços abertos do LCE, e ainda, Mitra e Saposlky (2012) descreveram redução no tempo de permanência nos braços abertos deste mesmo aparato e McQuaid, Audet, Jacobson-Pick e Anisman (2013) relatam diminuição da porcentagem de entrada e de tempo nos braços abertos, uma vez que a disputa pelos diferentes objetos do ambiente enriquecido resulta em aumento de comportamentos territorialistas, uma hierarquia social menos estável e aumento da agressividade.

Além disso, aumento da atividade exploratória também foi descrita como decorrente do enriquecimento ambiental em diversos modelos (Roy *et al.*, 2001; Hoffmann, Schutte, Koch & Schwabe, 2009; Peña *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2014; Sampedro-Piquero, Begega & Arias, 2014).

Avaliando os efeitos do enriquecimento ambiental no procedimento aversivo, pode-se identificar que ele reverteu a redução na %TBA, %EBA (Figuras 23 e 24) e de mergulhos desprotegidos (Tabela 3), reduziu a avaliação de risco e aumentou a atividade exploratória. Esses resultados corroboram os de Hendriksen *et al.* (2010), que demonstraram que animais enriquecidos se recuperam mais rapidamente dos efeitos do condicionamento aversivo, e os de Hutchinson *et al.* (2012) que afirmaram que o enriquecimento ambiental foi capaz de atenuar os déficits de aprendizagem espacial induzidos por estresse crônico.

A redução dos comportamentos relacionados à ansiedade e melhora da atividade exploratória decorrentes do enriquecimento ambiental, demonstradas pelos resultados obtidos tanto na CCE quanto no LCE, sugerem que este se relaciona a uma resposta emocional mais adequada frente a diversas situações. Embora esta análise não tenha sido realizada no presente estudo, outros autores já demonstraram alterações neurobiológicas, relacionadas à emocionalidade, resultantes da exposição ao ambiente enriquecido. Brenes *et al.* (2008) e Brenes *et al.* (2009) demonstraram que a exposição ao enriquecimento ambiental apresenta efeitos do tipo antidepressivo no teste de nado forçado e reduz o tempo de habituação no teste do campo aberto. Tais resultados estariam relacionados a um aumento das concentrações de serotonina e noradrenalina no hipocampo e córtex pré-frontal. E ainda, Sampedro-Piquero,

Begega e Arias (2014) afirmam que o enriquecimento ambiental promove aumento de receptores de glicocorticoides no hipocampo, o que se relacionaria a apresentação de estratégias mais ativas frente a situações novas. De acordo com Wei *et al.* (2004), esse aumento de glicocorticoides induziria um aumento na expressão de outros genes relacionados a emocionalidade, como a serotonina, noradrenalina e dopamina.

No que concerne à avaliação da memória de reconhecimento, que envolve tanto a identificação do estímulo assim como o julgamento quanto a sua ocorrência anterior (Fahy, Riches & Brown, 1993), nem o procedimento aversivo nem o enriquecimento ambiental induziram alterações neste tipo de memória visual (Figuras 27, 28 e 29). De acordo com Bremner *et al.* (1993) Luine (2002) e Bowman, Beck e Luine (2003), o estresse resulta em alterações de memória. Bowman, Beck e Luine (2003) descreveram que ratos machos submetidos a estresse de contenção por 6 horas diárias, durante 21 dias, apresentaram prejuízo na memória visual de reconhecimento, avaliada pelo teste de reconhecimento de objetos, e da memória espacial, pela tarefa de localização de objetos, e ainda Khoda *et al.* (2007) avaliaram os efeitos de um modelo de TEPT com estresse único prolongado em ratos, sugerindo que o modelo foi capaz de induzir piora na memória espacial, avaliada no Labirinto aquático de Morris. No entanto, os resultados do presente estudo indicaram que o procedimento aversivo não resultou em alteração da memória de reconhecimento no teste de reconhecimento de objetos, sugerindo que este não foi capaz de produzir prejuízos nesse tipo de memória visual não-declarativa.

Alguns estudos indicam que a intensidade das alterações comportamentais, resultantes de procedimentos aversivos, relaciona-se a intensidade do estímulo apresentado, sendo que estímulos mais intensos resultam em alterações mais intensas e duradouras (Anderson *et al.*, 1976; Geerse *et al.*, 2006; Stam, 2007; Hendiksen *et al.*, 2010). Siegmund e Wotjak (2007) demonstraram os efeitos de choques com diferentes intensidades no comportamento de camundongos, e relataram que choques de 0,7mA resultam em menor sensibilização comportamental do que choques de 1,5mA, e Hendiksen *et al.* (2010) e Geerse *et al.* (2006), afirmaram que, embora choques de 0,5mA e 1,0mA (10 choques de 6 segundos, durante 15 minutos) resultem em alterações comportamentais, apenas o choque mais intenso resultou em aumento da atividade locomotora no teste de campo aberto. E ainda, Zhang *et al.* (2015) obtiveram aumento das respostas de ansiedade e generalização da memória traumática em camundongos em um modelo de TEPT semelhante ao apresentado, mas com 15 choques intermitentes de 10 segundos, e intensidade de 0,8mA. Portanto, sugere-se que outros estudos

sejam realizados, utilizando estímulos aversivos mais intensos ou duradouros, além de testes que avaliem outros tipos de memória, como a memória espacial, a fim de verificar o possível efeito do procedimento aversivo na memória não emocional.

Outra questão que merece destaque é o período entre a estimulação aversiva e o teste de memória. Khoda *et al.* (2007) avaliaram os animais 1 semana após o estresse único prolongado, enquanto Luine (2002) realizou os testes de memória 1 dia após o término do estresse crônico. No presente estudo, o teste de memória de reconhecimento foi realizado 30 dias após a apresentação do estímulo aversivo, e 9 dias após a última reexposição à SL. Assim, acredita-se que esse período possa ter interferido nas respostas, e enfraquecido os possíveis efeitos do procedimento aversivo.

Em referência aos efeitos do enriquecimento ambiental, inúmeros estudos têm mostrado melhora cognitiva pela estimulação intelectual e física do EA (para revisão, ver Simpson & Kelly, 2011). Contudo, esses estudos avaliam seus efeitos em animais que apresentam prejuízo cognitivo decorrentes de diferentes manipulações experimentais, como hipóxia cerebral (Pereira *et al.*, 2007; Pereira *et al.*, 2008), isolamento social (Zimmermann *et al.*, 2001), estresse crônico (Hutchinson *et al.*, 2012), alterações genéticas (Pamplona *et al.*, 2007), meningite pneumocócica infantil (Barichello *et al.*, 2014), uso de drogas com efeito amnésico, como a escopolamina (Lima *et al.*, 2014) ou prejuízos decorrentes do envelhecimento (Escorihuela, Tobeña & Fernandez-Teruel, 1995; Frick & Fernandes, 2003; Blanco *et al.*, 2012, Speisman *et al.*, 2013). No presente estudo, mesmo os animais expostos ao procedimento aversivo não apresentaram prejuízos cognitivos (Figuras 27 e 28), e desta forma, não se evidenciou o possível efeito do EA sobre a memória não emocional.

Deste modo, nos animais EA, a SL de 10 minutos (EA10MIN) potencializou a memória traumática avaliada na CCE e CCEm, mas não a memória visual de reconhecimento. Assim, sugere-se que o fortalecimento da memória traumática pelo enriquecimento, independente de uma potencialização da memória visual não emocional, possa relacionar-se com o aumento de comportamentos protetivos importantes para a sobrevivência da espécie, conforme apresentado por Mitra e Sapolsky (2012).

### 13. CONCLUSÃO

Este estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do enriquecimento ambiental no comportamento de camundongos expostos a um modelo de TEPT. Em síntese, os resultados apresentados demonstraram: 1) a estimulação aversiva (choque *scrambled* de 0,5 mA, por 10 segundos) aumentou os comportamentos relacionados à ansiedade em camundongos testados na CCE, CCEm e LCE mas não alterou a memória de reconhecimento no teste RO; 2) a reexposição à SL por um minuto aumentou os comportamentos relacionados à ansiedade e pareceu favorecer a reconsolidação da memória traumática em camundongos, enquanto a reexposição à SL por 10 minutos resultou em redução dos comportamentos relacionados à ansiedade e pareceu facilitar a extinção da memória traumática em camundongos; 3) o procedimento aversivo com reexposições à SL por 1 minuto favoreceu a generalização da memória traumática e a sensibilização comportamental, mas não resultou em prejuízo de memória de reconhecimento.

Em relação ao enriquecimento ambiental, os resultados do presente estudo demonstraram: 1) o enriquecimento ambiental aumentou a atividade exploratória, favoreceu a habituação e diminuiu comportamentos relacionados à ansiedade, amenizou os efeitos da estimulação aversiva e reverteu os efeitos induzidos pelo procedimento aversivo com reexposições à SL por um minuto em camundongos testados no LCE, mas não foi capaz de reverter seus efeitos nas CCE e CCEm; 2) favoreceu a manutenção da memória traumática, mesmo quando os animais são reexpostos à SL por 10 minutos, prejudicando então a sua extinção ou facilitando a discriminação do estímulo condicionado e 3) não alterou a memória visual de reconhecimento no Teste RO.

Dentre as características do TEPT citadas anteriormente, evidencia-se aqui a evitação de situações que lembrem o trauma, generalização da memória traumática e alterações cognitivas. Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o modelo de TEPT proposto foi capaz de induzir evitação do ambiente traumático inicial e generalização da memória traumática para situações bastante semelhantes, assim como sensibilização comportamental apresentada em outras situações ansiogênicas, embora não tenha resultado em prejuízos na memória de reconhecimento. Portanto, o modelo apresentou potencial validade aparente, mostrando-se capaz de reproduzir alguns sintomas do TEPT.

Um aspecto importante do modelo apresentado é que ele possibilita o controle de variáveis como intensidade e duração do estímulo aversivo e a duração e frequência das

reexposições à situação de lembrança, permitindo então o entendimento de como alterações nessas variáveis podem influenciar nas respostas apresentadas.

Quanto ao enriquecimento ambiental, pode-se evidenciar que seus efeitos nesse modelo são bastante complexos, pois na ausência das reexposições à SL, ele reduziu os comportamentos relacionados a ansiedade, amenizou os efeitos da estimulação aversiva e favoreceu a atividade exploratória; já com as reexposições à SL, por um ou 10 minutos, ele intensificou a memória traumática e aumentou os comportamentos relacionados à ansiedade no ambiente traumático, mas reduziu esses comportamentos em situações ansiogênicas não relacionadas ao trauma, revertendo então a sensibilização comportamental induzida pelo modelo. Ainda, aspectos relacionados ao procedimento de enriquecimento ambiental devem ser melhor investigados, como o período no qual ele deve ser implementado, o número de sujeitos e condições sociais, assim como os objetos utilizados e sua periodicidade de troca, além da avaliação de seus efeitos neurobiológicos.

Já que o modelo utilizado neste estudo apresentou-se válido para induzir comportamentos semelhantes ao do TEPT, e o enriquecimento ambiental pode associar-se, embora com ressalvas, a aspectos da história de vida dos indivíduos e de terapias utilizadas no tratamento do transtorno, estudos nesse sentido auxiliariam em um melhor entendimento da patologia estudada, da influência do ambiente e do histórico dos indivíduos nessa patologia, assim como para a avaliação e o desenvolvimento de intervenções e terapias mais eficazes.

## 14. REFERÊNCIAS

- Abel, T., & Lattal, K. (2001). Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 11, 180–187.
- Akgun, A., Keskin, H., & Byrne, J. (2012). Organizational emotional memory. *Management Decision*, 50 (1), 95-114.
- Akkerman, S., Blokland, A., Reneerkens, O., van Goethem, N., Bollen, E., Gijssels H., ..., & Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: Methodological considerations on exploration and discrimination measures. *Behavioural Brain Research*, 232, 335–347.
- Almeida-Filho, N., Mar, J., Coutinho, E., França, J., Fernandes, J., Andreoli, S., & Busnello, E. (1997). Brazilian multicentric study of psychiatric Morbidity. *British Journal of Psychiatry*, 171, 524-529.
- Alvarez, A. M., Taub, A., Carvalho, I., & Yassuda, M. (2005). *Memória*. São Paulo, Atheneu.
- Alves, L., Almeida, E., Paula, J., Calvano, L., Souza, E., Araújo, D., ..., & Araujo, F. (2009). A neurobiologia do transtorno de estresse pós-traumático. *Neurobiologia*, 72 (1).
- American Psychiatric Association (1994). *Manual de Diagnóstico e Estatística de Distúrbios Mentais DSM-IV*. São Paulo: Manole.
- American Psychiatric Association (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders, Fifth Edition DSM-V*. Arlington, American Psychiatric Association.
- Anderson, C., Arun, A., & Jensen, P. (2010). Habituation to Environmental Enrichment in Captive Sloth Bears- Effect on Stereotypies. *Zoo Biology*, 29, 705–714.
- Anderson, D., Crowell, C., Koehn, D., & Lupo, J. (1976). Different intensities of unsignalled inescapable shock treatments as determinants of non-shock-motivated open field behavior: A resolution of disparate results. *Physiology & Behavior*, 17, 3, 391–394.
- Andin, J., Hallbeck, M., Mohammed, A., & Marcusson, J. (2007). Influence of environmental enrichment on steady-state mRNA levels for EAAC1, AMPA1 and NMDA2A receptor subunits in rat hippocampus. *Brains Research*, 1174, 18-27.
- Arnaiz, S. L., D'Amico, G., Paglia, N., Arismendi, M., Basso, N., & Arnaiz, M. R. L. (2004). Enriched environment, nitric oxide production and synaptic plasticity prevent the

- aging-dependent impairment of spatial cognition. *Molecular Aspects of Medicine*, 25(1-2), 91-101.
- Arnaiz, S., Bustamante, J., Arismendi, M., Vilas, S., Paglia, N., Basso, N., ... & Arnaiz, M. R. L. (2006). Extensive enriched environments protect old rats from aging dependent impairment of spatial cognition, synaptic plasticity and nitric oxide production. *Behavioural Brain Research*, 169(2), 294-302.
- Baddeley, A., Anderson, M., & Eysenck, M. (2011). *Memória*. Porto Alegre: ArtMed.
- Bakos, J., Hlavacova, N. & Rajman, M. (2009). Enriched environment influences hormonal status and hippocampal brain derived neurotrophic factor in a sex dependent manner. *Neuroscience*. 164, 788–797.
- Baldwin, D., Anderson, I., & Nutt, D. (2005). Evidence-based guidelines for the pharmacological treatment of anxiety disorders: recommendations from the British Association for Psychopharmacology. *Journal of Psychopharmacology*, 19(6), 567–596.
- Barichello, T., Fagundes, G., Generoso, J., Caroline S. Dagostin, C., Simões, L., Vilela, M., ...,& Teixeira, L. (2014). Environmental enrichment restores cognitive deficits induced by experimental childhood meningitis. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 36, 4, 322–329.
- Belzung, C. & Griebel, G. (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research*, 125, 141–149
- Benaroya-Milshtein, N., Hollander, N., Apter, A., & Kukulansky, T. (2004). Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *European Journal of Neuroscience*, 20, 1341–1347.
- Berger, W., Portella, C. M., Fontenelle, L., Kinrys, G., & Mendlowicz, M. V. (2007). Antipsicóticos, anticonvulsivantes, antiadrenérgicos e outras drogas: o que fazer quando o transtorno do estresse pós-traumático não responde aos inibidores seletivos da recaptação da serotonina? *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 29 (2).
- Bergmann, U. (2014). *A neurobiologia do processamento de informação e seus transtornos: implicações para a Terapia EMDR e outras psicoterapias*. TraumaClinic Edições, Brasília.
- Bernik, M., Laranjeiras, M., & Corregiari, F. (2003). Tratamento farmacológico de estresse pós-traumático. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25 (supl. 1), 46-50.
- Besnard, A., Caboche, J., & Laroche, S. (2012). Reconsolidation of memory: A decade of debate. *Progress in Neurobiology*, 99, 61–80.
- Blanchard, D.C. & Blanchard, R.J. (1988). Ethoexperimental Approaches to the Biology of Emotion. *Annual Review of Psychology*, 39, 43-68.

- Blanco, M.B. & Canto-de-Souza, A.L. Avaliação dos efeitos a longo prazo das reexposições à situação de lembrança do evento traumático na memória e comportamentos relacionados a ansiedade em camundongos (artigo em preparação).
- Blanco, M. B., Gon, M. C., & Estanislau, C.R. (2012). Efeitos do Enriquecimento Ambiental na Aprendizagem de Ratos Wistar Jovens e Velhos. *Neurobiologia*, 75, 45-55.
- Bliss, T. & Collingridge, G. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361, 31-39
- Bourin, M. & Hascoet, M. (2003). The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*, 463, 55– 65.
- Bouton, M. (1993). Context, time, and memory retrieval in the interference paradigms of Pavlovian learning. *Psychological Bulletin*, 114, 80-99.
- Bouton, M. (2004). Context and Behavioral Processes in Extinction. *Learn. Mem.*, 11, 485-494.
- Bowman, R., Beck, K., & Luine, V. (2003). Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity. *Hormones and Behavior*, 43, 48–5.
- Braida, D., Donzelli, A., Martucci, R., Ponzonia, L., Pauletti, A., Langusc, A., & Sala, M. (2013). Mice discriminate between stationary and moving 2D shapes: Application to the object recognition task to increase attention. *Behavioural Brain Research*, 242, 95–101.
- Brandão, M. L. (2004). As bases biológicas do comportamento. São Paulo: EPU.
- Bremner, J.D. (2002). Neuroimaging studies in post-traumatic stress disorder. *Curr. Psychiatry Rep.* 4, 254–263.
- Bremner, J., Scott, T., Delaney, R., Southwick, S., Mason, J., Johnson, D., Innis, R., ..., & Charney, D.(1993). Deficits in short-term memory in Posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry*, 150, 7, 1015-1019.
- Brenes, J., Rodríguez, O., & Fornaguera, J. (2008). Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 89, 85–93.
- Brenes, J., Padilla M., & Fornaguera, J. (2009). A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behavioural Brain Research*, 197, 125–137.
- Brewin, C. R., & Holmes, E. A. (2003). Psychological theories of posttraumatic stress disorder. *Clin Psychol Rev*, 23, 3, 339-376.

- Bruel-Jungerman, E., Laroche, S., & Rampon, C. (2005). New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *European Journal of Neuroscience*, 21, 513–521.
- Brunoni, A.R. (2008). Transtornos mentais comuns na prática clínica. *Rev Med (São Paulo)*, 87(4), 251-63.
- Cammarota, M., Bevilaqua, L., Medina, J., & Izquierdo, I. (2004). Retrieval Does Not Induce Reconsolidation of Inhibitory Avoidance Memory. *Learn. Mem.*, 11, 572-578.
- Cammarota, M., Bevilaqua, L. R., Barros, D. M., Vianna, M. R., Izquierdo, L. A., Medina, J. H., & Izquierdo, I. (2005) Retrieval and the extinction of memory. *Cell Mol Neurobiol*, 25, n.3-4, 465-474.
- Carneiro, M.P. (2008). Desenvolvimento da Memória na Criança: O que Muda com a Idade? *Psicologia: Reflexão e Crítica*, 21(1), 51-59.
- Carobrez, A. P. & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev*, 29 (8), 1193-1205.
- Clarke, J., Cammarota, M., Gruart, A., Izquierdo, I., & Delgado-García, J. M. (2010). Plastic modifications induced by object recognition memory processing. *PNAS*, 107, 6, 2652-2657.
- Corr. P. (2011). Anxiety: Splitting the phenomenological atom. *Personality and Individual Differences*, 50, 7, 889–897
- Corrêa, A. (2008). Neuropsicologia da memória e sua avaliação. In: Fuentes, D. et al (Orgs). *Neuropsicologia: teoria e prática*. Porto Alegre: Artmed.
- Costa, F. S. M. (2008). Avaliação do modelo de transtorno de estresse pós-traumático (tept) em camundongos machos: efeitos do midazolam, sertralina e ausência de efeito da imipramina (Dissertação de Mestrado não publicada). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos.
- Costall, B., Jones, B.J., Kelly, M.E., Naylor, R.J., & Tomkins, D.M. (1989). Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 32, 777–785.
- Cruz, A., Frei, F., & Graeff, F. (1994). Ethopharmacological Analysis of Rat Behavior on the Elevated Plus-Maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49, 1, 171-176.
- Darwin, Charles. (1872). *A expressão das emoções no homem e nos animais*. Reimp.2009. São Paulo: Companhia das Letras.
- De Kloet, E., Vreugdenhil, E., Oitzl, M., & Joëls, M. (1998). Brain Corticosteroid Receptor Balance in Health and Disease. *Endocrine Reviews*, 19, 3. Disponível em

[http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/edrv.19.3.0331?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3dpubmed](http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/edrv.19.3.0331?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed)

- De Kloet, E., Oitzl, M., & Joëls, M. (1999). Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *TINS*, 22, 10.
- De Quervain, D., Aerni, A., Schelling, G., & Roozendaal, B. (2009). Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30, 358–370
- Demyttenaere, K., Bruffaerts, R., Posada-Villa, J., Gasquet, I., Kovess, V., Lepine, J.P., ..., & Chatterji, S. (2004) Prevalence, severity, and unmet need for treatment of mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *JAMA*, 291, 2581– 2590.
- Diamond, M. C. (2001). Response of the brain to enrichment. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 73(2), 211-220.
- Douglas, C., Bateson, M., Walsh, C., Bedué, A., & Edwards, S (2012). Environmental enrichment induces optimistic cognitive biases in pigs. *Applied Animal Behaviour Science*; 139, 65– 73
- Duman, C., Schlesinger, L., Russell, D., & Duman, R.(2008). Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Research*, 1199, 148-158.
- Eisenhardt, D. & Menzel, R. (2006). Extinction learning, reconsolidation and the internal reinforcement hypothesis. *Neurobiology of Learning and Memory*.
- Escorihuela, R.M., Tobeña, A., & Fernandez-Teruel, A. (1995). Environmental Enrichment and Postnatal Handling Prevent Spatial Learning Deficits in Aged Hypoemotional (Roman High-avoidance) and Hyperemotional (Roman Low-avoidance) Rats. *Learning & memory*, 2, 40-48.
- Fahy, F., Riches, I., & Brown, M. (1993). Neuronal activity related to visual recognition memory: long-term memory and the encoding of recency and familiarity information in the primate anterior and medial inferior temporal and rhinal cortex. *Experimental Brain Research*, 96:457-472.
- Fernández-Teruel, A., Gimenez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Gil, L., Aguilar, R., Steimer, T., & Tobeña, A. (2002). Early-life handling stimulation and environmental enrichment. Are some of their effects mediated by similar neural mechanisms? *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 73, 233-245.
- Fransén, E. (2005). Functional role of entorhinal cortex in working memory processing. *Neural Networks*, 18, 1141–1149

- Frick, K. & Fernandes, S. (2003). Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiology of Aging*, 24 (4), 615–626
- Fries, G. & Magalhães, P. (2010). A pesquisa básica na Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul. *Rev Psiquiatr Rio Gd Sul*, 32(2), 33-34
- Garcia, A., Cardenas, F., & Morato, S. (2011). The effects of pentylentetrazol, chlórdiazepoxide and caffeine in rats tested in the elevated plus-maze depend on the experimental illumination. *Behavioural Brain Research*, 217, 1, 171–177.
- Geerse, G., van Gurp, L., Wiegant, V., & Stam, R. (2006) Individual reactivity to the open-field predicts the expression of cardiovascular and behavioural sensitisation to novel stress. *Behavioural Brain Research*, 175, 1, 9–17.
- Gottschalk, M., Sarnyai, Z., Guest, P., Harris, L., & Bahn, S. (2012). Estudos traducionais de neuropsiquiatria e esquizofrenia: modelos animais genéticos e de neurodesenvolvimento. *Revista de Psiquiatria Clínica*, 40, 41-50.
- Graeff, F. G. (2003). Bases biológicas do transtorno de estresse pós-traumático. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25 (Supl I), p.21-24.
- Graeff, F. G. (2007). Ansiedade, pânico e o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 29 (Supl I), 53-56.
- Gross, A., Richter, H., Engel, A., & Würbel, H. (2012). Cage-induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. *Behavioural Brain Research*, 234, 61– 68.
- Guilliams, T. & Edwards, L. (2010). Chronic Stress and the HPA Axis: Clinical Assessment and Therapeutic Considerations. *The Standard*, 9, 2. Disponível em: [http://www.pointinstitute.org/wpcontent/uploads/2012/10/standard\\_v\\_9.2\\_hpa\\_axis.pdf](http://www.pointinstitute.org/wpcontent/uploads/2012/10/standard_v_9.2_hpa_axis.pdf)
- Guimarães, R. (2013) Pesquisa Translacional: uma interpretação. *Revista Ciência e Saúde Coletiva*, 18(6), 1731-1744.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. (2002). *Tratado De Fisiologia Médica* 10. Ed. Guanabara Koogan.
- Harati, H., Majchrzak, M., Cosquer, B., Galani, R., Kelche, C., Cassel, J., & Barbelivien, A. (2009). Attention and memory in aged rats: Impact of lifelong environmental enrichment. *Neurobiology of aging*.
- Harris, A., D'Eath, R., & Healy, S. (2009). Environmental enrichment enhances spatial cognition in rats by reducing thigmotaxis (wall hugging) during testing. *Animal Behaviour*, 77, 1459–1464.
- Hendriksen, H., Berend Olivier, B., & Oosting, R. (2014). From non-pharmacological treatments for post-traumatic stress disorder to novel therapeutic targets. *European Journal of Pharmacology*, 732, 139-158.

- Hendriksen, H., Prins, J., Olivier, B., & Oosting, R. (2010). Environmental Enrichment induces behavioral recovery and enhanced hippocampal cell proliferation in an antidepressant-resistant animal model for PTSD. *Plos ONE*, 5, 8.
- Hetrick, S. E., Purcell, R., Garner, B., & Parslow, R. (2010). Combined pharmacotherapy and psychological therapies for posttraumatic stress disorder (PTSD). *Cochrane Database Syst Rev*, 7, CD007316.
- Hirase, H. & Shinohara, Y. (2014). Transformation of cortical and hippocampal neural circuit by environmental enrichment. *Neuroscience*, 280, 282-298
- Hoffmann, L., Schutte, S., Koch, M., & Schwabe, K. (2009). Effect Of “Enriched Environment” During Development On Adult Rat Behavior And Response To The Dopamine Receptor Agonist Apomorphine. *Neuroscience*, 158, 1589–1598.
- Hughes, R. & Collins, M. (2010). Enhanced habituation and decreased anxiety by environmental enrichment and possible attenuation of these effects by chronic  $\alpha$ -tocopherol (vitamin E) in aging male and female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 94, 534–542.
- Hughes, K. & Shin, L. (2011). Functional neuroimaging studies of post-traumatic stress disorder. *Expert Rev Neurother.*, 11(2), 275–285.
- Hutchinson, K., McLaughlin, K., Wright, R., Ortiz, J., Anouti, D. Mika, A., ..., & Conrad, C. (2012). Environmental enrichment protects against the effects of chronic stress on cognitive and morphological measures of hippocampal integrity. *Neurobiology of learning and memory*, 97, 250-260.
- Ickes, B., Pham, T., Sanders, L., Albeck, D., Mohammed, A., & Granholm, A. (2000). Long-Term Environmental Enrichment Leads to Regional Increases in Neurotrophin Levels in Rat Brain. *Experimental Neurology*, 164, 45–52
- Izquierdo, I. (2011b). Bases biológicas da memória. In: Kapczinski, F., Quevedo, J. & Izquierdo, I. (Orgs). *Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos: uma abordagem translacional*. Porto Alegre: Artmed.
- Izquierdo, I. (1989). Memórias. *Estudos avançados*, Vol. 3, n.6.
- Izquierdo, I. (2011a). *Memória*. Porto Alegre: Artmed.
- Izquierdo, I., Cammarota, M., Silva, W., Bevilaqua, L., Rossato, J., Bonini, J., ..., & Medina, J. (2008). The evidence for hippocampal long-term potentiation as a basis of memory for simple tasks. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 80(1), 115-127
- Izquierdo, I., Vianna, M., Izquierdo, L., Barros, D., Szapiro, J., Coitinho, S., ..., & Medina, J. (2002). Memory Retrieval and its Lasting Consequences. *Neurotoxicity Research*, 4, 573-593

- Juruena, M., Cleare, A., & Pariante, C. (2004). O eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, a função dos receptores de glicocorticóides e sua importância na depressão. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 26(3), 189-201.
- Kandel, E. (2009a). *Em busca da memória: o nascimento de uma nova ciência da mente*. São Paulo: Companhia das letras.
- Kandel, E. (2009b). The Biology of Memory: A Forty-Year Perspective. *The Journal of Neuroscience*, 29(41), 12748-12756.
- Kapczinski, F. & Margis, R. (2003). Transtorno de estresse pós-traumático: critérios diagnósticos. *Rev Bras Psiquiatr*, 25(Supl I), 3-7
- Kaplan, H. I., Sadock, B. J., & Grebb, J. A. (1997). *Compêndio de Psiquiatria: Ciências do Comportamento e Psiquiatria Clínica*. Porto Alegre: Artmed.
- Kazlauckas, V., Pagnussat, N., Mioranza, S., Kalinine, E., Nunes, F., Pettenuzzo, L., ... & Lara, D. (2011). Enriched environment effects on behavior, memory and BDNF in low and high exploratory mice. *Physiology & Behavior*, 102, 475–480.
- Kessler, R., Sonnega, A., Bromet, E., Hughes, M., & Nelson, C. (1995). Posttraumatic Stress Disorder in the National Comorbidity Survey, *Arch Gen Psychiatry*, 52.
- Knapp, P. & Caminha, R.M. (2003). Terapia cognitiva do transtorno de estresse pós-traumático. *Rev Bras Psiquiatr*, 25(Supl I), 31-6.
- Khoda, K., Harada, K., Kato, K., Hoshino, A., Motohashi, J.; Yamaji, T., ..., & Kato, N. (2007). Glucocorticoid receptor activation is involved in producing abnormal phenotypes of single-prolonged stress rats: A putative post-traumatic stress disorder model. *Neuroscience*, 148 (1), 22–33.
- Larsson, F., Winblad, B., & Mohammed, A. (2002). Psychological stress and environmental adaptation in enriched vs. impoverished housed rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 73, 193–207.
- Lechner, H., Squire, L., & Byrne, J.(1999). 100 Years of Consolidation-- Remembering Müller and Pilzecker. *Learn. Mem.*, 6, 77-87.
- LeDoux, J. (2013). The slippery slope of fear. *Trends in Cognitive Sciences*, 17, 4.
- LeDoux, J. (2014). Coming to terms with fear. *PNAS*, 111, 8, 2871–2878.
- Lee, J., Milton, A., & Everitt, B. (2006). Reconsolidation and Extinction of Conditioned Fear: Inhibition and Potentiation. *The Journal of Neuroscience*, 26(39), 10051–10056.

- Leggio, M.G., Mandolesi, L., Federico, F., Spirito, F., Ricci, B., Gelfo, F., & Petrosini, L. (2005). Environmental enrichment promotes spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behavioral Brain Research*, 163, 78-90.
- Liberzon, I., Khan, S., & Young, E. (2005). Animal models of posttraumatic stress disorder. In: Steckler, T., Kalin, N. & Reul, J. (Orgs). *Handbook of stress and the brain*. Elsevier.
- Lima, A., Silva, K., Padovan, C., Almeida, S., & Fukuda, M. (2014). Memory, learning and participation of cholinergic system in young rats exposed to environmental enrichment. *Behavioural Brain Research*, 259, 247-252
- Lister, R.G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92, 180-185.
- Lister, R.G. (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology and Therapeutics*, 46(3), 321-40.
- Louvar, H., Maccari, S., Ducroq, E., Thomas P., & Darnaudery, M. (2005). Long-term behavioural alterations in female rats after a single intense footshock followed by situational reminders. *Psychoneuroendocrinology*, 30, 4, 316-24.
- Lucassen, P., Pruessner, J., Sousa, N., Almeida, O.F., Van Dam, A. M., Rajkowska, G., ..., & Czéh, B. (2014). Neuropathology of stress. *Acta Neuropathol*, 127, 109–135.
- Luine, V.N., (2002). Sex differences in chronic stress effects on memory in rats. *Stress* 5 (3), 205–216.
- Maragno, L., Goldbaum, M., Gianini, R., Novaes, H., & César, C. L. (2006). Prevalência de transtornos mentais comuns em populações atendidas pelo Programa Saúde da Família no Município de São Paulo, Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 22(8), 1639-1648.
- McGaugh, J. (2000). Memory- a Century of Consolidation. *Review Neuroscience*, 287.
- McNaughton, N. & Corr, P. (2004). A two-dimensional neuropsychology of defense: fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28, 285–305.
- McQuaid, R., Audet, M., Jacobson-Pick, S., & Anisman, H. (2013). The differential impact of social defeat on mice living in isolation or groups in an enriched environment: plasma corticosterone and monoamine variations. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 16, 351–363.
- Milad, M. & Quirk, G. (2002). Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, 420, 7.

- Mitra, R. & Sapolsky, R. (2012). Short-Term Enrichment Makes Male Rats More Attractive, More Defensive and Alters Hypothalamic Neurons. *PLoS ONE*, 7 (5). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3342313/pdf/pone.0036092.pdf>
- Moncek, F., Duncko, R., Johansson, B. B., & Jezova, D. (2004). Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *J. Neuroendocrinol.*, 16, 423–431.
- Monfils, M., Cowansage, K., Klann, E., & LeDoux, J. (2009). Extinction-reconsolidation boundaries: key to persistente attenuation of fear memories. *Science*, 324(5929), 951–955.
- Nader, K. (2003). Memory traces unbound. *TRENDS in Neurosciences*, 26, 2.
- Nader, K., Schafe, G., & Le Doux, J. (2000). Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, 406.
- Nithianantharajah, J. & Hannan, A. (2006). Enriched environments, experience dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nature Reviews Neuroscience*, 7, 697-709.
- Oliveira, M. & Bueno, O. (1993). Neuropsicologia da memória humana. *Psicologia USP*, 4, 1-2
- Oliveira, R.M. (2007). O Conceito de Executivo Central e Suas Origens. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 23, 4, 399-406.
- Organização Mundial de Saúde. (1993). *Classificação de Transtornos Mentais e de Comportamento da CID-10: Descrições Clínicas e Diretrizes Diagnósticas*. Porto Alegre: Artes Médicas.
- Orsini, C. & Maren, S. (2012). Neural and cellular mechanisms of fear and extinction memory formation. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 1773–1802.
- Pamplona, F., Pandolfo, P., Savoldi, R., Prediger, R. D., & Takahashi, R. (2009). Environmental enrichment improves cognitive deficits in Spontaneously Hypertensive Rats (SHR): Relevance for Attention Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD). *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 33 (7), 1153–1160.
- Pang, T. & Hannan, A. (2013). Enhancement of cognitive function in models of brain disease through environmental enrichment and physical activity. *Neuropharmacology*, 64, 515–528.
- Pedreira, M. & Maldonado, H. Protein Synthesis Subverses Reconsolidation or Extinction Depending on Reminder Duration. *Neuron*, 38, 863–869.
- Peña, Y., Prunell, M., Rotllant, D., Armario, A., & Escorihuela, R. (2009). Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 34, 1390-1404.

- Pereira, L., Arteni, N., Petersen, R., da Rocha, A.P., Achaval, M., & Alexandre Netto, C. (2007). Effects of daily environmental enrichment on memory deficits and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87 (1), 101–108.
- Pereira, L., Strapasson, A., Nabinger, P., Achaval, M., & Alexandre Netto, C. (2008). Early enriched housing results in partial recovery of memory deficits in female, but not in male, rats after neonatal hypoxia–ischemia. *Brain Research*, 1218, 257–266.
- Phillips, R. G., & LeDoux, J.E. (1992) Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behav Neurosci*, 106, 274–285
- Purves, D., Augustini, G., Fitzpatrick, D., Katz, L., LaMantia, A., Mc Namara, J., & Williams, M. (2005). *Neurociências*. Porto Alegre, Artmed.
- Pynoos, R.S., Ritzmann, R.F., Steinberg, A.M., Goenjian, A., & Prisecaru, I. (1996). A behavioral animal model of post-traumatic stress disorder featuring repeated exposure to situational reminders. *Biol. Psychiatry*, 39, 129–134.
- Rang, H., Dale, M., Ritter, J., & Moore, P. (2004). *Farmacologia*, 5ª edição. Editora Guanabara Koogan S.A.
- Rauch, S., Shin, L., & Phelps, E. (2006). Neurocircuitry Models of Posttraumatic Stress Disorder and Extinction: Human Neuroimaging Research- Past, Present, and Future. *Biol Psychiatry*, 60, 376 –382.
- Redondo, R. & Morris, R. (2011). Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nature Reviews Neuroscience*, 12, 17-30.
- Ribeiro, C. A. S., Ferreira, F. G., Costa, C. A. R., & Costa, M. (2010). Bateria Sequencial de Procedimentos para Avaliação da Atividade Ansiolítica e Antidepressiva em Camundongos. Trabalho apresentado no XXXIV Congresso Anual da Sociedade Brasileira de Neurociências e Comportamento, Caxambu.
- Ribeiro, C.A.S. (2010). Bateria Sequencial de Procedimentos para Avaliação da Atividade Ansiolítica e Antidepressiva em Camundongo. (Dissertação nao publicada). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho. Botucatu.
- Roberts, L., Taylor, J., & Leaniz, G. (2011). Environmental enrichment reduces maladaptive risk-taking behavior in salmon reared for conservation. *Biological Conservation*, 144, 1972–1979

- Robinson, O., Charney, D., Overstreet, C., Vytal, K. & Grillon, C. (2012). The adaptive threat bias in anxiety: Amygdala–dorsomedial prefrontal cortex coupling and aversive amplification. *NeuroImage*, 60, 1, 523–529.
- Rodgers, R., Cao, B., Dalvi, A., & Holmes, A. (1997). Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30, 289-304
- Rodgers, R. & Johnson, J. (1995). Factor Analysis of Spatiotemporal and Ethological Measures in the Murine Plus-Maze Test of Anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52 (2), 297-303.
- Rosen, J. & Schulkin, J. (1998). From Normal Fear to Pathological Anxiety. *Psychological Review*, 105, 2, 325-350.
- Rosenzweig, M.R., Bennett, E. L., & Diamond, M. C. (1972). Brain changes in response to experience. *Scientific American*, 226, 22-29.
- Roy, V., Belzung, C., Delarue, C., & Chapillon, P. (2001). Environmental enrichment in BALB/c mice: Effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiology & Behavior*, 74, 313– 320.
- Ruggiero, R., Bueno-Júnior, L., Ross, J., Fachim, H., Padovan-Neto, F., Merlo, S., ..., & Moreira, J. (2011). Neurotransmissão glutamatergic e plasticidade sináptica: aspectos moleculares, clínicos e filogenéticos. *Medicina (Ribeirão Preto)*, 44(2), 143-56.
- Sampedro-Piquero, P., Begega, A., & Arias, J. (2014). Increase of glucocorticoid receptor expression after environmental enrichment: relations to spatial memory, exploration and anxiety-related behaviors. *Physiology & Behavior*, 129, 118-129.
- Sbardelloto, G., Schaefer, L., Lobo, B., Caminha, R., & Kristensen, C. (2012). Processamento Cognitivo no Transtorno de Estresse Pós-Traumático: Um Estudo Teórico. *Interação Psicol.*, Curitiba, 16, 2, 261-269.
- Schrijver, N., Bahr, N., Weiss, I., & Wurbel, H. (2002). Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 73, 209–224.
- Shapiro, F. (1989). Eye movement desensitization procedure: A new treatment for post-traumatic stress disorder. *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, 20, 211- 217.
- Siegmund, A. & Wotjak, C. (2006). Toward an Animal Model of Posttraumatic Stress Disorder. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1071, 324–334.

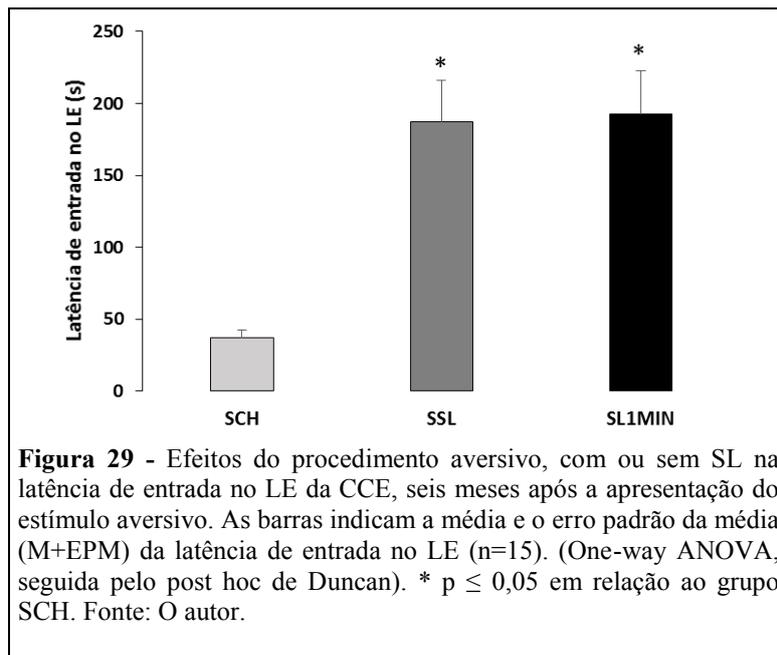
- Siegmund, A. & Wotjak, C. (2007). A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *Journal of Psychiatric Research*, 41, 848–860.
- Simpson, J. & Kelly, J. (2011) The impact of environmental enrichment in laboratory rats-behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research*, 222, 246-264.
- Soares, J., Galvão, S., Moreira, K., & Ferreira, T. (2011). Modelos comportamentais para o estudo da aprendizagem e memória em roedores. In: Carlini, E. & Mendes, F. (Orgs). *Protocolos em Psicofarmacologia Comportamental*. São Paulo: Editora Fap-Unifesp.
- Soffié, M., Hahn, K., Terão, E., & Eclancher, F. (1999). Behavioural and glial changes in old rats following environmental enrichment. *Behavioural Brain Research*, 101, 37-49.
- Speisman, R., Kumar, A., Rani, A., Pastoriza, J., Severance, J., Foster, T., & Ormerod, B. (2013). Environmental enrichment restores neurogenesis and rapid acquisition in aged rats. *Neurobiology of Aging*, 34 (1), 263–274
- Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99(2),195-231.
- Squire, L. & Zola-Morgan, S. (1991). The Medial Temporal Lobe Memory System. *Science*, 253, 1380-1386.
- Squire, L. & Zola, S. M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 13515–13522,
- Stam, R. (2007). PTSD and stress sensitization: A tale of brain and body part 2: Animal models. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 31, 558-584.
- Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4, 3.
- Stein, D.J., Ipser, J.C., & Seedat, S. (2006). Pharmacotherapy for post traumatic stress disorder (PTSD). *Cochrane Database of Systematic Review*, Issue 1. Art. No.: CD002795. DOI: 10.1002/14651858.CD002795.pub2.
- Stevens, J., Jovanovic, T., Fani, N., Ely, T., Glover, E., Bradley, B., & Ressler, K. (2013). Disrupted amygdala-prefrontal functional connectivity in civilian women with posttraumatic stress disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 47, 1469-1478.
- Suzuki, A., Josselyn, S., Frankland, P., Masushige, S., Silva, A., & Kida, S. Memory Reconsolidation and Extinction Have Distinct Temporal and Biochemical Signatures. *The Journal of Neuroscience*, 24(20), 4787– 4795.
- Sztainberg, Y. & Chen, A. (2010). An environmental enrichment model for mice. *Nature Protocols* 5, 9,1535-1539.

- Tabach, R. (2011). Modelos animais para o estudo de drogas ansiolíticas. In: Carlini, E. & Mendes, F. (Orgs). *Protocolos em Psicofarmacologia Comportamental*. São Paulo: Editora Fap-Unifesp.
- Talmi, D. (2013). Enhanced Emotional Memory: Cognitive and Neural Mechanisms. *Current Directions in Psychological Science*, 22(6), 430–436.
- Thompson, R. (1986). The Neurobiology of Learning and Memory. *Science*, 233, 941-947.
- Tronson, N. & Taylor, R. (2007). Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nature Reviews Neuroscience*, 8, 262-275
- Vaiva, G., Ducrocq, F., Jezequel, K., Averland, B., Lestavel, P., Brunet, A., & Marmar C. (2003). Immediate treatment with propranolol decreases posttraumatic stress disorder two months after trauma. *Biol Psychiatry*, 54(9), 947-949.
- Valvassori, S., Arent, C., & Quevedo, J. (2011). Modelos animais de transtornos psiquiátricos. In: Kapczinski, F., Quevedo, J. & Izquierdo, I. (Orgs). *Bases biológicas dos transtornos psiquiátricos: uma abordagem translacional*. Porto Alegre: Artmed.
- Van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nature Reviews Neuroscience*, 1, 191-198.
- Van Praag, H.M. (2004). The cognitive paradox in posttraumatic stress disorder: a hypothesis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28 (6), 923–935.
- Ventura, Dora Fix (2010). Um retrato da área de neurociência e comportamento no Brasil. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 26 n. especial, 123-129.
- Viola, H., Ballarini, F., Martínez, M. & Moncada, D. (2014). The tagging and capture hypothesis from synapse to memory. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 122, 391-423.
- Vivinetto, A., Suárez, M., & Rivarola, M. (2013). Neurobiological effects of neonatal maternal separation and post-weaning environmental enrichment. *Behavioural Brain Research*, 240, 110– 118.
- Xavier, G. F. (1993). A modularidade da memória e o Sistema nervoso. *Psicologia USP*, 4(1/2), p. 61-115.
- Yehuda, R. (2006). Advances in Understanding Neuroendocrine Alterations in PTSD and Their Therapeutic Implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*.
- Yehuda, R. (2002). Neuroendocrine Alterations in Posttraumatic Stress Disorder. *Primary Psychiatry*, February 1, Disponível em <http://primarypsychiatry.com/neuroendocrine-alterations-in-posttraumatic-stress-disorder/>

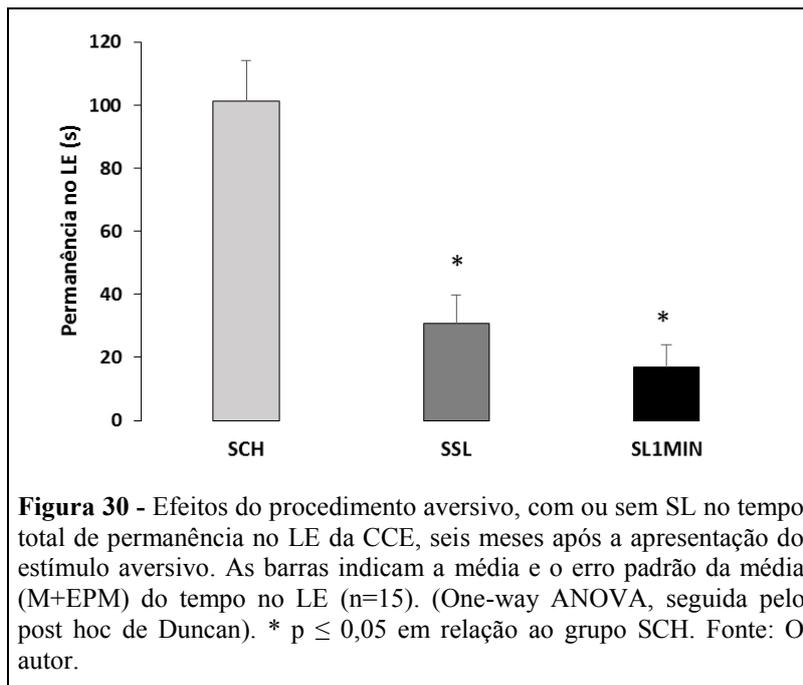
- Yehuda, R. & Antelman, S. (1993). Criteria for Rationally Evaluating Animal Models of Posttraumatic Stress Disorder. *Biological Psychiatry*, 33, 479-486. Disponível em <http://www.trauma-pages.com/a/yehuda93.php>
- Wei, Q., Lu, X., Liu, L., Schafer, G., Shieh, K., Burke, S., Robinson, T., Watson, S., Seasholtz, A., & Akil, H. (2004). Glucocorticoid receptor overexpression in forebrain: A mouse model of increased emotional lability. *PNAS*, 101 (32), 11851-11856.
- Willians, L., Kemp, A., Felminghan, K., Barton, M., Olivieri, G., Peduto, A., ..., & Bryant, R. (2006). Trauma modulates amygdala and medial prefrontal responses to consciously attended fear. *Neuroimage*, 29, 347-357.
- Woodcock, A. & Richardson, R. (2000). Effects of environmental enrichment on rate of contextual processing and discriminative ability in adult rats. *Neurobiol Learn Mem*, 73, 1-10.
- Zhang, L., Zhou, W., Ji, Y., Li, Y., Zhao, N., Chen, H., Xue, R., ..., & Li, Y. (2015). Anxiolytic effects of ketamine in animal models of posttraumatic stress disorder. *Psychopharmacology*, 232, 663-672
- Zhu, S., Yee, B., Nyffeler, M., Winblad, B., Feldon J., & Mohammed, A. (2006). Influence of differential housing on emotional behavior and neurotrophin levels in mice. *Behavioural Brain Research*, 169, 10-20.
- Zimmermann, A., Stauffacher, M., Langhans, W., & Würbel, H. (2001). Enrichment-dependent differences in novelty exploration in rats can be explained by habituation. *Behavioural Brain Research*, 121 (1-2), 11-20.
- Zschucke, E., Gaudlitz, K., & Ströhle, A. (2013). Exercise and Physical Activity in Mental Disorders: Clinical and Experimental Evidence. *Prev Med Public Health*, 46, S12-S21.

## APÊNDICE A - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS EM LONGO PRAZO DAS REEXPOSIÇÕES A SITUAÇÃO DE LEMBRANÇA DO EVENTO TRAUMÁTICO NA MEMÓRIA E COMPORTAMENTOS RELACIONADOS À ANSIEDADE EM CAMUNDONGOS

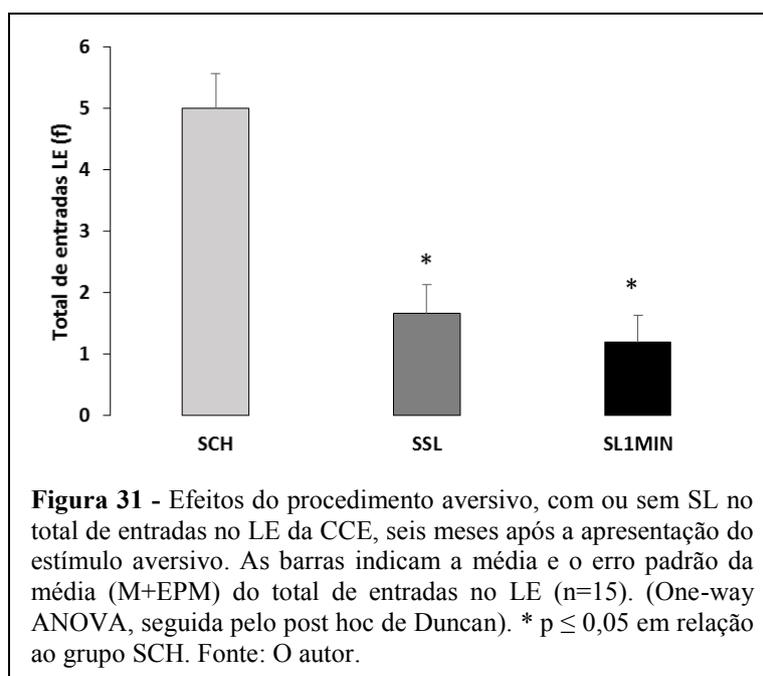
As Figuras 29, 30 e 31 abaixo apresentam os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, nos comportamentos avaliados na CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo.



A Figura 29 apresenta os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, na latência de entrada no LE da CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo. A One-way ANOVA [ $F_{(2,42)}=13,37$ ,  $p<0,05$ ] mostrou efeito do procedimento aversivo na latência de entrada no LE da CCE. O *post hoc* de Duncan mostrou que os grupos SSL e SL1MIN apresentaram redução da latência de entrada no LE da CCE quando comparados ao grupo SCH.

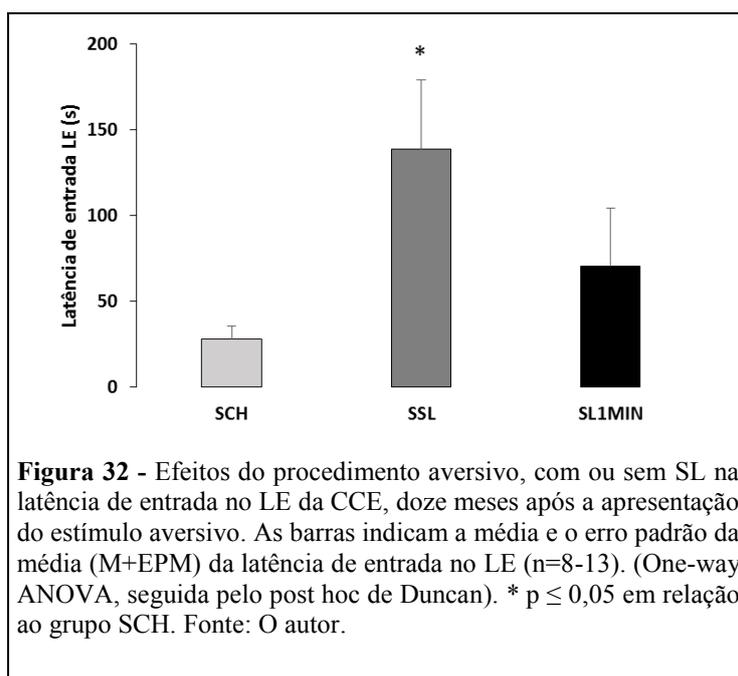


A Figura 30 apresenta os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, no tempo total de permanência no LE da CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo. A One-way ANOVA [ $F_{(2,42)}=20,53, p<0,05$ ] mostrou efeito do procedimento aversivo no tempo total de permanência no LE da CCE. O *post hoc* de Duncan mostrou que os grupos SSL e SL1MIN apresentaram redução no tempo total de permanência no LE da CCE quando comparados ao grupo SCH.

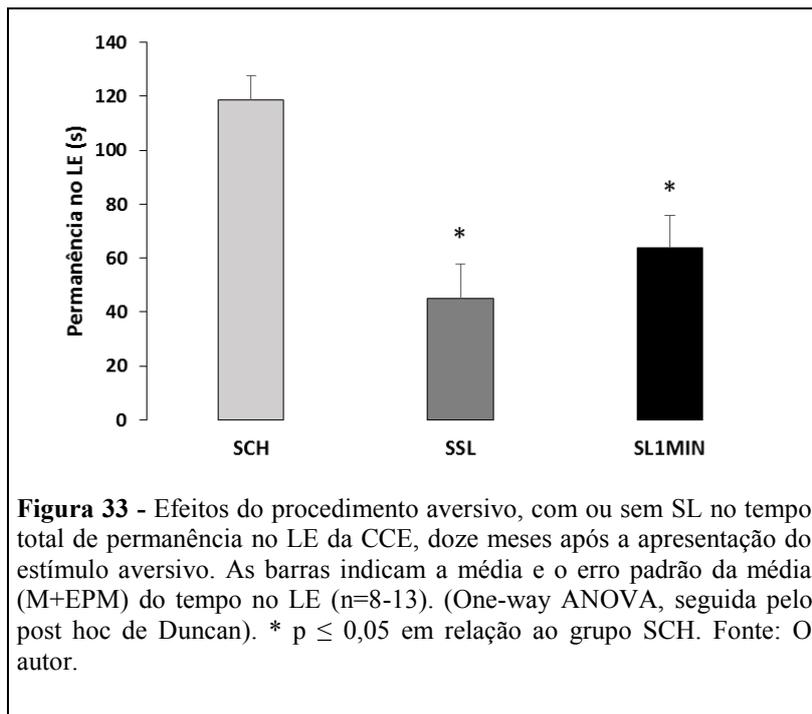


A Figura 31 apresenta os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, no total de permanência no LE da CCE, seis meses após a apresentação do estímulo aversivo. A One-way ANOVA [ $F_{(2,42)}=18,07, p<0,05$ ] mostrou efeito do procedimento aversivo no total de entradas no LE da CCE. O *post hoc* de Duncan mostrou que os grupos SSL e SL1MIN apresentaram redução no total de entradas no LE da CCE quando comparados ao grupo SCH.

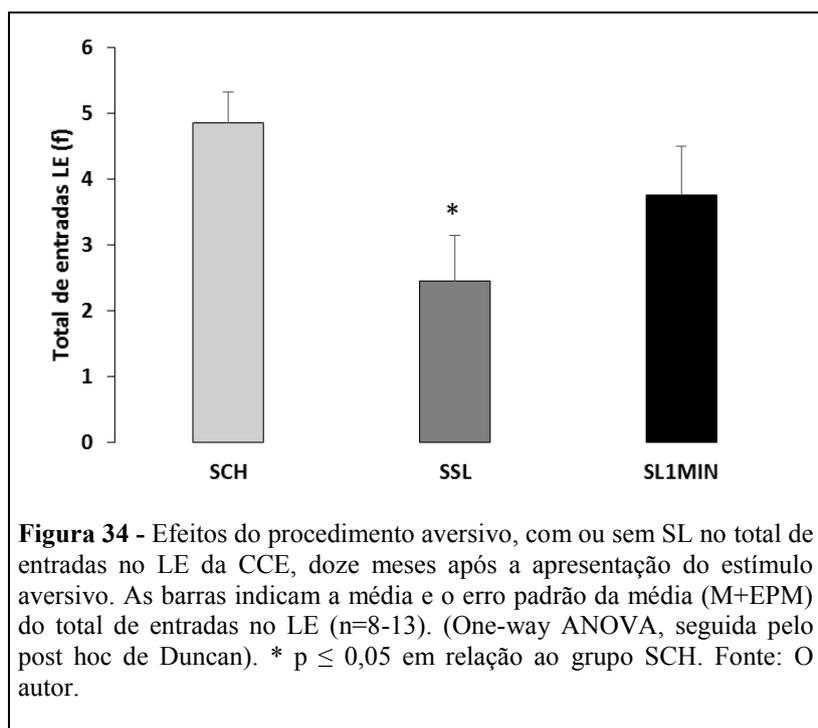
As Figuras 32, 33 e 34 apresentam os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, nos comportamentos avaliados na CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo.



A Figura 32 apresenta os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, na latência de entrada no LE da CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo. A One-way ANOVA [ $F_{(2,27)}=4,63, p<0,05$ ] mostrou efeito do procedimento aversivo na latência de entrada no LE da CCE. O *post hoc* de Duncan mostrou que o grupo SSL apresentou redução da latência de entrada no LE da CCE quando comparado aos grupos SCH e SL1MIN.



A Figura 33 apresenta os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, no tempo total de permanência no LE da CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo. A One-way ANOVA [ $F_{(2,27)}=13,19, p<0,05$ ] mostrou efeito do procedimento aversivo no tempo total de permanência no LE da CCE. O *post hoc* de Duncan mostrou que os grupos SSL e SL1MIN apresentaram redução no tempo total de permanência no LE da CCE quando comparados ao grupo SCH.



A Figura 34 apresenta os efeitos do procedimento aversivo, com ou sem SL, no total de permanência no LE da CCE, doze meses após a apresentação do estímulo aversivo. A One-way ANOVA [ $F_{(2,27)}=4,09, p<0,05$ ] mostrou efeito do procedimento aversivo no total de entradas no LE da CCE. O *post hoc* de Duncan mostrou que o grupo SSL apresentou redução no total de entradas no LE da CCE quando comparado aos grupos SCH e SL1MIN.