

## RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,  
o texto completo desta tese será  
disponibilizado somente a partir  
de 09/04/2027

Gabrielle Araujo Pimentel

**Avaliação da lateralização funcional do hipocampo ventral:** o papel da CA1  
em diferentes etapas do processamento da memória aversiva e espacial

DOUTORADO

PÓS-GRADUAÇÃO  
EM BIODIVERSIDADE



Gabrielle Araujo Pimentel

**Avaliação da lateralização funcional do hipocampo ventral: o papel da CA1**  
em diferentes etapas do processamento da memória aversiva e espacial

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutora em Biodiversidade.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo

São José do Rio Preto

2025

P644a

Pimentel, Gabrielle Araujo

Avaliação da lateralização funcional do hipocampo ventral : o papel da CA1 em diferentes etapas do processamento da memória aversiva e espacial / Gabrielle Araujo Pimentel. -- , 2025

114 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto,

Orientador: Luiz Henrique Florindo

1. Hipocampo ventral. 2. Lateralização funcional. 3. Sub-região CA1. 4. Memória. 5. Ansiedade. I. Título.

## **IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA**

Esta pesquisa possui um impacto científico significativo ao aprofundar nossa compreensão sobre aspectos do funcionamento básico do hipocampo de mamíferos basais. Sob o ponto de vista de testes comportamentais, ela é crucial para desvendar as complexidades da sub-região hipocampal que está intrinsecamente ligada ao circuito de formação das memórias do medo além de contribuir para o entendimento sobre a formação das memórias espaciais. Ao investigar esses mecanismos fundamentais, nossa pesquisa não apenas preenche lacunas no conhecimento existente, mas também se estabelece como um ponto de partida essencial para estudos futuros. Dessa maneira, trata-se de uma pesquisa básica que fornece os alicerces necessários para: (i) uma compreensão aprofundada sobre como as memórias são formadas; (ii) abrir caminho para investigações mais detalhadas sobre o funcionamento normal e as disfunções relacionadas ao hipocampo e; (iii) Servir como base para pesquisas futuras que busquem entender e tratar doenças neurológicas e psiquiátricas que afetam a memória e outras condições que impactam as funções hipocampais.

Gabrielle Araujo Pimentel

**Avaliação da lateralização funcional do hipocampo ventral: o papel da CA1**  
em diferentes etapas do processamento da memória aversiva e espacial

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutora em Biodiversidade.

Data da defesa: 09/04/2025

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Luiz Henrique Florindo  
UNESP – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Câmpus de São José do Rio Preto

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Azair Liane Matos do Canto de Souza  
UFSCar – Universidade Federal de São Carlos

---

Dr. Leonardo Dutra Henriques  
Instituto de Psicologia da USP – Universidade de São Paulo

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Orfa Yineth Galvis Alonso  
FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

---

Dr. Luiz Henrique Alves Guerra  
UNESP – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Câmpus de São José do Rio Preto

*À minha avo Helena (in memoriam),  
de quem eu guardo com carinho muitas lembranças afetuosas!*

## **Agradecimentos**

Agradeço a todos os envolvidos, direto ou indiretamente nesse trabalho, os mais simples passos foram essenciais para a conclusão dessa pesquisa.

Agradeço a minha família pelo apoio na realização do doutorado e dessa pesquisa, iniciada em meio a pandemia de COVID-19. Foram muitos obstáculos, não só os físicos, mas principalmente os mentais que dificultaram a realização dessa e, acredito que de muitos outros projetos realizados durante esse período. Foram essas pessoas, queridas e próximas, que me apoiaram e incentivaram durante esse período. Aqui eu cito principalmente minha irmã Nathalia e meu cunhado Eduardo, com quem eu compartilhei todas as minhas dificuldades e vitórias. As conquistas acabam se transformando em meras formalidades da vida quando não enxergamos o grande valor delas e/ou não compartilhamos e celebramos com quem verdadeiramente vibra conosco.

Agradeço ao meu orientador Luiz Henrique Florindo por tudo o que proporcionou a minha carreira profissional, já são 10 anos no Laboratório de Zoofisiologia Comparativa dos Vertebrados (LZCV) sob sua orientação. Ele me permitiu explorar ideias de projetos e sempre incentivou a autonomia, contribuindo muito para o meu crescimento pessoal. Mais do que isso, repreendeu sempre que necessário, sempre foi muito justo, foi conselheiro de pesquisa e também de vida.

Agradeço ao pessoal do LZCV: Victor, Rodrigo, Igor e Jaqueline; pelo companheirismo durante esses anos e a amizade que surgiu tão naturalmente quanto uma tarde de “Framed”.

Aqui não poderia deixar de mencionar o Victor, que atuou de forma direta no desenvolvimento desse trabalho. Agradeço pela sua colaboração em toda a parte técnica e o convívio diário.

Agradeço a banca examinadora desse trabalho pelo tempo e a disposição em contribuir com essa pesquisa. Muito obrigada por todas as colocações e sugestões.

Agradeço aos coordenadores do Centro Multiusuário de Microscopia e Microanálises pela concessão da infraestrutura necessária para a realização de toda a parte histológica desse trabalho. Em especial, ao técnico Luís e aos alunos de doutorado Thalles e Vitor, que foram pacientes e nos ajudaram a entender e realizar as técnicas histológicas.

Agradeço por fim, pelos financiamentos que esse projeto recebeu. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, e pela concessão do auxílio a pesquisa pela Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), sob o processo nº2021/10704-1.

*“Bem vistas as coisas, sou só a **memória** que tenho, e esta é a história que conto”*  
(SARAMAGO, 1998, p. 27).

## RESUMO

O hipocampo (HPC) é uma estrutura fundamental para o processamento de diferentes tipos de memória. No entanto, pouco se sabe sobre as contribuições de suas sub-regiões em diferentes etapas do processamento da memória. Nesse sentido, os objetivos desta pesquisa foram avaliar a função e possível lateralização funcional da área CA1 do HPC ventral na aquisição e evocação da memória aversiva e evocação da memória espacial recente. Dessa forma, foram utilizados 169 ratos Wistar que passaram inicialmente pelos procedimentos cirúrgicos de implante de cânulas guia bilaterais na área de interesse. Após recuperação cirúrgica, os animais foram submetidos a tarefa de esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado (PM-DAT) ou passaram pelo labirinto aquático de Morris (LAM). Para causar uma lesão transiente direita, esquerda ou bilateral, os animais receberam microinfusões de lidocaína (LIDO) enquanto os do grupo controle receberam de solução de RINGER. Foram realizados três experimentos: duas exposições ao PM-DAT com injeção das drogas antes (i) da primeira ou (ii) segunda exposição e; (iii) treinos e teste no LAM com injeção antes do teste. Os animais também passaram pelo teste do campo aberto para avaliação de comportamentos ansiogênicos e de possíveis comprometimentos locomotores. Posteriormente foram realizadas a análise histológica de confirmação do local das cânulas e; análise imuno-histoquímica da expressão do proto-oncogene c-Fos na área de interesse como avaliação da atividade neuronal. Todos os dados foram submetidos ao teste de homogeneidade de Shapiro-Wilk. Dados paramétricos foram analisados por uma ANOVA *de um fator* e os não paramétricos por um teste de Kruskal-Wallis. Para a construção das curvas de aprendizagem e análise com mais de uma variável foi utilizada uma ANOVA *de dois fatores*. O nível de significância aceito foi de  $p < 0,05$ . Os animais dos experimentos I e II apresentaram esquiva ativa do braço com contexto aversivo durante a primeira exposição ao PM-DAT, mas não diferiram entre ambos os braços fechados na segunda exposição. No experimento III, animais com infusões de LIDO lembraram do local onde antes estava a plataforma durante o teste de memória espacial. Os dados do campo aberto não demonstraram comprometimento de exploração e locomoção para os animais de nenhum experimento. No entanto, para o experimento III, os animais com lesões transientes esquerdas exibiram comportamento mais ansioso do que os animais do grupo veículo. A análise imuno-histoquímica evidenciou a proteína c-Fos em animais do grupo veículo após os três experimentos. Em suma, sob essas condições e testes comportamentais, não há envolvimento da CA1 do HPC ventral na aquisição e evocação da memória aversiva ou evocação da memória espacial; tampouco houve indícios de lateralização funcional.

**Palavras-chave:** lateralização funcional, memória emocional, navegação espacial.

## ABSTRACT

The hippocampus (HPC) is fundamental for the processing of different types of memory. Furthermore, little is known about the contributions of its sub-regions in different stages of memory processing. Thus, this study aims to evaluate the role and possible functional lateralization of the CA1 area of the ventral HPC in the acquisition and recall of aversive memory and recall of recent spatial memory. Thus, one hundred and sixty-nine Wistar rats that initially underwent surgical procedures for implanting bilateral guide cannulas in the area of interest were used. After surgical recovery, the animals were subjected to a discriminative avoidance task in the elevated plus maze (PM-DAT) or passed through the Morris water maze (MWM). To cause a right, left or bilateral transient lesion, the animals received microinfusions of lidocaine (LIDO) while the control group received RINGER's solution. Three experiments were performed: two exposures to the PM-DAT with injection of the drugs before (i) the first or (ii) the second exposure and; (iii) training and testing in the MWM with injection before the test. The animals also underwent the open field test to evaluate anxiogenic behaviors and possible locomotor impairments. Subsequently, histological analysis was performed to confirm the location of the cannulas and; immunohistochemical analysis of the expression of the c-Fos proto-oncogene in the area of interest as an assessment of neuronal activity. All data were subjected to the Shapiro-Wilk homogeneity test. Parametric data were analyzed by a one-way ANOVA and nonparametric data by a Kruskal-Wallis test. To construct the learning curves and analyze more than one variable, a two-way ANOVA was used. The significance level accepted was  $p < 0.05$ . The animals in experiments I and II showed active avoidance of the arm with an aversive context during the first exposure to PM-DAT, but did not differ between both closed arms in the second exposure. In experiment III, animals with LIDO infusions remembered the location where the platform had been during the spatial memory test. The open field data did not demonstrate impairment of exploration and locomotion for the animals in any experiment. However, in experiment III, animals with left transient lesions exhibited more anxious behavior than animals in the vehicle group. Immunohistochemical analysis demonstrated c-Fos protein in animals from the vehicle group after the three experiments. In summary, under these conditions and behavioral tests, there is no involvement of CA1 of the ventral HPC in the acquisition and recall of aversive memory or recall of spatial memory; nor was there evidence of functional lateralization.

**Keywords:** functional lateralization, emotional memory, space navigation.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Processo de formação de memórias.** O fluxograma representa o processo de formação de memórias a partir de um estímulo/evento até a formação de uma memória fixa. Mais do que isso, detalha que na reativação do traço de memória formado, ele fica sujeito a modificações: seja por interrupção com perda do traço de memória; seja por reestabilização do traço de memória por algo que a fortaleceu; ou por uma atualização com novas informações com uma nova experiência. ....21
- Figura 2. Anatomia do hipocampo de roedores.** Posição e vista detalhada do hipocampo de roedores. C1 e C3= Corno de Amon 1 e 3. ....28
- Figura 3. Componentes essenciais do circuito neural envolvido em vários tipos de memória.** O fluxograma representa as regiões encefálicas primordiais envolvidas em uma variedade de processamentos de memória, incluindo a espacial. ....29
- Figura 4. Os circuitos relacionados com o condicionamento do medo.** A figura destaca as conexões entre o hipocampo, a amígdala e o córtex pré-frontal medial durante o condicionamento do medo. Informações sensoriais multimodais chegam até o córtex e tálamo e convergem principalmente para a amígdala lateral (LA) que ativam projeções descendentes para neurônios na amígdala basolateral (BLA) e neurônios GABAérgicos nas massas celulares intercaladas (ITC). Os neurônios da BLA também são estimulados pelo hipocampo ventral (vHIPP) e córtex pré-frontal medial pré-límbico (PL mPFC). Neurônios de saída do núcleo central medial da amígdala (CEm) são desinibidos por neurônios GABAérgicos do ITC e excitados por neurônios da BLA, finalizando com a resposta de medo. Conexões fortalecidas e enfraquecidas são representadas pelas linhas sólidas e tracejadas, respectivamente. (\*) Em destaque, a conexão entre o hipocampo dorsal (dHIPP) e o córtex pré-frontal medial pré-límbico (PL mPFC) e (#) a conexão entre o hipocampo ventral (vHIPP) e o núcleo da amígdala basolateral. ....30
- Figura 5. Processo de síntese da proteína Fos.** A figura retrata a expressão de c-Fos após influxo e aumento da concentração intraneuronal de cálcio. O cálcio flui para o neurônio após potenciais de ação via NMDAR e canais dependentes de voltagem. O influxo de cálcio liga-se a calmodulina (CAM), ativando CaMKII e então CREB. A atividade NMDAR ativa RasGRF1 e após uma cascata de eventos por ativação da via MAPK, resulta na ativação de CREB e também Elk1. O gene c-fos ativo leva à tradução da proteína c-Fos no núcleo e sua transcrição no citoplasma. CREB ativado atua como um fator de transcrição, com expressão resultante de mRNA c-Fos. Uma vez criado, c-Fos retorna ao núcleo da célula para se ligar a c-Jun e formar o heterodímero AP-1, que será integrado ao DNA. AP-1 = proteína ativadora; CaMKII = proteína quinase II dependente de cálcio; CREB = proteína de ligação ao elemento de resposta de AMP cíclico; MEK ½ = proteína quinase 1 e 2 ativada; MAPK 1/3 = proteína quinase 1 e 3 ativada; NMDAR = receptor glutamina N-metil-d-aspartato; RasGRF1: fator de liberação de nucleotídeo guanina Ras; SER = elemento de resposta sérica; SRF – fator de resposta sérica; TER = elemento de resposta (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato). ....37
- Figura 6. Representação esquemática do local de implantação das cânulas guia.** Representação esquemática da posição das cânulas guia bilateral e dos sítios de injeção (DV: -7,5 mm a partir do crânio) na área CA1 do HPCv direito e esquerdo com sítio de injeção a partir da medida AP= - 6 mm em relação ao bregma. As linhas pretas representam as cânulas-guia. Os círculos em cinza representam os sítios de injeção. ....42
- Figura 7. Procedimento de administração das drogas.** A imagem retrata um animal imobilizado em um contensor para ratos recebendo injeções bilaterais de solução de LIDO e/ou RINGER na CA1 do HPCv por meio de agulhas de injeção conectadas a seringas de Hamilton acopladas em uma bomba de infusão. O tempo de aplicação das drogas foi programado pela bomba de infusão. ....43
- Figura 8. Linha do tempo experimental dos Experimentos I, II e III.** O esquema demonstra todos os testes comportamentais aos quais os animais de todos os grupos foram submetidos. LCE= labirinto em cruz elevado; CA= campo aberto; LAM= labirinto aquático de Morris; Exp= exposição. ....45
- Figura 9. Aparato utilizado nos Experimentos I e II.** Representação esquemática do labirinto em cruz elevado visto de cima e adaptado para a tarefa de esquila discriminativa. ....48
- Figura 10. Representação do labirinto aquático de Morris visto de cima.** A, B, C e D representam os quatro quadrantes imaginários. \* representa a plataforma submersa de escape. ....51

**Figura 11. Representação do campo aberto, vista de cima.** As linhas circulares representam as linhas reais do aparato e as tracejadas as linhas imaginárias verticais e horizontais. Em cinza estão representados os quadrantes próximos a parede e em amarelo os centrais. ....53

**Figura 12. Fotomicrografia de um corte histológico do hemisfério direito.** A imagem retrata o hipocampo ventral direito do encéfalo de um animal do GD e representa a posição correta para a entrada e posição da cânula guia fixa em cirurgia a 1 mm da CA1 do hipocampo ventral (local da posterior infusão de drogas). A seta (↓) indica o local da posição da cânula. O círculo em pontilhado vermelho indica o local da infusão e absorção dos fármacos, 1 mm abaixo do fim do local da cânula (DV ≈ -7,5 a partir do crânio). Medida AP ≈ -6 mm do bregma. Coloração em hematoxilina-eosina. ....59

**Figura 13. Esquema representando a localização da posição das cânulas guia.** A figura esquemática representa o que foi considerado local de acerto para o implante das cânulas guia e a variação também considerada correta em relação a linha média. A variação foi relevada considerando a projeção do local de infusão das drogas (CA1 do HPCv). Os pontos pretos simbolizam a posição correta a partir da linha média ( $\pm 5,5$  mm), o que foi encontrado para a maioria dos animais com confirmação histológica. Os pontos em vermelho simbolizam a variação também considerada correta ( $\pm 4,5$  mm a partir da linha média). O risco preto bilateral indica o local da infusão e absorção dos fármacos, 1 mm abaixo do fim do local da cânula (DV ≈ -7,5 a partir do crânio). Medida AP ≈ -6 mm do bregma. DG = giro dentado; CA1, CA2 e CA3 = Área 1, 2 e 3 do Corno de Amon do hipocampo ventral. ....60

**Figura 14. Fotomicrografia de um corte histológico em detalhe do fim da posição da cânula guia.** A imagem retrata uma visão aproximada do hipocampo ventral do encéfalo de um animal do hemisfério direito do GD em detalhe na posição final da cânula guia e entrada da infusão da droga sem alterações histológicas. As setas (→) indicam o local de entrada/início da infusão. O quadrado pontilhado em vermelho destaca uma região de células piramidais no HPC com a presença de alguns neurônios mais escuros (artefato). Medida AP ≈ -6 mm do bregma. Coloração em hematoxilina-eosina. ....61

**Figura 15. Controle negativo da análise imuno-histoquímica.** As imagens representam um único corte histológico do hipocampo ventral do hemisfério direito do encéfalo de um animal do GV para evidenciar o protocolo adotado na imuno-histoquímica. **(a)** Fotomicrografia do corte em luz para evidenciar o DAPI, corante fluorescente que cora o núcleo das células de azul. **(b)** Fotomicrografia do corte em luz para evidenciar os fluoróforos ligados a proteína c-Fos, no qual nota-se pouquíssima coloração. **(c)** Sobreposição das imagens de (a) e (b) demonstrando a ausência do fluoróforo no interior das células ou qualquer outra região. Medida AP ≈ -6 mm do bregma. ....63

**Figura 16. Controle positivo da análise imuno-histoquímica.** As imagens representam um único corte histológico do hipocampo ventral do hemisfério direito do encéfalo de um animal do GV para evidenciar o protocolo adotado na imuno-histoquímica. **(a)** Fotomicrografia do corte em luz para evidenciar o DAPI, corante fluorescente que cora o núcleo das células de azul. **(b)** Fotomicrografia do corte em luz para evidenciar os fluoróforos ligados a proteína c-Fos. **(c)** Sobreposição das imagens de (a) e (b) demonstrando a presença do fluoróforo no interior do núcleo das células neuronais, ou seja, evidenciando a presença da proteína c-Fos. Medida AP ≈ -6 mm do bregma. ....64

**Figura 17. Fotomicrografia em fluorescência mostrando a região CA1 do hipocampo ventral.** **(a)** Fotomicrografia do corte em luz para evidenciar a presença da proteína c-Fos a partir da marcação por fluoróforo na região CA1 do HPCv direito de um animal do GV. **(b)** Fotomicrografia do mesmo corte em luz da sobreposição das imagens com DAPI e com marcação do fluoróforo. Medida AP ≈ -6 mm do bregma. ....65

**Figura 18. Proteína c-Fos.** Fotomicrografia em aumento de uma região da CA1 do HPCv de um animal do GV com os núcleos das células neuronais corados em azul (corante fluorescente DAPI) e marcação da proteína c-Fos, em verde, no interior dos núcleos. Medida AP ≈ -6 mm do bregma. ....65

**Figura 19. Experimento I: curva de aprendizagem e memória aversiva.** **(a)** O gráfico representa a variação da média de tempo (segundos) que os animais entraram e ficaram no BFA calculados ao longo de cinco blocos de 120 segundos durante a primeira exposição ao labirinto. Cada ponto representa a média  $\pm$  E.P.M. **(b)** O gráfico representa a média da porcentagem de tempo que os animais passaram no BFA em relação ao outro braço fechado durante a segunda exposição ao labirinto. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV,

GE e GBI;  $n=9$  para GD). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; BFA: braço fechado aversivo. ....67

**Figura 20. Experimento I: média de tempo total nos braços fechados. (a) e (b)** O gráfico representa a média de tempo no BFnA e BFA para cada grupo experimental durante a primeira e segunda exposição ao labirinto, respectivamente. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GE e GBI;  $n=9$  para GD). (\*)  $p < 0.05$  em relação ao BFnA para cada grupo. GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; BFA: braço fechado aversivo; BFnA: braço fechado não aversivo. ....68

**Figura 21. Experimento I: porcentagem de tempo nos braços abertos. (a) e (b)** Os gráficos representam a média de porcentagem de tempo que os animais dos quatro grupos experimentais passaram nos braços abertos durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto, respectivamente. As barras representam a média de porcentagem de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GE e GBI;  $n=9$  para GD). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....69

**Figura 22. Experimento I: teste do campo aberto. (A)** O gráfico representa a média de frequência de levantamentos como indicativo de exploração vertical. **(B)** O gráfico representa a média de frequência de entradas nos quadrantes como indicativo de exploração horizontal e locomoção. **(C)** O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais passaram realizando o comportamento de auto limpeza. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n = 10$  para GV, GE e GBI;  $n = 9$  para GD). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....71

**Figura 23. Experimento I: preferência de quadrantes durante o teste do campo aberto. (a)** O gráfico representa a média de frequência de cruzamentos de área que os animais apresentaram em relação aos quadrantes periféricos e central. **(b)** O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais passaram nos quadrantes periféricos e central. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. (#) e (\*)  $p < 0.05$  em relação a frequência de cruzamentos e ao tempo no quadrante central para cada grupo, respectivamente. ( $n = 10$  para GV, GE e GBI;  $n = 9$  para GD). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral...72

**Figura 24. Experimento II: curva de aprendizagem e memória aversiva. (a)** O gráfico representa a variação da média de tempo (segundos) que os animais entraram e ficaram no BFA calculados ao longo de cinco blocos de 120 segundos durante a primeira exposição ao labirinto. Cada ponto representa a média  $\pm$  E.P.M. **(b)** O gráfico representa a média da porcentagem de tempo que os animais passaram no BFA em relação ao outro braço fechado durante a segunda exposição ao labirinto. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GD e GBI;  $n=9$  para GE). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ...74

**Figura 25. Experimento II: média de tempo total nos braços fechados. (a) e (b)** Os gráficos representam a média de tempo no BFnA e BFA para cada grupo experimental durante a primeira e segunda exposição ao labirinto, respectivamente. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. (\*)  $p < 0,05$  em relação ao BFnA para cada grupo. (#)  $p < 0,05$  em relação a ocupação do BFnA do GV. ( $n = 10$  para GV, GE e GBI;  $n = 9$  para GD). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; BFA: braço fechado aversivo; BFnA: braço fechado não aversivo. ....76

**Figura 26. Experimento II: porcentagem de tempo nos braços abertos. (a) e (b)** Os gráficos representam a média de porcentagem de tempo que os animais dos quatro grupos experimentais passaram nos braços abertos durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto, respectivamente. As barras representam a média de porcentagem de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GD e GBI;  $n=9$  para GE). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....77

**Figura 27. Experimento II: teste do campo aberto. (A)** O gráfico representa a média de frequência de levantamentos como indicativo de exploração vertical. **(B)** O gráfico representa a média de frequência de entradas nos quadrantes como indicativo de exploração horizontal e locomoção. **(C)** O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais de todos os grupos passaram realizando o comportamento de auto limpeza. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. ( $n = 10$  para GV e GD;  $n = 8$  para GE;  $n = 7$  para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....79

**Figura 28. Experimento II: preferência de quadrantes durante o teste do campo aberto.** (a) O gráfico representa a média de frequência de cruzamentos de área que os animais dos quatro grupos experimentais apresentaram em relação aos quadrantes periféricos e central durante o teste do campo aberto. (b) O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais dos quatro grupos experimentais passaram nos quadrantes periféricos e central durante o teste do campo aberto. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. (#) e (\*)  $p < 0.05$  em relação a frequência de cruzamentos e ao tempo no quadrante central para cada grupo, respectivamente. ( $n = 10$  para GV e GD;  $n = 8$  para GE;  $n = 7$  para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral.....80

**Figura 29. Análise da latência de escape no LAM.** (A) O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais levaram para encontrar a plataforma submersa durante os cinco treinos espaciais do dia 1. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. (B) O gráfico apresenta a curva de aprendizagem com a variação da latência de escape dos outros quatro dias de treinos espaciais (dias 2-5) por grupo experimental. Cada ponto representa a média  $\pm$  E.P.M. (\*)  $p < 0.05$  em relação ao D2 para os grupos GV, GD e GE. (#)  $p < 0.05$  em relação ao D3 para o GBI. ( $n = 10$  para GV, GE e GD e  $n = 8$  para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....82

**Figura 30. Teste de memória recente.** O gráfico representa os valores mínimos e máximos, primeiro e terceiro quartil e a mediana do tempo, em segundos, que os animais dos quatro grupos passaram nadando sobre o quadrante onde a plataforma submersa estava durante os treinos. As barras representam os valores mais altos e mais baixos observados. A linha tracejada representa o tempo aleatório que um animal poderia explorar um dos quadrantes (15 segundos). ( $n = 10$  para GV, GE e GD,  $n = 8$  para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....83

**Figura 31. Experimento III: Teste do campo aberto.** (A) O gráfico representa a média de frequência de levantamentos como indicativo de exploração vertical. (B) O gráfico representa a média de frequência de entradas nos quadrantes como indicativo de exploração horizontal e locomoção. (C) O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais de todos os grupos passaram realizando o comportamento de auto limpeza. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. (\*) e (\*\*)  $p < 0.05$  em relação aos grupos GBI e GV, respectivamente. ( $n = 8$  para GV e GE;  $n = 9$  para GD e  $n = 7$  para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....84

**Figura 32. Experimento III: Preferência de quadrantes durante o teste do campo aberto.** (a) O gráfico representa a média de frequência de cruzamentos de área que os animais dos quatro grupos experimentais apresentaram em relação aos quadrantes periféricos e central durante o teste do campo aberto. (b) O gráfico representa a média de tempo (segundos) que os animais dos quatro grupos experimentais passaram nos quadrantes periféricos e central durante o teste do campo aberto. As barras representam a média de tempo (s)  $\pm$  E.P.M. (\*)  $p < 0.05$  em relação a frequência de cruzamentos e ao tempo no quadrante central para cada grupo. (#)  $p < 0.05$  em relação a frequência de cruzamentos nos quadrantes periféricos do GV. ( $n = 8$  para GV e GE;  $n = 9$  para GD e  $n = 7$  para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....85

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1. Porcentagem de tempo no BFA durante o Experimento I.** A tabela representa a média da porcentagem de tempo (em segundos) gasto que os animais dos quatro grupos experimentais passaram no braço fechado aversivo em relação ao outro braço fechado ao longo da primeira exposição ao labirinto em cruz. Os valores representam a média de porcentagem de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GE e GBI;  $GD, n=9$ ). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral.....**66**

**Tabela 2. Avaliação da memória aversiva para o Experimento I.** A tabela representa a média da frequência de entradas no BFA durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto além de apresentar a média de latência (segundos) que os animais levaram para entrar no BFA durante a segunda exposição. Os valores representam a média de frequência ou de latência (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GE e GBI;  $GD, n=9$ ). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; BFA: braço fechado aversivo; BFnA: braço fechado não aversivo. ....**69**

**Tabela 3. Comportamento de avaliação de risco: postura alongada.** A tabela representa a média da frequência e de tempo (segundos) durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto que os animais de todos os grupos passaram realizando o comportamento de avaliação de risco postura alongada durante o experimento I. Os valores representam a média de frequência ou de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GE e GBI;  $GD, n=9$ ). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; SAP = postura alongada. ....**70**

**Tabela 4. Comportamento de avaliação de risco: mergulho de cabeça.** A tabela representa a média da frequência e de tempo (segundos) durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto que os animais de todos os grupos passaram realizando o comportamento de mergulho de cabeça durante o experimento I. Os valores representam a média de frequência ou de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GE e GBI;  $GD, n=9$ ). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....**70**

**Tabela 5. Porcentagem de tempo no BFA durante o Experimento II.** A tabela representa a média da porcentagem de tempo que os animais dos quatro grupos experimentais passaram no braço fechado aversivo em relação ao outro braço fechado ao longo da primeira exposição ao labirinto em cruz. Os valores representam a média de porcentagem de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n = 10$  para GV, GD e GBI;  $n = 9$  para GE). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....**74**

**Tabela 6. Avaliação da memória aversiva para o Experimento II.** A tabela representa a média da frequência de entradas no BFA durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto além de apresentar a média de latência (segundos) que os animais levaram para entrar no BFA durante a segunda exposição. Os valores representam a média de frequência ou de latência (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n = 10$  para GV, GE e GBI;  $n = 9$  para GD). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; BFA: braço fechado aversivo. ....**77**

**Tabela 7. Comportamento de avaliação de risco: postura alongada.** A tabela representa a média da frequência e de tempo (segundos) durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto que os animais de todos os grupos passaram realizando o comportamento de avaliação de risco postura alongada durante o experimento II. Os valores representam a média de frequência ou de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GD e GBI;  $n=9$  para GE). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral; SAP = postura alongada. ....**78**

**Tabela 8. Comportamento de avaliação de risco: mergulho de cabeça.** A tabela representa a média da frequência e de tempo (segundos) durante a primeira e a segunda exposição ao labirinto que os animais de todos os grupos passaram realizando o comportamento de mergulho de cabeça durante o experimento II. Os valores representam a média de frequência ou de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M. ( $n=10$  para GV, GD e GBI;  $n=9$  para GE). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....**78**

**Tabela 9. Latência de escape diária no LAM.** A tabela representa a média da latência de escape diário em segundos para os animais dos quatro grupos experimentais. Os valores representam a média de tempo (segundos)  $\pm$  E.P.M.

(*n* = 10 para GV, GE e GD e *n* = 8 para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. D1-D5 representa os dias experimentais.....81

**Tabela 10. Tempos observados durante a *probe trials*.** A tabela apresenta o tempo (em segundos) que os animais passaram nadando sobre o quadrante onde estava localizada a plataforma submersa de escape nos treinos durante o teste de memória recente (*probe trial*). (*n* = 10 para GV, GE e GD e *n* = 8 para GBI). GV: grupo veículo; GE: grupo esquerdo; GD: grupo direito; GBI: grupo bilateral. ....83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                    |                                                                              |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| <b>AP</b>          | Antero posterior                                                             |
| <b>BA</b>          | Braço aberto                                                                 |
| <b>BFA</b>         | Braço fechado aversivo                                                       |
| <b>BF</b>          | Braço fechado                                                                |
| <b>BFnA</b>        | Braço fechado não aversivo                                                   |
| <b>BLA</b>         | Amígdala basolateral                                                         |
| <b>Ca</b>          | Campo aberto                                                                 |
| <b>CA</b>          | Corno de Amon                                                                |
| <b>CA 1, 2 e 3</b> | Área 1, 2 ou 3 do Corno de Amon                                              |
| <b>CEA</b>         | Amígdala central                                                             |
| <b>CEl</b>         | Amígdala central lateral                                                     |
| <b>CEm</b>         | Amígdala central medial                                                      |
| <b>CPFm</b>        | Córtex pré-frontal medial                                                    |
| <b>DNA</b>         | Ácido desoxirribonucleico                                                    |
| <b>DV</b>          | Dorsal ventral                                                               |
| <b>E.P.M</b>       | Erro padrão da média                                                         |
| <b>E.V.A.</b>      | Etileno acetato de vinila                                                    |
| <b>GBI</b>         | Grupo bilateral                                                              |
| <b>GD</b>          | Grupo direito                                                                |
| <b>GE</b>          | Grupo esquerdo                                                               |
| <b>GV</b>          | Grupo veículo                                                                |
| <b>HPC</b>         | Hipocampo                                                                    |
| <b>HPCd</b>        | Hipocampo dorsal                                                             |
| <b>HPCv</b>        | Hipocampo ventral                                                            |
| <b>IEG</b>         | Gene imediato precoce                                                        |
| <b>IF</b>          | Imunofluorescência                                                           |
| <b>IHC</b>         | Imuno-histoquímica                                                           |
| <b>LA</b>          | Amígdala lateral                                                             |
| <b>LAM</b>         | Labirinto aquático de Morris                                                 |
| <b>LCE</b>         | Labirinto em cruz elevado                                                    |
| <b>LIDO</b>        | Lidocaína                                                                    |
| <b>ML</b>          | Medial lateral                                                               |
| <b>PE</b>          | Tubo de polietileno                                                          |
| <b>PM-DAT</b>      | Tarefa de esquiva discriminativa (“Plus maze discriminative avoidance task”) |
| <b>SAP</b>         | Postura alongada (“stretched-attend posture”)                                |

## LISTA DE SÍMBOLOS

|          |                                               |
|----------|-----------------------------------------------|
| ®        | Marca registrada                              |
| °C       | Graus celsius                                 |
| mg/kg    | Miligramas por quilogramas                    |
| %        | Porcentagem                                   |
| µg/µl    | Micrograma por microlitro                     |
| mm       | Milímetros                                    |
| <i>n</i> | Tamanho amostral                              |
| cm       | Centímetros                                   |
| W        | Watt (unidade de medida de potência elétrica) |
| lm       | Lúmens                                        |
| dB       | Decibéis                                      |
| s        | Segundos                                      |

## SUMÁRIO

|                                                                                                          |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                | <b>20</b> |
| 1.1. OS DIFERENTES TIPOS DE MEMÓRIA .....                                                                | 22        |
| 1.1.1. <i>Memória espacial</i> .....                                                                     | 22        |
| 1.1.2. <i>O medo e as memórias aversivas</i> .....                                                       | 24        |
| 1.2. MECANISMOS NEURAIS ENVOLVIDOS NO PROCESSAMENTO DAS MEMÓRIAS.....                                    | 26        |
| 1.2.1. <i>Memória espacial</i> .....                                                                     | 28        |
| 1.2.2. <i>Memórias aversivas</i> .....                                                                   | 29        |
| 1.3. LATERALIZAÇÃO FUNCIONAL ENCEFÁLICA .....                                                            | 31        |
| 1.4. TESTES EXPERIMENTAIS; DO COMPORTAMENTO A HISTOLOGIA .....                                           | 32        |
| 1.4.1. <i>Testes comportamentais para avaliação de memórias espaciais e aversivas</i> ...                | 32        |
| 1.4.2. <i>O procedimento pós-experimental: histologia</i> .....                                          | 34        |
| 1.5. JUSTIFICATIVA.....                                                                                  | 38        |
| <b>2. OBJETIVOS .....</b>                                                                                | <b>38</b> |
| 2.1. OBJETIVOS GERAIS.....                                                                               | 38        |
| 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                                         | 39        |
| <b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                                                       | <b>39</b> |
| 3.1. ANIMAIS.....                                                                                        | 39        |
| 3.2. PROCEDIMENTOS PRÉ-EXPERIMENTAIS .....                                                               | 40        |
| 3.2.1. <i>Fármacos</i> .....                                                                             | 40        |
| 3.2.2. <i>Procedimentos Cirúrgicos</i> .....                                                             | 41        |
| 3.2.3. <i>Habituação a manipulação de administração das drogas</i> .....                                 | 42        |
| 3.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....                                                                    | 43        |
| 3.3.1. <i>Administração das Drogas</i> .....                                                             | 43        |
| 3.3.2. <i>Grupos Experimentais Comportamentais</i> .....                                                 | 44        |
| 3.3.3. <i>Delineamento experimental</i> .....                                                            | 44        |
| 3.3.4. <i>Paradigmas comportamentais</i> .....                                                           | 47        |
| 3.4. PROCEDIMENTOS PÓS-EXPERIMENTAIS .....                                                               | 54        |
| 3.4.1. <i>Análise Histológica da posição das cânulas e projeção do local de infusão das drogas</i> ..... | 55        |
| 3.4.2. <i>Análise imuno-histoquímica da proteína c-Fos</i> .....                                         | 55        |
| 3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....                                                                           | 56        |
| 3.5.1. <i>Experimentos I e II</i> .....                                                                  | 56        |
| 3.5.2. <i>Experimento III</i> .....                                                                      | 57        |
| <b>4. RESULTADOS .....</b>                                                                               | <b>58</b> |
| 4.1. ANÁLISE HISTOLÓGICA DA POSIÇÃO DAS CÂNULAS E PROJEÇÃO DO LOCAL DE INFUSÃO DAS DROGAS .....          | 58        |
| 4.2. ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA DA PROTEÍNA C-FOS.....                                                   | 62        |

|                                                                                                                                                                                           |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.3. EXPERIMENTO I: ANÁLISE DA INATIVAÇÃO REVERSÍVEL DA CA1 DO HPCv NA APRENDIZAGEM DA MEMÓRIA CONTEXTUAL DO MEDO E SOBRE COMPORTAMENTOS SEMELHANTES A ANSIEDADE.....                     | 65         |
| 4.4. EXPERIMENTO II: ANÁLISE DA INATIVAÇÃO REVERSÍVEL DA CA1 DO HPCv NA EVOCÇÃO DA MEMÓRIA CONTEXTUAL DO MEDO E SOBRE COMPORTAMENTOS SEMELHANTES A ANSIEDADE .....                        | 73         |
| 4.5. EXPERIMENTO III: ANÁLISE DA INATIVAÇÃO REVERSÍVEL DA CA1 DO HPCv NA EVOCÇÃO DA MEMÓRIA RECENTE.....                                                                                  | 80         |
| <b>5. DISCUSSÕES .....</b>                                                                                                                                                                | <b>86</b>  |
| 5.1. EXPERIMENTOS I E II: ANÁLISE DA INATIVAÇÃO REVERSÍVEL DA CA1 DO HPCv NA APRENDIZAGEM E NA EVOCÇÃO DA MEMÓRIA CONTEXTUAL DO MEDO E SOBRE COMPORTAMENTOS SEMELHANTES A ANSIEDADE ..... | 87         |
| 5.2. EXPERIMENTO III: ANÁLISE DA INATIVAÇÃO REVERSÍVEL DA CA1 DO HPCv NA EVOCÇÃO DA MEMÓRIA RECENTE.....                                                                                  | 93         |
| 5.3. ANÁLISE IMUNO-HISTOQUÍMICA <i>VERSUS</i> DADOS COMPORTAMENTAIS.....                                                                                                                  | 97         |
| <b>6. CONCLUSÕES.....</b>                                                                                                                                                                 | <b>99</b>  |
| <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                                                                                                   | <b>101</b> |
| <b>APÊNDICE A – PROCEDIMENTOS COLORAÇÃO HEMATOXILINA-EOSINA (H.E.) .....</b>                                                                                                              | <b>111</b> |
| <b>APÊNDICE B – PROCEDIMENTOS ANÁLISE HISTOLÓGICA IMUNO-HISTOQUÍMICA .....</b>                                                                                                            | <b>112</b> |

## 1. INTRODUÇÃO

A formação de memórias depende da capacidade do sistema nervoso modificar-se de alguma forma frente a um estímulo. Dessa maneira, a memória é um processo cognitivo de aquisição de informações que podem ser armazenadas para posteriormente serem utilizadas. O processo neurobiológico de formação da memória ocorre a partir das fases de aquisição, também denominada aprendizagem, seguido pela codificação, consolidação e evocação, podendo ocorrer ainda, reconsolidação, esquecimento ou extinção das memórias (NADEL *et al.*, 2012; KANDEL *et al.*, 2014; Figura 1). Esses processos neurofisiológicos ocorrem por meio da formação de circuitos neurais, potenciais elétricos e fenômenos bioquímicos (KANDEL *et al.*, 2014).

A formação das memórias é um processo altamente dinâmico. O processo de aquisição pode ocorrer de várias maneiras, como pela aprendizagem associativa, que envolve o condicionamento clássico e o operante, e a aprendizagem não associativa, na qual ocorre habituação e/ou sensibilização (KANDEL *et al.*, 2014). Na aprendizagem associativa há a associação entre dois ou mais estímulos enquanto que, repetidas apresentações de um mesmo estímulo, ou vivenciar várias vezes a mesma experiência, resulta em mudanças persistentes a situação, o que caracteriza o aprendizado não associativo (RESCORLA; HOLLAND, 1982; KANDEL *et al.*, 2014). Em exemplo, a reexposição de um animal a um labirinto resulta na diminuição de comportamento exploratório com o passar das exposições, caracterizando a habituação, um tipo de aprendizagem não associativa (KANDEL *et al.*, 2014).

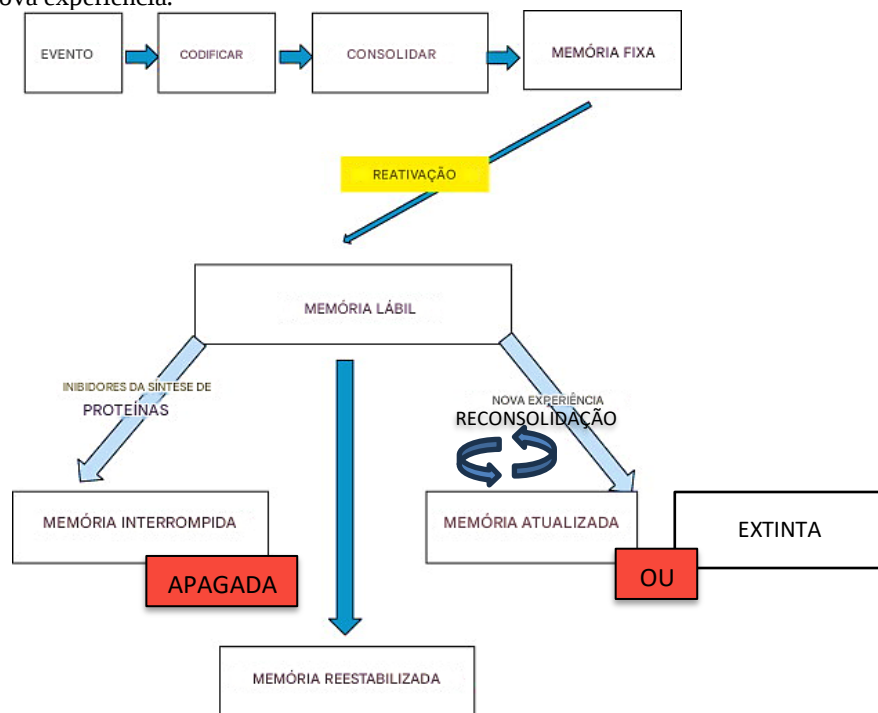
O que ocorre depois relaciona-se com o princípio de “ganho pelo uso, perda pelo desuso”, o qual impera sobre as conexões neuronais entre regiões encefálicas durante as fases de codificação e consolidação de um traço de memória (GUYTON; HALL, 2011). Como exemplo, para a codificação e consolidação de uma memória de algum episódio que ocorreu durante o dia (memória episódica), o hipocampo (HPC), presente no lobo temporal do encéfalo, assume um papel primordial no processamento das novas informações (estímulos) recebidos, e então, juntamente com estruturas corticais, como o córtex pré-frontal medial (CPFm), codifica e consolida essas novas informações (FRANKLAND; BONTEMPI, 2005; NADEL *et al.*, 2012). Dessa maneira, o processamento dessas informações ocorre de maneira contínua e esparsa no encéfalo, iniciando em uma região e finalizando em outra (FRANKLAND; BONTEMPI, 2005), mas unidas por conexões neuronais, que podem estar enfraquecidas ou fortalecidas, criando então o traço de memória. Dessa forma, uma memória episódica é armazenada no encéfalo de forma “dividida” com diferentes aspectos relacionados a

experiência em regiões encefálicas diferentes (NADEL *et al.*, 2012). Assim, o processo de evocar/lembrar de uma memória episódica vai envolver uma “reconstrução” com ativação de todo o traço codificado e consolidado, o que pode não ocorrer com precisão (BARTLETT, 1995; NADEL *et al.*, 2012).

Após o processo de consolidação, uma memória aparentemente fixa e estável, quando reativada, pode se tornar lábil estando sujeita a modificações (NADEL *et al.*, 2012). Apesar dela apenas poder voltar a ficar estável novamente, as modificações que podem ocorrer envolvem enfraquecimento, fortalecimento ou alteração do traço de memória (NADER *et al.*, 2000; HUPBACH *et al.*, 2007; NADEL *et al.*, 2012; ALBERINI; LeDOUX; 2013; HAUBRICH; NADER, 2018).

Em contextos experimentais com animais, a injeção de inibidores de síntese de proteínas nesse momento pode interromper essa memória instável apagando-a (NADER *et al.*, 2000). Por outro lado, quando uma memória já consolidada se torna lábil por reativação ela também está sujeita a um acréscimo de informações. Essa reativação inicia então um processo de reconsolidação dessa memória, o qual pode levar a apenas alterações ou a uma extinção dessa memória (NADER *et al.*, 2000; HUPBACH *et al.*, 2007; ALBERINI; LeDOUX; 2013; HAUBRICH; NADER, 2018).

**Figura 1. Processo de formação de memórias.** O fluxograma representa o processo de formação de memórias a partir de um estímulo/evento até a formação de uma memória fixa. Mais do que isso, detalha que na reativação do traço de memória formado, ele fica sujeito a modificações: seja por interrupção com perda do traço de memória; seja por reestabilização do traço de memória por algo que a fortaleceu; ou por uma atualização com novas informações com uma nova experiência.



Fonte: Nadel e colaboradores (2012).

### 1.1.Os diferentes tipos de memória

As memórias podem ser classificadas de diferentes maneiras: (i) segundo o curso temporal de armazenamento, em memórias de curto ou longo prazo; (ii) segundo a idade da aquisição, em memórias recentes ou remotas, ou; (iii) segundo a natureza da informação armazenada, em memórias explícitas (declarativas) ou implícitas (não-declarativas) (FRANK; LANDEIRA-FERNANDEZ, 2006; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2008; KANDEL *et al.*, 2014).

As memórias de curto prazo têm duração de segundos a minutos e são breves, enquanto a de longo prazo tem duração de meses até uma vida inteira (KANDEL *et al.*, 2014; GUYTON; HALL, 2011). Memórias recentes são as adquiridas há poucos dias e as remotas há um período de tempo maior, como muitos dias, meses ou até anos (FRANKLAND; BONTEMPI, 2005). A memória explícita está disponível conscientemente e relaciona-se a fatos (memória semântica) e eventos (memória episódica), já a memória implícita é um tipo de memória processual que envolve habilidades e associações inconscientes (PURVES *et al.*, 2008; KANDEL *et al.*, 2014). A classificação das memórias segundo a natureza da informação armazenada (explícitas ou implícitas) é imprecisa quando se trata de outros animais a não ser os seres humanos. No entanto, os processos que ocorrem para a formação dessas memórias são semelhantes em todos os mamíferos, estando sujeitos a circuitos neurais homólogos (PURVES *et al.*, 2008).

A memória espacial, imprescindível para todos os animais, é um tipo específico de memória explícita (BAILEY *et al.*, 2008). Além disso, há as memórias que são moduladas pelos sistemas emocionais, como por exemplo, pelo medo, originando as memórias aversivas (LARICCHUITA *et al.*, 2016; TYNG *et al.*, 2017). Essas memórias de “medo”, além de se relacionarem a um componente emocional, são memórias episódicas uma vez que se referem a eventos vivenciados.

#### 1.1.1. Memória espacial

A capacidade de codificar, armazenar e recuperar informações sobre o ambiente é fundamental para a sobrevivência de diversas espécies. Essa habilidade permite que os animais se orientem, encontrem recursos como alimento e água, e evitem predadores em seus habitats (O'KEEFE; NADEL, 1978). Essa função cognitiva é um tipo de memória episódica explícita denominada memória espacial (BAILEY *et al.*, 2008).

Há evidências que mostram que os mecanismos neurais e cognitivos complexos relacionados ao processamento da memória espacial são conservados evolutivamente entre as espécies (SALAS *et al.*, 2006; BROGLIO *et al.*, 2015). Nesse sentido o HPC é uma estrutura

encefálica crucial no processamento dessas informações. Estudos comparativos revelaram desempenho de funções semelhantes do HPC em diferentes grupos de vertebrados, como a formação de mapas cognitivos e a navegação espacial (O'KEEFE; NADEL, 1978).

#### *Deslocamento e orientação espacial*

O deslocamento dos animais no ambiente envolve pelo menos três fatores estudados que são interconectados: as células específicas no cérebro que são estimuladas, a formação de um mapa mental do ambiente (mapa-like) e as dimensões quanto a posição corporal. Quanto aos neurônios que recebem os estímulos pelo deslocamento, podemos citar três: as células de lugar, presentes no HPC; e as células de grade e de borda (ou fronteira), presentes no córtex entorrinal.

Nesse sentido, as células de lugar disparam em locais específicos do ambiente, formando um “mapa” do espaço (O'KEEFE; DOSTROVSKY, 1971). Já as células de grade disparam quando padrões hexagonais são formados, fornecendo um sistema de coordenadas para a navegação espacial (HAFTING *et al.*, 2005). Por fim, as células de borda estão envolvidas na representação espacial e disparam quando o animal está próximo de limites ou paredes do ambiente, auxiliando na orientação espacial (LEVER *et al.*, 2009).

A interação entre esses três conjuntos de neurônios fornece orientação para o deslocamento dos animais no ambiente. Dessa maneira, o HPC em conjunto com outras regiões encefálicas, como o córtex entorrinal, é responsável pela formação de um “mapa cognitivo” do ambiente. Esse mapa é uma representação interna do espaço que permite aos animais se orientarem, planejarem rotas e encontrarem locais específicos (TOLMAN, 1948). A atividade do conjunto de células específicas que fornecem essas informações permite a representação conhecida como “mapa-like”, no qual há a codificação de informações sobre a localização, distância e direção no ambiente (TOLMAN, 1948).

Por fim, o deslocamento pelo ambiente está relacionado há duas dimensões: o espaço-corporal, que se relaciona a posição dos membros e tronco; e o espaço externo ambiental ao indivíduo. Essas duas dimensões caracterizam duas estratégias de locomoção espacial: a aloccêntrica e a egocêntrica (BURGESS, 2006; RAINS, 2004). Enquanto a estratégia aloccêntrica refere-se a informações do ambiente, independente da própria posição corporal (O'KEEFE; NADEL, 1978), a estratégia egocêntrica é um tipo de navegação em que o animal baseia-se em referências centradas em seu próprio corpo e posição (WAGA, 2008). Em mamíferos, o HPC é frequentemente relacionado a navegação aloccêntrica enquanto que o estriado relaciona-se a navegação egocêntrica (COLOMBO *et al.*, 2003; COMPTON, 2004; SALAS *et al.*, 2006; BROGLIO *et al.*, 2015).

### 1.1.2. O medo e as memórias aversivas

O medo é uma resposta emocional a uma ameaça real ou percebida. Trata-se de uma, das sete emoções básicas e que desempenha um papel crucial na sobrevivência, alertando o organismo para potenciais ameaças e preparando-o para ação (EKMAN; CORDARO, 2011; LeDOUX, 2012). Embora a experiência subjetiva do medo possa variar, as respostas fisiológicas e comportamentais são frequentemente consistentes, envolvendo a ativação do sistema nervoso simpático, a liberação de hormônios do estresse e a modulação de circuitos cerebrais específicos (DAVIS, 2000). Dentre as reações fisiológicas que caracterizam o medo podemos citar o aumento da frequência cardíaca, sudorese, respiração acelerada e tensão muscular. Os comportamentos adotados que acompanham essas alterações fisiológicas variam entre as expressões faciais, congelamento, luta ou fuga do perigo (LeDOUX; PINE, 2016).

Dessa forma, o medo como o sentimos é uma experiência provinda de um conjunto de informações. Inicialmente circuitos neuronais são ativados e processam as ameaças resultando nos ajustes fisiológicos acompanhados de comportamentos defensivos (LeDOUX; PINE, 2016). Quando estendemos essa análise a outras espécies de animais, que não humanos, fica difícil a compreensão do estado mental (LeDOUX, 2000). Por isso, o que observamos nesses outros seres vivos são os outros dois pilares, os ajustes fisiológicos acompanhados de comportamentos defensivos.

Existem duas modalidades de medo, o medo inato e o medo condicionado. O medo inato é natural e inerente ao ser vivo, relacionando-se com seu nicho. Vários são os estímulos que podem ocasionar o medo inato a um ser vivo, como p.e., predadores, fatores ambientais (altura, área aberta) e ou estímulos internos (dor) ou externos (odor de predador, sangue) (SILVA; GROSS; GRÄFF, 2016). Por outro lado, o medo condicionado é o medo aprendido com vivência e pode ser explorado no contexto experimental a partir da aprendizagem associativa.

Como já mencionado anteriormente, a aprendizagem associativa pode ser caracterizada pelo processo no qual os animais estabelecem uma relação entre dois ou mais estímulos. Neste sentido, o condicionamento clássico Pavloviano é um modelo básico em estudos que investigam os circuitos neuronais envolvidos nos mecanismos associativos da aprendizagem e memória uma vez que é facilmente exequível, robusto e confiável (TOVOTE; FADOK; LÜTH, 2015; BERGSTROM, 2020). A partir do condicionamento clássico, um estímulo inicialmente neutro, quando emparelhado com um estímulo incondicionado, adquire a capacidade de provocar uma resposta incondicionada (BERGSTROM, 2020; KOTA *et al.*, 2020). As respostas incondicionadas são caracterizadas por serem naturais do animal, como p.e., salivar para um

alimento ou fugir/se esquivar frente a uma ameaça. As respostas provenientes do “medo” frente a um perigo potencial estão entre as formas mais duráveis e persistentes de memória conhecidas (BERGSTROM, 2020).

Dessa forma, experimentos que utilizam tarefas clássicas de condicionamento ao medo, comumente associam um estímulo neutro a um estímulo aversivo incondicionado, produzindo assim as respostas emocionais aprendidas. Nesse sentido, uma das respostas emocionais que é mais frequentemente observada nos animais sob este contexto é o congelamento (*freezing*), por ser uma resposta de defesa automática na qual os animais parecem mortos a possíveis predadores (DIEHL *et al.*, 2019). No entanto, nestas circunstâncias o animal está sob um contexto de ameaças aprendidas e sua resposta pode ser bem complexa.

Por outro lado, diferentemente do condicionamento do medo clássico, também existem as tarefas de condicionamento operante proposto por Skinner a partir de 1937, na qual o processo de condicionamento resulta das consequências posteriores (SAMPAIO, 2005). Ao contrário do que ocorre no condicionamento clássico, o condicionamento operante ocorre de uma maneira ativa e “consciente” por parte do organismo que o está vivenciando pois ele reage a partir de um reforço. Nesse sentido, uma vez que o reforço é positivo a frequência do comportamento realizado anteriormente aumenta, no entanto, se o reforço for negativo, a tendência é que a frequência do comportamento diminua (SAMPAIO, 2005).

Após processo de aprendizagem associativa entre um sinal ou fonte de luz (estímulo inicialmente neutro) e um estímulo aversivo incondicionado, os animais também podem passar a evitar ativamente a busca por um alimento ou adentrar locais relacionados a algum perigo (DIEHL *et al.*, 2019). De fato, a evitação ativa de potenciais perigos é um comportamento que ocorre naturalmente com roedores na natureza e pode também ser observada em situações cotidianas em humanos (DIEHL *et al.*, 2019).

As respostas aprendidas, como a evitação ativa, também podem ser exibidas com a exposição do animal apenas a um ambiente (estímulo inicialmente neutro) ao qual o estímulo aversivo incondicionado foi experimentado (PHILLIPS; LeDOUX, 1992). Nesse sentido, a memória aversiva pode ser modulada por informações contextuais sendo esse processo caracterizado como condicionamento contextual ao medo (GOOSENS, 2011). Uma vez que o evento aversivo foi associado, o ambiente, que antes era neutro, passa a provocar a resposta incondicionada. Isso ocorre porque a recuperação da memória episódica está sujeita a uma ativação dos mesmos padrões cerebrais presentes no momento da codificação (KOTA *et al.*, 2020), o que pode ocorrer apenas com a exposição do animal ao ambiente anteriormente neutro.

Fanselow (1990) pontua que para que ocorra condicionamento contextual aversivo é necessário a formação de uma representação configuracional dos vários elementos dispostos no ambiente em questão. Além da aprendizagem ambiental com um forte componente emocional o condicionamento a um contexto aversivo envolve uma combinação de vários estímulos presentes no ambiente (visual, olfatório, auditivo, dentre outros) (PHILLIPS; LeDOUX, 1992).

Apesar dos dois tipos de aprendizagem serem distintos por envolverem respostas naturais e involuntárias (condicionamento clássico) ou voluntárias (condicionamento operante) frente a um estímulo, ambas podem afetar o comportamento. Além disso, estímulos que são condicionados classicamente podem ser um incentivo a aumentar o condicionamento operante (TARANTOLA *et al.*, 2017), criando a possibilidade de testes com interação de ambos os tipos de aprendizagem.

Independente da interação ou não do condicionamento clássico e o operante, trata-se de uma combinação de vários fatores e o cérebro recebe vários estímulos sensoriais. Dessa maneira, mais de uma região está envolvida no processamento dessas informações e na expressão da memória do medo (TOVOTE; FADOK; LÜTH, 2015). Essas regiões incluem, dentre outras, a amígdala, o córtex pré-frontal medial e o HPC (QUIRK *et al.*, 2003; TOVOTE; FADOK; LÜTH, 2015). A interação entre essas regiões permite que as memórias aversivas sejam complexas, envolvendo tanto o componente emocional, relacionado a amígdala, quanto o contexto em que o evento ocorreu, que é frequentemente relacionado ao HPC.

### **1.2.Mecanismos neurais envolvidos no processamento das memórias**

O HPC é uma das estruturas encefálicas mais conservadas evolutivamente (BROGLIO *et al.*, 2015) e seu papel fundamental na aprendizagem e formação de memórias já está bem definido (VANGUILDER; FREEMAN, 2011; CIOCCHI *et al.*, 2015). De fato, modelos de formação de memória pressupõem que a formação das memórias episódicas, por exemplo, depende criticamente do HPC, uma vez que ele une características de um evento ao seu contexto (KOTA *et al.*, 2020). Mais especificamente, já foi pontuada a relevância do HPC no processamento das memórias recentes (FRANKLAND; BONTEMPI, 2005) e sua relação com o processamento de diferentes tipos de memória, como a espacial (FLORESCO; SEAMANS; PHILLIPS, 1996; KLUR *et al.*, 2009) e a aversiva (FERNANDES *et al.*, 2013; LEÃO *et al.*, 2016 a, b). Nesse sentido, é válido ressaltar a complexa estrutura do HPC, suas sub-regiões e as possíveis compartimentalizações de funções dessas áreas.

A arquitetura neural é bem semelhante entre o encéfalo de humanos e roedores, explicando o uso frequente de roedores em pesquisas de neurociências (XU *et al.*, 2022). O

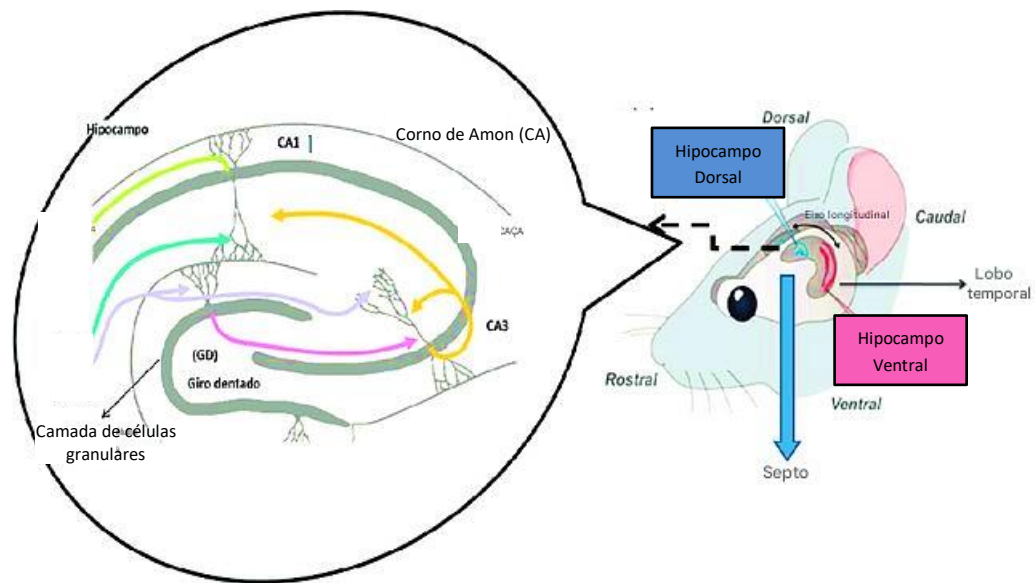
HPC de roedores é uma estrutura encefálica muito estudada com assimetrias anátomo-funcionais bem definidas. Uma análise dessas assimetrias permite a organização do HPC nos eixos longitudinais e transversais, o que pode conferir grande compreensão das sub estruturas que o compõe (FANSELOW; DONG, 2010). Fanselow e Dong (2010) observaram diferenças anatômicas e de expressão gênica no eixo longitudinal e, dessa forma, dividiram o HPC em duas principais porções: a ventral (HPCv) e a dorsal (HPCd).

O HPCd está frequentemente relacionado às memórias espaciais, enquanto que o HPCv está relacionado ao processamento de memórias emocionais, regulando respostas ao estresse (FANSELOW; DONG, 2010). O HPCv também já se mostrou importante para o processamento de informações relacionadas a comportamentos fóbicos (KJELSTRUP *et al.*, 2002) e também a fatores estressantes (novidade, natação e restrição) (FLORIOU-SERVOU *et al.*, 2018). Lesões nessa estrutura (HPCv) já evidenciaram prejuízos no processamento do medo com a diminuição de comportamentos defensivos e do tempo do animal realizando *freezing* (PENTKOWSKI *et al.*, 2006).

Por outro lado, o eixo transversal do HPC é composto pelo giro dentado, subículo e o HPC propriamente dito, também conhecido como Corno de Amon (CA). O CA apresenta pelo menos três sub-regiões estrutural e funcionalmente distintas: CA1, CA2 e CA3 (WITTER; AMARAL, 2004; CHOI; WON, 2011) (Figura 2). Anatomicamente, as três sub-regiões apresentam diferenças de tamanho e organização nas conexões dos neurônios. A CA1 possui neurônios piramidais menores que os neurônios piramidais observados em CA2 e CA3 (WITTER; AMARAL, 2004). Além disso, os limites observados entre essas regiões envolvem uma extensa organização laminar, células piramidais e conexões únicas (WITTER; AMARAL, 2004).

Quanto a função, a região CA1 parece estar mais relacionada com associação de padrões temporais e com o processamento de memórias (SHIPTON *et al.*, 2014); já a CA2 parece estar relacionada a memória social (DOMINGUEZ *et al.*, 2019; TZAKIS; HOLAHAN, 2019) enquanto que a CA3 vem sendo relacionada com processos de associação espaciais (SHIPTON *et al.*, 2014) e memória de reconhecimento (PIMENTEL *et al.*, 2022).

**Figura 2. Anatomia do hipocampo de roedores.** Posição e vista detalhada do hipocampo de roedores. C1 e C3= Corno de Amon 1 e 3.



Fonte: Adaptado de Ugarte e colaboradores (2020).

### 1.2.1. Memória espacial

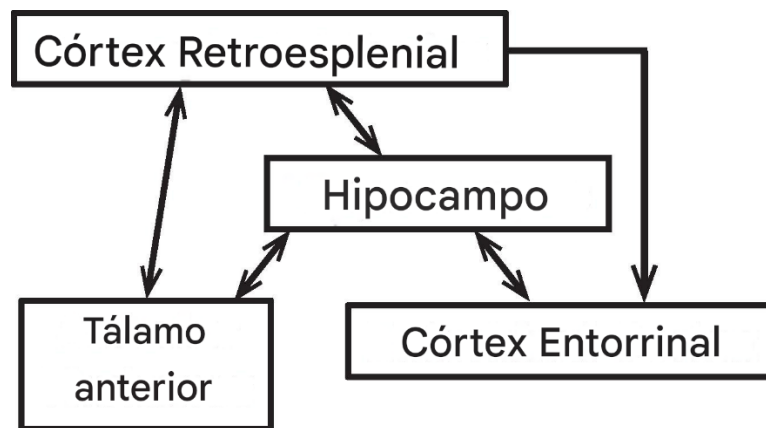
A formação e o armazenamento da memória espacial envolvem diversas regiões cerebrais, com destaque para o HPC. Estudos com lesões e eletrofisiologia em roedores revelaram que o HPC desempenha um papel crucial na codificação e recuperação de informações espaciais (O'KEEFE; NADEL, 1978). Outros estudos também já evidenciaram o papel do HPC no processamento de memórias espaciais recentes e remotas (BROADBENT; SQUIRE; CLARK, 2006; CLARK; BROADBENT; SQUIRE, 2007).

O HPC e mais duas estruturas límbicas, o córtex retrosplenial e o tálamo anterior, são conectadas bidireccionalmente por uma ampla gama de conexões diretas e indiretas (SMITH *et al.*, 2022; Figura 3). Além disso, o córtex entorrinal também faz parte desse sistema sendo uma região de projeção de volta ao HPC de neurônios vindos do córtex retrosplenial e do tálamo anterior. Nesse sentido, o córtex entorrinal fornece uma entrada primária ao HPC. Unidas, essas estruturas formam um circuito neuronal com componentes essenciais envolvidos no processamento de diversos tipos de memória, como a espacial e a contextual (SMITH *et al.*, 2022).

Além disso, a sub-região CA1 do HPCv, estrutura investigada nessa pesquisa, já apresentou em outros estudos ser importante no processamento das memórias espaciais (FLORESCO; SEAMANS; PHILLIPS, 1996). Outros estudos também já evidenciaram que a CA1 pode ter um funcionamento não homogêneo e apresentar circuitos neuronais altamente

diversificados ao longo do eixo dorsal-ventral do HPC (BEER *et al.*, 2014; KOUTSOUMPA; PAPATHEODOROPOULOS, 2019). Klur e Colaboradores (2019) por outro lado, notaram que há maior expressão gênica na CA1 do HPC direito do que no esquerdo em uma tarefa de aprendizagem espacial. Dessa maneira, é considerável um estudo mais abrangente sobre essa possível compartimentalização de funções da CA1 ao longo do eixo dorsal-ventral do HPC assim como considerar a possibilidade de lateralização funcional entre a mesma região de hemisférios diferentes.

**Figura 3. Componentes essenciais do circuito neural envolvido em vários tipos de memória.** O fluxograma representa as regiões encefálicas primordiais envolvidas em uma variedade de processamentos de memória, incluindo a espacial.



Fonte: Smith e colaboradores (2022).

### 1.2.2. Memórias aversivas

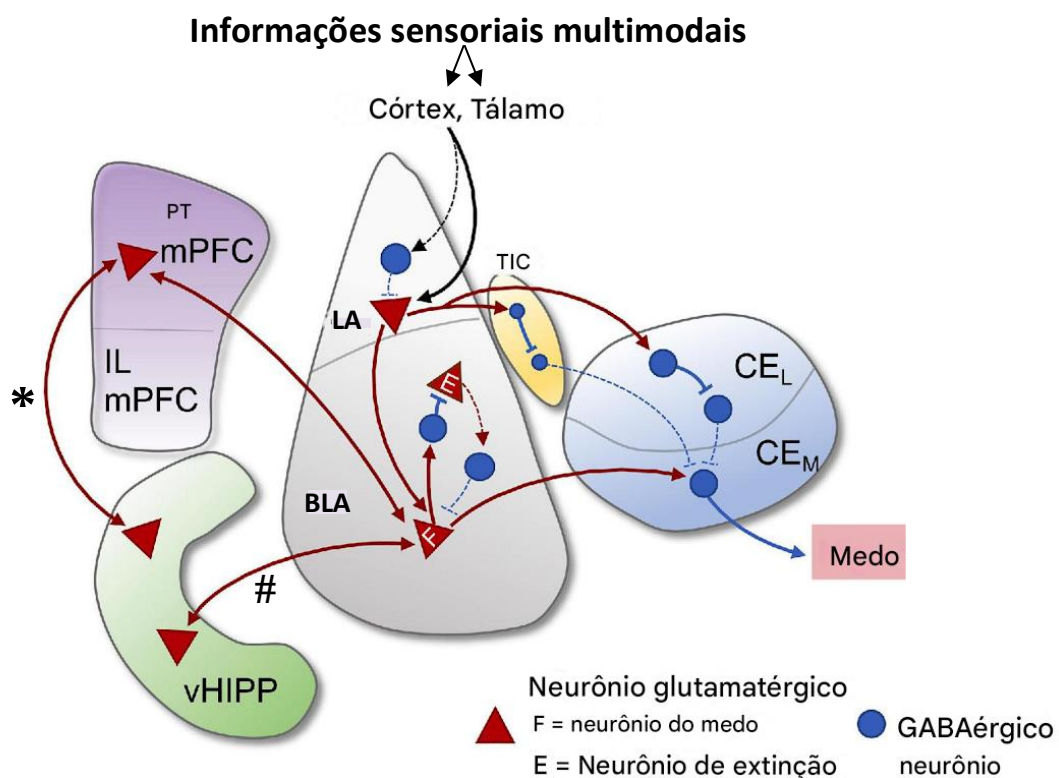
A amígdala, além de estar envolvida no processamento de emoções, desempenha um papel central na formação e recuperação de memórias aversivas (LeDOUX, 2000). Ela recebe informações sensoriais e emocionais e as associa a eventos aversivos, fortalecendo a memória e facilitando a evocação do medo em situações semelhantes.

A amígdala é uma estrutura cerebral com formato amendoado que possui aproximadamente 12 regiões diferentes, as quais podem ser divididas em várias sub-regiões (LeDOUX, 2000). As áreas de maior relevância para o condicionamento do medo são os núcleos basolateral (BLA) e central (CEA) e as conexões entre eles (LeDOUX, 2000; TOVOTE; FADOK; LÜTH, 2015). O núcleo BLA pode ainda ser subdividido em 3 sub-regiões: amígdala lateral (LA), basal e medial basal; enquanto que o núcleo CEA é composto pela amígdala central lateral (CEl) e central medial (CEm) (McDONALD, 1982). Alguns estudos já evidenciaram que as conexões entre essas regiões estão em concordância em diferentes espécies, incluindo primatas e roedores (LeDOUX, 2000).

A BLA já se demonstrou essencial para a formação das memórias aversivas, uma vez que possui papel fundamental no processamento de informações emocionais (RIBEIRO *et al.*, 2011). No entanto, é importante pontuar que o processamento dessas informações se estende para outras estruturas como os núcleos da base e o lobo temporal medial, incluindo o HPC (TYNG *et al.*, 2017). Nesse sentido, além de estar relacionada com o condicionamento ao medo contextual e não contextual, ela pode ser modulada pela ação de outras estruturas, como o HPC (GOOSENS, 2011). Além do HPC, o córtex pré-frontal medial (CPFm) também está intrinsecamente relacionado ao processamento da memória de medo.

Existem diferentes tipos de projeções estabelecidas entre essas regiões. Por exemplo, enquanto o HPCd apresenta projeções para o neocórtex, onde se localiza o CPFm, o HPCv apresenta projeções para estruturas corticais, como a amígdala (GOOSENS, 2011; Figura 4).

**Figura 4. Os circuitos relacionados com o condicionamento do medo.** A figura destaca as conexões entre o hipocampo, a amígdala e o córtex pré-frontal medial durante o condicionamento do medo. Informações sensoriais multimodais chegam até o córtex e tálamo e convergem principalmente para a amígdala lateral (LA) que ativam projeções descendentes para neurônios na amígdala basolateral (BLA) e neurônios GABAérgicos nas massas celulares intercaladas (ITC). Os neurônios da BLA também são estimulados pelo hipocampo ventral (vHIPP) e córtex pré-frontal medial pré-límbico (PL mPFC). Neurônios de saída do núcleo central medial da amígdala (CEm) são desinibidos por neurônios GABAérgicos do ITC e excitados por neurônios da BLA, finalizando com a resposta de medo. Conexões fortalecidas e enfraquecidas são representadas pelas linhas sólidas e tracejadas, respectivamente. (\*) Em destaque, a conexão entre o hipocampo dorsal (dHIPP) e o córtex pré-frontal medial pré-límbico (PL mPFC) e (#) a conexão entre o hipocampo ventral (vHIPP) e o núcleo da amígdala basolateral.



Fonte: Adaptado de Guadagno e colaboradores (2021).

Estudos relatam que o CPFm regula a expressão do medo (QUIRK *et al.*, 2003) enquanto que o HPC está envolvido no processo de condicionamento contextual facilitando a associação entre o contexto ambiental e os resultados aversivos (PHILLIPS; LeDOUX, 1992; KIM; RISON; FANSELOW, 1993; QUIRK *et al.*, 2003; GOOSENS, 2011).

Além disso, o HPC também está relacionado com o processamento de informações relacionadas a ansiedade, recompensa e memória emocional (AMARAL; GOMES; NUNES-DE-SOUZA, 2010; CIOCCHI *et al.*, 2015; LEÃO *et al.*, 2016 a, b). Mais especificamente, tanto o HPCv quanto o HPCd possuem papéis importantes no processamento de memórias contextuais ao medo (RUDY; MATUS-AMAT, 2005; GOOSENS, 2011) sendo que a área CA1 ventral já se mostrou promissora para comportamentos relacionados a ansiedade e memórias emocionais (LEÃO *et al.*, 2016 b).

### **1.3.Lateralização funcional encefálica**

Existem evidências de que processos cognitivos superiores, como atenção e a memória, podem ter processamento assimétrico entre estruturas equivalentes dos hemisférios cerebrais (HABIB; NYBERT; TULVING, 2003; SHIPTON *et al.*, 2014). Dessa maneira, a formação dos mais variados tipos de memória pode ocorrer de maneira lateralizada no encéfalo. A presença de assimetrias anatômicas e de lateralização funcional do encéfalo de humanos já são bem conhecidas (GAZZANIGA; BOGEN; SPERRY, 1965; CAHN *et al.*, 1998). Esse padrão também está presente nos mais variados animais, como os roedores, com evidência de assimetria estrutural (BEER *et al.*, 2015) e funcional (EL-GABY *et al.*, 2015; SHIPTON *et al.*, 2014). Essa crescente descoberta de lateralização funcional traz à luz um processamento bilateral que evitaria conflito, duplicação de respostas ou processamento paralelo de informações por recrutamento de duas áreas encefálicas independentes (RODGERS, 2002). Dessa maneira, o processamento lateralizado poderia conferir benefícios, contribuindo para maior aptidão biológica (FRASNELLI, 2013).

Apesar de não ocorrer com frequência, alguns estudos também buscaram avaliar a presença de evidências de lateralização funcional do HPC. Há evidências de que há o recrutamento dessa estrutura de ambos os hemisférios ao longo de um teste experimental (KLUR *et al.*, 2009; IGLÓI *et al.*, 2010; EL-GABY *et al.*, 2015; PIMENTEL *et al.*, 2022) e também de assimetrias estruturais (BEER *et al.*, 2015; KOUTSOUMPA; PAPATHEODOROPOULOS, 2019) e funcionais (SHIPTON *et al.*, 2014). Dessa forma, existem evidências que os HPC direito e esquerdo de roedores respondam de maneira diferente à experiência (JORDAN, 2019).

No entanto, outros estudos concluíram que existe uma relação complexa entre ambas as estruturas do HPC para a realização de tarefas espaciais (KLUR *et al.*, 2009; IGLÓI *et al.*, 2010). Dessa maneira, para maiores conclusões sobre uma possível lateralização funcional do HPC, um extenso estudo deveria ser realizado (KLUR *et al.*, 2009) fazendo-se necessário que essa estrutura seja considerada bilateral com processamento lateralizado (JORDAN, 2019).

#### **1.4. Testes experimentais: do comportamento a histologia**

##### **1.4.1. Testes comportamentais para avaliação de memórias espaciais e aversivas**

Os estudos comportamentais são ferramentas fundamentais para a investigação de aspectos neurobiológicos do encéfalo com o animal em atividade. Investigações que envolvam processos cognitivos são básicas para a elucidação da fisiologia do sistema nervoso central e podem contribuir com esclarecimentos sobre as contribuições hemisféricas de uma estrutura fundamental do SNC, como o HPC.

Dessa maneira, diversos testes comportamentais foram desenvolvidos para avaliar a memória espacial em roedores, cada um com suas vantagens e limitações. Como exemplo, podemos citar o labirinto radial de oito braços (OLTON; SAMUELSON, 1976), o teste de reconhecimento de objetos (ENNACEUR; AGGLETON, 2002; BARKER; Warburton, 2018), o labirinto de Barnes (BARNES, 1979; PERIS *et al.*, 2024) e o labirinto aquático de Morris (LAM; MORRIS, 1984). Esses testes, em sua maioria, utilizam pistas visuais para facilitar a navegação do animal. Essas pistas podem ser neutras, dispostas próximas ao aparato, ou ainda serem positivas, como a oferta de um alimento ou negativas, como uma fonte de luz intensa (PERIS *et al.*, 2024).

Dentre eles, o LAM trata-se de um labirinto preenchido com água, onde o animal deve encontrar uma plataforma de fuga submersa. Esse teste avalia a capacidade de aprender e lembrar da localização espacial da plataforma (MORRIS, 1984). Trata-se de um teste clássico e amplamente utilizado na literatura para acessar a memória espacial de roedores, sendo seguro, replicável e com resultados visíveis já na segunda exposição do animal a piscina (MORRIS, 1984).

Além disso, o teste baseia-se na exposição dos animais à água, o que é aversivo aos roedores, promovendo um ambiente estressante no qual o aprendizado pode ser considerado subjacente a partir de um reforço negativo (KOSAKI *et al.*, 2018). Apesar de outros estudos considerarem esse fator uma desvantagem determinante para o desempenho dos animais (PATIL *et al.*, 2009; PERIS *et al.*, 2024), é pertinente considerar que o HPCv é uma região

encefálica com muitas evidências de relações com o processamento de memórias emocionais e fatores estressantes (FANSELOW; DONG, 2010; FLORIOU-SERVOU *et al.*, 2018). Fatores esses que se relacionam com novidade, natação e restrição (FANSELOW; DONG, 2010; FLORIOU-SERVOU *et al.*, 2018). Dessa maneira, o aparato do LAM pode ser adequado para testar a ativação dessa região.

Por outro lado, quando se trata de memórias aversivas e aprendizagem associativa, apesar de comumente utilizar-se testes comportamentais de condicionamento com o uso do choque na pata como estímulo incondicionado, existem outros testes que utilizam estímulos incondicionados menos dolorosos aos animais (SILVA; FRUSSA-FILHO, 2000; LEÃO *et al.* 2016 a, b; BECEGATO *et al.*, 2021). Por conseguinte, a tarefa de esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado (“*plus-maze discriminative avoidance task*”- PM-DAT) é uma adaptação do labirinto em cruz (LCE) convencional com estímulos aversivos adaptados em um dos braços fechados do aparato (BECEGATO *et al.*, 2021).

Os roedores possuem um comportamento instintivo de procurar abrigo e proteção em locais fechados e mais escuros. Em testes comportamentais, como o LCE, durante a primeira exposição (primeiro dia) eles exploram o labirinto e buscam os braços fechados por segurança e se reexpostos (segundo dia), tendem a explorar menos e ficar no local de segurança (SILVA; FRUSSA-FILHO, 2000).

O PM-DAT possui duas sessões com um intervalo de 24 horas entre cada uma. Para a primeira sessão um dos braços fechados (estímulo neutro) é emparelhado com estímulos aversivos incondicionados, geralmente uma luz, sopro de ar e um ruído, que são apresentados ao animal toda vez que ele entra nesse local. A recuperação dessa memória adquirida é avaliada na segunda tentativa, na qual compara-se o tempo gasto em cada braço fechado (aversivo e não aversivo). De fato, a esquiva discriminativa avaliada ao longo dessa segunda exposição do teste consiste na capacidade do animal discriminar entre ambos os braços fechados (BECEGATO *et al.*, 2021). Durante a primeira sessão, comportamentos semelhantes com os da ansiedade são avaliados a partir do tempo gasto pelo animal nos braços abertos do aparato (SILVA; FRUSSA-FILHO, 2000). Dessa maneira, esse teste permite a avaliação do comportamento semelhante à ansiedade em roedores e da sua locomoção além da avaliação da memória espacial com um contexto aversivo (memória aversiva) concomitantemente, sendo caracterizado como um modelo de aprendizagem associativa (SILVA; FRUSSA-FILHO, 2000; LEÃO *et al.*, 2016 a, b BECEGATO *et al.*, 2021).

É válido ressaltar que os estímulos aversivos utilizados no PM-DAT estão mais próximos da vivência natural de um roedor uma vez que a luz forte e altos ruídos relacionam-se mais com o as exposições a qual os animais são submetidos na natureza com frequência (LEÃO *et al.*, 2016a). De certa forma, os testes que utilizam, por exemplo, os choques como estímulo incondicionado, podem ser limitados como um modelo de evitação natural (DIEHL *et al.*, 2019). Essa limitação é caracterizada pela ausência de um local seguro e permanente no qual os animais possam se abrigar uma vez que recebem e evitam choques em um mesmo lugar (DIEHL *et al.*, 2019). Dessa maneira, o PM-DAT torna-se adequado pela simulação dos estímulos incondicionados para que as associações aversivas e a resposta do animal sejam as mais naturais possíveis.

Nesse mesmo sentido, o teste do campo aberto (Ca) inicialmente foi descrito e utilizado em pesquisas científicas para análise de emocionalidade em ratos (HALL, 1934). Atualmente, já existem várias versões do teste com análise de vários comportamentos, como a frequência de entrada e de levantamento e do tempo realizando comportamento de auto limpeza (*grooming*) (PRUT; BELZUNG, 2003) que é relacionado a graus de stress, ansiedade e depressão (KALUEFF; TUOHIMAA, 2005). Dessa maneira, o Ca pode ser um teste complementar que avalia comportamento semelhante a ansiedade pela exploração de seus quadrantes e também de comportamentos exploratórios.

#### **1.4.2. O procedimento pós-experimental: histologia**

A intrincada arquitetura do sistema nervoso central (SNC), revelada pela histologia, demonstra uma organização celular e tecidual altamente especializada, essencial para a sua funcionalidade com regiões neuroanatômicas diversas (GARMAN, 2011; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2016). As células que o compõe, por sua vez, podem ser divididas em duas categorias de origem: neuroectodérmica ou mesenquimal (GARMAN, 2011). As células de origem mesenquimal formam as meninges, vasos sanguíneos, tecido adiposo e micróglia. Por outro lado, as células de origem neuroectodérmica incluem os neurônios, astrócitos, oligodendrócitos e endotélio (GARMAN, 2011).

Os neurônios possuem grandes variações de tamanho e forma. Em essência, possuem três regiões bem definidas: corpo celular, dendritos e axônio (GARMAN, 2011; LIBORIO NETO, 2017). Eles podem ser classificados, de maneira geral, (i) de acordo com seu tamanho (pequenos ou grandes), com o corpo celular podendo chegar a 150  $\mu\text{m}$ , ou (ii) pelos neurotransmissores que liberam (GARMAN, 2011). Em observação por microscopia de luz, os neurônios grandes são caracterizados por corpos celulares grandes e núcleos com apenas um

nucléolo além da visualização da substância de Nissl. Essas características são menos visíveis em interneurônios e neurônios menores (GARMAN, 2011).

Dentre as diversas regiões que compõem o SNC, o HPC, estrutura bilateral localizada no lobo temporal, revela uma organização laminar distinta e populações neuronais específicas, interconectadas por circuitos complexos que sustentam suas funções cognitivas (AMARAL; WITTER, 1989). Ele é caracterizado por três camadas principais de córtices (estrato molecular, estrato piramidal e estrato lacunoso-molecular) e duas regiões dentadas distintas (giro denteado e subículo) (RAMÓN Y CAJAL, 1911). A principal população neuronal do HPC é representada pelas células piramidais, neurônios glutamatérgicos com corpos celulares triangulares ou piramidais, dispostos densamente no estrato piramidal. Seus dendritos apicais se estendem para o estrato molecular, onde recebem sinapses de neurônios do córtex entorrinal e de outras regiões do HPC, enquanto seus dendritos basais se ramificam no estrato radiatum. Os axônios das células piramidais formam o *tracto de Schaffer*, uma via crucial para a comunicação dentro do HPC (ANDERSEN; BLISS; SKREDE, 1971).

O giro denteado, adjacente ao hipocampo propriamente dito (Corno de Amon – regiões CA), apresenta uma camada granular densamente compactada, composta pelos corpos celulares dos neurônios granulares (AMARAL; WITTER, 1989). Essas células musgosas, únicas em sua morfologia, recebem informações dos neurônios do córtex entorrinal através da via perfurante e projetam seus axônios (fibras musgosas) para as células piramidais da região CA3 do HPC (AMARAL; WITTER, 1989). Essa conexão, rica em plasticidade sináptica, é fundamental para a separação de padrões e a codificação de novas informações.

As interconexões intrínsecas dentro do hipocampo, formando o circuito trissináptico clássico (córtex entorrinal → giro denteado → CA3 → CA1 → subículo → córtex entorrinal) (ANDERSEN; BLISS; SKREDE, 1971; AMARAL; WITTER, 1989), juntamente com outras vias associativas e comissurais, conferem a essa estrutura a capacidade de processar informações sensoriais e contextuais, desempenhando um papel vital na consolidação da memória de curto prazo em memória de longo prazo e na orientação espacial.

A contínua investigação da histologia do HPC, utilizando técnicas avançadas de microscopia e neuroanatomia, revela detalhes cada vez mais precisos sobre a organização e a plasticidade dessa estrutura essencial do SNC. Além disso, a sua complexidade histológica, tipos neuronais especializados e circuitos intrincados, é fundamental para a compreensão de suas funções e de como disfunções nessa região podem levar a déficits cognitivos de muitas condições neurológicas.

### *Proto-oncogene de ativação imediata c-Fos*

O termo gene imediato-precoce (IEG) foi inicialmente utilizado para genes virais. Homólogos eucarióticos, proto-oncogenes retrovirais, foram posteriormente descobertos e chamados de IEG celulares pois mostram expressão rápida e transitória. Dentre eles podemos destacar o proto-oncogene de ativação imediata c-Fos (KOVÁCS, 2008).

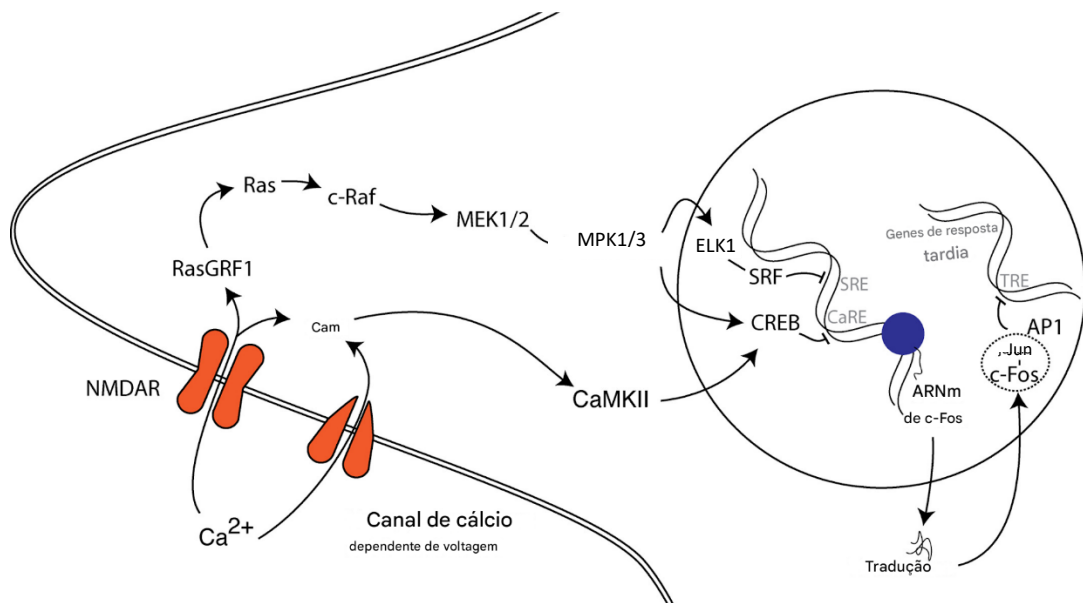
O proto-oncogene c-Fos foi descrito pela primeira vez como um gene de indução de tumores ósseos (PIECHACZYK; BLANCHARD, 1994). Ele codifica a proteína nuclear Fos que se liga ao DNA juntamente com a proteína Jun (expressa por outro proto-oncogene) formando o complexo AP-1 que regula a expressão de genes tardios (PIECHACZYK; BLANCHARD, 1994; CURRAN; MORGAN, 1995).

A expressão de genes precoces imediatos em neurônios de animais em repouso é bastante baixa, mas aumenta drasticamente a partir de atividade neural padronizada associada a plasticidade sináptica e atividade neuronal encefálica em estado de atenção (KOVÁCS, 2008). Assim, a expressão desses genes está diretamente relacionada ao aprendizado e a estabilização de circuitos neurais associados a memória (GUZOWSKI *et al.*, 2005). Por esse motivo, é possível utilizar as proteínas sintetizadas a partir destes genes (como o proto-oncogene c-Fos) como marcadores da atividade neuronal em diferentes situações estudadas (HERRERA; ROBERTSON, 1996; GUZOWSKI *et al.*, 2005, KOVÁCS, 2008).

Geralmente é considerado que a proteína c-Fos seja um marcador confiável para identificar neurônios e circuitos ativos no sistema nervoso central que respondem a fatores fisiológicos desencadeados por fatores internos ou externos (ritmo circadiano, odores, ruídos ambientais) (KOVÁCS, 2008). Além disso, tem expressão baixa em encéfalos intactos em condições basais; pode ser induzido por vários fatores, como íons, neurotransmissores, drogas, aumento do influxo e concentração intracelular de cálcio; tem duração transitória e; tem detecção relativamente fácil podendo ser combinada com vários marcadores (PIECHACZYK; BLANCHARD, 1994)

No sistema nervoso, a despolarização celular induz a produção de c-Fos por meio de ativação de receptores dependentes de voltagem. Estímulos extracelulares podem promover a abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem e gerar uma cascata intracelular que leva a um aumento dos níveis da proteína c-Fos transitoriamente (HUDSON, 2018; Figura 5).

**Figura 5. Processo de síntese da proteína Fos.** A figura retrata a expressão de c-Fos após influxo e aumento da concentração intraneuronal de cálcio. O cálcio flui para o neurônio após potenciais de ação via NMDAR e canais dependentes de voltagem. O influxo de cálcio liga-se a calmodulina (CAM), ativando CaMKII e então CREB. A atividade NMDAR ativa RasGRF1 e após uma cascata de eventos por ativação da via MAPK, resulta na ativação de CREB e também Elk1. O gene c-fos ativo leva à tradução da proteína c-Fos no núcleo e sua transcrição no citoplasma. CREB ativado atua como um fator de transcrição, com expressão resultante de mRNA c-Fos. Uma vez criado, c-Fos retorna ao núcleo da célula para se ligar a c-Jun e formar o heterodímero AP-1, que será integrado ao DNA. AP-1 = proteína ativadora; CaMKII = proteína quinase II dependente de cálcio; CREB = proteína de ligação ao elemento de resposta de AMP cíclico; MEK 1/2 = proteína quinase 1 e 2 ativada; MAPK 1/3 = proteína quinase 1 e 3 ativada; NMDAR = receptor glutamina N-metil-d-aspartato; RasGRF1: fator de liberação de nucleotídeo guanina Ras; SER = elemento de resposta sérica; SRF – fator de resposta sérica; TER = elemento de resposta (12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato).



Fonte: Adaptado de Hudson (2018).

A expressão basal do proto-oncogene c-Fos já foi estudada em várias espécies, incluindo camundongos, ratos e humanos. Embora os níveis basais sejam baixos devido a instabilidade de seu mRNA, a transcrição ocorre rapidamente (nos primeiros 5-15 minutos após o estímulo) (KOVÁCS, 1998; KOVÁCS, 2008; APARÍCIO *et al.*, 2022) com pico de expressão de mRNA aproximadamente 30 minutos após o estímulo e ativação neuronal e pico de expressão da proteína c-Fos aproximadamente de 90 -120 minutos depois (KOVÁCS, 1998; APARÍCIO *et al.*, 2022). O acúmulo do mRNA diminui com uma meia-vida curta de aproximadamente 10 a 20 minutos por feedback negativo (pela concentração da proteína Fos) (KOVÁCS, 1998) enquanto que concentração da proteína no interior do núcleo ocorre de maneira transitória, não ultrapassando mais do que algumas horas (PIECHACZYK; BLANCHARD, 1994).

Dessa maneira, de acordo com as revisões de Guzowski e colaboradores (2005) e Kovacs (2008), o tempo ótimo para o estudo das proteínas expressas por estes genes precoces imediatos se encontra entre uma e duas horas a partir da experimentação. Outros trabalhos também corroboram esse intervalo de tempo para a preparação da análise imuno-histoquímica

(JORDAN; SHANLEY; PYTTE, 2019; LUYCK *et al.*, 2020; BEM-AMI BARTAL *et al.*, 2021).

Jordan e colaboradores (2019) iniciaram os processos de preparação imuno-histoquímica (eutanásia e fixação) 65 minutos após os testes comportamentais que realizaram enquanto que Luyck e colaboradores (2020) iniciaram os processos de preparação imunohistoquímica duas horas após o início de seus experimentos (cerca de 90 minutos após o término dos experimentos). Já Ben-Ami Bartal e colaboradores (2021) optaram por iniciar os processos de preparação imuno-histoquímica em 90 minutos a partir do início dos experimentos (cerca de 30 minutos após o término dos experimentos).

Independentemente dos usos citados, a análise histológica é importante para possíveis diagnósticos de patologias, uso em educação/ensino e confirmação ou ausência de alguma anomalia tecidual. Assim, fica imprescindível seu uso em pesquisas científicas que investigam ou até mesmo causam algum dano tecidual para cumprir o objeto proposto a fim de atestar a veracidade do que foi relatado.

### **1.5. Justificativa**

Diante do exposto, apesar de alguns trabalhos relacionarem o HPCv no processamento de memórias emocionais e espaciais, há pouco ou nenhum detalhamento sobre as contribuições dessa estrutura e sua possível lateralização funcional em diferentes etapas desse processamento. Grande parte dos inúmeros trabalhos dedicados ao HPC assumem que ambos os hemilaterais (direito e esquerdo) possuem processamento idêntico, o que pode prejudicar o avanço de nossa compreensão acerca dessa estrutura e suas funcionalidades. Dessa forma, se faz necessária a investigação dessas funcionalidades, que são imprescindíveis e básicas a todos os animais, em diferentes etapas do processamento das informações. A partir disso, o presente trabalho objetivou investigar o papel da CA1 do HPCv em diferentes etapas do processamento da memória aversiva e espacial considerando-o uma estrutura bilateral. Mais do que isso, o uso de técnicas histológicas, como a imuno-histoquímica, sendo um objetivo adicional, pode adicionar detalhes sobre a ativação neuronal da CA1 do HPCv durante a realização de tarefas que envolvam a aprendizagem e memória.

## 6. CONCLUSÕES

Os principais resultados encontrados para os experimentos I e II foram: (1) Todos os animais evitaram o braço com o contexto aversivo durante a primeira exposição passando mais tempo no BFnA do que no BFA; (2) nenhum animal exibiu esquiva discriminativa na segunda exposição do PM-DAT; e (3) não houve nenhuma alteração de comportamento ansioso em abas as exposições ao PM-DAT. A partir disso, conclui-se que a CA1 do HPCv não está relacionada ao processamento da memória do medo contextual, não estando envolvida nas etapas de aprendizagem/aquisição e evocação/recordação dessa memória. De forma semelhante, a CA1 do HPCv não está relacionada com comportamentos semelhantes à ansiedade. Nenhuma evidência de lateralização funcional foi encontrada.

Quanto ao Experimento III, os resultados demonstram que os animais foram capazes de aprender a tarefa de encontrar a plataforma submersa no LAM mesmo após os procedimentos cirúrgicos de implante de cânulas guia. Além disso, quando injetados com LIDO e/ou RINGER antes do teste de memória recente foram capazes de recordar o quadrante onde anteriormente a plataforma estava posicionada. Dessa maneira, a CA1 do HPCv, sob essas condições, não parece estar relacionada com o processo de evocação da memória espacial recente além de não ter apresentado qualquer evidência de lateralização funcional.

As infusões de RINGER e/ou LIDO também não afetaram o comportamento de locomoção e exploratório dos animais. No entanto, os animais com lesão transiente esquerda submetidos inicialmente ao LAM, exibiram comportamentos mais ansiosos durante o teste do campo aberto. A princípio esse resultado pode ser um ponto de partida pela busca mais apurada por lateralização funcional das sub-regiões dessa estrutura. Por outro lado, como os animais com lesões bilaterais não exibiram o mesmo resultado, o processamento dessas informações pode ser ainda mais complexo. Assim, uma avaliação mais detalhada considerando a integração de ambos os hemisférios também se faz necessária.

Além disso, foi possível observar ativação neuronal por meio da confirmação da proteína c-Fos, da CA1 do HPCv para cada um dos três experimentos para animais do GV. Apesar disso, esse resultado pode ser conflitante com os dados comportamentais observados no Experimentos I, II e III. Dessa maneira, uma análise mais minuciosamente entre a relação de expressão de proteínas e testes comportamentais para funções de estruturas encefálicas precisa ser realizado.

Em síntese, os resultados aqui encontrados, para os três experimentos, evidenciaram a ausência de participação da CA1, mas não excluíram outras sub-regiões do HPCv para o processamento das memórias avaliadas. Dessa maneira, quanto ao processamento das

memórias aversivas, considerando o circuito neuronal envolvido na formação das memórias de medo é válido novos estudos que refinem o papel do HPC com foco em sua região ventral, a região mais fortemente relacionada a memórias emocionais do HPC.

De forma semelhante, quanto ao processamento da memória espacial, considerando a grande quantidade de trabalhos que relacionam o HPCv com o processamento de informações estressantes e memória emocional e também todo o contexto aversivo em realizar a tarefa do LAM, esse resultado pode ser um indício que outra sub-região do HPCv pode estar relacionada a essas informações.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, V. C. S.; GOMES, K.S.; NUNES-DE-SOUZA, R.L. Increased corticosterone levels in mice subjected to the rat exposure test. **Hormones and Behavior**, v. 57, n. 2, p. 128-133, 2010.
- ALBERINI, C. M.; LeDOUX, J. E. Memory reconsolidation. **Current Biology**, v. 23, n. 17, p. R746-R750, 2013.
- ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **gov.br**. Brasil: 2020. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?nomeProduto=RINGER>. Acesso em: 07 fev. 2025.
- AMARAL, D. G.; WITTER, M. P. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: A review of anatomical data. **Neuroscience**, v. 31, n. 3, p. 571-591, 1989.
- ANDERSEN, P.; BLISS, T. V. P.; SKREDE, K. K. Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. **Brain Research**, v. 31, n. 2, p. 361-372, 1971.
- APARICIO, L.Y. S.; FIERRO, A. de J. L.; ABREU, G.E.A., *et al.* Current opinion on the use of c-Fos in neuroscience. **NeuroSci**, v. 3, n. 4, p. 687-702, 2022.
- BAILEY, C.H.; BARCO, A.; HAWKINS, R.D.; KANDEL, E.R. Molecular Studies of Learning and Memory in *Aplysia* and the Hippocampus: A Comparative Analysis of Implicit and Explicit Memory Storage. In: BYRNE, J.H. (Org.). **Learning and Memory: A Comprehensive Reference**. Amsterdam: Elsevier, 2008, p. 11-29.
- BANNERMAN, D.M.; DEACON, R.M.; OFFEN, S. *et al.* Double dissociation of function within the hippocampus: spatial memory and hyponeophagia. **Behav Neurosci**, v. 116, p. 884-901, 2002.
- BANNERMAN, D.M.; GRUBB, M.; DEACON, R.M.J.; YEE, B.K.; FELDON, J.; RAWLINS, J.N.P. Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. **Behavioural Brain Research**, v. 139, p. 197-213, 2003.
- BANNERMAN, D.M.; RAWLINS, J.N.; MCHUGH, S.B.; DEACON, R.M. *et al.* Regional dissociations within the hippocampus – memory and anxiety. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 28, p. 273-283, 2004.
- BARKER, G; R; I. WARBURTON, E; C. A Critical Role for the Nucleus Reuniens in Long-Term, But Not Short-Term Associative Recognition Memory Formation. **The Journal of Neuroscience**, v. 38, n. 13, p. 1802-1817, 2018.
- BARNES, C. A. Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 93, n. 1, p. 74–104, 1979.
- BARTLETT, F. C. **Remembering: A study in experimental and social psychology**. Cambridge university press, 1995.
- BEAR, M. F.; CONNORS, B. W.; PARADISO, M. A. **Neuroscience: Exploring the Brain** 4th ed. Wolters Kluwer, 2016.

- BECEGATO, M.; MEURER, Y.S.R.; PAIVA-SANTOS, M.A.; et al. Impaired discriminative avoidance and increased plasma corticosterone levels induced by vaginal lavage procedure in rats. **Physiology & Behavior**, v. 232, p. 113343, 2021.
- BEER, Z.; CHWIESKO, C.; SAUVAGE, M.M. Processing of spatial and non-spatial information reveals functional homogeneity along the dorso-ventral axis of CA3, but not CA1. **Neurobiology of learning and memory**, v. 111, p. 56-64, 2014.
- BEN-AMI BARTAL, I.; BRETON, J.M.; SHENG, H. et al. Neural correlates of ingroup bias for prosociality in rats. **Elife**, v. 10, p. e65582, 2021.
- BERGSTROM, H.C. Assaying fear memory discrimination and generalization: Methods and concepts. **Current protocols in neuroscience**, v. 91, n. 1, p. e89, 2020.
- BROGLIO, C. et al. Hippocampal Pallium and Map-Like Memories through Vertebrate Evolution. **Journal of Behavioral and Brain Science**, v. 05, n. 03, p. 109–120, 2015.
- BROADBENT, N.J.; SQUIRE, L.R.; CLARK, R.E. Reversible hippocampal lesions disrupt water maze performance during both recent and remote memory tests. **Learn. Mem.**, v. 13, n. 2, p. 187-191, 2006.
- BURGESS, N. Spatial memory: how egocentric and allocentric combine. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 10, n. 12, p. 551–557, 2006.
- CAHN, D.A.; SULLIVAN, E.V.; SHEAR, P.K.; MARSH, L.; FAMA, R.; LIM, K.O.; YESAVAGE, J.A.; TINKLENBERG, J.R.; PFEFFERBAUM, A. Structural MRI correlates of recognition memory in Alzheimer's disease. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 4, n. 2, p. 106-114, 1998.
- CAPUTO, L.F.G.; GITIRANA, L. de B.; MANSO, P.P. de A. Técnicas histológicas. MOLINARO, E.M.; CAPUTO, L.F.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. (Org.). In: **Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio, p. 89-188, 2010.
- CARDENAS, F.P.; LAMPREA, M.R.; MORATO, S. XPloRat: freeware for animal recording, In press, 2001.
- CARDIFF, R.D.; MILLER, C.H.; MUNN, R.J. Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2014, n. 6, 2014.
- CHENANI, A.; WESTON, G.; ULIVI, A.F. et al. Repeated stress exposure leads to structural synaptic instability prior to disorganization of hippocampal coding and impairments in learning. **Translational psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 381, 2022.
- CHOI, J. H.; WON, M-H. Microglia in the normally aged hippocampus. **Lab Anim Res**, v. 27, n. 3, p. 181-187, 2011.
- CIOCCHI, S.; PASSECKER, J.; MALAGON-VINA, H.; MIKUS, N.; KLAUSBERGER, T. Selective information routing by ventral hippocampal CA1 projection neurons. **Science**, v. 348, n. 6234, p. 560 – 563, 2015.
- CLARK, R.E.; BROADBENT, N.J.; SQUIRE, L.R. The Hippocampus and Spatial Memory: Findings with a Novel Modification of the Water Maze. **The Journal of Neuroscience**, v. 27, n.25, p.6647– 6654, 2007.

COLOMBO, P.J.; BRIGHTWELL, J.J.; COUNTRYMAN, R.A. Cognitive Strategy-Specific Increases in Phosphorylated cAMP Response Element-Binding Protein and c-Fos in the Hippocampus and Dorsal Striatum. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 8, p. 3547–3554, 2003.

COMPTON, D.M. Behavior strategy learning in rat: effects of lesions of the dorsal striatum or dorsal hippocampus. **Behavioural Processes**, v. 67, p. 335–342, 2004.

CURRAN, T.; MORGAN, J. I. Fos: An immediate-early transcription factor in neurons. **Journal of Neurobiology**, v. 26, n. 3, p. 403–412, 1995.

DAVIS, M. Emotion: A neurobiological perspective. In: M. S. GAZZANIGA, M.S. (Ed.). **The new cognitive neurosciences**. MIT press, p. 1035-1050, 2000.

DAWSON, G. R.; TRICKLEBANK, M. D. Use of the elevated plus maze in the search for novel anxiolytic agents. **Trends in pharmacological sciences**, v. 16, n. 2, p. 33-36, 1995.

DIEHL, M.M.; BRAVO-RIVERA, C.; QUIRK, G.J. The study of active avoidance: A platform for discussion. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 107, p. 229-237, 2019.

DOMÍNGUEZ, S; REY, C.C.; THERREAU, L.; FANTON, A.; MASSOTTE, D.; VERRET, L.; PISKOROWSKI, R.A.; CHEVALEYRE, V. Maturation of PNN and ErbB4 Signaling in Area CA2 during Adolescence Underlies the Emergence of PV Interneuron Plasticity and Social Memory. **Cell Rep.**, v. 29, 2019.

EKMAN, P.; CORDARO, D. What is meant by calling emotions basic. **Emotion Review**, v. 3, n. 4, p. 364–370, 2011.

EL-GABY, M.; SHIPTON, O.A.; PAULSEN, O. Synaptic Plasticity and Memory: New Insights from Hippocampal Left-Right Asymmetries. **The Neuroscientist**, 21, 490-502, 2015.

ENNACEUR, A.; AGGLETON, J. P. Object recognition memory. **Behavioural brain research**, v. 125, n. 2, p. 183-206, 2002.

FANSELOW, M.S. Factors governing one-trial contextual conditioning. **Animal Learning and Behavior**, v.18, p.264-270, 1990.

FANSELOW, M.S.; DONG, H.W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? **Neuron**, v. 65, n.1, p. 7-19, 2010.

FERNANDES, H. A.; ZANIN, K. A.; PATTI, C. L.; et al. Inhibitory effects of modafinil on emotional memory in mice Helaine. **Neuropharmacology**, v. 64, p. 365-370, 2013.

FLORESCO, S. B.; SEAMANS, J. K.; PHILLIPS, A. G. Differential effects of lidocaine infusions into the ventral CA1/subiculum or the nucleus accumbens on the acquisition and retention of spatial information Behavioural. **Brain Research**, v. 81, p. 163-171, 1996.

FLORIOU-SERVOU, A.; ZIEGLER, L.V.; STALDER, L.; et al. Distinct proteomic, transcriptomic, and epigenetic stress responses in dorsal and ventral hippocampus. **Biological psychiatry**, v. 84, n. 7, p. 531-541, 2018.

FRANK, J.; LANDEIRA- FERNANDEZ, J. Rememoração, subjetividade e as bases neurais da memória autobiográfica. **Psicologia Clínica**, Rio de Janeiro, v.18, n.1, p.35-47, 2006.

- FRANKLAND, P. W.; BONTEMPI, B. The organization of recent and remote memories. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 6, n. 2, p. 119–30, 2005.
- FRASNELLI, E. Brain and behavioral lateralization in invertebrates. **Frontiers in Psychology**, v. 4, n. DEC, p. 1–10, 2013.
- GAGE, G.J.; KIPKE, D.R.; SHAIN, W. Whole Animal Perfusion Fixation for Rodents. **Journal of Visualized Experiments**, v. 65, p. 1-9, 2012.
- GARMAN, R.H. Histology of the Central Nervous System. **Toxicologic Pathology**, v. 39, n. 1, p. 22-35, 2011.
- GAZZANIGA, M.S.; BOGEN, J.E.; SPERRY, R.W. Observations on visual perception after disconnexion of the cerebral hemispheres in man. **Brain**, v. 88, p. 221-236, 1965.
- GOLDFARB, M. Voltage-gated sodium channel-associated proteins and alternative mechanisms of inactivation and block. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 69, n. 7, p. 1067–1076, 2012.
- GOOSENS, K.A. Hippocampal regulation of aversive memories. **Current opinion in neurobiology**, v. 21, n. 3, p. 460-466, 2011.
- GUADAGNO, A.; BELLIVEAU, C.; MECHAWAR, N.; WALKER, C-D. Effects of Early Life Stress on the Developing Basolateral Amygdala-Prefrontal Cortex Circuit: The Emerging Role of Local Inhibition and Perineuronal Nets. **Front. Hum. Neurosci.**, v. 15, 2021.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. 12.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- GUZOWSKI, J. F.; TIMLIN, J. A.; ROYSAM, B; MCNAUGHTON, B. L; WORLEY, P. F.; BARNES, C. A. Mapping behaviorally relevant neural circuits with immediate-early gene expression. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 15, p. 599–606, 2005.
- HABIB, R.; NYBERT, L.; TULVING, E. Hemispheric asymmetries of memory: the HERA model revisited. **Trends Cogn Sci**, v. 7, p. 241-245, 2003.
- HAFTING, T.; FYHN, M.; MOLDEN, S.; MOSER, M. B.; MOSER, E. I. Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. **Nature**, v. 436, n. 7052, p. 801-806, 2005.
- HALL, C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. **Journal of Comparative Psychology**, v.18, n.3, p. 385-403, 1934.
- HAUBRICH, J.; NADER, K. Memory reconsolidation. **Behavioral neuroscience of learning and memory**, p. 151-176, 2018.
- HERRERA, D. G.; ROBERTSON, H. A. Activation of c-fos in the brain. **Progress in Neurobiology**, v. 50, p. 83-107, 1996.
- HUDSON, A. E. Genetic reporters of neuronal activity: c-Fos and G-CaMP6. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, p. 197-220, 2018
- HUPBACH, A.; GOMEZ, R.; HARDT, O., NADEL, L. Reconsolidation of episodic memories: A subtle reminder triggers integration of new information. **Learning & memory**, v. 14, n. 1-2, p. 47-53, 2007.

- IGLÓI, K.; DOELLER, C.F.; BERTHOZ, A.; RONDI-REIG, L.; BURGESS, N. Lateralized human hippocampal activity predicts navigation based on sequence or place memory. **PNAS**, 107 14466-14471, 2010.
- JAFARIAN, M.; RAHIMI, S.; BEHNAM, F. *et al.* The effect of repetitive spreading depression on neuronal damage in juvenile rat brain. **Neuroscience**, v. 169, n. 1, p. 388-394, 2010.
- JORDAN, J. T. The rodent hippocampus as a bilateral structure: A review of hemispheric lateralization. **Hippocampus**, v. 30, n. 3, p. 278-292, 2019.
- JORDAN, J. T.; SHANLEY, M. R.; PYTTE, C. L. Behavioral state-dependent lateralization of dorsal dentate gyrus c-Fos expression in mice. **Neuronal Signaling**, v. 3, n. NS20180206, 2019.
- KALUEFF, A.V.; TUOHIMAA, P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 143, p. 169–177, 2005.
- KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M.; SIEGELBAUM, S.A.; HUDSPETH, A.J. **Princípios de neurociências**. 5.ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.
- KELES, A.I.; YILDIRIM, M.; GEDIKLI O.; C. S.; OLAKOGLU, S.; KAYA, H.; BAS, O.; SÖNMEZ, O.F.; ODACI, E. The effects of a continuous 1-h a day 900-MHz electromagnetic field applied throughout early and mid-adolescence on hippocampus morphology and learning behavior in late adolescent male rats. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, 2018.
- KIM, J.J.; RISON, R.A.; FANSELOW, M.S. Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. **Behavioral Neuroscience**, v.107, n.6, p.1093-1098, 1993.
- KIRBY, E.D., JENSEN, K., GOOSENS, K.A., KAUFER, D. Stereotaxic Surgery for Excitotoxic Lesion of Specific Brain Areas in the Adult Rat. **J. Vis. Exp.**, v.65, p.1-6, 2012.
- KJELSTRUP, K.G.; TUVNES, F.A.; STEFFENACH, H-A.; *et al.* Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. **Proc Natl Acad Sci**, v. 99, p.10825–30, 2002.
- KLUR, S.; MULLER, C.; VASCONCELOS, A.P.; *et al.* Hippocampal-dependent spatial memory functions might be lateralized in rats: An approach combining gene expression profiling and reversible inactivation. **Hippocampus**, v. 19, n. 9, p. 800-816, 2009.
- KNIGHT, P.; CHELLIAN, R.; WILSON, R. *et al.* Sex differences in the elevated plus-maze test and large open field test in adult Wistar rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 204, p. 173168, 2021.
- KOPLIK, E. V.; SALIEVA, R. M.; GORBUNOVA, A. V. The open-field test as a prognostic criterion of resistance to emotional stress in Wistar rats. **Zhurnal Vysshei Nervnoi Deiatelnosti Imeni IP Pavlova**, v. 45, n. 4, p. 775-781, 1995.
- KOSAKI, Y.; PEARCE, J.M.; MCGREGOR, A. The response strategy and the place strategy in a plus-maze have different sensitivities to devaluation of expected outcome. **Hippocampus**, v. 28, p. 484–496, 2018.
- KOTA, S.; RUGG, M.D.; LEGA, B.C. Hippocampal theta oscillations support successful associative memory formation. **Journal of Neuroscience**, v. 40, n. 49, p. 9507-9518, 2020.

- KOUTSOUMPA, A.; PAPATHEODOROPOULOS, C. Short-term dynamics of input and output of CA1 network greatly differ between the dorsal and ventral rat hippocampus. **BMC neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 35, 2019.
- KOVÁCS, K. J. Invited review c-Fos as a transcription factor: a stressful (re)view from a functional map. **Neurochemistry International**, v. 33, n. 4, p. 287–297, 1998.
- KOVÁCS, K. J. Measurement of Immediate-Early Gene Activation- c-fos and Beyond. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 20, p. 665–672, 2008.
- LANGSTON, R.F.; STEVENSON, C.H.; WILSON, C.L.; SAUNDERS, I.; WOOD, E.R. The role of hippocampal subregions in memory for stimulus associations. **Behav Brain Res**, v. 215, n.2, p. 275-291, 2010.
- LARICCHIUTA, D.; SABA, L.; BARTOLO, P.; CAIOLI, S.; ZONA, C.; PETROSINI, L. Maintenance of aversive memories shown by fear extinction-impaired phenotypes is associated with increased activity in the amygdaloid-prefrontal circuit. **Scientific reports**, v. 6, p. 1-13, 2016.
- LEÃO, A.H.F.F.; CABRAL, A.; IZÍDIO, G.S.; RIBEIRO, A.M.; SILVA, R.H. Diazepam effects on aversive memory retrieval and extinction: role of anxiety levels. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 141, p. 42-49, 2016a.
- LEÃO, A. H.F.F.; MEDEIROS, A. M.; APOLINÁRIO, G.K.S.; et al. Hippocampal-dependent memory in the plus-maze discriminative avoidance task: the role of spatial cues and cal activity. **Behavioural Brain Research**, v. 304, p. 24-33, 2016b.
- LeDOUX, J. E. Emotion, memory, and the brain. **Scientific American**, v. 282, n. 6, p. 50-57, 2000.
- LeDOUX, J. E. Rethinking the emotional brain. **Neuron**, v. 73, n. 4, p. 653–676, 2012.
- LeDOUX, J.E.; PINE, D.S. Using Neuroscience to Help Understand Fear and Anxiety: A Two-System Framework. **American Journal of Psychiatry**, v. 173, n. 11, 2016.
- LEVER C, BURTON S, JEEWAJEE A, O'KEEFE J, BURGESS N. Boundary vector cells in the subiculum of the hippocampal formation. **The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society For Neuroscience**, v. 29, p. 9771-7, 2009.
- LIBORIO NETO, A. O. Histologia do Sistema Nervoso: Diversidade Celular e Suas Localizações. **Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento**, v. 5, n. 8, p 74-93, 2017.
- LOMBER, S. The advantages and limitations of permanent or reversible deactivation techniques in the assessment of neural function. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 86, n. 2, p.109–117, 1999.
- LUYCK, K.; SCHEYLTJENS, I.; NUTTIN, B.; ARCKENS, L.; LUYTEN, L. c-Fos expression following context conditioning and deep brain stimulation in the bed nucleus of the stria terminalis in rats. **Scientific Reports**, v. 10, n. 20529, 2020.
- MCDONALD, A. J. Cytoarchitecture of the central amygdaloid nucleus of the rat. **J. Comp. Neurol.** v. 208, p. 401–418, 1982.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, Scotland, v.11, n.11, p.47–60, April, 1984.

NADEL, L.; HUPBACH, A.; GOMEZ, R.; NEWMAN-SMITH, K. Memory formation, consolidation and transformation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 36, n. 7, p. 1640-1645, 2012.

NADER, K.; SCHAFE, G. E.; LE DOUX, J. E. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. **Nature**, v. 406, n. 6797, p. 722-726, 2000.

O'KEEFE, J.; NADEL, L. **The Hippocampus as a Cognitive Map**. Oxford: Clarendon Press, 1978.

O'KEEFE, J.; DOSTROVSKY, J. The hippocampus as a spatial map: preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. **Brain research**, v. 34, n. 1, p. 171-5, 1971.

OLTON, D.S.; SAMUELSON, R.J. Remembrance of places passed: spatial memory in rats. **Journal of experimental psychology: Animal behavior processes**, v. 2, n. 2, p. 97, 1976.

PACKARD, M. G.; MCGAUGH, J. L. Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. **Neurobiol. Learn. Mem.**v. 65, n.1, 65–72, 1996.

PARÉ, D. Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. **Progress in neurobiology**, v. 70, n. 5, p. 409-420, 2003.

PATTI, C.L.; ZANIN, K.A.; SANDAY, L.; *et al.* Effects of sleep deprivation on memory in mice: role of state-dependent learning, **Sleep**, v. 33, p. 1669-1679, 2010.

PATIL, S.S.; SUNYER, B.; HÖGER, H.; LUBEC, G. Evaluation of spatial memory of C57BL/6J and CD1 mice in the Barnes maze, the Multiple T-maze and in the Morris water maze. **Behavioural brain research**, v. 198, n. 1, p. 58-68, 2009.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The rat brain in stereotaxic coordinates: hard cover edition. **Access Online via Elsevier**, 2006.

PENTKOWSKI, N.S.; BLANCHARD, D.C.; LEVER, C.; *et al.* Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. **Eur J Neurosci**, v. 23, p. 2185-2196, 2006.

PEREIRA DE VASCONCELOS, A.; KLUR, S.; MULLER, C.; *et al.* Reversible inactivation of the dorsal hippocampus by tetrodotoxin or lidocaine: a comparative study on cerebral functional activity and motor coordination in the rat. **Neuroscience**, v. 141, n.4, p.1649–1663, 2006.

PERIS, L. R.; SCHEUBER, M. I., SHAN, H., BRAUN, M., SCHWAB, M. E. Barnes maze test for spatial memory: a new, sensitive scoring system for mouse search strategies. **Behavioural Brain Research**, v. 458, p. 114730, 2024.

PHILLIPS, R. G.; LEDOUX, J. E. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. **Behavioral Neuroscience**, v. 106, n.2, p. 274—285, 1992.

PIECHACZYK, M.; BLANCHARD, J-M. C-fos proto-oncogene regulation and function. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 17, n. 2, p. 93-131, 1994.

PIMENTEL, G. A.; CRESTANI, A. M.; FLORINDO, L. H. Do spatial and recognition memories have a lateralized processing by the dorsal hippocampus CA3? **Behavioural Brain Research**, v. 416, n.113566, 2022.

PRUT, L.; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **European Journal of Pharmacology**, v.463, p. 3– 33, 2003.

PURVES, D.; AUGUSTINE, G.I.; FITZPATRICK, D.; et al. **Neuroscience**. 4th ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc, 2008.

QUIRK, G. J.; RUSSO, G. K.; BARRON, J. L.; LeDOUX, J. E. The role of the ventromedial prefrontal cortex in extinguishing conditioned fear. **Behavioral neuroscience**, v. 117, n. 1, p. 25, 2003.

RAINS, D.G. Sistemas de memoria. In: \_\_\_\_\_. (Org.). **Principios de neuropsicología humana**. 1 ed. Mexico: Mc Graw Hill, 2004. p. 241–86.

RAMÓN Y CAJAL, S. **Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés**. Paris: Maloine, 1911.

RESCORLA, R.A.; HOLLAND, P.C. Behavioral studies of associative learning in animals. **Annual Review of Psychology**, v. 33, p. 265-308, 1982.

RIBEIRO, A.M.; BARBOSA, F.F.; MUNGUBA, H.; et al. Basolateral amygdala inactivation impairs learned (but not innate) fear response in rats. **Neurobiol Learn Mem**, v. 95, p. 433–40, 2011.

RODGERS, L. Advantages and disadvantages of lateralization. In: RODGERS, L.; ANDREW, R. J. (Eds.). **Comparative vertebrate lateralization**. 1ªed ed. Cambridge: Cambridge University Press. p. 126–153, 2002.

ROSSATO, J. I., BEVILAQUA, L. R.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I.; CAMMAROTA, M. Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. **Learning & Memory**, v. 13, p. 431-440, 2006.

RUDY, J.W.; MATUS-AMAT; P. The ventral hippocampus supports a memory representation of context and contextual fear conditioning: implications for a unitary function of the hippocampus. **Behav Neurosci**, v. 119, p. 154-163, 2005.

SADEGHIAN, H.; JAFARIAN, M.; KARIMZADEH, F. *et al.* Neuronal death by repetitive cortical spreading depression in juvenile rat brain. **Experimental neurology**, v. 233, n. 1, p. 438-446, 2012.

SAKAGUCHI, Y.; SAKURAI, Y. Left–right functional asymmetry of ventral hippocampus depends on aversiveness of situations. **Behavioural Brain Research**, v. 325, p. 25-33, 2017.

SALAS, C.; BROGLIO, C.; DURÁN, E.; GÓMEZ, A.; OCAÑA, F.M.; JIMÉNEZ-MOYA, F.; RODRÍGUEZ, F. Neuropsychology of Learning and Memory in Teleost Fish. **Mary Ann Liebert Inc**, v.3, n.2, p. 157-171. 2006.

SAMPAIO, A.A.S. Skinner: sobre ciência e comportamento humano. **Psicologia: ciência e profissão**, v. 25, n. 3, 2005.

SANTIAGO, R.M.; BARBIEIRO, J.; LIMA, M.M.S; DOMBROWSKI, P.A.; ANDREATINI, R.; VITAL, M.A.B.F. Depressive-like behaviors alterations induced by intranigral MPTP, 6-OHDA, LPS and rotenone models of Parkinson's disease are predominantly associated with serotonin and dopamine. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 34, p. 1104–1114, 2010.

SARAMAGO, José. **Cadernos de Lanzarote**. 1ª ed. São Paulo: Companhia das Letras, 576 p., 1998.

SCHNEIDER, P.; HO, Y. J.; SPANAGEL, R.; PAWLAK, C. R. A novel elevated plus-maze procedure to avoid the one-trial tolerance problem. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 5, p. 43, 2011.

SHEVER'OVA, V. M. Influence of chronic emotional stress on the behaviour in "open field" test of rats with different level of motor activity. **Fiziologichnyi Zhurnal (Kiev, Ukraine: 1994)**, v. 57, n. 1, p. 94-105, 2011.

SHIPTON, O.A.; EL-GABY, M.; APERGIS-SCHOUTE, J.; et al. Left–right dissociation of hippocampal memory processes in mice. **PNAS**, v.111, n.42, p. 15238-15243, 2014.

SILVA, R.H., FRUSSA-FILHO, R. The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. **J. Neurosci. Methods**, v.102, p.117-125, 2000.

SILVA, B. A.; GROSS, C. T.; GRÄFF, J. The neural circuits of innate fear: Detection, integration, action, and memorization. **Learning and Memory**, v. 23, p. 544-555, 2016.

SMITH, D.M.; YANG, Y.Y.; SUBRAMANIAN, D.L.; MILLER, A.M.P.; BULKIN, D.A.; LAW, L.M. The limbic memory circuit and the neural basis of contextual memory. **Neurobiology of learning and memory**, v. 187, p. 107557, 2022.

TARANTOLA, T.; KUMARAN, D.; DAYAN, P.; BENEDETTO, M. Prior preferences beneficially influence social and non-social learning. **Nature Communications**, v. 8, n. 817, 2017.

TOLMAN, E.C. Cognitive maps in rats and men. **Psychological review**, v. 55, n. 4, p. 189, 1948.

TOVOTE, P.; FADOK, J.P.; LÜTH, A. Neuronal circuits for fear and anxiety. **Nature Reviews Neuroscience**. v. 16, p. 317–331, 2015.

TYNG, C.M.; AMIN, A.U.; SAAD, M.N.M.; MALIK, A.S. The influences of emotion on learning and memory. **Frontiers in psychology**, v. 8, p. 1454, 2017.

TZAKIS, N.; HOLAHAN, M.R. Social Memory and the Role of the Hippocampal CA2 Region. **Front Behav Neurosci**. v. 13, p. 233, 2019.

UGARTE, V.C.; BASTIDA, A.; ZARATE, S.G. Estudio anatómico do hipocampo como uma das regiões de neurogênese más relevante. **Revista Científica Ciência Médica**, v.23, n.2, p. 221-230, 2020.

VANGUILDER, H.D.; FREEMAN, W.M. The hippocampal neuroproteome with aging and cognitive decline: past progress and future directions. **Front Aging Neurosci**, v. 3, n. 8, 2011.

WAGA, I.C. **Memória relacional espacial e não-espacial associada ao forrageamento em macacos-prego (*Cebus spp.*) mantidos em cativeiro**. 2008. 67 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

WALF, A.A.; FRYE, C.A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nature protocols**, v. 2, n. 2, p. 322-328, 2007.

WITTER, M. P.; AMARAL, D. G. Hippocampal Formation. In: PAXINOS, G. (Org.). **The Rat Nervous System**. Elsevier Inc., p. 635-704, 2004.

XU, N.; LAGROW, T.J.; ANUMBA, N. *et al.* Functional connectivity of the brain across rodents and humans. **Frontiers in Neuroscience**, v. 16, p. 816331, 2022.

YANG, Y.; WANG, J-Z. From structure to behavior in basolateral amygdala-hippocampus circuits. **Frontiers in neural circuits**, v. 11, p. 86, 2017.