

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**MEMÓRIA EPISÓDICA EM CÃES (*Canis lupus familiaris*)
SAUDÁVEIS**

FELIPE JACQUES SANCHES

**Botucatu – SP
Fevereiro de 2021**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**MEMÓRIA EPISÓDICA EM CÃES (*Canis lupus familiaris*)
SAUDÁVEIS**

FELIPE JACQUES SANCHES

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Martins Amorim

**Botucatu - SP
Fevereiro de 2021**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Sanches, Felipe Jacques.

Memória episódica em cães (*Canis lupus familiaris*)
saudáveis / Felipe Jacques Sanches. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Rogério Martins Amorim

Capes: 50501062

1. Cães. 2. Disfunção cognitiva. 3. Distúrbios
cognitivos. 4. Demência. 5. Memória episódica.

Palavras-chave: Déficit cognitivo; Demência; Memória
episodic-like; Testes cognitivos.

Nome do Autor: Felipe Jacques Sanches

Título: MEMÓRIA EPISÓDICA EM CÃES (*Canis lupus familiaris*) SAUDÁVEIS

COMISSÃO EXAMINADORA

Profº Drº Rogério Martins Amorim
Presidente e Orientador
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu

Profº Drº Rodrigo Egydio Barreto
Membro
Departamento de Biologia Funcional e Estrutural
IBB – UNESP – Botucatu

Profª Drª Silvia Mitiko Nishida
Membro
Departamento de Biologia Funcional e Estrutural
IBB – UNESP – Botucatu

Data da Defesa: 11 de fevereiro de 2021.

AGRADECIMENTOS

A realização de grandes trabalhos, projetos e estudos só é possível quando temos a colaboração de todos. Não há pesquisa no 'singular', da qual seja realizada apenas por um indivíduo. Não há pesquisa sem a diversidade de ideias e sem o compartilhamento de conhecimentos. Em todos os âmbitos, profissional e pessoal, deve-se encontrar harmonia e união para que, juntos, haja o desenvolvimento de novas ideias e projetos, visando um bem maior: a ciência. Por esta razão, venho aqui agradecer a todos, que de alguma forma, ajudou a construir a minha dissertação de mestrado. Sintam-se parte desta pesquisa.

Agradeço, primeiramente, à minha família. A vida me presenteou com duas mães, duas guerreiras, que são meus exemplos de superação e honestidade: minha avó, Zenilda (mãe de criação) e minha mãe, Marizete (quem me trouxe a este plano). Aquele humilde e simples menino do interior do Matogrosso do Sul, sem muitos recursos financeiros, vivendo em seu próprio mundo minúsculo e vendo a cidade grande apenas pela TV, jamais imaginara que o mundo poderia ser tão imenso. Por meio da leitura incentivada, desde criança, por sua avó, que sempre sonhava em dias melhores, aquele menino cresceu buscando ser uma pessoa melhor. Com a força reluzente daquelas duas mulheres ao seu redor, ele aprendeu a agarrar as pequenas oportunidades que lhe surgiram. E por meio delas, hoje, ele tem em suas mãos um diploma. A vida me ensinou a viver, mas ser quem sou só foi possível graças a vocês.

Agradeço ao meu Pai, Luiz Hermano, quem sempre me incentivou e me apoiou por toda essa caminhada. Obrigado pelas lições e aprendizados. Ao meu avô materno, Fernando, que também me criou. Homem bem humilde, de cara fechada e amarrada, de poucos sorrisos confesso, que nunca me ensinou sobre ciência, mas o que me ensinou carregarei sempre comigo: a nunca desistir e que nunca é tarde para mudar e ser melhor. Agradeço, em geral, a todos que de alguma forma me incentivaram.

Ao meu orientador, agradeço por tornar tudo isso possível. Obrigado por todos ensinamentos do âmbito acadêmico e da vida, além de ser um exemplo

de professor para mim. Obrigado por acreditar em mim e me dar esta oportunidade.

Aos amigos, nada de mim seria sem vocês. Acredito que amigos foram feitos para chamarmos de “segunda família”, afinal, para nós que estamos tão distantes de casa, são eles que nos confortam nos piores dias e são com eles que comemoramos os melhores também. Nesta jornada, até aqui, tive a sorte de colecionar pessoas incríveis e me considero extremamente grato por tê-los comigo. Agradeço a todos com minha mais pura e sincera gratidão. Cada um de vocês fazem parte de mim. Em especial, agradeço a Roberta, a todos os momentos que estive ao meu lado. Você me ensinou o verdadeiro significado da amizade, me mostrou que um amigo pode ser até mesmo mais que um irmão. Você coloriu meus dias cinzas e ajudou a superar meus medos e incertezas.

Agradeço às alunas da graduação, Jéssica e Sabrina, por terem me ajudado na execução dos testes, correndo incansavelmente atrás dos cães para atender o tão esperado “n” amostral e por estarem sempre dispostas a ajudar. “Gentileza gera gentileza”.

Agradeço aos professores compositores da banca examinadora, qualificação e defesa. Nenhum conhecimento se faz sozinho e tenho profunda admiração por pessoas que escolhem compartilhá-las. Agradeço, em especial, ao professor Arthur Schelp que desde o início me ajudou e se fez presente nas discussões, elucidando minhas incansáveis e infinitas dúvidas. Agradeço, também, à professora Luzia Trinca, por ter me ajudado com as análises estatísticas do projeto.

Agradeço ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária da FMVZ - Unesp - Botucatu/SP, pelo auxílio prestado durante o curso de mestrado.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Unesp - Botucatu/SP, pelo apoio desta instituição para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo fornecimento da bolsa de estudos, PROCESSO 155902/2019-9, auxiliando no desenvolvimento do projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 1 – **Imagem fotográfica da sala utilizada para execução do TEMEC.**
A. Demonstração do local inicial (seta em branco) onde os animais são colocados antes da execução de cada fase do teste e do distanciamento, equidistante, do animal até os recipientes (linha tracejada em amarelo). **B.** Visualização da disposição dos recipientes dentro da sala. Note as diferenças de tamanho, cor e formato entre eles, além da necessidade de aproximação, por parte do animal, para identificar o conteúdo em seu interior.44
- Figura 2 – **Teste de Evocação da Memória Episódica Canina (TEMEC). (A).**
 Imagem ilustrativa do modelo de execução do teste. Note que cada fase condiz a um evento (episódio) diferente que será vivenciado pelo animal.....45
- Figura 3 – **Sala Teste.** Imagem ilustrativa da sala de teste, indicando o posicionamento dos recipientes, da câmera, do animal ao iniciar o teste e das medidas da sala (em centímetros). Observe que a filmagem foi feita na lateral da sala (sala de gravação). Dessa forma, o animal não teve acesso visual ao celular e nem à pessoa que o segurou..... 45
- Figura 4 – **Análise do efeito peso e sexo.** Imagem gráfica demonstrando os efeitos de significância (sexo e da interação entre peso e sexo) sob a probabilidade de acerto.....49
- Figura 5 – **Efeito idade sob probabilidade de acerto.** Gráfico demonstrando a relação da probabilidade de acerto mediante o efeito idade ($p = 0.00636$). Nota-se o declínio encontrado na população de cães mais velhos, em ambos os sexos, resultam em menor percentagem de acerto ao longo da vida, independente do peso corpóreo animal...49

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1 – Escala de Demência Canina (CADES), traduzido, desenvolvido por Mandari *et al.* (2015), envolvendo os quatros domínios da avaliação da disfunção cognitiva canina. (A) Orientação espacial. (B) Interação social. (C) Ciclo do sono-vigília. (D) Distúrbios de eliminação – defecação e micção.....29
- Tabela 2 – Questionário, traduzido, de abordagem aos domínios cognitivos referente ao acrônimo DISHAA, obtido do livro Canine and Feline Dementia: Molecular Basis, Diagnostics and Therapy (2017).....30

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – **Variação de percentual de acerto entre porte, idade e sexo**.....47

Tabela 2 – **Variação de percentual de acerto entre porte, idade e sexo. Formulação e resultados estatísticos para os modelos usados na análise.** Informações sobre os modelos de regressão logística ajustados para prever as probabilidades de acerto de cães no Teste de Evocação de Memória Canina (TEMEC). Cada linha representa uma variável preditora ou interação dentro do respectivo modelo. O asterisco indica efeito significativo da variável ou interação dentro do modelo de regressão logística ($P < 0.05$).....48

ABREVIATÖES

CADES – Escala de Demência Canina

DA – Doença de Alzheimer

DISH – D (Disorientation / Spatial orientation); I (Social interaction); S (Sleep–wake cycles); H (House soiling)

DISHAA – D (Disorientation / Spatial orientation); I (Social interaction); S (Sleep–wake cycles); H (House soiling); A (Activity); A (Anxiety)

DNMP – Teste de atraso não ligado a posição

DNMS – Teste de atraso não-ligado à amostra

SDC – Síndrome da disfunção cognitiva

TEMEC – Teste de Evocação de Memória Episódica Canina

WWW – what, where, when

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA	14
1.1 INTRODUÇÃO	15
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	17
1.2.1 A memória e suas derivações	17
1.2.2 O hipocampo	20
1.2.3 O declínio da memória episódica e a doença de Alzheimer	22
1.2.4 Doença tipo Alzheimer – uma nova terminologia	24
1.2.5 Síndrome da Disfunção Cognitiva Canina	25
1.2.6 Testes cognitivos em cães	31
1.2.7 Testes de avaliação de memória <i>episodic-like</i>	32
1.3 OBJETIVOS	35
1.3.1 Objetivos gerais	35
1.3.2 Objetivos específicos	35
CAPÍTULO 2 – TRABALHO CIENTÍFICO	36
TÍTULO	37
RESUMO	37
INTRODUÇÃO	38
MATERIAL E MÉTODOS	40
Seleção dos Animais	40
Teste de Evocação da Memória Episódica Canina (TEMEC)	42
Análise Estatística	46
RESULTADOS	46
DISCUSSÃO	50
CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
CAPÍTULO 3 – DISCUSSÃO GERAL	65
DISCUSSÃO GERAL	66
CONCLUSÕES GERAIS	69
REFERÊNCIAS	70

SANCHES, F. J. **Memória episódica em cães (*Canis lupus familiaris*) saudáveis**. Botucatu – SP, 2021. 80p. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

RESUMO

A memória episódica é responsável pela recepção e armazenamento de informações sobre episódios temporalmente datados e pela lembrança, consciente, de experiências ou eventos vividos. Sendo, esta, extremamente sensível a degenerações hipocampais, tais como àqueles apresentados por deposição de β -amilóide que precedem o desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA) em humanos. Estudos que visam uma maior compreensão desta memória em animais não humanos tornam-se promissores para o desenvolvimento de novos modelos translacionais para doenças neurodegenerativas, visto a íntima correlação do declínio da memória episódica com o desenvolvimento da DA. Com o objetivo de avaliar a utilização da memória episódica na espécie canina, foram recrutados 90 cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) clinicamente saudáveis, de idades variáveis, ambos os sexos e raças distintas. Por meio de um teste modificado de avaliação da memória episódica, foi possível inferir que a probabilidade de acertos foi predita pelas variáveis: sexo, idade, peso e pela interação sexo x peso. Fêmeas apresentaram uma taxa de acerto menor comparado aos machos, o mesmo ocorreu em cães de porte pequeno frente aos demais. Ao analisar as variáveis peso e sexo, houve uma interação estatística significativa, demonstrando que fêmeas de porte pequeno (<9kg) apresentaram uma porcentagem de acerto menor aos demais grupos. A única variável que apresentou uma distribuição igual entre grupos, foi o fator “idade”. Animais idosos apresentaram uma probabilidade de acerto menor quando comparados com cães mais jovens, independente do sexo e do peso corpóreo. Através dos resultados obtidos, nosso estudo confirmou a capacidade de cães utilizarem a memória episódica e identificou um declínio significativo em cães geriátricos clinicamente saudáveis, sem alterações cognitivas evidentes.

Palavras-chave: déficit cognitivo; testes cognitivos; demência; memória episódica-like.

SANCHES, F. J. **Episodic memory in healthy dogs (*Canis lupus familiaris*)**. Botucatu – SP, 2020. 80p. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu.

ABSTRACT

Episodic memory is one of the fundamental neurocognitive memory systems in humans, responsible for receiving and storing information about temporally dated episodes and in favor of the conscious recall of experiences or lived events. Being extremely sensitive to hippocampal degenerations, such as those presented by deposition of β -amyloid that precede the development of Alzheimer's disease (AD). Such studies provide a greater understanding of the memory in non-human animals, becoming promising for the development of new translational models for neurodegenerative diseases, considering the close correlation of the episodic memory decline with the development of Alzheimer's disease seen in humans. In order to evaluate the use of episodic memory in the canine species, 90 clinically healthy domestic dogs (*Canis lupus familiaris*), of different ages, both sexes and different breeds, were recruited. Through a modified episodic memory assessment test, it was possible to infer that the probability of correct answers was predicted by the variables: sex, age, weight, and the interaction sex x weight. Females had a lower hit rate compared to males, the same occurred in small dogs compared to the others. When analyzing the variables weight and sex, there was a statistically significant interaction, showing that females of small size (<9kg) had a lower percentage of correct answers to the other groups. The only variable that showed an equal distribution between groups was the "age" factor. Elderly animals were less likely to be successful when compared to younger dogs, regardless of sex and body weight. Through the results obtained, our study confirmed the ability of dogs to use episodic memory and identified a significant decline in clinically healthy geriatric dogs, with no evident cognitive changes.

Keywords: cognitive deficit; cognitive tests; dementia; episodic-like memory.

CAPÍTULO 1
REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

Estudos de avaliação de memória em animais, humanos e não humanos, estão cada vez mais promissores e necessários para um melhor entendimento, fisiopatológico e clínico, de doenças neurodegenerativas, além de tentar elucidar e encontrar métodos diagnósticos precoces por meio de testes cognitivos e compreender melhor a evolução destas doenças. Tais estudos, poderão auxiliar em pesquisas translacionais futuras, utilizando animais como modelos experimentais para doenças em humanos, assim como na doença de Alzheimer (DA).

A memória é composta de vários sistemas correlacionados e estruturas organizadas de componentes operacionais que consistem em substratos neurais e compostos comportamentais e cognitivos (Tulving, 1985). Sendo ela classificada em: memória de curta duração (segundos) e memória de longa duração (minutos, anos, décadas) (CASCELLA; AL KHALILI, 2020).

Nosso foco de estudo encontra-se na memória de longa duração que, por sua vez, pode ser subdividida entre memória não declarativa (implícita) e declarativa (explícita; autobiográfica). Esta última, caracterizada pela narrativa de episódios em sua sequência temporal e cronológica é referida por meio de palavras, narrada por escrito ou até mesmo por atitudes, por isto, a terminologia “declarativa”. A memória explícita se divide em componentes episódicos e semânticos e envolve um sistema de memória baseado no hipocampo, o que requer o uso da consciência para a evocação da lembrança (GRIFFITHS et al., 1999; LENT, 2001; KANDEL et al., 2014).

A memória episódica foi um termo utilizado por Endel Tulving (1972) para se referir àquela que apresenta a capacidade de receber e armazenar informações sobre episódios ou eventos temporalmente datados, contendo, também, relações espaço-temporais entre esses eventos. O desenvolvimento, armazenamento e execução desta memória está intimamente correlacionada à integridade do hipocampo e estruturas correlacionadas ao mesmo (TEMPLER; HAMPTON, 2013).

Estudos de memória episódica se tornaram altamente relevantes por se tratar de uma memória extremamente sensível às degenerações hipocampais, tais como àqueles apresentados por deposição de β -amilóide que precedem o desenvolvimento da DA (MORMINO et al., 2008). Desta forma, a identificação precoce de alterações da memória episódica pode ser primordial como método precoce do diagnóstico da DA (ALBERT et al., 2011).

Com objetivos de estabelecer estudos translacionais entre espécies, a memória episódica vem sendo fator de estudo em diversos animais não humanos, tais como macacos (MARTIN-ORDAS et al., 2010; TEMPLER e HAMPTON, 2013), ratos (EACOTT e NORMAN, 2004), aves (CLAYTON e DICKINSON, 1998) e cães (FUJITA et al., 2012). Tendo esta mesma memória um comprometimento correlacionado com lesões hipocampais, observados em macacos (GAFFAN, 1994) e ratos (FORTIN et al., 2002).

Como para Tulving (1972; 1993; 2002), a memória episódica só se aplica a seres humanos, decorrente à capacidade de lembrar conscientemente da experiência ou evento ocorrido e, ainda, relatar o evento como método de se avaliar a mesma (memória declarativa, autobiográfica), restringiu a terminologia “memória episódica” apenas tal espécie. No entanto, Clayton e Dickinson (1998) passaram a utilizar o termo memória “semelhante à episódica” (‘episodic-like’) aos animais não humanos, pelo fato de apresentarem a capacidade de cumprir os critérios comportamentais da memória episódica.

Assim como a DA afeta diretamente a memória episódica, suspeitamos que o mesmo possa ocorrer em cães com distúrbios neurodegenerativos, como na síndrome disfunção cognitiva, em que cães idosos desenvolvem déficits cognitivos comuns a DA. Vários estudos demonstraram uma correlação positiva entre deficiências cognitivas e aumento da formação de placas senis difusas de β -amilóide, observadas principalmente no cérebro de cães idosos (CUMMINGS et al., 1996a; SATOU et al., 1997; ARAUJO et al., 2017).

A maioria das pesquisas usando modelos animais de DA avalia apenas aspectos gerais de aprendizagem e memória e, portanto, a relevância translacional para deficiências de memória episódica na DA ainda é incerta (CRYSTAL; GLANZMAN, 2013).

Diversos testes, já validados na medicina veterinária, foram desenvolvidos para avaliação cognitiva de cães idosos, tais como aprendizado de reconhecimento não ligado à amostra (DNMS) e aprendizado espacial (DNMP) (MILGRAM et al., 1994; HEAD et al., 1995; SATOU et al., 1997; ADAMS et al., 2000; HECKLER et al., 2014). No entanto, nenhum destes avaliam a memória episódica.

Por meio da execução de um teste de avaliação da memória episódica, temos por objetivo identificar a utilização da memória episódica em uma população canina saudável e analisar o efeito da idade sob a probabilidade de acerto, considerando que déficits da memória episódica precedem alterações cognitivas mais evidentes.

Este estudo foi realizado pelo Serviço de Neurologia Veterinária do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu, São Paulo, Brasil. Todos os procedimentos de coleta de informações e imagens foram aprovados pela Comissão de Ética da FMVZ, protocolo CEUA 0042/2019 de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 A memória e suas derivações

Para Tulving (1985), a memória é composta de vários sistemas correlacionados e estruturas organizadas de componentes operacionais que consistem em substratos neurais e compostos comportamentais e cognitivos. Desta forma, é coerente afirmarmos que a memória integra um sistema complexo em que as lembranças resultam da ação combinada de sistemas cognitivos e neurobiologicamente distintos no cérebro (TEMPLER; HAMPTON, 2013).

Classicamente, a memória em humanos consiste em: memória de curta duração (segundos) e memória de longa duração (minutos, anos, décadas). Estas se distinguem tanto na capacidade de armazenamento de informações, quanto na variável “tempo” (duração) (CASCELLA; AL KHALILI, 2020).

Além disso, a memória pode ser subdividida entre memória declarativa (explícita; autobiográfica) que utiliza da consciência para acessar uma informação; e memória não declarativa (implícita) (DICKERSON; EICHENBAUM, 2010). Esta última é caracterizada por sua inacessibilidade à lembrança consciente, sendo demonstrada por fenômenos como *priming*, aprendizagem motora de habilidades e formas simples de condicionamento clássico (GRIFFITHS et al., 1999).

Tulving (1985) descreve memória não declarativa como memória processual, a qual permite que os organismos retenham conexões aprendidas entre estímulos e respostas, incluindo aqueles que envolvem padrões complexos de estímulo e cadeias de resposta, e que respondem adaptativamente ao ambiente, fornecendo, desta forma, um modelo para ações futuras sem conter informações sobre o passado.

Enquanto os principais aspectos da memória explícita requerem a integração funcional do hipocampo e do córtex adjacente, envolvendo ainda a percepção consciente em humanos, a memória implícita não exige percepção consciente e depende principalmente de outros sistemas cerebrais, tais como cerebelo, estriado e amígdala (KANDEL et al., 2014).

A memória autobiográfica é referida por meio de palavras, narrada por escrito ou até mesmo por expressões comportamentais (sendo esta última mais evidente em animais não humanos), por isto, a terminologia “declarativa” (GRIFFITHS et al., 1999). Nela encontram-se memórias de curto prazo – memória operacional, utilizada principalmente para recuperar informações rápidas para obter uma resposta imediata, como por exemplo lembrar um determinado número telefônico, além da memória de trabalho importante para resolução de cálculos e compreensão de frases longas – e memórias de longo prazo (DICKERSON; EICHENBAUM, 2010).

A memória declarativa de longo prazo se divide em componentes episódicos e semânticos, na qual a memória semântica envolve conceitos atemporais,

responsável pelo armazenamento e recuperação de conhecimento sobre o mundo (“fatos”), utilizando a consciência noética (‘o conhecer’) para tornar possível que o indivíduo tenha conhecimento e percepção introspectiva do mundo interno e externo (TULVING, 1985; GRIFFITHS et al., 1999; LENT, 2001).

Endel Tulving foi o primeiro pesquisador a utilizar o termo “memória episódica” para àquela que apresenta a capacidade de receber e armazenar informações sobre episódios ou eventos temporalmente datados, contendo, também, relações espaço-temporais entre esses eventos. Em suma, este tipo de memória submete a lembranças de experiências passadas e individuais que estão intimamente correlacionados a elementos comportamentais sobre o "o que", "quando" e "onde" um determinado evento ocorreu (GRIFFITHS et al., 1999; CLAYTON et al., 2001).

Para Tulving (1972; 1993; 2002), a memória episódica só se aplica a seres capazes de lembrar conscientemente da experiência ou evento ocorrido (consciência autoconsciente), sendo capazes, ainda, de relatar o evento como método de se avaliar a mesma (memória declarativa, autobiográfica). Por tais motivos, se restringiu a terminologia “memória episódica” apenas a seres humanos e até os dias de hoje há controversas do seu desenvolvimento em animais não humanos, visto que estes não apresentam a capacidade da narrativa de se expressar (CRYTAL, 2009).

O fato de que animais não humanos, não são providos da capacidade de execução da linguagem falada, assim como as crianças que ainda não aprenderam a dominar a expressão verbal da linguagem, avaliar a memória declarativa é um desafio, mas não uma impossibilidade. Tanto nas crianças, como em mamíferos e aves, é aplicável o conceito “minimalista” de memória episódica (CLAYTON e RUSSELL, 2009).

Estudos realizados em corvídeos (CLAYTON e DICKINSON, 1998) e ratos (EACOTT e NORMAN, 2004) demonstraram que estes animais também eram capazes de recordar o “onde”, “o que” e “quando” de um evento. Para Clayton e Dickinson (1998) os animais não humanos deveriam apresentar a capacidade de cumprir os critérios comportamentais da memória episódica, independentemente de apresentarem, ou não, a autoconsciência. Para este

fenômeno utilizou o termo memória "semelhante à episódica" (episodic-like memory). Assim, vários estudos foram desenvolvidos desde que a revisão conceitual de Clayton e Dickinson foram aceitos. Crystal (2009) revisou várias abordagens que têm sido usadas para avaliar este tipo de memória em animais não humanos. Martin-Ordas et al. (2010) e Templer e Hampton (2013) utilizaram macacos e Fujita et al. (2012) cães domésticos, demonstrando que animais não humanos são capazes de utilizar a memória *episodic-like*.

1.2.2 O hipocampo

A memória episódica apresenta um desenvolvimento mais tardio, uma deterioração precoce e mais vulnerável à disfunção neural quando comparado com outros sistemas de memória (TULVING, 2002). Memórias episódicas em humanos são particularmente dependentes da integridade do hipocampo e estruturas correlacionadas ao mesmo, enquanto outros tipos de memória não são (TEMPLER; HAMPTON, 2013).

Em humanos, a rede hipocampal, incluindo o giro hipocampal, o próprio hipocampo e as áreas neocorticais, é responsável pela regulação e manutenção da memória de longo prazo tendo um papel importante na formação de novas memórias e em suas subseqüentes reativações. O hipocampo tem a função de consolidar a memória desde que seja relevante, porém, não é o um sitio de armazenamento essencial. Para isto, desenvolvem-se neuroconexões a estruturas corticais subjacentes, permitindo que uma memória se torne permanente em outras regiões cerebrais, independente da atividade hipocampal. Essa "transferência" da memória ocorre por meio de reativações das atividades neuronais mediadas pelo hipocampo e de suas estruturas mediais temporais inter-relacionadas. Desta forma, como método de redistribuição de informações, o hipocampo cria conexões com diversas outras áreas do neocórtex, fazendo com que uma determinada informação seja direcionada e estocada em áreas funcionais mais específicas a ela. Assim, por exemplo, uma memória visual é integrada ao córtex de associação visual e a memória auditiva ao córtex temporal (CASCELLA; AL KHALILI, 2020).

O hipocampo desempenha um papel muito importante e complexo no desenvolvimento da cognição. Sabe-se que a região hipocampal atua como uma área de integração no cérebro, sendo crítico para codificar rapidamente elementos que compartilham características espaciais, temporais ou conceituais e recuperar experiências a partir da memória, além de interagir com outras regiões do cérebro para sustentar a aquisição de conhecimento de episódios individuais, tanto imediatamente ao aprendizado quanto ao longo do tempo através da consolidação (MACK et al., 2017).

As estruturas do lobo temporal medial, incluindo o hipocampo, são fundamentais para a memória declarativa, no entanto, descobriu-se que o hipocampo é necessário para lembrar as experiências da vida em curso (memória episódica), mas não é necessário para a aquisição de conhecimento fatorial (memória semântica) (TULVING; MARKOWITSCH, 1998).

Após estudos e observações clínicas feitas em três jovens humanos com enfermidade hipocampal bilateral focal, notou-se a presença de dificuldade para recordar eventos e experiências diárias, além de reter informações aprendidas ao mesmo tempo que preservaram conceitos concretos e abstratos sobre o mundo, mantendo o nível intelectual próximo à normalidade sem haver prejuízos na vida escolar. Exames de imagem demonstraram lesões restritas ao hipocampo, enquanto que áreas peri-hipocampal apresentavam-se aparentemente normais. Desta forma, foi possível confirmar que o modelo neuroanatômico da memória semântica dependia das regiões corticais peri-hipocampais, mas não do hipocampo, enquanto que a memória episódica era restrita ao hipocampo (VARGHA-KHADEM et al., 1997).

Em estudos utilizando ratos com lesões hipocampais em que se tornaram incapazes de lembrar o ordenamento sequencial de uma série de odores (FORTIN et al., 2002) e macacos que se apresentaram inaptos a inferirem um julgamento temporal a um determinado teste após transecção do fórnix (área hipocampal responsável pelo processamento da informação espacial e temporal) (CHARLES et al., 2004), foi possível suportar a ideia de que o hipocampo medeia associações entre eventos sequenciais que constituem elementos de uma memória episódica. Para Templer e Hampton (2013), estes

estudos fornecem vigorosos indícios de uma função de memória episódica hipocampal semelhante entre humanos, macacos e roedores.

1.2.3 O declínio da memória episódica e a doença de Alzheimer

A formação de placas senis e alterações intraneuronais do citoesqueleto, resultante de emaranhados neurofibrilares são achados neuropatológicos clássicos da DA. A patologia da placa senil é resultado da deposição focal extracelular da proteína β -amiloide, enquanto que os emaranhados neurofibrilares são compostos por filamentos anormais ou hiper-fosforilados de proteína tau. O desenvolvimento destas duas patologias ocorre de forma precoce (anos a décadas) ao início dos sinais clínicos e, concomitantemente, processos neurodegenerativos, como disfunção e perda neuronal e sináptica, resultam em atrofia cortical generalizada, alterações em sistemas de neurotransmissores e redes neurais (ARENDT et al., 2017; ARAUJO et al., 2017).

A etiologia da DA pode ser classificada em doença familiar e esporádica. O tipo familiar, responsável por 5% da casuística global da DA, está correlacionado a mutações em genes que codificam a proteína precursora de amiloide (APP), Presenilina - 1 (PSEN1), Presenilina - 2 (PSEN2) e apolipoproteína E (APOE).⁹ Enquanto que a etiologia da forma esporádica ainda é uma grande incógnita, podendo estar correlacionada a muitos fatores, como idade, sexo, história familiar, nível de escolaridade, variantes do gene APOE, diabetes, fatores ambientais ou microrganismos (GUERREIRO; BRAS, 2015; LI et al., 2019).

Além da idade, o desenvolvimento da DA é influenciado por fatores genético e endócrinos, demonstrando uma diferença intersexual quando se refere a prevalência da doença. Mulheres apresentam maior probabilidade em desenvolver a doença quando comparada ao sexo masculino, isto ocorre devido a fatores genéticos relacionados à apolipoproteína E ϵ 4 (APOE- ϵ 4) e também aos mecanismos fisiopatológicos neuroendócrinos decorrentes da transição da menopausa (RIEDEL et al., 2016; SCHEYER et al., 2018).

A deposição de β -amiloide, a atrofia do hipocampo e déficits de memória episódica ocorrem sequencialmente em indivíduos idosos. Desta forma, o acúmulo de β -amiloide, mesmo que em níveis baixos, precedem o desenvolvimento da DA contribuindo para a atrofia hipocampal e alterações da memória episódica (MORMINO et al., 2008).

Em um estudo, foi avaliado a atividade cerebral utilizando um método por ressonância magnética funcional, em que foi possível avaliar as regiões do hipocampo, *in vivo*, em idosos com memória normal, com declínio isolado da memória e com provável DA. Os idosos normais, sem qualquer declínio cognitivo, mostraram ativação proeminente no córtex entorrinal e no hipocampo durante uma tarefa de codificação facial, enquanto os pacientes com DA tiveram atividade reduzida nas duas regiões. Alguns idosos com declínio da memória apresentaram níveis reduzidos de atividade temporal medial, de gravidade semelhante à observada em pacientes com DA, enquanto outros mantiveram níveis normais de ativação. Esses resultados corroboraram a ideia de que o córtex entorrinal e o hipocampo são locais iniciais de anormalidade na DA e sugeriram ainda que o declínio da memória em alguns idosos estava associado ao declínio da ativação em regiões temporais mediais específicas (SMALL et al., 1999).

Inúmeros trabalhos demonstram que humanos exibem perdas de memória com a idade, mas que nem todos os tipos de memória são afetados igualmente. Os idosos são prejudicados em sua capacidade de recordar conscientemente eventos e contextos em que ocorreram, mas são relativamente íntegros em sua experiência da familiaridade de um objeto ou pessoa reconhecida. Assim, um idoso pode encontrar um indivíduo pouco conhecido, especialmente em um ambiente incomum, e lhe parecer familiar, mas pode não ser capaz de lembrar onde ou quando se conheceram (GRADY e CRAIK, 2000).

Em um consenso realizado por Albert et al. (2011), destacou-se a importância da detecção precoce do comprometimento da memória episódica, pois a mesma é frequentemente afetada em pacientes com comprometimento cognitivo leve (definido como estágio prodrômico) que posteriormente evolui com sintomatologias mais severas da DA. Pacientes com DA mostram um padrão contínuo e relativamente persistente de declínio cognitivo caracterizado

por prejuízos precoces na memória episódica, consistente com alterações neuropatológicas precoces no córtex entorrinal e na formação do hipocampo (ARAUJO et al., 2017).

Vários estudos sobre a memória episódica em humanos descrevem um padrão simétrico para o seu desenvolvimento, em forma de U invertido, no qual há um maior desenvolvimento durante a infância (início com 3-4 anos de idade) e um declínio natural e constante após 25-30 anos (idade adulta) (MARTIN-ORDAS et al., 2010). No entanto, pacientes com comprometimento cognitivo leve (estágio prodrômico) perdem a capacidade de conseguir usar informações sobre como os eventos são relacionados uns com os outros, a fim de aprender e organizar suas memórias de forma mais eficaz, mesmo em tarefas que exigem pouco esforço e motivação (WEINGARTNER et al., 1981; GREENE et al., 1996).

1.2.4 Doença *tipo-Alzheimer* – uma nova terminologia

Para alguns autores a DA é uma patologia exclusiva dos seres humanos por acreditarem que mesmo intimamente associada a disfunções cognitivas presentes em animais, as lesões neuropatológicas típicas em humanos dificilmente são vistas em mamíferos não primatas e primatas não humanos, desenvolvendo, assim, uma forma semelhante, porém, incompleta da doença. Tais diferenças são encontradas em achados neuropatológicos interespecies como, por exemplo, em cães e gatos que apresentam deposições amiloides por meio de formação de placas difusas, enquanto que em humanos, os agregados de peptídeos β -amiloides ocorrem como placas neuríticas e depósitos vasculares de β -amiloide (ARENDT et al., 2017).

No entanto, outros autores discordam. Em uma revisão geral sobre as alterações cerebrais senis em primatas não humanos, realizada por Toledano e colaboradores (2012), demonstraram que primatas não humanos senis apresentavam características morfológicas, histoquímicas e cognitivo-comportamentais semelhantes às observadas em humanos idosos normais, além de outras características indicativas de um envelhecimento patológico do “tipo Alzheimer”.

Curiosamente, deposições de agregados β -amiloide encontrado em humanos foram observados nos cérebros de macacos do Novo e Velho Mundo, como saguis (*Callithrix jacchus*) (GEULA et al., 2002), macacos rhesus (*Macaca mulata*) (MARTIN et al., 1991; PODURI et al., 1994), macacos de cauda longa (*Macaca fascicularis*) (KIMURA et al., 2003), Vervet do Caribe (*Chlorocebus aethiops*) (LEMERE et al., 2004), macacos-esquilo (*Saimiri sciureus*) (WALKER et al., 1987) e saguis de algodoeiro (*Saguinus oedipus*) (LEMERE et al., 2008), indicando mecanismos semelhantes na formação patológica de β -amiloide entre macacos e humanos.

Enquanto que a taupatia resultante da formação de emaranhados neurofibrilares de proteínas tau, é raramente encontrada em macacos e outros animais, apesar da presença da deposição de β -amiloide nestas espécies. Aparentemente, o Chimpanzé comum (*Pan troglodytes*) (ROSEN et al., 2008) e o Gorila da planície ocidental (*Gorilla gorilla gorilla*) (PEREZ et al., 2013) conseguem se aproximar das alterações patológicas amiloide e tau encontrada em humanos. Mesmo assim, níveis de placas amiloides e depósitos de proteínas tau intra e extracelulares observados em pacientes humanos com DA nunca foram observados em nenhum modelo animal natural (ARENDT et al., 2017).

Existem algumas hipóteses para explicar a ausência de emaranhados neurofibrilares em animais não humanos. Por exemplo, em cães as sequências de aminoácidos da proteína tau difere da de humanos, podendo afetar a formação dos emaranhados neurofibrilares em cães. Outra hipótese é de que estes animais não vivam tempo suficiente para o surgimento dos emaranhados neurofibrilares no cérebro (DEWEY et al., 2019). Por esta razão, tais autores consideram a terminologia “Doença tipo-Alzheimer” para outras espécies animais.

1.2.5 Síndrome da Disfunção Cognitiva Canina

A síndrome da disfunção cognitiva (SDC) é um distúrbio neurodegenerativo progressivo, em que cães idosos desenvolvem déficits cognitivos comuns a DA. Tais déficits incluem alterações em processos mentais de percepção,

consciência, aprendizado, memória e tomada de decisões. À medida que os animais de estimação envelhecem, mudanças de comportamento podem ser a primeira indicação de declínio de saúde e bem-estar (CUMMINGS et al., 1996 b; FRANK, 2003; HECKLER et al., 2010; LANDSBERG et al., 2012).

Vários estudos demonstraram uma correlação positiva entre deficiências cognitivas e aumento da formação de placas senis difusas de β -amilóide, observadas principalmente no cérebro de cães idosos (CUMMINGS et al., 1996a; SATOU et al., 1997; ARAUJO et al., 2017). Por outro lado, ainda não está bem esclarecido quanto a neuropatogenia dos emaranhados neurofibrilares de proteína tau. Sabe-se que vários epítomos de tau fosforilados, mesmo que em menor quantidades quando comparados com humanos, são encontrados no cérebro canino envelhecido e podem estar ligados a alterações comportamentais associadas à síndrome de disfunção cognitiva. No entanto, não está elucidado se a taupatia em cães leva à perda sináptica e celular como ocorre em humanos (ARAUJO et al., 2017).

Head et al. (2010) referem que cães idosos também desenvolvem uma deposição substancial de amiloide com a idade, frequentemente comparável aos casos de DA. Ao contrário dos emaranhados neurofibrilares de proteína tau, que podem levar várias décadas, a patologia do depósito de β -amilóide ocorre em uma idade muito mais jovem. A proteína β -amilóide sofre alguns processos de clivagem resultando na produção de uma população de peptídeos heterogêneos, sendo a forma mais comum com 40 aminoácidos de comprimento ($A\beta_{40}$), considerada a mais abundante (80-90%), seguida por uma forma mais hidrofóbica, de 42 aminoácidos ($A\beta_{42}$; ~5-10%). Déficits grave de aprendizado e de memória estão correlacionados ao acúmulo de $A\beta_{42}$ em placas difusas no cérebro de cães idosos. Neste estudo, realizado por Head, utilizando 30 cães da raça Beagle, foi possível detectar, no cérebro, aumentos em $A\beta_{42}$ em idade mais jovem, antes dos aumentos de $A\beta_{40}$, sendo correlacionados com um aumento da carga amiloide. Enquanto que nas análises em líquido cefalorraquidiano, a $A\beta_{42}$ diminuiu com a idade e os níveis de $A\beta_{40}$ permaneceram constantes.

Nos seres humanos, a cognição é composta por múltiplos domínios cognitivos que incluem não apenas aprendizado e memória, mas também função executiva, linguagem, capacidade psicomotora, atenção e habilidades

espaciais. Enquanto que em cães as principais queixas clínicas estão correlacionadas ao acrômio DISHAA, que inclui desorientação, alterações nas interações sociais, ciclos de vigília, hábitos de eliminação e atividade, além do aumento da ansiedade. Déficits de aprendizado e memória também são frequentemente evidenciados (LANDSBERG et al., 2012).

O diagnóstico da disfunção cognitiva canina ainda é difícil e complexo, necessitando inicialmente da exclusão de quaisquer condições médicas e comportamentais primárias, cujos sintomas mimetizam com o DISHAA. Testes neuropsicológicos validados quantificam objetivamente medidas de aprendizado e comprometimento da memória que provavelmente correspondem aos sinais da disfunção cognitiva. No entanto, esses testes exigem um profissional treinado, metodologia padronizada, aparelho de avaliação cognitiva e tempo e consistência para avaliar o animal de estimação, o que os tornam uma opção menos favorável no cenário clínico (LANDSBERG e MALAMED, 2017).

Outro método possível se dá por meio de aplicações de questionários que se baseiam aos sinais clínicos referente a desorientação, interações sociais alteradas com pessoas ou outros animais de estimação, distúrbios de sono-vigília, micção e defecação em locais inadequados, além de perda de outros comportamentos aprendidos (MILGRAM et al., 1994; CUMMINGS et al., 1996 b; RUEHL e HART, 1998; LANDSBERG et al., 2012; SVICERO et al., 2017).

Madari *et al.* (2015) desenvolveram um questionário, por meio de um sistema de pontuação, denominado Escala de Demência Canina (CADES) (Figura 01), capaz de quantificar o declínio cognitivo em cães em níveis leve, moderado e severo. O questionário desenvolvido é analisado através de quatro domínios (DISH), relacionado aos tipos de mudanças no comportamento dos cães: orientação espacial, interações sociais, ciclos de sono-vigília e alterações de defecação e micção. Através de 17 questões (itens) aplicadas aos tutores de seus respectivos cães, é implantada uma escala de, no máximo, 5 pontos para cada item, conforme a frequência da alteração comportamental observada: 0 pontos - comportamento anormal do cão nunca observado; 2 pontos - comportamento anormal detectado pelo menos uma vez nos últimos 6 meses; 3 pontos - comportamento anormal notado, ao menos, uma vez por mês; 4 pontos - comportamento anormal visto várias vezes por mês; e 5 pontos -

comportamento anormal observado várias vezes por semana. Com a somatória de cada domínio é possível então obter um escore final quantitativo que reflete de forma confiável uma avaliação quantitativa do declínio cognitivo. Animais que apresentam um estágio clínico compatível com alterações normais de senilidade, encontram-se em um escore final de 0 a 7 pontos, enquanto que aqueles com comprometimento cognitivo leve (8 a 23), comprometimento cognitivo moderado (24 a 44) e severo (45 a 95).

Para Landsberg e Malamed (2017), o uso de questionários com o envolvimento do acrônimo DISHAA (Figura 2), incluindo alterações de atividade, distúrbios de ansiedade e fobias, fornece um questionário de rastreamento mais inclusivo e potencialmente mais sensível. Alguns estudos demonstraram que em casos mais graves de declínio cognitivo há comprometimento dos quatro domínios do acrônimo (DISH), enquanto que nos moderados há pelo menos 2 domínios afetados, principalmente referentes a interações sociais e ciclos de sono-vigília.

TABELA 1. Escala de Demência Canina (CADES), traduzido, desenvolvido por Mandari *et al.* (2015), envolvendo os quatros domínios da avaliação da disfunção cognitiva canina. (A) Orientação espacial. (B) Interação social. (C) Ciclo do sono-vigília. (D) Distúrbios de eliminação – defecação e micção.

Domínio/itens	
A. <u>Orientação espacial</u> 1. Desorientação em ambiente familiar (dentro e fora de casa) 2. Reconhecimento de pessoas e animais familiarizados (dentro e fora de casa/apartamento) 3. Resposta anormal a objetos familiares (cadeira, lixeira) 4. Desorientação (inquieta durante o dia) 5. Habilidade reduzida em executar uma tarefa já aprendida PONTUAÇÃO (0-25)	
B. <u>Interação social</u> 6. Mudanças na interação tutor/cão e com outro cão (brincando, acariciando) 7. Mudanças no comportamento individual do cão (performance, comportamento de explorar, brincar) 8. Resposta a comandos e habilidade de aprender uma nova tarefa 9. Irritabilidade 10. Agressividade PONTUAÇÃO (0-25)	
C. <u>Ciclo vigília sono</u> 11. Respostas anormais a noite (vocalização, andar compulsivo, inquietação) 12. Variação entre insônia e hipersonia PONTUAÇÃO x 2 (0-20) D. <u>Distúrbios de eliminação</u> 13. Eliminação em locais aleatórios da casa 14. Eliminação no próprio canil ou local de dormir 15. Mudanças na sinalização da atividade de eliminação 16. Eliminação dentro de casa depois de passeio 17. Eliminação em locais incomuns (grama, concreto) PONTUAÇÃO (0-25)	
PONTUAÇÃO TOTAL (A+B+C+D) (0-95) <u>Estágio clínico:</u> Envelhecimento normal: (0-7) Déficit cognitivo leve: (8-23) Déficit cognitivo moderado: (24-44) Déficit cognitivo severo: (45-95)	

TABELA 2. Questionário, traduzido, de abordagem aos domínios cognitivos referente ao acrônimo DISHAA, obtido do livro Canine and Feline Dementia: Molecular Basis, Diagnostics and Therapy (2017).

QUESTIONÁRIO DE ABORDAGEM DO COMPORTAMENTO DO CÃO SENIL

Instruções: O propósito do questionário é identificar alterações no comportamento ou o início de novos problemas comportamentais que surgiram desde os 8 anos utilizando a seguinte ferramenta:

Pontuação (severidade): 0 = sem alteração; 1 = discreto; 2 = moderado; 3 = severo

SINAIS COMPORTAMENTAIS	SCORE
A. Desorientação	
Ficar preso, dificuldade em contornar objetos, ir para o outro lado da porta	
Olhar fixamente para paredes, chão ou para o horizonte	
Não reconhecer pessoas ou animais familiarizados	
Se perder em casa ou no jardim	
Diminuição da resposta a estímulos visuais (luzes) e auditivos (sons)	
B. Interações sociais	
Maior irritabilidade / medo / agressividade com visitas, familiares ou outros animais	
Diminuição no interesse de aproximação, cumprimento ou brincadeiras	
C. Ciclo sono vigília	
Inquieto / dormir menos/ andar a noite	
Vocalização a noite	
D. Aprendizado e memória de eliminação	
Diminuição da capacidade para aprender novas tarefas ou responder a comandos / nome / tarefa anteriormente aprendidos	
Eliminação de urina ou fezes dentro de casa - diminuição da sinalização para sair	
Dificuldade de chamar a atenção do cão / aumento da distração / diminuição do foco	
E. Atividade	
Diminuição na exploração de brinquedos e brincadeiras, membros da família e outros animais	
Aumento da atividade - andar sem rumo	
Repetição de comportamentos (ex. andar em círculos, mastigar, lamber, olhar para o horizonte)	
F. Ansiedade	
Aumento da ansiedade de separação dos donos	
Mais reatividade / medo para estímulos visuais (luzes) e auditivos (sons)	
Aumento do medo de lugares / localizações (ex. novos ambientes / sair ao ar livre)	

1.2.6 Testes cognitivos em cães

Além das alterações neuropatológicas estarem presentes nos cérebros destes cães, tem sido relatado que os mesmos são prejudicados em uma variedade de tarefas, incluindo o aprendizado de reconhecimento não ligado à amostra (DNMS) e aprendizado espacial (DNMP) (MILGRAM *et al.*, 1994; HEAD *et al.*, 1995; SATOU *et al.*, 1997). Em testes já validados, Milgram *et al.* (1994), Head *et al.* (1995) Adams *et al.* (2000) e Heckler *et al.* (2014) utilizaram cães com intuito de avaliar a função visuoespacial, ou seja, a capacidade do animal de lembrar-se da localização de uma determinada recompensa (teste de atraso não-ligado à posição ou DNMP) ou de lembrar-se de um objeto sob o qual se encontra a recompensa (atraso não-ligado à amostra ou DNMS).

Cummings *et al.* (1996 b) e Araujo *et al.* (2017) ressaltam que o DNMP é um teste sensível para demonstrar o acúmulo anormal de β -amilóide no cérebro de cães com disfunção. Altos níveis de β -amilóide no córtex pré-frontal estão associados com aprendizado reverso e déficits complexos de memória de trabalho, enquanto que o acúmulo no córtex entorrinal está associado a prejuízos na discriminação de tamanho e aprendizagem de recompensa e abordagem a objetos (CUMMINGS *et al.* 1996a). Landsberg *et al.* (2012) descrevem, ainda, que cães com déficits no teste DNMP também demonstram comprometimento cognitivo e mudanças comportamentais consistentes com a disfunção cognitiva, tais como ciclos alterados de sono-vigília e diminuição do contato social com humanos. No entanto, vale ressaltar que nenhum destes testes acima avaliam a memória episódica.

Outra limitação do teste DNMP, relatado por Heckler *et al.* (2014), é que o exame demanda tempo diário de aproximadamente 20 minutos para ser realizado na rotina clínica e requer uma aprendizagem de recompensa e de abordagem ao objeto, resultado em, aproximadamente, 10 dias consecutivos de treinamento. Outra desvantagem, ainda, é a necessidade de um profissional treinado e equipamento específico. Além do mais, os testes não podem ser realizados com qualquer animal, pois cães especialmente inseguros ou submissos apresentam dificuldades na execução dos testes.

1.2.7 Testes de avaliação da memória episódica

Templer e Hampton (2013) questionam os testes que avaliam a memória episódica restritamente pelo fato de demonstrar se o indivíduo é capaz de distinguir o “o que” “quando” e “onde” de um determinado evento passado. Para eles, esta abordagem pode apresentar falhas, pois até mesmo em humanos existem memórias semânticas que incluem o que aconteceu, onde aconteceu e quando aconteceu, como o conhecimento de fatos históricos, além de que nós, humanos, também apresentamos memórias episódicas que não incluem todos esses três elementos. Sendo assim, estes autores acreditam que a memória episódica possa ter sofrido alterações evolutivas entre as espécies de modo a combinar suas capacidades cognitivas com as demandas ecológicas específicas de cada espécie em questão, tornando uma única concepção de memória episódica excessivamente restritiva, sendo difícil confiar em apenas um conjunto específico de critérios para identificar a memória episódica entre espécies diferentes.

Vários estudos utilizando aves (CLAYTON e DICKINSON, 1998), ratos (EACOTT e NORMAN, 2004), macacos (MARTIN-ORDAS et al., 2010; TEMPLER e HAMPTON, 2013) e cães (FUJITA et al., 2012) demonstraram que animais não humanos (‘não verbais’) também são capazes de utilizar a memória episódica. O comprometimento deste tipo de memória em animais não humanos também foi correlacionado com lesões hipocâmpais, observados em macacos (GAFFAN, 1994) e ratos (FORTIN et al., 2002).

Em um estudo realizado por Martin-Ordas et al. (2010), foi adaptado um teste de memória a partir do modelo desenvolvido por Clayton e Dickinson (1998) e Clayton et al. (2001). Neste estudo foram utilizados sete chimpanzés, três orangotangos e dois bonobos de idades distintas a fim de investigar se os grandes símios eram capazes de codificar informação sobre o que, onde e quando. De fato, a resposta ao teste foi positiva ao concluírem que os macacos possuem memória *episodic-like*. Além disso, o desempenho de chimpanzés e bonobos no teste mostrou uma curva em forma de U invertido dependente da idade, podendo indicar que humanos, chimpanzés e bonobos compartilham

alguns mecanismos de codificação e armazenamento de informações, embora haja a necessidade de mais pesquisas para corroborar esta ideia.

Em uma revisão e análise geral de estudos que utilizaram primatas não humanos como modelo experimental, cujo objetivo era de avaliar a existência da memória episódica em primatas não humanos, foi encontrada evidências compatíveis com a existência de memória episódica por meio de execução de testes de aprendizagem específicos, em que conduziam o animal a utilizar da memória episódica para recuperar informações de eventos passados, apesar de não satisfazerem completamente os critérios de Clayton et al. (2001), principalmente por não haverem testes definitivos para determinar se animais não humanos, de fato, podem recuperar, de forma consciente, o componente "quando" de um evento (um dos elementos dos critérios para evocação da memória episódica – WWW) (SCHWARTZ; EVANS, 2001).

Em habitat natural é possível visualizar comportamentos de animais não humanos que necessitam da memória episódica. Macacos utilizam a memória episódica para ajudar a rastrear como maior exatidão as relações sociais dentro de um grupo, assim como lembrar quais indivíduos são amigos ou inimigos, oferecendo vantagens importantes na vida dos primatas. Outro cenário natural da utilização da memória episódica é aplicado à procura de alimentos, a qual permite que estes primatas se lembrem eficientemente onde estão os alimentos e outros recursos localizado no espaço (SCHWARTZ; EVANS, 2001).

No entanto, pesquisas que buscam avaliar a memória episódica por meio dos elementos WWW (what-where-when) são constantemente criticados pelo fato de considerar fatores específicos e individuais do ser humano para comprovar a existência de tal memória nos demais animais, sem considerar uma possível adaptação evolutiva individual de cada espécie e a impossibilidade de avaliar a autoconsciência dos mesmos (BINDER et al., 2015; TEMPLER; HAMPTON, 2013b).

Por esta razão, estudos que comprovem a utilização da memória episódica em animais não verbais por meio do uso de uma memória incidental são mais promissores (FUJITA et al., 2012; SINGER; ZENTALL, 2007; ZENTALL et al., 2008; ZHOU; CRYSTAL, 2011; ZHOU et al., 2012). A recuperação de informações pode ocorrer por meio de codificação acidental (memória

incidental), ou seja, a codificação de uma memória ocorre acidentalmente quando a obtenção de informações aparentemente sem importância é armazenada, sem saber se esta será útil futuramente. Desta forma, a informação recebida é codificada acidentalmente, não sendo possível transformá-la em um plano de ação específico, tampouco sendo capaz de desenvolver uma memória de aprendizagem sobre tal informação. Sendo assim, o desempenho de uma animal frente a um teste inesperado, necessita da utilização da memória de episódios vivenciado anteriormente, ou seja, recuperação de uma memória episódica (ZHOU; CRYSTAL, 2011; ZHOU et al, 2012).

Fujita e colaboradores (2012) avaliaram a memória incidental em trinta e nove cães domésticos (18 machos e 21 fêmeas), entre 8 meses a 10 anos de idade, por meio de um teste no qual observaram a resposta dos animais frente exposição a 4 recipientes, diferentes em dimensões, tais como forma, tamanho e cor. Este estudo forneceu fortes evidências de que cães são capazes de recuperar, espontaneamente, a memória de episódios vivenciados anteriormente, sendo assim, considerados capazes de utilizar a memória episódica recuperando informações, tais como “o que” e “onde”.

Na DA, os estágios mais avançados resultam em quadro de demência evidente com comprometimento de vários domínios cognitivos, tais como disfunções da memória, da função executiva e da atenção, além das habilidades visuoespaciais e linguagem. No entanto, antes de alcançar um estágio tardio e avançado da doença, o comprometimento da memória episódica indica, a priori, uma alteração cognitiva leve, sendo considerado um estágio prodrômico, no qual futuramente o paciente irá desenvolver a DA. Sendo assim, torna-se essencial a identificação de alterações da memória episódica como método precoce do diagnóstico da DA (ALBERT et al., 2011).

Diversos testes, já validados na medicina veterinária, foram desenvolvidos para avaliação cognitiva de cães idosos, tais como aprendizado de reconhecimento não ligado à amostra (DNMS) e aprendizado espacial (DNMP) (MILGRAM et al., 1994; HEAD et al., 1995; SATOU et al., 1997; ADAMS et al., 2000; HECKLER et al., 2014). No entanto, nenhum destes avaliam a memória episódica.

1.3 1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo geral

Comparar a expressão da evocação da memória episódica em cães hígidos idosos de ambos os sexos em função da idade.

1.3.2 Objetivos específicos

- Padronizar um teste cognitivo específico capaz de avaliar a memória episódica em cães;
- Avaliar a influência do peso, sexo e idade sob a probabilidade de acerto ao teste.

CAPÍTULO 2
TRABALHO CIENTÍFICO

O declínio da memória episódica em cães (*canis lupus familiaris*) idosos clinicamente saudáveis

Resumo

A memória episódica, em humanos, é particularmente dependente da integridade do hipocampo e estruturas correlacionadas ao mesmo. A deposição de β -amilóide resulta na atrofia hipocampal e, conseqüentemente, em déficits de memória episódica em indivíduos idosos. Desde que estudos com aves, ratos, macacos e cães demonstraram capacidade de utilização da memória episódica nestas espécies, estudos visando maior compreensão desta memória em animais não humanos tornaram-se promissores para o desenvolvimento de novos modelos translacionais para doenças neuro-degenerativas, visto a íntima correlação do declínio da memória episódica com o desenvolvimento da doença de Alzheimer, em humanos. Com o objetivo de avaliar a memória episódica em uma população canina saudável, foi desenvolvido e aplicado um teste de evocação da memória episódica em 90 cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) clinicamente saudáveis, com idades variáveis, de ambos sexos e raças distintas. Os resultados indicaram que a idade foi o principal fator que afetou a perda cognitiva. As variáveis sexo e peso corpóreo também apresentaram efeitos significativos sob a probabilidade de acerto. De modo geral, fêmeas apresentaram um nível de acerto menor comparados aos machos e ao analisar a interação entre sexo e peso, também foi encontrado diferença estatística significativa, demonstrando que fêmeas de menor peso tiveram desempenho de acerto menor, quando comparado ao sexo oposto. No entanto, a única variável que se comportou de forma igualitária entre os grupos foi a 'idade'. Animais idosos apresentaram uma probabilidade de acerto menor quando comparados com cães mais jovens, independente do sexo e peso corpóreo animal. Desta forma, nosso estudo demonstrou a existência e utilização da memória episódica na espécie canina e identificou um declínio significativo em cães geriátricos clinicamente saudáveis, mesmo sem alterações clínicas neuro-comportamentais evidentes.

Palavras-chave: déficit cognitivo; testes cognitivos; demência; memória *episodic-like*.

1 Introdução

O termo memória episódica é utilizada para determinar aquela que apresenta a capacidade de receber e armazenar informações sobre episódios ou eventos temporalmente datados, contendo, também, relações espaço-temporais entre esses eventos. Classicamente, a evocação da memória episódica era atribuída especificamente a espécie humana capaz de verbalizá-la (memória declarativa, autobiográfica) e lembrar conscientemente da experiência ou evento ocorrido (autoconsciência) [1,2].

Pesquisadores nas últimas duas décadas revelaram evidências de memória episódica em animais não humanos. Estudos realizados em corvídeos [3] e ratos [4,5] demonstraram que estes animais também eram capazes de utilizar os critérios comportamentais da memória episódica sobre um evento passado, independentemente de apresentarem, ou não, a autoconsciência. Para este fenômeno utilizou o termo memória “*episodic-like*” [3–10]. Posteriormente demais estudos foram desenvolvidos, alguns utilizando macacos [7,11,12] e outros cães domésticos [13,14], demonstrando a utilização da memória *episodic-like* nestas espécies.

É possível que a memória episódica possa ter sofrido alterações evolutivas entre espécies, de modo a combinar suas capacidades cognitivas com as demandas ecológicas específicas de cada espécie em questão. Desta forma, torna-se difícil confiar em apenas um conjunto específico de critérios para identificar a memória episódica entre espécies diferentes [11]. O fato de que animais não humanos não são providos de linguagem falada pode ser intimamente comparada às crianças que ainda não aprenderam a dominar a expressão verbal da linguagem, ainda que já o compreendam, mesmo limitadamente. Tanto nas crianças, como em mamíferos e aves, é aplicável o conceito “minimalista” de memória episódica [15].

A memória episódica em humanos é particularmente dependente da integridade do hipocampo e estruturas correlacionadas ao mesmo, enquanto outros tipos de memória não são [11,16]. Estudos de memória episódica se tornaram altamente relevantes por se tratar de uma memória extremamente sensível às degenerações hipocâmpais, tais como àqueles apresentados por deposição de β -amilóide que precedem o desenvolvimento da doença de Alzheimer (DA) [17]. Desta forma, a identificação precoce de alterações da memória episódica pode ser primordial como método precoce do diagnóstico da DA [18].

O comprometimento deste tipo de memória em animais não humanos também foi correlacionado com lesões hipocâmpais, observados em macacos [19] e ratos [20]. Por esta razão, torna-se necessário uma melhor compreensão da utilização da memória episódica em animais não humanos, visando futuros estudos translacionais para doenças neurodegenerativas que afetam a memória episódica em humanos.

Os cães podem constituir uma abundante fonte de informações já que consistem em uma população abundante e longa, sendo considerados modelos experimentais promissores por serem capazes de desenvolver distúrbios neurodegenerativos precoces, como na síndrome da disfunção cognitiva (SDC), onde desenvolvem déficits cognitivos comuns a DA [21] e por apresentarem uma composição β -amiloide aproximadamente 98% similar ao de humanos [22].

Na DA, a mulher apresenta uma maior probabilidade em desenvolver a doença quando comparada ao sexo masculino, isto ocorre devido a fatores genéticos relacionados à apolipoproteína E ϵ 4 (APOE- ϵ 4) e também aos mecanismos fisiopatológicos neuroendócrinos decorrentes da transição da menopausa [23,24].

Nenhum dos estudos, supracitados, avaliaram a evocação da memória episódica em grupos de faixa-etária distintas, assim como não houve até o presente momento um estudo de comparação entre sexo e raça, por exemplo. Muito se sabe sobre a memória episódica

em humanos, no entanto, tais questões ainda são grandes incógnitas quando se refere à animais não-humanos.

Visando uma melhor avaliação da evocação da memória episódica na espécie canina, foi desenvolvido um teste de memória cujo objetivo foi avaliar a capacidade de cães de utilizarem a memória episódica e analisar o efeito da idade, sexo e peso corpóreo sob a probabilidade de acerto ao teste.

2 Material e métodos

Todos os procedimentos de coleta de informações e imagens foram aprovados pela Comissão de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – Unesp – Botucatu - São Paulo - Brasil, protocolo CEUA 0042/2019 de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

2.1 Seleção dos animais

Para o estudo foram recrutados 90 cães domésticos (*Canis lupus familiaris*), compostos por 26 raças distintas, sendo 43 machos e 47 fêmeas e com idades variáveis, entre 8 meses a 20 anos. Dentre os 90 cães, a maior parte foi constituída de cães “sem raça definida” (SRD), totalizando 34 cães. Os demais 56 cães, foram compostos de raças puras distintas.

A faixa-etária dos animais foi deduzida por meio da classificação proposta por Goldston [25] que correlaciona a idade com o peso e tamanho corpóreo, desta forma, cães pequenos (< 9,0 kg) foram considerados idosos após os $11,48 \pm 1,86$ anos de idade. Cães de tamanho médio (9,1 a 23,0 kg) são idosos após $10,19 \pm 1,56$ anos de idade e cães grandes (23,1 - 40,0 kg) após $8,85 \pm 1,38$ anos.

Foram inclusos apenas cães clinicamente saudáveis, sem queixa clínica ou doenças pré-existentes de caráter sistêmico, tais como doenças cardiovasculares, neurológicas, endócrinas, dentre outras. Animais com alterações oftalmológicas também não fizeram parte do teste. Os tutores e animais não apresentavam nenhuma familiaridade com a sala de teste, tampouco com o teste em si, sendo toda experiência inédita aos participantes.

Aos proprietários dos cães idosos foi aplicado o questionário de Demência (CADES) desenvolvido por Madari et al. [26]. O questionário proposto foi analisado através de quatro domínios (DISH), relacionado aos tipos de mudanças no comportamento dos cães: orientação espacial, interações sociais, ciclos de sono-vigília e alterações de defecação e micção, em que através de 17 questões (itens) respondidas pelos tutores de seus respectivos cães, foi implantada uma pontuação final.

Animais que apresentaram um estágio clínico compatível com alterações normais de senilidade, encontraram-se em um escore final de 0 a 7 pontos, enquanto que aqueles com comprometimento cognitivo leve (8 a 23), comprometimento cognitivo moderado (24 a 44) e severo (45 a 95). Sendo assim, só constituíram parte da população canina hígida, cães idosos que apresentaram nenhuma alteração ao questionário ou uma pontuação abaixo de sete.

2.2 Teste de Evocação da Memória Episódica Canina (TEMEC)

Para avaliar a memória episódica canina, foi aplicado um teste embasado no estudo de Fujita et al. [13], porém, com modificações, de modo que a recordação de informações passadas ocorresse por meio de codificação acidental, ou seja, a resposta ao teste ocorre de forma inesperada, sem o desenvolvimento de um aprendizado ou uso de uma memória planejada.

O teste foi constituído pela apresentação inicial de quatro recipientes, diferentes em formato, tamanho e cor. A aparência de cada recipiente era variável entre diâmetro,

largura e comprimento, assim como as cores: branco, vermelho, azul e cinza. Como recompensa foram utilizados pequenos pedaços de carne bovina cozida, salsicha ou sachê industrializado, dependendo da preferência do animal. Para aumentar a atenção dos animais ao teste, todos os cães foram submetidos a jejum alimentar de, ao menos, 08 a 12 horas. Os recipientes, sem tampas, eram de plástico e não transparentes a fim de que o animal necessitava se aproximar dos recipientes para ser possível identificar o conteúdo em seu interior. Os cães foram conduzidos individualmente a uma sala adaptada para a execução do teste (Figura 1).

Antes da execução do teste, os cães foram pesados em balança digital e por meio do peso corpóreo foi estipulado o porte animal de cada um, assim como a categorização em jovem-adulto ou idoso, conforme classificação proposta por Goldston [25].

Inicialmente, os cães foram submetidos a duas *fases de exposição*, precedendo a *fase-teste* (Figura 2). No primeiro momento, os animais foram expostos a 4 recipientes igualmente distribuídos no centro da sala, na seguinte ordem (da esquerda para direita): azul, cinza, vermelho e branco. Destes, dois recipientes (azul e vermelho) continham um pedaço pequeno de carne bovina cozida, em cubos, em seu interior (ou alimento da preferência do animal). O pote branco continha uma pedra (objeto não comestível), enquanto que o cinza permaneceu completamente vazio.

O cão era conduzido, na coleira, pelo seu tutor até um ponto fixo marcado no chão, mantendo uma distância de, aproximadamente, 1,5 metros de cada recipiente. Assim que o animal se acalmava e se mantinha acomodado no local, o tutor conduzia o animal, ainda pela coleira, até os recipientes, um de cada vez, na seguinte ordem: pote azul, cinza, vermelho e branco. Após explorar, cuidadosamente, todos os recipientes sem permitir a captura dos alimentos, era então autorizado que o cão capturasse o alimento presente no primeiro recipiente (azul). Em seguida, o animal era conduzido a uma *fase de intervalo*,

no qual permanecia fora da sala para que pudesse caminhar e se distrair durante 10 minutos.

Depois, o animal retornava à sala de teste e era submetido à uma segunda exposição. Diferente da fase anterior, nesta, o recipiente que antes foi consumido permaneceu vazio, enquanto que os demais continuaram contendo seus respectivos objetos em seu interior. Nesta segunda visita aos recipientes, não foi autorizado a captura do único alimento restante, presente no pote vermelho. Sendo assim, apenas realizado a exploração visual dos potes e do que continha em seu interior. Ao término desta fase, uma nova fase de intervalo foi aplicada.

Desta vez, durante o intervalo de 10 minutos, todos os recipientes utilizados anteriormente foram trocados por outros idênticos, porém, limpos e sem odor de carne, exatamente no mesmo lugar. Neste momento nenhum objeto foi colocado nos recipientes, com o objetivo de controlar as pistas olfativas que poderiam “guiar” o animal durante a escolha dos recipientes.

Por fim, assim que trazidos de volta à sala e colocados no mesmo ponto marcado no chão, os cães foram soltos da coleira (sem antes precisar explorar as caixas) e permaneceram livres para explorar os recipientes espontaneamente (*fase teste*). O término do teste foi decretado quando: o cão visitava o recipiente de seu interesse; permanecia inerte na área de teste, não demonstrando interesse pelos recipientes; ou retornava a seu tutor.

Foi considerado “acerto” apenas aqueles que visitaram primeiro o pote de cor vermelha (do qual era o único que poderia lhe oferecer uma recompensa).

Todas as fases do teste foram gravadas por uma câmera amadora (via celular), a qual foi disposta na lateral da sala, atrás de uma porta que continha um orifício, por onde a

câmera foi alocada (Figura 3). Desta forma, o animal não teve acesso visual direto ao celular, tampouco à pessoa da qual segurava o aparelho.

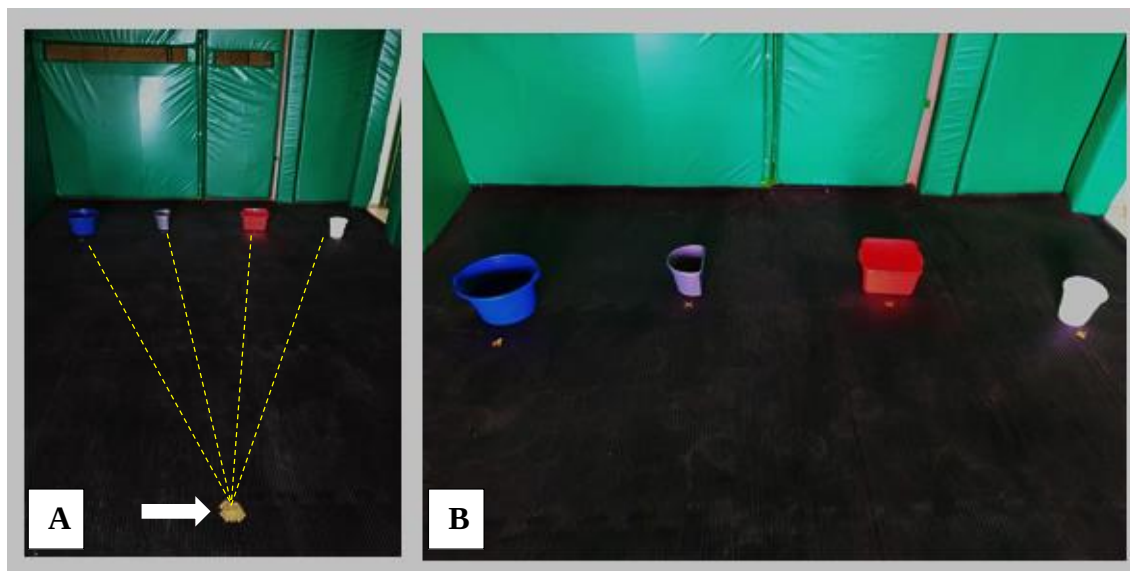


FIGURA 1. Imagem fotográfica da sala utilizada para execução do TEMEC. A. Demonstração do local inicial (seta em branco) onde os animais são colocados antes da execução de cada fase do teste e do distanciamento, equidistante, do animal até os recipientes (linha tracejada em amarelo). **B.** Visualização da disposição dos recipientes dentro da sala. Note as diferenças de tamanho, cor e formato entre eles, além da necessidade de aproximação, por parte do animal, para identificar o conteúdo em seu interior.

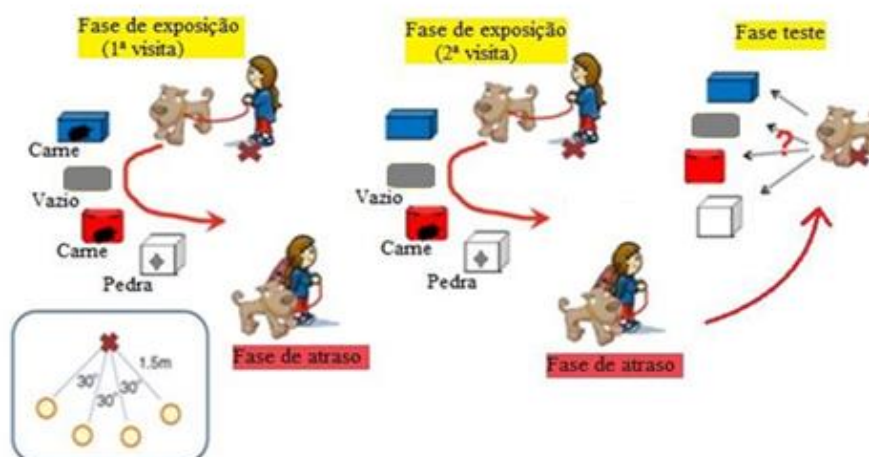


FIGURA 2. Teste de Evocação da Memória Episódica Canina (TEMEC). (A). Imagem ilustrativa do modelo de execução do teste. Note que cada fase condiz a um evento (episódio) diferente que será vivenciado pelo animal.

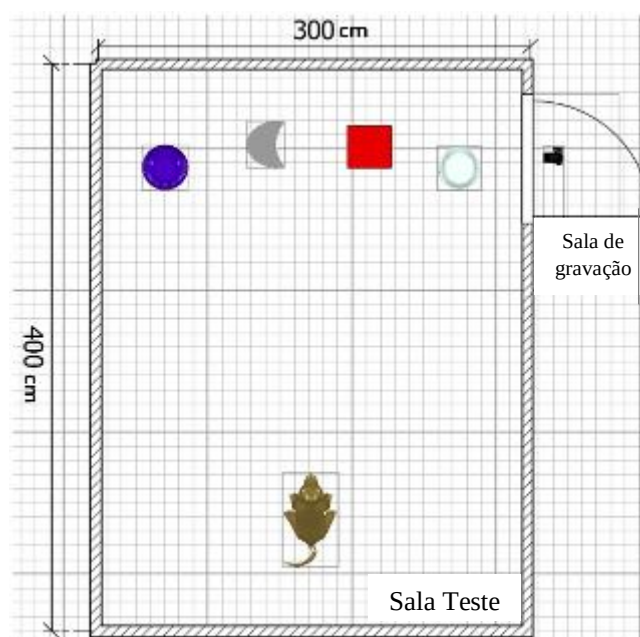


FIGURA 3. Sala teste. Imagem ilustrativa da sala de teste, indicando o posicionamento dos recipientes, da câmera, do animal ao iniciar o teste e das medidas da sala (em centímetros). Observe que a filmagem foi feita na lateral da sala (sala de gravação). Dessa forma, o animal não teve acesso visual ao celular e nem à pessoa que o segurou.

2.3 Análise Estatística

Inicialmente, foi realizado uma análise descritiva da interação entre peso (porte animal), média de idade, sexo e percentual de acerto da população canina estudada (Tabela 1). Para verificar se a chance de acerto/erro pode ser explicada pela idade (variável numérica contínua), peso corpóreo (variável numérica contínua) e sexo (variável categórica de dois níveis – macho/fêmea), considerando também o possível efeito de uma interação entre as três variáveis ou interações entre duas variáveis (sexo x idade, sexo x peso e idade x peso) ajustou-se o modelo de regressão logística para dados binários (acerto = 1; erro = 0) com a função de ligação “*Logit*”, usando a função “*glm*” do programa R (R Core Team, 2019).

Para a realização da regressão logística, a priori, foi construído um modelo completo considerando os efeitos lineares de sexo, idade, peso corpóreo e das interações: sexo x idade, sexo x peso, idade x peso e sexo x idade x peso. Conforme os valores de significância das variáveis e interações obtidos, o modelo foi sendo ajustado pelo método de ‘backward selection’ até alcançar um modelo final, com melhor fitness comparado aos outros modelos utilizando como base o valor de AIC [27]. No modelo completo, nenhuma variável foi significativa (Tabela 2), desta forma o ajuste foi feito retirando primeiro a interação entre as três variáveis. Com isso, um novo modelo foi obtido, com melhor AIC, e as interações não significativas foram sendo removidas uma a uma, criando-se novos modelos, até chegarmos no modelo final, onde a probabilidade de acertos foi predita por: sexo, idade, peso e pela interação sexo x peso (Tabela 2).

3 Resultados

Em relação a análise descritiva, observamos que os animais idosos, aparentemente sem nenhuma alteração cognitiva evidente, apresentaram uma probabilidade de acerto

menor quando comparados com cães mais jovens (Tabela 1). Dos 60 cães jovens-adultos apenas 9 erraram o teste, mantendo uma porcentagem de acerto de 85%. Enquanto que o nível de acerto dos idosos foi menor, em aproximadamente 63%, visto que 11 dos 30 idosos erraram. Em geral, cães fêmeas tiveram um percentual de acerto menor comparado aos machos, 70% e 86% respectivamente. Foi notado, ainda, que cães com peso corpóreo menor a 9 kg (porte pequeno), tanto jovens quanto idosos, apresentaram uma taxa de acerto menor comparado a cães de médio e grande porte.

Por meio da regressão logística utilizada na análise estatística, foi capaz de identificar fatores significativos que influenciaram à probabilidade de acerto ao teste. O modelo final obtido, evidenciou efeitos significativos de sexo, idade, peso e interação entre sexo e peso (Tabela 2).

TABELA 1. Variação de percentual de acerto entre porte, idade e sexo.

Porte	Idade média (anos)	Sexo		Total	Acerto
		M	F		
Pequeno					
Jovem-adulto	4,6	10	13	23	17 (73,9%)
Idoso	10,4	6	5	11	4 (36,3%)
Médio					
Jovem-adulto	4,0	11	12	23	22 (95,6%)
Idoso	11,6	4	5	9	6 (66,6%)
Grande					
Jovem-adulto	3,7	9	5	14	12 (85,7%)
Idoso	9,8	3	7	10	9 (90%)
Total		43	47	90	
Acerto		37 (86%)	33 (70%)		

TABELA 2. Formulação e resultados estatísticos para os modelos usados na análise.

Informações sobre os modelos de regressão logística ajustados para prever as probabilidades de acerto de cães no Teste de Evocação de Memória Canina (TEMEC). Cada linha representa uma variável preditora ou interação dentro do respectivo modelo. O asterisco indica efeito significativo da variável ou interação dentro do modelo de regressão logística ($P < 0.05$).

Fatores	Estimativas	Erro Padrão	valor z	valor p
Modelo completo:				
Intercepto	0.70124	1.59213	0.440	0.6596
Sexo	5.08284	3.05667	1.663	0.0963
Idade	-0.20941	0.18061	-1.159	0.2463
Peso	0.15834	0.13621	1.162	0.2450
Sexo x Idade	-0.25693	0.31238	-0.822	0.4108
Sexo x Peso	-0.30462	0.16622	-1.833	0.0669
Idade x Peso	-0.00414	0.01488	-0.278	0.7809
Sexo x Idade x Peso	0.02257	0.01912	1.180	0.2379
Modelo final:				
Intercepto	0.74664	0.90963	0.821	0.41175
Sexo	3.05362	1.13399	2.693	0.00709 *
Idade	-0.21031	0.07707	-2.729	0.00636 *
Peso	0.12166	0.04784	2.543	0.01099 *
Sexo x Peso	-0.14780	0.06334	-2.333	0.01963 *

Os resultados obtidos, pelo modelo final da Regressão Logística, demonstraram que fêmeas de menor peso tiveram desempenho de acerto menor, quando comparado ao sexo oposto, este desempenho só melhorou com o aumento do peso. Os machos de peso menor mostram maior probabilidade de acerto, porém, houve um decréscimo sutil no desempenho à medida em que o peso corpóreo aumentava. Esse comportamento foi devido a interação entre sexo e peso (Figura 4).

O efeito da idade não teve interação com o sexo, tampouco com o porte animal, o grupo idoso apresentou menor probabilidade de acerto em machos e fêmeas, independente do peso corpóreo (Figura 5).

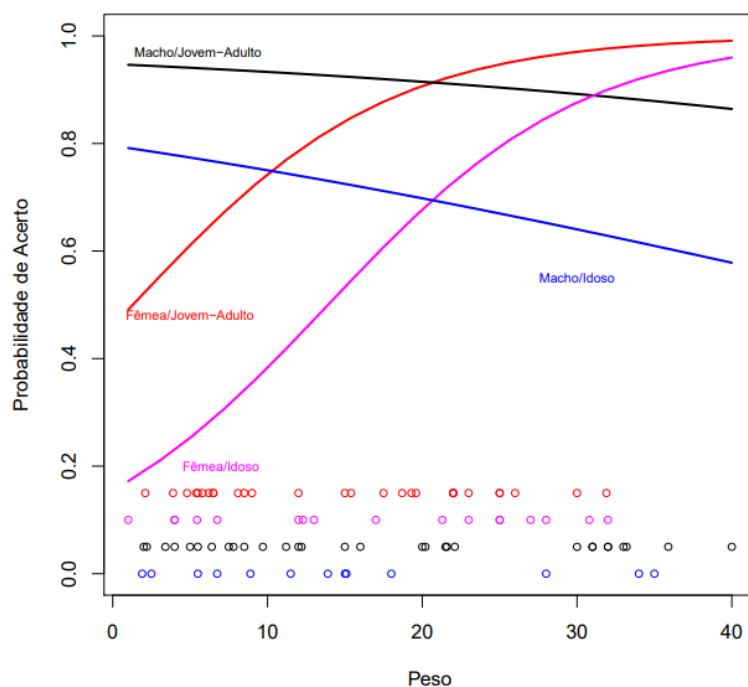


FIGURA 4. Análise do efeito peso e sexo. Imagem gráfica demonstrando os efeitos de significância (sexo e da interação entre peso e sexo) sob a probabilidade de acerto.

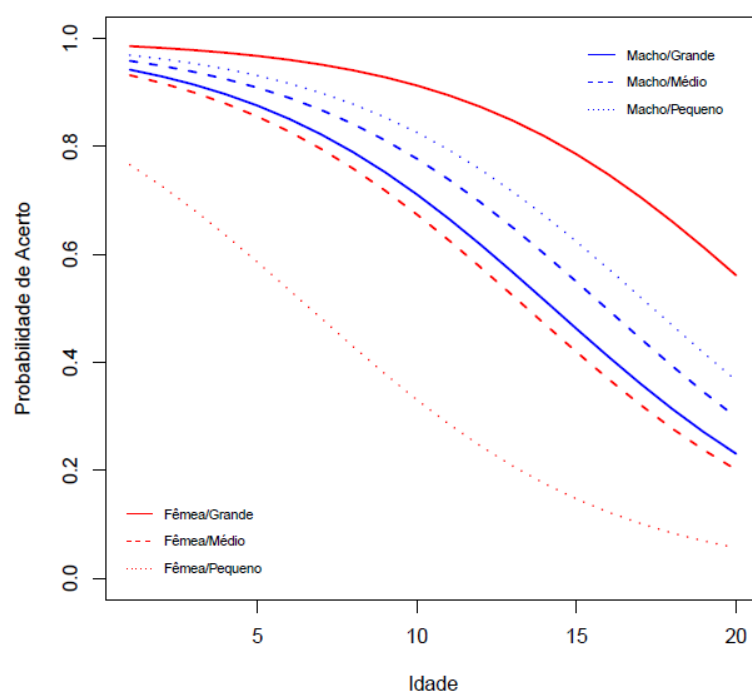


Figura 5. Efeito idade sob probabilidade de acerto. Gráfico demonstrando a relação da probabilidade de acerto mediante o efeito idade ($p = 0.00636$). Nota-se o declínio encontrado na população de cães mais velhos, em ambos os sexos, resultam em menor percentagem de acerto ao longo da vida, independente do peso corpóreo animal.

4 Discussão

Foi desenvolvido um teste com a capacidade de avaliar a memória episódica em cães. Embora haja controversas sobre o uso da memória episódica em animais não humanos, alguns estudos já apresentaram evidências de que, ao menos, o uso de uma memória semelhante, adaptada, pudesse ser usado por estes [3–5,11,12].

Pesquisas que buscam avaliar a memória episódica por meio dos elementos WWW (what-where-when) são constantemente criticados pelo fato de considerar fatores específicos e individuais do ser humano para comprovar a existência de tal memória nos demais animais, sem considerar uma possível adaptação evolutiva individual de cada espécie e a impossibilidade de avaliar a autoconsciência dos mesmos [8,11].

Por tal razão, estudos que comprovem a utilização da memória episódica em animais não verbais por meio do uso de uma memória incidental são mais promissores [13,28–31]. A recuperação de informações pode ocorrer por meio de codificação acidental (memória incidental), ou seja, a codificação de uma memória ocorre acidentalmente quando a obtenção de informações aparentemente sem importância é armazenada, sem saber se esta será útil futuramente. Desta forma, a informação recebida é codificada acidentalmente, não sendo possível transformá-la em um plano de ação específico, tampouco sendo capaz de desenvolver uma memória de aprendizagem sobre tal informação. Sendo assim, o desempenho de uma animal frente a um teste inesperado, necessita da utilização da memória de episódios vivenciado anteriormente, ou seja, recuperação de uma memória episódica.

O atual estudo desenvolveu um teste que corrobora com os quesitos da avaliação da memória episódica através da codificação incidental dos eventos vivenciados. Cada fase do TEMEC faz com que o cão passe por eventos distintos entre si, sendo necessário utilizar a memória episódica para recordar de eventos passados para conseguir executar

o teste com sucesso. Tal metodologia corrobora com os já descritos na literatura [13,14,21].

Neste estudo, buscou-se avaliar o efeito da idade, sexo e peso sob a memória episódica canina. Os dados estatísticos demonstraram que os cães de pequeno porte apresentaram uma menor tendência ao acerto. Em um estudo [32], foi analisado os componentes da função executiva, que eles definiram como "um conjunto de habilidades cognitivas envolvidas no controle comportamental, incluindo memória de trabalho e inibição". Os dados obtidos demonstraram resultados evidentes de que cães maiores são capazes de se lembrar com maior precisão e reter a memória por um período mais longo quando comparados aos cães menores. Os pesquisadores aprimoraram suas medidas para obter uma melhor indicação do tamanho do cérebro, incorporando o tamanho e a forma do crânio para as várias raças de cães. Quando o fizeram, os dados apoiaram a hipótese de que tamanhos maiores de cérebro, em cães, estão associados a um melhor desempenho cognitivo. Esta hipótese pode ser considerada aos resultados do efeito ‘peso’ encontrados no presente estudo, no entanto, futuros estudos devem ser desenvolvidos para avaliar o desempenho do uso da memória episódica em cães de diferentes portes corpóreos.

Uma hipótese ad hoc é que o erro ao teste também possa sobre influência do comportamento individual do animal que, por sua vez, está relacionado ao método de criação, socialização e ambientalização destes cães. Cães menores, em sua maioria, são criados em ambientes “indoor” junto com o dono, moldando muitas vezes seu comportamento natural, refletindo assim em animais mais eufóricos e dependentes. Por isto, cães pequenos muitas vezes são mais inquietos, ansiosos e dependentes ao tutor, podendo não reter toda atenção necessária exclusivamente ao teste.

Por outro lado, muitos cães de grande porte vivem fora de casa e tem um contato menor com o dono. Provavelmente esta independência os obrigue a trabalhar mais seus

instintos cognitivos de sobrevivência, assim como ter uma maior capacidade de atenção e retenção de memória. Estudos sobre ansiedade e síndrome de separação canina corroboram tais possibilidades referente ao comportamento animal, em que elucidam que a hiperatividade e desatenção são consequências explícitas de um animal ansioso e dependente, assim como cães que residem em apartamentos ou tem um contato único e direto com o tutor, são mais propensos a desenvolver sinais de compulsão, hiperatividade e déficit de atenção [33,34]

Foi analisado, também, o fator “sexo” sob a percentagem de acerto, visto que na doença de Alzheimer, além da idade avançada e o genótipo da apolipoproteína E $\epsilon 4$ (APOE- $\epsilon 4$), o sexo feminino é um importante fator de risco para o desenvolvimento da doença, principalmente por envolver mecanismos fisiopatológicos neuroendócrinos decorrentes da transição da menopausa [23,24].

Em um estudo transversal realizado em uma população canina geriátrica, o sexo e idade emergiram como variáveis preditoras significativas sob a prevalência de mudanças comportamentais associadas ao comprometimento cognitivo. As fêmeas foram significativamente mais afetadas do que os machos, sendo que a prevalência e a gravidade aumentaram com a idade. A hipótese deste estudo foi que cães fêmeas idosas, assim como mulheres com DA, podem sofrer alguma influência hormonal e/ou genético para o desenvolvimento de sinais cognitivos [35].

No entanto, em nosso estudo, a variável idade não teve interação com sexo, ou seja, o grupo idoso apresentou menor probabilidade de acerto, independente do sexo. Tais dados, estes, que corroboram com estudos [36,37] que também não encontraram uma influência significativa, em relação à machos e fêmeas, no desenvolvimento da SDC em cães.

Ao analisar o fator sexo de forma individual e na interação com o peso corpóreo animal, encontramos evidências estatísticas significativas. Em geral, fêmeas apresentaram menor taxa de acerto (33/47 – 70%) quando comparadas com machos (37/43 – 86%), sendo o erro ainda mais evidente em cadelas de pequeno porte. Para tal resultado obtido, uma hipótese (ad hoc) é de que cães machos desenvolveram, em uma percepção evolutiva, comportamentos sociais mais dependentes da evocação da memória episódica. Podemos citar, como exemplo, o simples fato de serem mais territorialistas em um ambiente, identificando e reconhecendo locais para marcações. Outro exemplo, basta considerarmos a hierarquia dentro de uma espécie, onde muitas vezes um macho precisa reconhecer e aceitar o macho-alfa, sabendo e recordando onde e quando pode ou não estar em um determinado momento. De toda forma, não há como inferirmos hipóteses mais robustas referentes a estes achados, sendo necessário demais estudos para uma melhor elucidação dos dados obtidos.

Quanto a idade, em nosso estudo foi possível constatar o declínio da memória episódica em cães mais velhos, mesmo saudáveis, independente do sexo e do porte animal.

Uma hipótese de haver uma menor probabilidade de acerto em cães idosos, pode ser explicado através de uma análise comparativa à idosos humanos. Grady e Craik [38] referem que uma hipótese aos déficits de memória, em humanos, está correlacionada a um processo de desaceleração geral das operações cognitivas e um declínio relacionado à idade nos recursos atencionais, ou seja, idosos são mais lentos para processar uma informação e podem se distrair com mais facilidade. Esta hipótese pode, também, ser plausível à espécie canina e tal fator pode ter influenciado na diminuição da porcentagem de acerto quando comparado aos cães jovens.

No entanto, para aumentar a atenção dos animais ao teste, todos os cães foram submetidos a jejum alimentar de, ao menos, 08 a 12 horas. Aqueles que não demonstraram interesse inicial ao teste; não comeram o alimento oferecido na primeira fase de exposição ou apresentavam-se extremamente hiperativos e/ou distraídos durante a fase de execução, foram excluídos do teste sem ao menos concluir todas as etapas. Em uma situação de rotina clínica, talvez seja necessário, primeiro, tentar familiarizar o animal com o ambiente e a sala de teste, na tentativa de reduzir o medo e a desatenção na hora da exceção do teste e, assim, reduzir as chances de erro.

Por esta razão, acreditamos na possibilidade do déficit de memória, mesmo em cães idosos que não apresentam uma pontuação significativa no questionário de demência (CADES) e sintomatologia clínica de um estado cognitivo alterado, possa ser decorrente a um declínio precoce e pré-clínico da SDC, assim como observado em humanos em estágios prodrômicos da DA [18,39]. Entretanto, faltam informações mais concretas para tal afirmativa, tornando esta apenas uma hipótese.

Para uma melhor avaliação, tais animais deveriam ser submetidos a exames de ressonância magnética funcional, assim como realizado por Small et al. [40] em humanos idosos, qual daria a possibilidade de avaliar a ativação de determinadas áreas cerebrais frente ao declínio da memória ao longo da vida. A ressonância magnética, por si só, poderia, também, trazer informações importantes quanto a região hipocampal, uma vez que o acúmulo de β -amilóide predispõe a atrofia do hipocampo e, conseqüentemente, ao déficit de memória episódica em humanos [17,41–44]. Estudos por meio de análise molecular e proteômica em líquido cefalorraquidiano, podem ser promissores para um melhor entendimento do comprometimento da memória em animais idosos, buscando encontrar correlação de depósitos β -amiloides com possíveis déficits de memória na espécie canina.

Outros testes cognitivos, já validados e descritos na literatura [45–49], têm como intuito avaliar, principalmente, a função visuoespacial, por meio da capacidade do animal em lembrar-se da localização de uma determinada recompensa (teste de atraso não-ligado à posição ou DNMP) ou lembrar-se de um objeto sob o qual se encontra a recompensa (atraso não-ligado à amostra ou DNMS). Cummings et al. [50] e Araujo et al. [39] ressaltam que o DNMP é um teste sensível para demonstrar o acúmulo anormal de β -amilóide no cérebro de cães com disfunção. Altos níveis de β -amilóide no córtex pré-frontal estão associados com aprendizado reverso e déficits complexos de memória de trabalho, enquanto que o acúmulo no córtex entorrinal está associado a prejuízos na discriminação de tamanho e aprendizagem de recompensa e abordagem a objetos [51]. Landsberg et al. [52] descrevem, ainda, que cães com déficits no teste DNMP também demonstram comprometimento cognitivo e mudanças comportamentais consistentes com a disfunção cognitiva, tais como ciclos alterados de sono-vigília e diminuição do contato social com humanos.

O TEMEC pode auxiliar nos demais testes existentes e já padronizados, até mesmo ser aplicado em conjunto a estes, enriquecendo a análise final do perfil cognitivo de um paciente canino, visto que nenhum destes avaliam especificamente a memória episódica.

Outra vantagem do TEMEC é a sua fácil e rápida aplicabilidade, tornando-o facilmente exequível na rotina clínica. Desde o início, procurou-se desenvolver um teste com tais características, pois, assim como avaliado por Heckler et al. [49], o teste DNMP demanda um tempo diário de aproximadamente 20 minutos para ser realizado e requer uma aprendizagem de recompensa e de abordagem ao objeto, resultado em, aproximadamente, 10 dias de treinamento. Outra desvantagem, ainda, é a necessidade de um profissional treinado e uso de equipamento específico. Tais limitações foram totalmente extinguíveis a partir do desenvolvimento do TEMEC, pois, em 30 minutos,

em uma única sessão de três exposições sequenciadas, é possível obter uma resposta, sem a necessidade de um aparato complexo para a execução do mesmo, tampouco a presença de um profissional extremamente capacitado.

Visando futuros estudos translacionais para doenças neurodegenerativas que afetam a memória episódica em humanos, a importância de correlacionar a memória episódica canina com doenças de comprometimento cognitivo, como síndrome da disfunção cognitiva (SDC), torna-se cada vez mais necessário, uma vez que cães são modelos experimentais promissores por serem capazes de desenvolver distúrbios neurodegenerativos precoces, onde desenvolvem déficits cognitivos comuns a DA [21] e por apresentarem uma composição β -amiloide aproximadamente 98% similar ao de humanos [22].

5 Conclusão

Por meio de um teste de evocação da memória episódica, o atual estudo encontrou evidências da existência e utilização da memória episódica na espécie canina e identificou um déficit significativo em animais geriátricos clinicamente saudáveis. A princípio, acreditamos que tal declínio possa estar correlacionado a distúrbios neurodegenerativos na espécie canina e ocorrer de forma precoce a alterações neuro-comportamentais clinicamente evidentes. Estudos futuros avaliando a memória episódica entre cães saudáveis e doentes devem ser realizados nesta espécie.

Referências

- [1] E. Tulving, What is Episodic Memory ?, *Am. Psychol. Soc.* 2 (1993) 67–70.
- [2] E. Tulving, E PISODIC M EMORY : From Mind to Brain, *Annu. Rev. Psychol.* 53 (2002) 1–25.
- [3] A. CLAYTON, N. S.; DICKINSON, Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays, 395 (1998) 4–6.
- [4] M.J. Eacott, G. Norman, Integrated Memory for Object, Place, and Context in Rats: A Possible Model of Episodic-Like Memory?, *J. Neurosci.* 24 (2004) 1948–1953. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2975-03.2004>.
- [5] S.J. Babb, J.D. Crystal, Discrimination of what, when, and where: Implications for episodic-like memory in rats, *Learn. Motiv.* 36 (2005) 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2005.02.009>.
- [6] J.D. Crystal, Elements of episodic-like memory in animal models, *Behav. Processes.* 80 (2009) 269–277. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2008.09.009>.
- [7] G. Martin-Ordas, D. Haun, F. Colmenares, J. Call, Keeping track of time: Evidence for episodic-like memory in great apes, *Anim. Cogn.* 13 (2010) 331–340. <https://doi.org/10.1007/s10071-009-0282-4>.
- [8] S. Binder, E. Dere, A. Zlomuzica, A critical appraisal of the what-where-when episodic-like memory test in rodents: Achievements, caveats and future directions, *Prog. Neurobiol.* 130 (2015) 71–85. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.04.002>.
- [9] S.J. Babb, J.D. Crystal, Episodic-like Memory in the Rat, *Curr. Biol.* 16 (2006)

- 1317–1321. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.05.025>.
- [10] N.S. Clayton, A. Dickinson, Mental Time Travel: Can Animals Recall the Past and Plan for the Future?, *Encycl. Anim. Behav.* 4 (2003) 438–442. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-045337-8.00094-2>.
 - [11] V.L. Templer, R.R. Hampton, Episodic Memory in Nonhuman Animals, *Curr. Biol.* 23 (2013) R801–R806. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.07.016>.
 - [12] V.L. Templer, R.R. Hampton, Cognitive mechanisms of memory for order in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*), *Hippocampus*. 23 (2013) 193–201. <https://doi.org/10.1002/hipo.22082>.
 - [13] K. Fujita, A. Morisaki, A. Takaoka, T. Maeda, Y. Hori, Incidental memory in dogs (*Canis familiaris*): Adaptive behavioral solution at an unexpected memory test, *Anim. Cogn.* 15 (2012) 1055–1063. <https://doi.org/10.1007/s10071-012-0529-3>.
 - [14] C. Fugazza, Á. Pogány, Á. Miklósi, Recall of Others' Actions after Incidental Encoding Reveals Episodic-like Memory in Dogs, *Curr. Biol.* 26 (2016) 3209–3213. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.09.057>.
 - [15] N.S. Clayton, J. Russell, Looking for episodic memory in animals and young children: Prospects for a new minimalism, *Neuropsychologia*. 47 (2009) 2330–2340. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.10.011>.
 - [16] H. Eichenbaum, A.P. Yonelinas, C. Ranganath, The medial temporal lobe and recognition memory, *Annu. Rev. Neurosci.* 30 (2007) 123–152. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094328>.
 - [17] E.C. Mormino, J.T. Kluth, C.M. Madison, G.D. Rabinovici, S.L. Baker, B.L. Miller, R.A. Koeppe, C.A. Mathis, M.W. Weiner, W.J. Jagust, Episodic memory

- loss is related to hippocampal-mediated β -amyloid deposition in elderly subjects, *Brain*. 132 (2008) 1310–1323. <https://doi.org/10.1093/brain/awn320>.
- [18] M.S. Albert, S.T. Dekosky, D. Dickson, B. Dubois, H.H. Feldman, N.C. Fox, A. Gamst, D.M. Holtzman, W.J. Jagust, R.C. Petersen, P.J. Snyder, M.C. Carrillo, B. Thies, C.H. Phelps, The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease : Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease, *Alzheimer's Dement.* 7 (2011) 270–279. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.008>.
- [19] D. Gaffan, Scene-specific memory for objects: a model of episodic impairment in monkeys following fornix transection, *J. Cogn. Neurosci.* 6 (1994) 305–320.
- [20] N.J. Fortin, K.L. Agster, H.B. Eichenbaum, Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events, *Nat. Neurosci.* 5 (2002) 458–462. <https://doi.org/10.1038/nn834>.
- [21] K.H. Lo, W.A. Roberts, Dogs (*Canis familiaris*) Use Odor Cues to Show Episodic-Like Memory for What, Where, and When, *J. Comp. Psychol.* 133 (2019) 428–441. <https://doi.org/10.1037/com0000174>.
- [22] D.R. Zerbino, P. Achuthan, W. Akanni, M.R. Amode, D. Barrell, J. Bhai, K. Billis, C. Cummins, A. Gall, C.G. Girón, L. Gil, L. Gordon, L. Haggerty, E. Haskell, T. Hourlier, O.G. Izuogu, S.H. Janacek, T. Juettemann, J.K. To, M.R. Laird, I. Lavidas, Z. Liu, J.E. Loveland, T. Maurel, W. McLaren, B. Moore, J. Mudge, D.N. Murphy, V. Newman, M. Nuhn, D. Ogeh, C.K. Ong, A. Parker, M. Patricio, H.S. Riat, H. Schuilenburg, D. Sheppard, H. Sparrow, K. Taylor, A. Thormann, A. Vullo, B. Walts, A. Zadissa, A. Frankish, S.E. Hunt, M. Kostadima, N. Langridge,

- F.J. Martin, M. Muffato, E. Perry, M. Ruffier, D.M. Staines, S.J. Trevanion, B.L. Aken, F. Cunningham, A. Yates, P. Flicek, Ensembl 2018, *Nucleic Acids Res.* 46 (2018) D754–D761. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1098>.
- [23] B.C. Riedel, P.M. Thompson, R.D. Brinton, Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 160 (2016) 134–147. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2016.03.012>.
- [24] O. Scheyer, A. Rahman, H. Hristov, C. Berkowitz, R.S. Isaacson, R. Diaz Brinton, L. Mosconi, Female Sex and Alzheimer's Risk: The Menopause Connection, *J. Prev. Alzheimer's Dis.* 5 (2018) 225–230. <https://doi.org/10.14283/jpad.2018.34>.
- [25] R.T. Goldston, *Geriatrics & Gerontology, Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pr.* 19 (1989) 1–202.
- [26] A. Madari, J. Farbakova, S. Katina, T. Smolek, P. Novak, T. Weissova, M. Novak, N. Zilka, Assessment of severity and progression of canine cognitive dysfunction syndrome using the CAnine DEmentia Scale (CADES), *Appl. Anim. Behav. Sci.* 171 (2015) 138–145. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.08.034>.
- [27] H. Akaike, A New Look at the Statistical Model Identification, *IEEE Trans. Automat. Contr.* 19 (1974) 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- [28] R.A. Singer, T.R. Zentall, Pigeons learn to answer the question “where did you just peck?” and can report peck location when unexpectedly asked, *Learn. Behav.* 35 (2007) 184–189. <https://doi.org/10.3758/BF03193054>.
- [29] T.R. Zentall, R.A. Singer, J.P. Stagner, Episodic-like memory: Pigeons can report location pecked when unexpectedly asked, *Behav. Processes.* 79 (2008) 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2008.05.003>.

- [30] W. Zhou, J.D. Crystal, Validation of a rodent model of episodic memory., *Anim. Cogn.* 14 (2011) 325–340. <https://doi.org/10.1007/s10071-010-0367-0>.
- [31] W. Zhou, A.G. Hohmann, J.D. Crystal, Rats answer an unexpected question after incidental encoding, *Curr. Biol.* 22 (2012) 1149–1153. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.04.040>.
- [32] D.J. Horschler, B. Hare, J. Call, J. Kaminski, Á. Miklósi, E.L. MacLean, Absolute brain size predicts dog breed differences in executive function, *Anim. Cogn.* 22 (2019) 187–198. <https://doi.org/10.1007/s10071-018-01234-1>.
- [33] M. Salonen, S. Sulkama, S. Mikkola, J. Puurunen, E. Hakanen, K. Tiira, C. Araujo, H. Lohi, Prevalence, comorbidity, and breed differences in canine anxiety in 13,700 Finnish pet dogs, *Sci. Rep.* 10 (2020) 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59837-z>.
- [34] R. Sargisson, Canine separation anxiety: strategies for treatment and management, *Vet. Med. Res. Reports.* (2014) 143. <https://doi.org/10.2147/vmrr.s60424>.
- [35] G. Azkona, S. García-Belenguer, G. Chacón, B. Rosado, M. León, J. Palacio, Prevalence and risk factors of behavioural changes associated with age-related cognitive impairment in geriatric dogs: PAPER, *J. Small Anim. Pract.* 50 (2009) 87–91. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2008.00718.x>.
- [36] R. Fast, T. Schütt, N. Toft, A. Møller, M. Berendt, An Observational Study with Long-Term Follow-Up of Canine Cognitive Dysfunction: Clinical Characteristics, Survival, and Risk Factors, *J. Vet. Intern. Med.* 27 (2013) 822–829. <https://doi.org/10.1111/jvim.12109>.
- [37] S. Katina, J. Farbakova, A. Madari, M. Novak, N. Zilka, Risk factors for canine

- cognitive dysfunction syndrome in Slovakia, *Acta Vet. Scand.* 58 (2016) 1–7.
<https://doi.org/10.1186/s13028-016-0196-5>.
- [38] C.L. Grady, F.I. Craik, Changes in memory processing with age, *Curr. Opin. Neurobiol.* 10 (2000) 224–231. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(00\)00073-8](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(00)00073-8).
- [39] C. ARAUJO, J. A.; BAULK, J.; RIVERA, The Aged Dog as a Natural Model of Alzheimer's Disease Progression, in: G. Landsberg, A. Mad'ari, N. Žilka (Eds.), *Canine Feline Dement. Mol. Basis, Diagnostics Ther.*, 1st ed., Springer International Publishing, 2017: pp. 69–92. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-53219-6>.
- [40] S.A. Small, G.M. Perera, R. DeLaPaz, R. Mayeux, Y. Stern, Differential regional dysfunction of the hippocampal formation among elderly with memory decline and Alzheimer's disease, *Ann. Neurol.* 45 (1999) 466–472.
[https://doi.org/10.1002/1531-8249\(199904\)45:4<466::AID-ANA8>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1531-8249(199904)45:4<466::AID-ANA8>3.0.CO;2-Q).
- [41] C.D. Smith, H. Chebrolu, D.R. Wekstein, F.A. Schmitt, G.A. Jicha, G. Cooper, W.R. Markesbery, Brain structural alterations before mild cognitive impairment, *Neurology*. 68 (2007) 1268–1273.
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000259542.54830.34>.
- [42] B.J. Small, L. Fratiglioni, M. Viitanen, B. Winblad, L. Bäckman, The Course of Cognitive Impairment in Preclinical Alzheimer Disease, *Arch. Neurol.* 57 (2000) 839. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.6.839>.
- [43] L.G. Apostolova, R.A. Dutton, I.D. Dinov, K.M. Hayashi, A.W. Toga, J.L. Cummings, P.M. Thompson, Conversion of mild cognitive impairment to alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps, *Arch. Neurol.* 63 (2006) 693–699. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.5.693>.

- [44] E. Grober, C.B. Hall, R.B. Lipton, A.B. Zonderman, S.M. Resnick, C. Kawas, Memory impairment, executive dysfunction, and intellectual decline in preclinical Alzheimer's disease, *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 14 (2008) 266–278. <https://doi.org/10.1017/S1355617708080302>.
- [45] N.W. Milgram, E. Head, E. Weiner, E. Thomas, Cognitive functions and aging in the dog: Acquisition of nonspatial visual tasks., *Behav. Neurosci.* 108 (1994) 57–68. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.108.1.57>.
- [46] E. Head, R. Mehta, J. Hartley, M. Kameka, B.J. Cummings, C.W. Cotman, W.W. Ruehl, N.W. Milgram, Spatial Learning and Memory as a Function of Age in the Dog, *Behav. Neurosci.* 109 (1995) 851–858. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.109.5.851>.
- [47] T. Satou, B.J. Cummings, E. Head, K.A. Nielson, F.F. Hahn, N.W. Milgram, P. Velazquez, D.H. Cribbs, A.J. Tenner, C.W. Cotman, The progression of β -amyloid deposition in the frontal cortex of the aged canine, *Brain Res.* 774 (1997) 35–43. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)81684-8](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)81684-8).
- [48] B. Adams, A. Chan, H. Callahan, C. Siwak, D. Tapp, C. Ikeda-Douglas, P. Atkinson, E. Head, C.W. Cotman, N.W. Milgram, Use of a delayed non-matching to position task to model age-dependent cognitive decline in the dog, *Behav. Brain Res.* 108 (2000) 47–56. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(99\)00132-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(99)00132-1).
- [49] M.C.T. Heckler, M. V. Tranquilim, D.J. Svicerio, L. Barbosa, R.M. Amorim, Clinical feasibility of cognitive testing in dogs (*Canis lupus familiaris*), *J. Vet. Behav. Clin. Appl. Res.* 9 (2014) 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.jveb.2013.09.002>.
- [50] B.J. Cummings, E. Head, A.J. Afagh, N.W. Milgram, C.W. Cotman, β -Amyloid accumulation correlates with cognitive dysfunction in the aged canine, *Neurobiol.*

- Learn. Mem. 66 (1996) 11–23. <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0039>.
- [51] B.J. Cummings, E. Head, W. Ruehl, N.W. Milgram, C.W. Cotman, The canine as an animal model of human aging and dementia, *Neurobiol. Aging*. 17 (1996) 259–268. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(95\)02060-8](https://doi.org/10.1016/0197-4580(95)02060-8).
- [52] G.M. Landsberg, J. Nichol, J.A. Araujo, Cognitive Dysfunction Syndrome. A Disease of Canine and Feline Brain Aging, *Vet. Clin. North Am. - Small Anim. Pract.* 42 (2012) 749–768. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.003>.

DISCUSSÃO GERAL

Alguns animais não conseguiram desenvolver o teste por completo, por meio de desinteresse e até mesmo inapetência, pois alguns, mesmo em jejum, não se interessavam pelo alimento (recompensa) disposto dentro dos recipientes, impossibilitando até mesmo a execução ainda na primeira fase de exposição do teste. Estes foram imediatamente excluídos do estudo. Uma alternativa provável para estes cães poderia ser o desenvolvimento do teste em um ambiente menos hostil, como por exemplo em sua própria moradia, denotando mais segurança e conforto ao animal para realizar o teste de forma mais eficiente.

O peso foi significativo na percentagem de acerto, sendo que cães menores (>9kg) tiveram uma probabilidade de acerto menor quando comparados à cães de médio e grande porte. Nossa análise observacional, foi de que os cães pequenos muitas vezes eram mais inquietos, ansiosos e dependentes ao tutor, não retendo toda atenção necessária exclusivamente ao teste. Diferentemente dos cães maiores que apresentavam, geralmente, características comportamentais opostas, tendo um nível de atenção maior. Nossa premissa é de que tal comportamento está diretamente relacionada ao método de criação, socialização e ambientalização destes cães, sendo que cães menores, em sua maioria, são criados em ambientes “indoor” junto com o dono, moldando muitas vezes seu comportamento natural, refletindo assim em animais mais eufóricos e dependentes.

Por outro lado, muitos cães de grande porte vivem fora de casa e tem um contato menor com o dono. Provavelmente esta independência os obrigue a trabalhar mais seus instintos cognitivos de sobrevivência, assim como ter uma maior capacidade de atenção e retenção de memória. Estudos sobre ansiedade e síndrome de separação canina corroboram tais possibilidades referente ao comportamento animal, em que elucidam que a hiperatividade e desatenção são consequências explícitas de um animal ansioso e dependente, assim como cães que residem em apartamentos ou tem um contato único e direto com o tutor, são mais propensos a desenvolver sinais de compulsão, hiperatividade e déficit de atenção (SALONEN et al., 2020; SARGISSON, 2014).

Uma possibilidade é adaptar o teste para cada animal, dependendo do seu estado comportamental frente a um ambiente desconhecido. Sendo assim, aqueles que apresentam sinais de fobia e hiperatividade, podem se beneficiar com a aplicação do teste dentro do seu próprio domicílio, reduzindo assim a probabilidade de erros decorrentes a distração e medo. No entanto, nada impede, também, de que em caso de dúvidas mediante ao erro de um animal ao teste, que este não seja repetido, uma ou duas vezes, em momentos distintos, reforçando a resposta do animal ao teste. Tal metodologia pode ser empregada principalmente naqueles com suspeita de déficits cognitivos sutis ou com idade avançada sem nenhuma sintomatologia evidente.

Outro ponto a ser considerado, ainda quanto ao porte animal, está relacionado ao fator racial. A princípio, não foi correlacionado a porcentagem de acerto e erro entre as raças, devido ao fato de algumas destas raças serem compostas apenas por um cão. No entanto, pôde-se observar que em 15 cães que apresentavam histórico de adestramento em algum momento da vida, ao menos nível básico, mantendo um certo estímulo de treinamento, não necessariamente constante, obteve-se um nível de acerto de 100%. Algumas raças caninas têm maior facilidade de aprendizado e demonstram maior capacidade intelectual dentre outras. Stanley Coren (COREN, 2006), nomeou as raças mais inteligentes, avaliando um conjunto de fatores com base no instinto, obediência e capacidade de adaptação. No seu ranking, os cães da raça Border Collie são os primeiros da lista, seguidos por: Poodle, Pastor Alemão, Golden Retriever, Doberman, Pastor de Shetland, Labrador Retriever, Spaniel Anão Continental (Papillon), Rottweiler e o Boiadeiro Australiano. Coren (COREN, 2019) relatou que quando fez essa análise da capacidade intelectual em 120 raças distintas, observou que entre os 20% melhores cães classificados por sua inteligência, havia apenas um de raça pequena (toy), o Papillon. Uma hipótese era de que tal descoberta poderia ser explicada pelo tamanho cerebral de cada raça. Quanto maior o animal, maior é o cérebro. Um cérebro maior tem mais neurônios e mais conexões, o que deve permitir processar informações e armazenar melhor as memórias.

Outra avaliação observacional, foi que aqueles que apresentavam um nível constante de atividade física (ao menos passeios com frequência moderada durante a semana), também tiveram melhor desempenho ao realizar o teste. Foi

possível observar nestes animais uma maior proatividade e colaboração perante o teste e isto se deu pelo fato de que estes eram menos ansiosos, medrosos ou hiperativos, tendo assim maior atenção e percepção do que acontecia ao seu redor. Diferente daqueles que permaneciam mais confinados dentro de casa e tinham um hábito mais sedentário, muitas vezes mais observado em cães de porte menor.

Tais observações corroboram com dados de estudos humanos que avaliaram o efeito do exercício físico nas funções cognitivas. Em uma revisão sistemática feita por Fernandes et al. (FERNANDES et al., 2018) foram analisados artigos de correlação entre exercício e melhora cognitiva, concluindo que a prática de exercícios físico pode melhorar a cognição em indivíduos que buscam melhorar suas funções cognitivas usadas rotineiramente e para aqueles que desejam prevenir ou retardar o declínio cognitivo. Isto é possível, pois, o exercício físico aeróbico aumenta os níveis de orexina-A e orexina-B, ambos neuropeptídeos sintetizados no hipotálamo que aumentam a neurogênese e as conexões entre os neurônios do hipocampo. Além disso, o orexin-A tem efeitos neuroprotetores e anti-apoptóticos, tornando-se essencial para um melhor desempenho em termos de atenção e memória de trabalho. Dentre outros efeitos benéficos de uma prática de exercícios de intensidade moderada e frequente, estão: o aumento do fator de crescimento endotelial vascular que promove a angiogênese e está diretamente associado à neurogênese e à melhoria da função sináptica (MORLAND et al., 2017); e o aumento de diferentes neurotrofinas que resultam na homeostase e regulação energética do sistema nervoso, contribuindo, assim, para o aumento da plasticidade neural e formação de novas sinapses (FERNANDES et al., 2018).

Com base nas informações discutidas acima, o teste de memória episódica pode ser valioso para analisar futuros estudos em cães na intenção de avaliar a integridade da memória em animais sedentários e naqueles mais ativos fisicamente, visto que a prática de exercício físico, empregado em níveis de intensidade moderada, está intimamente relacionada com a regulação e modulação celular, principalmente hipocampal, além da manutenção e neoformações sinápticas.

CONCLUSÕES GERAIS

Nosso estudo comprovou a existência e utilização da memória episódica na espécie canina, verificando seu declínio em cães idosos clinicamente saudáveis, além de identificar influências significativas do sexo e peso corpóreo frente a probabilidade de acerto ao teste desenvolvido.

A princípio, acreditamos que o declínio da memória episódica possa estar correlacionado com alterações cognitivas na espécie canina. Podendo, esta, ser um sinal precoce e inicial antes mesmo da consolidação de demais sinais cognitivos já salientados e bem definidos de doenças neurodegenerativas, tais das quais são vistas na SDC.

REFERÊNCIAS

ADAMS, B.; CHAN, A.; CALLAHAN, H.; SIWAK, C.; TAPP, D.; IKEDA-DOUGLAS, C.; ATKINSON, P.; HEAD, E.; COTMAN, C. W.; MILGRAM, N. W. Use of a delayed non-matching to position task to model age-dependent cognitive decline in the dog. **Behavioural Brain Research**. v. 108, p. 47–56, 2000.

AKAIKE, H. A New Look at the Statistical Model Identification. **IEEE Transactions on Automatic Control**, v. 19, n. 6, p. 716–723, 1974.

ALBERT, M. S.; DEKOSKY, S. T.; DICKSON, D.; DUBOIS, B.; FELDMAN, H. H.; FOX, N. C.; GAMST, A.; HOLTZMAN, D. M.; JAGUST, W. J.; PETERSEN, R. C.; SNYDER, P. J.; CARRILLO, M. C.; THIES, B.; PHELPS, C. H. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging - Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**. v.7, p. 270–279, 2011.

APOSTOLOVA, L. G. et al. Conversion of mild cognitive impairment to alzheimer disease predicted by hippocampal atrophy maps. **Archives of Neurology**, v. 63, n. 5, p. 693–699, 2006.

ARAUJO, J. A.; BAULK, J.; RIVERA, C. The Aged Dog as a Natural Model of Alzheimer's Disease Progression. In LANDSBERG, G.; MAĐARI, A.; ŽILKA, N. Canine and Feline Dementia: Molecular Basis, Diagnostics and Therapy. Springer: 1 ed., cap. 4, p. 69-92, 2017.

ARENDT, T.; STIELER, J.; Ueberham, U. Is sporadic Alzheimer's disease a developmental disorder? **Journal of Neurochemistry**. v. 143, p. 396–408, 2017.

AZKONA, G. et al. Prevalence and risk factors of behavioural changes associated with age-related cognitive impairment in geriatric dogs: PAPER. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 2, p. 87–91, 2009.

BABB, S. J.; CRYSTAL, J. D. Discrimination of what, when, and where: Implications for episodic-like memory in rats. **Learning and Motivation**, v. 36, n. 2 SPEC. ISS., p. 177–189, 2005.

BABB, S. J.; CRYSTAL, J. D. Episodic-like Memory in the Rat. **Current Biology**, v. 16, n. 13, p. 1317–1321, 2006.

BINDER, S.; DERE, E.; ZLOMUZICA, A. A critical appraisal of the what-where-when episodic-like memory test in rodents: Achievements, caveats and future directions. **Progress in Neurobiology**, v. 130, p. 71–85, 2015.

BRIER, M. R.; GORDON, B.; FRIEDRICHSEN, K.; MCCARTHY, J.; STERN, A.; CHRISTENSEN, J.; OWEN, C.; ALDEA, P.; SU, Y.; HASSENSTAB, J.; CAIRNS, N. J.; HOLTZMAN, D. M.; FAGAN, A. M.; MORRIS, J. C.; BENZINGER, T. L. S.; ANCES, B. M. Tau and Ab imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. **Science Translational Medicine**. v. 8, n. 338, 2016.

CASCELLA, M.; AL KHALILI, Y. Short Term Memory Impairment. In: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL); 2020.

CHARLES, D. P.; GAFFAN, D.; BUCKLEY, M. J. Impaired Recency Judgments and Intact Novelty Judgments after Fornix Transection in Monkeys. **The Journal of Neuroscience**. v. 24, n. 8, p. 2037–2044, 2004.

CLAYTON, N. S.; DICKINSON, A. Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. **Nature**. v. 395, 1998.

CLAYTON, N. S.; GRIFFITHS, D. P.; EMERY, N. J.; DICKINSON, A. Elements of episodic-like memory in animals. **Phil. Trans. R. Soc. Lond. B**. v. 356, p. 1483-1491, 2001.

CLAYTON, N. S.; DICKINSON, A. Mental Time Travel: Can Animals Recall the Past and Plan for the Future? **Encyclopedia of Animal Behavior**, v. 4, n. August, p. 438–442, 2003.

CLAYTON, N. S.; RUSSELL, J. Looking for episodic memory in animals and young children: Prospects for a new minimalism. **Neuropsychologia**, v. 47, n. 11, p. 2330–2340, 2009.

COREN, S. The Intelligence of Dogs: A Guide to the Thoughts, Emotions, and Inner Lives of Our Canine Companions. Reissue ed ed. 2006.

COREN, S. Are Big Dogs Smarter Than Small Dogs? Disponível em: <<https://www.psychologytoday.com/ca/blog/canine-corner/201901/are-big-dogs-smarter-small-dogs>>. Acesso em: 05 de março de 2020.

CRYSTAL, J. D. Elements of episodic-like memory in animal models. **Behavioural Processes**, v. 80, p. 269–277, 2009.

CRYSTAL, J. D.; GLANZMAN, D. L. A biological perspective on memory. **Current Biology**, v. 23, n. 17, p. R728–R731, 2013.

CUMMINGS, B. J.; HEAD, E.; RUEHL, W.; MILGRAM, N. W.; COTMAN, C. W. The Canine as an Animal Model of Human Aging and Dementia. **Neurobiology of Aging**, v. 17, n. 2, p. 259-268, 1996 a.

CUMMINGS, B. J.; HEAD, E.; AFAGH, A. J.; MILGRAM, N. W.; COTMAN, C. W. β Amyloid Accumulation Correlates with Cognitive Dysfunction in the Aged Canine. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 66, p. 11–23, 1996 b.

DEWEY, C. W.; DAVIES, E. S.; XIE H.; WAKSHLAG, J. J. Canine Cognitive Dysfunction: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 49, n. 3, p. 477–499, 2019.

DICKERSON, B. C.; EICHENBAUM, H. The episodic memory system: Neurocircuitry and disorders. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 86–104, 2010.

EACOTT, M. J.; NORMAN, G. Integrated Memory for Object, Place, and Context in Rats: A Possible Model of Episodic-Like Memory? **Journal of Neuroscience**, v. 24, n. 8, p. 1948-1953, 2004.

EASTON, A.; WEBSTER, L. A. D.; EACOTT, M. J. The episodic nature of episodic-like memories. **Learning and Memory**, v. 19, n. 4, p. 146–150, 2012.

EICHENBAUM, H.; YONELINAS, A. P.; RANGANATH, C. The medial temporal lobe and recognition memory. **Annual Review of Neuroscience**, v. 30, p. 123–

152, 2007.

FAST, R. et al. An Observational Study with Long-Term Follow-Up of Canine Cognitive Dysfunction: Clinical Characteristics, Survival, and Risk Factors. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 4, p. 822–829, 2013.

FERNANDES, R. M. et al. The effects of moderate physical exercise on adult cognition: A systematic review. **Frontiers in Physiology**, v. 9, n. JUN, p. 1–11, 2018.

FORTIN, N. J.; AGSTER, K. L.; EICHENBAUM, H. B. Critical role of the hippocampus in memory for sequences of events. **Nature Neuroscience**. v. 5, n. 5, p. 458-462, 2002.

FRANK, D. Cognitive Dysfunction in Dogs. *Compendium*. 25 (2003) 613-620. Disponível em: <www.ivis.org/proceedings/Hills/brain/frank.pdf?LA=1>. Acesso em: 03 de março de 2020.

FUGAZZA, C.; POGÁNY, Á.; MIKLÓSI, Á. Recall of Others' Actions after Incidental Encoding Reveals Episodic-like Memory in Dogs. **Current Biology**, v. 26, n. 23, p. 3209–3213, 2016.

FUJITA, K.; MORISAKI, A.; TAKAOKA, A.; MAEDA, T.; HORI, Y. Incidental memory in dogs (*Canis familiaris*): adaptive behavioral solution at an unexpected memory test. **Anim Cogn**. v. 15, p. 1055–1063, 2012.

GAFFAN, D. Scene-Specific Memory for Objects: A Model of Episodic Memory Impairment in Monkeys with Fornix Transection. **Journal of Cognitive Neuroscience**. v. 6, n. 4, p. 305-320, 1994.

GEULA, C.; NAGYKERY, N.; WU, C. K. Amyloid- β deposits in the cerebral cortex of the aged common marmoset (*Callithrix jacchus*): Incidence and chemical composition. **Acta Neuropathologica**, v. 103, n. 1, p. 48–58, 2002.

GOLDSTON, R. T. Geriatrics & Gerontology. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract**, v. 19, p. 1–202, 1989.

GRADY, C. L.; CRAIK, F. I. Changes in memory processing with age. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 10, n. 2, p. 224–231, 2000.

GREENE, J. W.; BADDELEY, A. D.; HODGES, J. R. Analysis of the episodic memory deficit in early Alzheimer's disease: Evidence from the doors and people test. **Neuropsychologia**, v. 34, n. 6, p. 537–551, 1996.

GRIFFITHS, D.; DICKINSON, A.; CLAYTON, N. Episodic memory: what can animals remember about their past? **Trends in Cognitive Sciences**, v. 3, n. 2, p. 74–80, 1999.

GROBER, E. et al. Memory impairment, executive dysfunction, and intellectual decline in preclinical Alzheimer's disease. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v. 14, n. 2, p. 266–278, 2008.

GUERREIRO, R.; BRAS, J. The age factor in Alzheimer's disease. **Genome Medicine**, v. 7, n. 1, p. 1–3, 2015.

HEAD, E.; MEHTA, R.; HARTLEY, J.; KAMEKA, M.; CUMMINGS, B. J.; COTMAN, C. W.; RUEHL, W. W.; MILGRAM, N. W. Spatial Learning and Memory as a Function of Age in the Dog. **Behavioral Neuroscience**, v. 109, n. 5, p. 851–858, 1995.

HEAD, E.; POP, V.; SARSOZA, F.; KAYED, R.; BECKETT, T. L.; STUDZINSKI, C. M.; TOMIC, J. L.; GLABE, C. G.; MURPHY, M. P. Amyloid- β peptide and oligomers in the brain and cerebrospinal fluid of aged canines. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 20, n. 2, p. 637–646, 2010.

HECKLER, M. C. T.; SANTOS, F. H.; AMORIM, R. M. Testes para Avaliação das Funções Cognitivas de Memória e Aprendizado em Cães. **Neurobiologia**, v. 73, n. 4, 2010.

HECKLER, M. C. T. Testes cognitivos para avaliação de memória e aprendizado em cães (*Canis lupus familiaris*). 2011. 60 f. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011.

HECKLER, M. C. T.; TRANQUILIM, M. V.; SVICERO, D. J.; BARBOSA, L.; AMORIM, R. M. Clinical feasibility of cognitive testing in dogs (*Canis lupus familiaris*). **Journal of Veterinary Behavior**. v. 9, p. 6-12, 2014.

HORSCHLER, D. J.; HARE, B.; CALL, J.; KAMINSKI, J.; MIKLÓSI, Á.; MACLEAN E. L. Absolute brain size predicts dog breed differences in executive function. **Animal Cognition**, v. 22, n. 2, p. 187–198, 2019.

HUIJBERS, W.; MORMINO, E. C.; SCHULTZ, A. P.; WIGMAN, S.; WARD, A. M.; LARVIE, M.; AMARIGLIO, R. E.; MARSHALL, G. A.; RENTZ, D. M.; JOHNSON, K. A.; SPERLING, R. A. Amyloid- β deposition in mild cognitive impairment is associated with increased hippocampal activity, atrophy and clinical progression. **Brain**. p. 1-13, 2015.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. The molecular and systems biology of memory. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 163–186, 2014.

KATINA, S. et al. Risk factors for canine cognitive dysfunction syndrome in Slovakia. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 58, n. 1, p. 1–7, 2016.

KIMURA, N. et al. Age-related changes of Alzheimer's disease-associated proteins in cynomolgus monkey brains. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 310, n. 2, p. 303–311, 2003.

LANDSBERG, G. M.; MALAMED, R. Clinical Picture of Canine and Feline Cognitive Impairment. In LANDSBERG, G.; MAĐARI, A.; ŽILKA, N. Canine and Feline Dementia: Molecular Basis, Diagnostics and Therapy. Springer: 1 ed., cap. 1, p. 1-12, 2017.

LANDSBERG, G. M.; NICHOL, J.; ARAUJO, J. A. Cognitive Dysfunction Syndrome: A Disease of Canine and Feline Brain Aging. **Vet Clin Small Anim**. v. 42, p. 749 768, 2012.

LEMERE, C. A. et al. Alzheimer's disease A β vaccine reduces central nervous system A β levels in a non-human primate, the Caribbean vervet. **American Journal of Pathology**, v. 165, n. 1, p. 283–297, 2004.

LEMERE, C. A. et al. Cerebral amyloid-beta protein accumulation with aging in

cotton-top tamarins: A model of early Alzheimer's disease? **Rejuvenation Research**, v. 11, n. 2, p. 321–332, 2008.

LENT, R. Neurociência das funções mentais: Pessoas com história – As bases neurais da memória e da aprendizagem. In Lent, R. Cem Bilhões de Neurônios: Conceitos Fundamentais de Neurociência. Atheneu: 1 ed., cap. 18, p. 587-617, 2001.

LI, H.; ZHANG, L.; QIN, C. Current state of research on non-human primate models of Alzheimer's disease. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 2, n. 4, p. 227–238, 2019.

LO, K. H.; ROBERTS, W. A. Dogs (Canis familiaris) Use Odor Cues to Show Episodic- Like Memory for What, Where, and When. **Journal of Comparative Psychology**, v. 133, n. 4, p. 428–441, 2019.

MACK, M. L.; LOVE, B. C.; PRESTON, A. R. Building concepts one episode at a time: The hippocampus and concept formation. **Neuroscience Letters**. v. 680, p. 31-38, 2017.

MADARI, A.; FARBAKOVA, J.; KATINA, S.; SMOLEK, T.; NOVAK, P.; WEISSOVA, T.; NOVAK, M.; ZILKA, N. Assessment of severity and progression of canine cognitive dysfunction syndrome using the Canine Dementia Scale (CADES). **Applied Animal Behaviour Science**. v. 171, p. 138–145, 2015.

MARTIN, L. J. et al. Amyloid precursor protein in aged nonhuman primates. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 88, n. 4, p. 1461–1465, 1991.

MARTIN-ORDAS, G.; HAUN, D.; COLMENARES, F.; CALL, J. Keeping track of time: evidence for episodic-like memory in great apes. **Anim Cogn**. v. 13, p.331–340, 2010.

MILGRAM, N. W; HEAD, E.; WEINER, E.; THOMAS E. Cognitive Functions and Aging in the Dog: Acquisition of Nonspatial Visual Tasks. **Behavioral Neuroscience**. v. 108, n. 1, p. 57-68, 1994.

MORLAND, C. et al. Exercise induces cerebral VEGF and angiogenesis via the lactate receptor HCAR1. **Nature Communications**, v. 8, n. 7491, p. 1–9, 2017.

MORMINO, E. C.; KLUTH, J. T.; MADISON, C. M.; RABINOVICI, G. D.; BAKER, S. L.; MILLER, B. L.; KOEPPE, R. A.; MATHIS, C. A.; WEINER, M. W.; JAGUST, W. J. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Episodic memory loss is related to hippocampal-mediated β amyloid deposition in elderly subjects. **Brain**. v. 132, p. 1310–1323, 2008.

PODURI, A. et al. Apolipoprotein E4 and beta amyloid in senile plaques and cerebral blood vessels of aged rhesus monkeys. **American Journal of Pathology**, v. 144, n. 6, p. 1183–1187, 1994.

RIEDEL, B. C.; THOMPSON, P. M.; BRINTON, R. D. Age, APOE and sex: Triad of risk of Alzheimer's disease. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 160, p. 134–147, 2016.

RUEHL, W. W.; HART, B. L. Canine Cognitive Dysfunction. In: DODMAN, N. H.; SHUSTER, L. (Eds.). **Psychopharmacology of animal behavior disorders**. Malden: Blacwell Science, p. 283-304, 1998.

SALONEN, M. et al. Prevalence, comorbidity, and breed differences in canine anxiety in 13,700 Finnish pet dogs. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.

SARGISSON, R. Canine separation anxiety: strategies for treatment and management. **Veterinary Medicine: Research and Reports**, p. 143, 2014.

SATOU, T.; CUMMINGS, B. J.; HEAD, E.; NIELSON, K. A.; HAHN, F. F.; MILGRAM, N. W.; VELAZQUEZ, P.; CRIBBS, D. H.; TENNER, A. J.; COTMAN, C. W. The progression of β amyloid deposition in the frontal cortex of the aged canine. **Brain Research**. v. 774, p. 35–43, 1997.

SCHEYER, O. et al. Female Sex and Alzheimer's Risk: The Menopause Connection. **The journal of prevention of Alzheimer's disease**, v. 5, n. 4, p. 225–230, 2018.

SCHWARTZ, B. L.; EVANS, S. Episodic memory in primates. **American Journal of Primatology**, v. 55, n. 2, p. 71–85, 2001.

SINGER, R. A.; ZENTALL, T. R. Pigeons learn to answer the question “where did you just peck?” and can report peck location when unexpectedly asked. **Learning and Behavior**, v. 35, n. 3, p. 184–189, 2007.

SMALL, B. J. et al. The Course of Cognitive Impairment in Preclinical Alzheimer Disease. **Archives of Neurology**, v. 57, n. 6, p. 839, 2000.

SMALL, S. A.; PERERA, G. M.; DeLAPAZ, R.; MAYEUX, R.; STERN, Y. Differential regional dysfunction of the hippocampal formation among elderly with memory decline and Alzheimer’s disease. **Annals of Neurology**, v. 45, n. 4, p. 466–472, 1999.

SMITH, C. D. et al. Brain structural alterations before mild cognitive impairment. **Neurology**, v. 68, n. 16, p. 1268–1273, 2007.

SVICERO, D. J.; HECKLER, M. C. T.; AMORIM, R. M. Prevalence of behavioral changes in senile dogs. **Ciência Rural**, v. 47, n. 02. p. 1-6, 2017.

TEMPLER, V. L.; HAMPTON, R. R. Cognitive mechanisms of memory for order in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Hippocampus**, v. 23, n. 3, p. 193–201, 2013.

TEMPLER, V. L.; HAMPTON, R. R. Episodic Memory in Nonhuman Animals. **Current Biology**. v. 23, n. 17, p. 801-806, 2013.

TOLEDANO, A. et al. Alzheimer pathology in non-human primates and its pathophysiological implications. **Primates: Classification, Evolution and Behavior**, v. 27, n. 6, p. 71–110, 2012.

TULVING, E. Episodic and semantic memory. In TULVING, E.; DONALDSON, W. *Organization of memory*. Oxford, England: Academic Press. cap. 10, p. 381-402, 1972.

TULVING, E. How Many Memory Systems Are There? **American Psychologist**. v. 40, n. 4, p. 385-398, 1985.

TULVING, E. Whats Is Episodic Memory? **Current Directions in Psychological Science**. v. 2, n. 3, p. 67-70, 1993.

TULVING, E.; MARKOWITSCH, H. J. Episodic and Declarative Memory: Role of the Hippocampus. **HIPPOCAMPUS**. v. 8, p. 198–204, 1998.

TULVING, E. Episodic memory: From Mind to Brain. **Annu. Rev. Psychol.** v. 53, p.1–25, 2002.

VARGHA-KHADEM, F.; GADIAN, D. G.; WATKINS, K. E.; CONNELLY, A.; VAN PAESSCHENAND, W.; MISHKIN, M. Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. **Science**. v. 277, n. 5324, p. 376–380, 1997.

WALKER, L. C. et al. Senile plaques in aged squirrel monkeys. **Neurobiology of Aging**, v. 8, n. 4, p. 291–296, 1987.

WEINGARTNER, H.; KAYE, W.; SMALLBERG, S. A.; EBERT, M. H.; GILLIN, J. C.; SITARAM, N. Memory Failures in Progressive Idiopathic Dementia. **Journal of Abnormal Psychology**. v. 90. n. 3, p. 187-196, 1981.

ZENTALL, T. R. et al. Episodic-like memory in pigeons. **Psychonomic Bulletin and Review**, v. 8, n. 4, p. 685–690, 2001.

ZENTALL, T. R.; SINGER, R. A.; STAGNER, J. P. Episodic-like memory: Pigeons can report location pecked when unexpectedly asked. **Behavioural Processes**, v. 79, n. 2, p. 93–98, 2008.

ZERBINO, D. R.; ACHUTHAN, P.; AKANNI, W.; AMODE, M. R.; BARRELL, D.; BHAI, J.; BILLIS, K.; CUMMINS, C.; GALL, A.; GIRÓN, C. G.; GIL, L.; GORDON, L.; HAGGERTY, L.; HASKELL, E.; HOURLIER, T.; IZUOGU, O. G.; JANACEK, S. H.; JUETTEMANN, T.; TO, J. K.; LAIRD, M. R.; LAVIDAS, I.; LIU, Z.; LOVELAND, J. E.; MAUREL, T.; MCLAREN, W.; MOORE, B.; MUDGE, J.; MURPHY, D. N.; NEWMAN, V.; NUHN, M.; OGEH, D.; ONG, C. K.; PARKER, A.; PATRICIO, M.; RIAT, H. S.; SCHUILENBURG, H.; SHEPPARD, D.; SPARROW, H.; TAYLOR, K.; THORMANN, A.; VULLO, A.; WALT, S. B.; ZADISSA, A.; FRANKISH, A.; HUNT, S. E.; KOSTADIMA, M.; LANGRIDGE, N.; MARTIN, F. J.; MUFFATO, M.; PERRY, E.; RUFFIER, M.; STAINES, D. M.; TREVANION, S.J.; AKEN, B. L.; CUNNINGHAM, F.; YATES, A.; FLICEK, P. Ensembl 2018, **Nucleic Acids Res.** 46 (2018) D754–D761.

ZHANG, D.; WANG, Y.; ZHOU, L.; YUAN, H.; SHEN, D; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Multimodal classification of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **NeuroImage**. v. 55, p. 856–867, 2011.

ZHOU, W.; CRYSTAL, J. D. Validation of a rodent model of episodic memory. **Animal cognition**, v. 14, n. 3, p. 325–340, maio 2011.

ZHOU, W.; HOHMANN, A. G.; CRYSTAL, J. D. Rats answer an unexpected question after incidental encoding. **Current Biology**, v. 22, n. 12, p. 1149–1153, 2012.