



**Universidade de Brasília  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde**

**Clara de Sena Costa**

**Efeito do estresse de contenção agudo na memória de reconhecimento  
de primatas não-humanos (*Callithrix penicillata*).**

Brasília  
2020

Clara de Sena Costa

**Efeito de um estresse agudo na memória de reconhecimento  
de primatas não-humanos (*Callithrix penicillata*).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília como requisito parcial obrigatório para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde na área de Neurociências Comportamental.

Orientadora: Profª Drª Marília Barros

BANCA EXAMINADORA

---

Profª. Drª Marília Barros (presidente)  
Universidade de Brasília

---

Prof. Dr José Eduardo Pandóssio  
Faculdade de Ceilândia/Universidade de Brasília

---

Profª. Drª Marcia Renata Mortari  
Universidade de Brasília

---

Prof. Dr. Fabio Viegas Caixeta (Suplente)  
Universidade de Brasília

Brasília  
2020

*Dedico este trabalho à minha família,  
pois eles são a minha força e o meu amparo.*

## AGRADECIMENTOS

Gostaria, primeiramente, de agradecer à Deus. Acredito que tudo o que eu vivi para chegar neste momento foi essencial para a construção do meu trabalho e, principalmente, do meu “eu”. E todas as pessoas que estiveram comigo durante este caminho estavam exatamente aonde elas deveriam estar no momento em que precisei. Obrigada, Deus, me permitir viver tudo isso!

À minha família, que foi a primeira que esteve comigo durante toda e qualquer adversidade. Quero agradecer especialmente à minha mãe, Bárbara, por sempre dar tudo de si, muitas vezes se privando de benefícios próprios, para criar com maestria seus três filhos. Devo toda à minha educação aos seus esforços e reconhecimento com muita gratidão tudo o que fez para que eu sempre tivesse o melhor que a senhora podia oferecer. Agradeço aos meus irmãos Daniel, Tiago e Winnie, por sempre me apoiarem nas minhas decisões e por todos os conselhos de irmãos mais velhos. Agradeço ao meu pai Nilson, que mesmo fisicamente distante, sempre se fez presente na minha vida e também nunca deixou de me apoiar. Também agradeço à Sofia (ou “tia mana”), minha segunda mãe, que sempre foi exemplo de sabedoria e grande força para mim.

A todos os meus amigos, que estiveram comigo em todos os momentos de comemoração e angústia neste mestrado. Obrigada por serem alegria junto com minhas alegrias e consolação frente às minhas tristezas. Amo vocês!

Agradeço ao João, que viveu comigo grande parte dessa jornada do mestrado. Obrigada por ser, além de qualquer coisa, meu parceiro, e também por compreender minhas ausências sempre que eu precisava cumprir algum prazo acadêmico.

Ao grupo de pesquisa do laboratório durante esses dois anos: Lucas, Renata, Jéssica Aquino, Bruna, Jéssica Lohana, André e Fernando. Sem vocês esse trabalho não teria acontecido. Obrigada pelo apoio, pelas dicas, pelas idas à FAL, pelas conversas no farmol.

Ao Antonizete e à Juliana, excelentes veterinários que cuidam dos nossos animais e nos auxiliam mesmo quando não faz parte de suas funções (e eu sei o quanto são ocupados!). Obrigada por trabalharem com tanto amor!

Aos tratadores Almir, Geinaldo e Lindionor. Obrigada pelas conversas, pelos cafés, pelas dicas sobre os animais. Sem vocês esta pesquisa também não seria possível.

Agradeço imensamente à minha orientadora, Marília Barros, que me acolheu no laboratório antes mesmo da minha graduação. Olho para trás e vejo o quanto me desenvolvi academicamente e sei que nada disso seria possível sem a sua orientação. Completo esses dois anos com orgulho, sabendo que muito aprendi com uma pesquisadora de excelência. Te agradeço por todas as vezes que você nos exigiu o nosso melhor, pois sabia que éramos capazes.

À CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

*“You cannot get through a single day without having an impact on the world around you. What you do makes a difference, and you have to decide what kind of difference you want to make.” Jane Goodall*

## RESUMO

A memória de reconhecimento é a capacidade de identificar elementos já vistos anteriormente, sendo fundamental para a aquisição de novas informações e o planejamento de comportamentos futuros. Contudo, o estresse pode tanto facilitar, como prejudicar esse tipo de memória, o qual pode ser avaliado no teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO) transposto apenas recentemente para primatas não-humanos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de um episódio agudo de estresse de contenção na capacidade de micos-estrela (*Callithrix penicillata*) adultos adquirirem, consolidarem e evocarem uma memória de reconhecimento no teste de REO. Para tanto, os animais foram submetidos a uma sessão de habituação de 10 min, e 24 h depois, ao teste de REO, que consistiu em um treino e um teste, de 10 min cada, realizados em um intervalo de 6 h. No treino, dois objetos idênticos foram apresentados; no teste, um desses objetos familiares foi substituído por um novo. Os sujeitos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos experimentais (n=6/grupo): controle sem estresse, estresse pré-treino, estresse pós-treino e estresse pré-teste. O estresse consistiu em colocar o mico em uma pequena caixa de alumínio durante 15 min, impossibilitando contato visual com o ambiente externo e impedindo parcialmente seus movimentos. Durante a sessão teste, os animais do grupo controle e do estresse pré-treino exploraram significativamente mais o objeto novo do que o familiar, demonstrando ter uma memória de reconhecimento. Por outro lado, o grupo do estresse pós-treino explorou os dois objetos de maneira semelhante, indicando que não foi capaz de reconhecer o objeto visto anteriormente. Já o grupo do estresse pré-teste explorou preferencialmente o objeto familiar. Em geral, as sessões treino e teste não diferiram significativamente em termos da exploração total dos objetos, atividade locomotora e latência da primeira exploração. Além disso, indicativos de memória no teste REO não foram correlacionados a exploração total dos objetos na sessão treino. Contudo, para os grupos controle e de estresse pré-teste, o nível de locomoção na sessão teste e o Índice de Discriminação estavam correlacionados. Portanto, micos-estrela são capazes de reconhecer objetos neutros vistos em seu ambiente há pelo menos 6 h. Por outro lado, um episódio agudo de estresse de contenção parece prejudicar apenas a consolidação desse tipo de informação. Quando o evento ocorre logo antes da evocação, a preferência exploratória típica dos micos em explorar o que é novo passa a ser o que é familiar. Essa preferência por familiaridade pode ser, na verdade, um comportamento adaptativo ao estresse e não necessariamente um déficit de memória de reconhecimento. Assim, um evento agudo de estresse parece influenciar a memória de reconhecimento de objetos dessa espécie de primata não-humano, sendo que o efeito específico observado depende do momento em que o evento ocorre.

**Palavras-chave:** mico-estrela, estresse, memória de reconhecimento, aquisição, consolidação, evocação

## ABSTRACT

Recognition memory is the ability to identify whether stimuli have been previously seen, being essential for acquiring new information and planning future behavior. However, stress can either enhance or impair this type of memory, which in turn can be assessed via the Spontaneous Object Recognition (SOR) task recently transposed to non-human primates. Therefore, this study assessed the effects of an acute restraint stress on the ability of marmoset monkeys (*Callithrix penicillata*) to encode, retain and retrieve a recognition memory in the SOR test. The marmosets were thus submitted to a 10 min habituation trial and after a 24 h interval they were tested in the SOR test. This task consisted of a 10-min sample and test trial, held 6 h apart. On the sample trial, the marmosets were presented with two identical objects; on the test trial, one of these familiar objects was replaced with a new one. Subjects were randomly divided into four experimental groups (n=6/group): no-stress (control), pre-training stress, post-training stress and pre-testing stress. This stress event consisted in placing the marmoset in a small aluminum box for 15 min, which did not allow visual contact with the surroundings and partially limited movements. On the test trial, the no-stress and pre-training stress groups explored the new object significantly more than the familiar one, demonstrating a recognition memory. On the other hand, the post-training stress group explored both objects similarly, indicating that these subjects were unable to recognize the object previously seen, while the pre-testing stress group preferentially explored the familiar object. In general, the sample and test trials did not differ significantly in terms of total object exploration, locomotor activity and latency to first exploration. Also, memory indicators for the SOR task were unrelated to total object exploration on the sample trial. However, for the no-stress and pre-test groups, locomotion rates on the test trial were correlated to the Discrimination Index. Therefore, marmosets can recognize neutral objects encountered at least 6 h before in their environment. An acute restraint stress, however, only seems to impair the retention of this information. When the event occurs prior to retrieval, the monkeys' typical exploratory preference for novelty turns into a preference for familiarity. This shift in preference may actually be more related to a behavioral adaptation to stress, rather than a recognition memory deficit. Thus, an acute stress event seems to affect object recognition memory in this non-human primate, with the timing of the event influencing the specific effect observed.

**Keywords:** marmoset, stress, recognition memory, encoding, consolidation, retrieval

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |   |
|--------|---|
| ACTH   | Hormônio Adrenocorticotrópico ( <i>Adrenocorticotropic hormone</i> )            |
| CA     | Campo Aberto  |
| CEUA   | Comissão de Ética no Uso Animal   |
| CONCEA | Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal                          |
| CPUnB  | Centro de Primatologia da Universidade de Brasília                              |
| CRH    | Hormônio Liberador de Corticotrofina ( <i>Corticotropin Releasing-Hormone</i> ) |
| CTRL   | Controle  |
| GC     | Glicocorticóide   |
| GR     | Receptor Glicocorticóide  |
| HPA    | Hipotálamo-Pituitária-Adrenal   |
| IBAMA  | Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis        |
| ID     | Índice de Discriminação   |
| LH     | Hormônio Luteinizante   |
| LTD    | Depressão de Longa Duração ( <i>Long Term Depression</i> )                      |
| LTM    | Lobo Temporal Medial  |
| LTP    | Potenciação de Longa Duração ( <i>Long Term Potentiation</i> )                  |
| MCP    | Memória de Curto Prazo  |
| MLP    | Memória de Longo Prazo  |
| MR     | Receptor Mineralocorticóide   |
| PNH    | Primata Não Humano  |
| REO    | Reconhecimento Espontâneo de Objetos  |
| ROC    | <i>Receiver Operating Characteristic</i>  |
| ROL    | Reconhecimento de Objeto-Lugar  |
| SNC    | Sistema Nervoso Central   |
| SNS    | Sistema Nervoso Simpático   |
| SOR    | <i>Spontaneous Object Recognition</i>   |
| STRS   | Estresse  |
| TEPT   | Transtorno de Estresse Pós-Traumático   |

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.1</b> Eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA). Ao vivenciar um evento estressor, o cérebro ativa o eixo HPA. O hipotálamo secreta hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) no lobo anterior da glândula pituitária. Posteriormente o ACTH estimula o córtex das glândulas adrenais, localizadas acima dos rins, a secretar glicocorticoides (cortisol em humanos). O cortisol gera diversas respostas de estresse no organismo.....  | 21 |
| <b>Figura 1.2</b> Diagrama dos quatro principais tipos de tarefas de reconhecimento. (A) teste REO, (B) teste ROL, (C) reconhecimento do objeto em lugar e (D) reconhecimento de ordem temporal.....   | 29 |
| <b>Figura 4.1.</b> Fotografia de indivíduos da espécie mico-estrela ( <i>Callithrix penicillata</i> ) pertencentes ao plantel do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília. (Foto: Fernando Magela).....  | 40 |
| <b>Figura 4.2.</b> Fotografias do Pavilhão de Calitriquídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, onde os sujeitos experimentais (micos) foram alojados. (A) e (B) Vista externa dos viveiros; (C) Vista interna do corredor de segurança; (D) Vista de um viveiro a partir do corredor central de segurança. (Fotos (A) e (B): Marília Barros. Fotos (C) e (D): Fernando Magela).....   | 41 |
| <b>Figura 4.3.</b> Fotografias do aparato do Campo Aberto utilizado nas sessões experimentais. À <i>Esquerda</i> : Vista lateral do aparato, com a caixa-transporte acoplada diretamente em frente a porta do tipo-guilhotina e evidenciando o teto e a parede (ao fundo) de vidro transparente; À <i>Direita</i> : Vista superior do aparato, evidenciando as três paredes de chapa de alumínio, o piso de tela metálica, e a porta do tipo-guilhotina. (Foto: Clarissa Vannuchi).....  | 42 |
| <b>Figura 4.4.</b> Fotografias do aparato do Campo Aberto durante uma sessão experimental com um sujeito. Imagem Superior: vista da câmera de filmagem superior. Imagem inferior: vista da câmera de filmagem lateral. (Foto: André W.C. de Oliveira).....   | 44 |
| <b>Figura 4.5.</b> Representação esquemática do aparato do Campo Aberto utilizado durante as sessões experimentais, indicando sua divisão pelo programa AnyMaze em cinco quadrantes: quatro quadrantes externos com as mesmas dimensões (números 1-4) e um quadrante central maior (N). A seta indica a porta do tipo-guilhotina por onde os animais entram e saem do aparato.....   | 44 |
| <b>Figura 4.6.</b> Representação esquemática do teste de Reconhecimento Espontâneo de Objeto usado no presente estudo. Na sessão treino, os círculos representam objeto estímulo, estando posicionados em uma das possíveis configurações dentro do Campo Aberto. O local de posicionamento dos objetos variou entre os sujeitos. Na sessão teste, um dos objetos foi substituído por um item novo (estrela).....  | 45 |
| <b>Figura 4.7.</b> Fotografia dos objetos utilizados como estímulo no teste de REO. Os objetos estão representados aqui conforme foram posicionados no aparato do Campo Aberto durante as sessões experimentais. Os pares utilizados em cada experimento realizado foram: objetos A e B; objetos C e D; e objetos E e F. Linha branca em (A) representa a escala = 10 cm.....  | 47 |
| <b>Figura 4.8.</b> Representação esquemática do procedimento empregado nos três experimentos realizados, consistindo em uma sessão de habituação, seguida após um intervalo de 24 h pelo teste de REO (sessões treino e teste). O intervalo entre as sessões treino e teste foi de 6 h. Para o Experimento 1, o evento agudo de estresse de contenção de 10 min na caixa-transporte foi realizado logo antes do treino, representado aqui pelo relâmpago (S). Para o Experimento 2 o estresse foi realizado imediatamente após o treino e para o Experimento 3 foi logo antes do teste. Os objetos que estão representados dentro da arena retangular do Campo Aberto correspondem apenas aos objetos usados no Experimento 1..... | 50 |



|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 5.1.</b> Desempenho dos micos do grupo controle (Ctrl) e estresse pré-treino (Strs) no teste de REO. (A) Tempo de exploração, em segundos (média + epm), dos objetos familiar e novo na sessão teste; (B) Índice de discriminação calculado para a sessão teste (média + epm); (C) Latência, em segundos (mediana e intervalo interquartil), para a primeira exploração de cada objeto na sessão teste. n=6/grupo; *p<0,05 vs. objeto familiar, **p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso)..... | 58 |
| <b>Figura 5.2.</b> Tempo médio (+epm; em segundos) despendido na exploração dos dois objetos (A) e em locomoção (B) pelos micos dos grupos controle (Ctrl) e estresse pré-treino (Strs) nas sessões treino e teste da tarefa de REO.....   | 59 |
| <b>Figura 5.3.</b> Relação entre o Índice de Discriminação e os níveis de exploração total na sessão treino ou de locomoção na sessão teste de cada grupo experimental avaliado no presente estudo. Os dados estão expressos como o coeficiente r do teste de correlação de Pearson (e valor de p); *p<0,05.....   | 60 |
| <b>Figura 5.4.</b> Desempenho dos micos do grupo controle (Ctrl) e estresse pós-treino (Strs) no teste REO. (A) Tempo de exploração, em segundos (média + epm), dos objetos novo e familiar na sessão teste; (B) Índice de discriminação calculado para a sessão teste (média + epm); (C) Latência, em segundos (mediana e intervalo interquartil), para a primeira exploração de cada objeto na sessão teste. **p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso), #p<0,05 vs. controle.....                      | 62 |
| <b>Figura 5.5.</b> Tempo médio (+epm; em segundos) despendido na exploração dos dois objetos (A) e em locomoção (B) pelos micos dos grupos controle (Ctrl) e estresse pós-treino (Strs) nas sessões treino e teste da tarefa de REO. *p<0,05 vs. controle.....   | 63 |
| <b>Figura 5.6.</b> Desempenho dos micos do grupo controle (Ctrl) e estresse pré-teste (Strs) no teste de REO. (A) Tempo de exploração, em segundos (média + epm), dos objetos familiar e novo na sessão teste; (B) Índice de discriminação calculado para a sessão teste (média + epm); (C) Latência, em segundos (mediana e intervalo interquartil), para a primeira exploração de cada objeto na sessão teste. **p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso), #p<0,05 vs. controle.....                    | 64 |
| <b>Figura 5.7.</b> Tempo médio (+epm; em segundos) despendido na exploração dos dois objetos (A) e em locomoção (B) pelos micos dos grupos controle (Ctrl) e estresse pré-teste (Strs) nas sessões treino e teste da tarefa de REO. *p<0,5 vs estresse pre-teste.....  | 65 |

## LISTA DE TABELAS

- Tabela I.** Relação das três etapas realizadas neste estudo, indicando os sujeitos testados em cada uma delas, o tratamento (TTO) de estresse ao qual eles foram submetidos e os objetos utilizados na sessão teste da tarefa de REO. ....Anexo 2
- Tabela II.** Média  $\pm$  erro padrão da média (epm) da exploração de cada objeto nas sessões treino e teste em todos os grupos experimentais .....Anexo 3
- Tabela III.** Média  $\pm$  erro padrão da média (epm) dos índices de discriminação de todos os grupos experimentais.....Anexo 3
- Tabela IV.** Mediana e quartis da latência para a primeira exploração dos objetos familiar e novo na sessão teste de todos os grupos experimentais .....Anexo 3

## SUMÁRIO

|   |     |
|---|-----|
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 12  |
| 1.1 Aspectos gerais da memória .....                                      | 12  |
| 1.2 Memória de reconhecimento.....  | 17  |
| 1.3 Estresse e a memória declarativa.....                                 | 20  |
| 1.4 Testes de memória de reconhecimento .....                             | 26  |
| 1.5 Calitriquídeos como modelo animal.....                                | 30  |
| 1.6 Calitriquídeos e a resposta ao estresse .....                         | 33  |
| 2. OBJETIVO.....  | 36  |
| 2.1 Objetivo geral .....  | 36  |
| 2.2 Objetivos específicos .....   | 36  |
| 3. RELEVÂNCIA DO ESTUDO .....   | 37  |
| 4. METODOLOGIA.....   | 39  |
| 4.1 Aspectos éticos .....   | 39  |
| 4.2 Sujeitos e condições gerais de alojamento .....                       | 39  |
| 4.3 Aparato experimental.....   | 42  |
| 4.4 Teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos .....                   | 45  |
| 4.5 Objetos usados no teste de REO .....                                  | 46  |
| 4.6 Procedimento experimental .....                                       | 47  |
| 4.6.1 Experimento 1: efeito do estresse pré-treino.....                   | 50  |
| 4.6.2 Experimento 2: efeito do estresse pós-treino .....                  | 51  |
| 4.6.3 Experimento 3: efeito do estresse pré-teste.....                    | 51  |
| 4.7 Registro e análise dos dados.....                                     | 52  |
| 4.8 Análise estatística .....   | 54  |
| 5. RESULTADOS .....   | 56  |
| 5.1 Experimento 1: efeito do estresse pré-treino.....                     | 56  |
| 5.2 Experimento 2: efeito do estresse pós-treino .....                    | 60  |
| 5.3 Experimento 3: efeito do estresse pré-teste .....                     | 62  |
| 6. DISCUSSÃO .....  | 66  |
| 6.1 Estresse pré-treino não influenciou a aquisição .....                 | 66  |
| 6.2 Estresse pós-treino prejudicou a consolidação .....                   | 68  |
| 6.3 Estresse pré-teste alterou a preferência exploratória.....            | 72  |
| 6.4 Exploração inicial não influenciou o desempenho no teste de REO ..... | 75  |
| 6.5 Relação entre nível de locomoção e desempenho no teste REO .....      | 76  |
| 7. CONCLUSÃO.....   | 79  |
| 8. REFERÊNCIAS.....   | 81  |
| ANEXO 1 .....   | 103 |
| ANEXO 2 .....   | 104 |
| ANEXO 3 .....   | 105 |

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Aspectos gerais da memória

Memória é definida como um processo neural pelo qual as experiências vividas modificam o sistema nervoso e o comportamento futuro. Dentro do estudo de aprendizado e memória, prevaleceu por muitos anos uma visão unitária, sugerindo que todos os processos mnemônicos ocorriam dentro de um único sistema funcional. Entretanto, nas últimas três décadas, tem-se proposto que há múltiplos sistemas de memória (KLEIN e cols., 2002), com diferentes estruturas cerebrais associadas a elas.

Pode-se citar casos como o de Clive Wearing, um renomado maestro britânico que sofreu graves perdas de memória após uma infecção cerebral causada pelo vírus do herpes. Apesar de não conseguir reter informações novas por mais de minutos, e não lembrar diversos detalhes sobre sua vida pessoal, sua memória e habilidades musicais permaneceram intactas (WILSON e cols., 1995). Outro caso famoso é o caso de Henry Molaison, mais conhecido como paciente HM, que teve o hipocampo e outras áreas do lobo temporal removidos na tentativa de tratar episódicos convulsivos recorrentes. Após a operação, ele retinha informações por curtos períodos de tempo, mas não conseguia se lembrar de fatos que ocorreram após a cirurgia. Além disso, esse paciente conseguia melhorar seu desempenho em uma tarefa motora após alguns treinos, mesmo que não se lembrasse de ter praticado a tarefa anteriormente, pois não apresentava memória para eventos passados (CORKIN, 2002).

Alguns estudos identificaram diferentes estruturas responsáveis por determinados aspectos da memória, como a pesquisa de MCCORMICK e cols. (1981) identificaram o papel do cerebelo em uma tarefa de condicionamento do reflexo de piscar. Ademais, a pesquisa de MISHKIN e cols. (1984) evidenciou a participação do corpo estriado na habituação e os estudos de DAVIS (1992) e LEDOUX (2003) identificaram o papel da amígdala em tarefas de medo condicionado e preferência condicionada por lugar.

Integrando evidências como as citadas acima, atualmente aceita-se uma classificação da memória baseada nas estruturas biológicas que têm maior participação nos diferentes processos mnemônicos. Segundo SQUIRE (2004), essas estruturas podem agir paralelamente para uma melhor adaptação do indivíduo ao meio que o cerca.

A memória de curto prazo (MCP) consiste no armazenamento de conhecimentos relevantes por curtos intervalos de tempo (segundos - minutos), retendo pequenas quantidades de informações que são utilizadas logo em seguida. Essas informações podem ser verbais, como decorar um número de telefone que lhe foi dito, ou também visuais, espaciais, olfativas e somestésicas (BADDELEY, 2000).

Já a memória de longo prazo (MLP) retém informações por longos períodos de tempo, possibilitando ao indivíduo recuperá-las e evocá-las posteriormente. Na MLP, sistema particularmente investigado no presente estudo, existem duas principais maneiras de adquirir e reter informações: a chamada memória declarativa (ou explícita) e a memória não declarativa (implícita).

A memória não declarativa é uma forma inconsciente de memória, manifestando-se geralmente de forma automática durante a execução de uma tarefa. Portanto, percebe-se que alguma forma de aprendizado ocorreu não pela lembrança explícita ou declarada, mas pelo desempenho. Um exemplo disso consiste em uma criança aprendendo a andar de bicicleta: mesmo que ela não saiba explicar verbalmente o que está aprendendo e como está manuseando a bicicleta, após um certo treinamento ela é capaz de andar de bicicleta sem ajuda de outra pessoa.

A memória não declarativa pode ser dividida em cinco tipos principais: (1) memória processual, relacionada por exemplo a habilidades motoras como tocar um instrumento musical, e geralmente associada ao corpo estriado (KNOWLTON e cols., 1996); (2) priming e aprendizagem perceptiva, que consiste no fenômeno onde um estímulo influencia a resposta a um estímulo subsequente. Por exemplo, a palavra “enfermeira” é reconhecida mais facilmente se vista após a palavra “médico” do que se

vista após outra palavra não relacionada. Este tipo de memória é processado principalmente em nível no neocórtex (SCHACTER, 1992); (3) condicionamento clássico, ou chamada por alguns pesquisadores de resposta associativa, que é um processo de aprendizagem e modificação do comportamento via mecanismos de associação entre estímulo-resposta, e tem como exemplo uma resposta comportamental automática de salivação sendo desencadeada pelo som de um sino tocando, depois desse último ter sido apresentado concomitante e repetidamente com um alimento, a qual foi descrita inicialmente por PAVLOV (1927); (4) condicionamento operante, que refere-se ao procedimento através do qual é modelada uma resposta a partir de um reforço ou punição sucessivos, como observado em experimentos com a caixa de Skinner (KREBS, 1983). Ambos os condicionamentos estão associados ao cerebelo, e também à amígdala no caso de o estímulo ter valência emocional (LEDOUX, 2003; THOMPSON e STEINMETZ, 2009); e (5) aprendizado não associativo, que engloba a redução (habituação) ou exacerbação (sensitização) de uma resposta mediante apresentação repetida a um determinado estímulo, a qual é mediada por vias reflexas (BARCO e cols., 2006).

A memória declarativa, por sua vez, é toda aquela que é evocada deliberada e conscientemente a partir de experiências prévias, e é composta pelas memórias referentes a fatos (semântica) ou eventos (episódica) do passado (TULVING, 1972). Uma memória semântica, por exemplo, consiste em lembrar-se do conceito de “Copa do Mundo” ou seja, saber o que significam as palavras COPA, MUNDO e que “Copa do Mundo” é um evento esportivo mundial de futebol. Uma memória episódica, por outro lado, se exemplificaria com a recordação que vem à consciência ao responder à pergunta “O que você estava fazendo quando o Brasil perdeu para a Alemanha de 7x1 na Copa do Mundo de 2014?”. Enquanto a memória semântica se refere a conceitos, fatos históricos, nomes, datas, etc., a memória episódica refere-se à habilidade de recordar fatos autobiográficos, eventos que ocorreram em algum período e lugar específico da vida de um determinado indivíduo (TULVING, 2002). Para formação da

memória declarativa, componentes temporais e espaciais são associados por intermédio de estruturas do lobo temporal medial (hipocampo, córtices entorrinal, perirrinal e parahipocampal), regiões do diencéfalo (tálamo e corpos mamilares) e prosencéfalo basal (septo medial) (ZOLA-MORGAN e cols., 1994).

Independente do sistema de memória utilizado, ao processarmos uma informação, ainda podemos considerar três fases básicas de processamento, com distintos mecanismos neurobiológicos: aquisição, consolidação e evocação. A primeira diz respeito à captação de informações do ambiente via percepção sensorial e posterior interpretação no sistema nervoso central (SNC), i.e., aprendizagem (ZOLA-MORGAN e cols., 1994; IZQUIERDO e cols., 2006; WINTERS e cols., 2008).

A consolidação é a fase posterior de armazenamento dessa informação por um determinado intervalo de tempo, e pode se dar por meio de alterações morfológicas e/ou alterações eletrofisiológicas. Neste último caso, a informação é retida apenas pelo tempo que a mesma é necessária, e, portanto, a memória é efêmera e não provoca alterações morfológicas, que também são chamadas de traços de memória. Na formação dos traços de memória, a alteração pode ser estrutural e/ou funcional. Na alteração estrutural, novas espinhas dendríticas ou prolongamentos axonais são formadas no circuito neural, permitindo que neurônios recebam mais aferências ou transmitam mais sinais para outros neurônios, respectivamente. Na alteração funcional, novos canais iônicos ou proteínas sinalizadoras são formadas, otimizando a transmissão sináptica (PURVES e cols, 2010). Esse fortalecimento de sinapses é conhecido como potenciação de longa duração (LTP, *long term potentiation*), enquanto o enfraquecimento é referido como depressão de longa duração (LTD, *long term depression*). Ambos os processos de plasticidade sináptica estão envolvidos na memória. Além disso, o armazenamento de traços de memória pode ocorrer em diversas áreas do SNC, envolvendo diferentes redes neuronais (KANDEL e cols., 2014).

Já a evocação consiste na recuperação das informações armazenadas. Embora diferentes sistemas de memória possam utilizar distintos processos e vias para recuperar uma informação, certas estruturas e vias regulam a evocação de muitas delas, como o hipocampo, a amígdala, e suas conexões com o hipotálamo e o tálamo. O hipocampo e a amígdala – recebendo informações de todos os sistemas sensoriais (em parte provenientes do córtex e em parte provenientes da formação reticular mesencefálica) e projetando informações ao hipotálamo, tálamo e córtex – são, portanto, estruturas estrategicamente localizadas para modular o processo de evocação de informações baseados na experiência (IZQUIERDO, 1989). Essas três fases de processamento serão individualmente avaliadas no presente trabalho.

Até parte do século XX, estudos sobre cognição em humanos e em animais desenvolveram-se independentemente. Isso porque, até esta época, estudos sobre cognição animal, com exceção da etologia cognitiva, não avaliavam a seu estado de consciência. Embora seja possível analisar como os animais adquirem informações pelos sentidos, processam e respondem a elas, para estas análises não é necessário analisar a natureza subjetiva de suas experiências ou se eles estão conscientes sobre isso (SHETTLEWORTH, 2009). Portanto, durante grande parte do século passado, estudos com animais focaram em processos cognitivos que não necessitavam algum estado de consciência explícito, como as memórias não-declarativas.

Avaliar processos que requerem um estado de consciência, análogos aos que são encontrados em humanos, tem ganhado notoriedade há algumas décadas, mas continua sendo um desafio para a comunidade acadêmica. TULVING (1983), ao estudar a memória episódica, definiu-a como uma capacidade mental que requer consciência autoconsciente, isto é, uma noção de si mesmo, e por mais que diversos animais demonstrem formas de consciência análogas ao homem, não existe um consenso sobre a existência de consciência autoconsciente. A fim de ultrapassar essa barreira, foram desenvolvidas tarefas que buscam avaliar memórias declarativas sem a necessidade da expressão verbal, como por exemplo a tarefa apresentada por



CLAYTON E DICKINSON (1998), desenvolvida para pássaros, que avalia atributos semelhantes a uma memória episódica – os componentes “o que”, “quando” e “onde”. Eles chamaram a memória avaliada de memória do tipo-episódica, pois não há como avaliar o componente da consciência descrito por TULVING (1983).

No entanto, a memória do tipo-episódica ainda gera discussões sobre sua real proximidade com a memória episódica em humanos (GRIFFITHS e cols., 1999). Desde o final do século XX, todavia, pesquisadores vem apresentando evidências empíricas que demonstram outros aspectos da memória declarativa em animais, particularmente em primatas (GAFFAN, 1992; ZOLA-MORGAN e cols. 1994) e roedores (DUSEK e EICHENBAUM, 1997).

## **1.2. Memória de reconhecimento**

Dentro da memória declarativa, um componente que vem sendo amplamente pesquisado é a memória de reconhecimento. Essa é a capacidade de identificar, como sendo algo familiar, estímulos ou situações que já foram encontrados anteriormente (AMEEN-ALI e cols., 2015). É por meio dela que identificamos pessoas, lugares, sons, palavras e objetos já vistos antes (THORPE e cols., 1996), e, muitas vezes, moldamos nosso comportamento futuro a partir dessas experiências passadas.

Há divergências sobre a classificação da memória de reconhecimento. Essa discussão está fortemente associada a suposições sobre a sua natureza. Quando lembramos de um nome, objeto, pessoa, lugar, etc., duas experiências subjetivas podem ocorrer: podemos simplesmente identificar se aquele item, local ou indivíduo já foi encontrado anteriormente com base em atributos gerais (processo de *saber*) ou podemos relacionar aquele item, local ou indivíduo a uma experiência pontual vivida no passado, havendo aqui associações temporais e espaciais com base em atributos específicos do estímulo (processo de *lembrar*). STERN e HASSELMO (2009) fazem outra analogia: o *saber* seria o equivalente a uma prova de múltipla-escolha, enquanto o *lembrar* seria uma questão discursiva, onde o sujeito deverá utilizar diversos

conhecimentos diferentes para elaborar sua resposta. Esse paradigma *saber-lembrar* foi proposto por TULVING em 1985, que relacionava o processo de *lembrar* ao estado auto-nóético em que a pessoa teria que ter consciência do que havia vivenciado no passado, e o processo de *saber* a um estado nóético, que não tem necessariamente uma conexão com a consciência.

A partir disso, surgiram diferentes modelos de processamento para este tipo de memória. Modelos uni-processuais corroboram a ideia de que a memória de reconhecimento faria parte da memória episódica, constituindo sua resposta nóética. Portanto, dentro da memória episódica, teríamos essas duas respostas: *lembrar* conscientemente de alguma situação anteriormente vivida e *saber* ou *reconhecer* que algum aspecto do ambiente já foi vivenciado, onde ambas fariam parte de um mesmo sistema (DUNN, 2004). Entretanto, outros pesquisadores acreditam que a memória de reconhecimento envolve dois ou mais processos diferentes, e que um deles compartilha características da memória episódica (modelos de processamento duais). Neste caso, a memória de reconhecimento seria um processo dentro do sistema de memórias declarativas, mas que utilizaria diferentes estruturas e vias em relação às memórias episódicas (RUGG e YONELINAS, 2003; YONELINAS, 2001; BROWN e AGGLETON, 2001).

Diversas técnicas vêm sendo utilizadas na tentativa de tentar diferenciar se um indivíduo está simplesmente *reconhecendo* ou se *lembrando* de maneira mais complexa. Por exemplo, pode-se perguntar se o estímulo parece familiar (processo de *saber/reconhecer*) ou se remete a alguma situação (processo de *lembrar*). Existe ainda o procedimento de dissociação de processos, onde a capacidade de responder *onde* e *quando* o estímulo foi visto pela primeira vez estaria indicando o processo de *lembrar*. O procedimento de Característica Operativa do Receptor (em inglês *Receiver Operating Characteristic*, ou ROC) requer que o sujeito classifique a porcentagem de confiança em suas próprias respostas ao reconhecer se um estímulo já foi previamente visto. Essas porcentagens de confiança são utilizadas para se construir

uma curva ROC, onde a proximidade da confiança e acurácia é utilizada como indicativa do processo de *lembrar*.

Contudo, vale ressaltar que esses procedimentos são utilizados por pesquisadores de ambas as linhas de pensamento (modelos uni-processuais e modelos de processamento duais) e não põem fim ao debate, já que podem se apoiar em diferentes suposições. Por exemplo, apesar do teste ROC ser muitas vezes utilizado para corroborar o modelo processual dual, ele também pode indicar que o processo de *saber* é o mesmo do *lembrar*, porém ocorrendo quando o indivíduo ainda tem uma baixa taxa de confiança (DUNN, 2004). Os modelos processuais duais não são universalmente aceitos pois muitos modelos uni-processuais são mais parcimoniosos. No entanto, diversas evidências anatômicas indicam uma dissociação entre esses processos (AGGLETON e BROWN, 2006).

Ao assumir que a memória de reconhecimento é um modelo processual dual, chama-se o processo de *saber* de *familiaridade* e o processo de *lembrar* de *recordação* (MANDLER, 1980). Há controvérsias sobre as estruturas cerebrais envolvidas em cada um desses componentes (YONELINAS, 2001). Alguns estudos sugerem que o hipocampo é crucial para a recordação, enquanto o giro parahipocampal tem papel na familiaridade (FORTIN e cols., 2004, AGGLETON e cols., 2005). Outros estudos, porém, observaram que lesões no hipocampo prejudicam tanto a recordação, quanto a familiaridade (WAIS e cols., 2006). Estudos de neuroimagem funcional também divergem sobre o tema, com alguns indicando ativação específica no hipocampo durante a recordação, enquanto outros demonstram ativações em outras áreas do lobo temporal medial (LTM; SQUIRE e cols., 2007; SKINNER e FERNANDES, 2007). Há também a sugestão de que outras estruturas corticais (ex.: córtex perirrinal) e subcorticais do cérebro, como o tálamo (CARLESIMO e cols., 2015), também estão envolvidas.

Além disso, podemos reconhecer diferentes tipos de informações no ambiente: visual, auditiva, olfativa, etc., e estas determinarão as áreas neurais necessárias.

Estudos em roedores demonstraram que a memória de reconhecimento visual de objetos (discriminar objeto A de objeto B) depende do córtex perirrinal no LTM (ENNACEUR e cols., 1996; BUSSEY e cols., 2000), enquanto julgamentos envolvendo aspectos espaciais também dependem do hipocampo (BARKER e WARBURTON., 2011) e dos córtices perirrinal e pré-frontal medial (BARKER e cols., 2007; CROSS e cols., 2013). O último também está envolvido na ordem temporal de uma memória de reconhecimento, ou seja, a memória para uma ocorrência sequencial de eventos e a capacidade de ordená-los temporalmente (CHIBA e cols., 1997). Pesquisas realizadas com sujeitos experimentais com lesões cerebrais também identificaram uma importância do tálamo na evocação desse tipo de memória (PARKER e cols., 1997; ISAAC e cols., 1998).

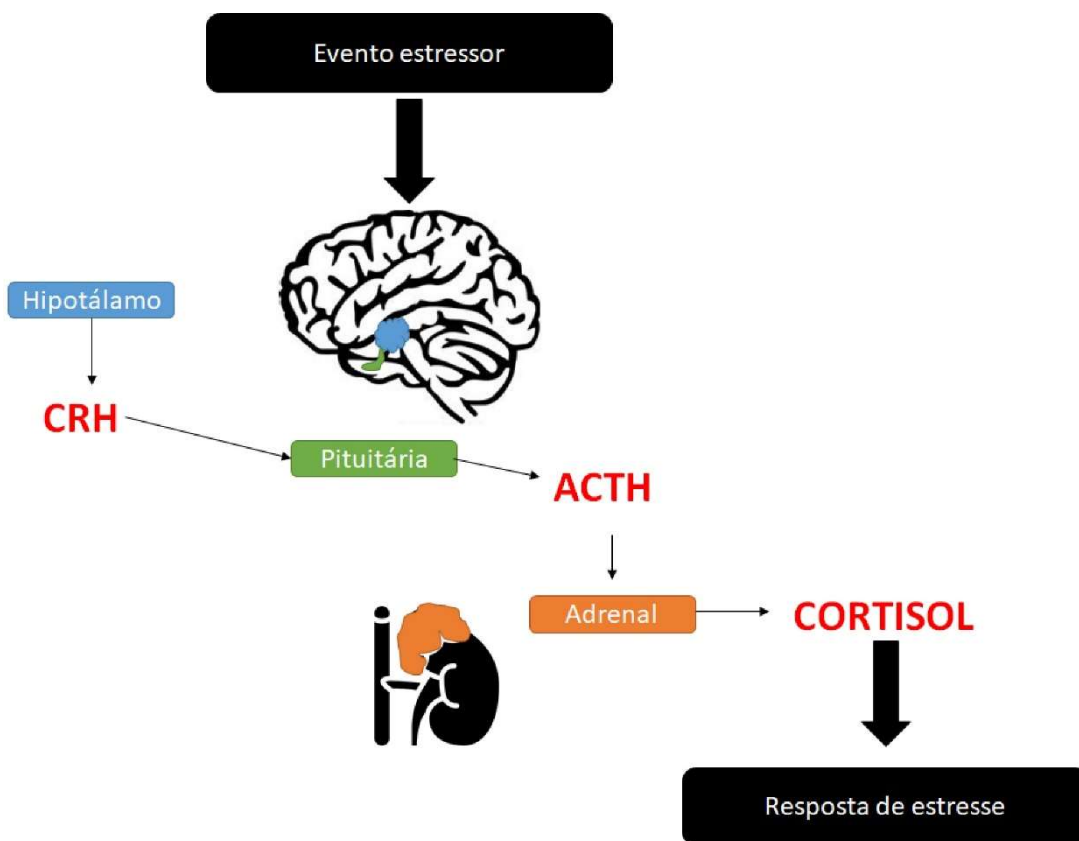
Mesmo com as divergências citadas acima, é amplamente aceita a hipótese de que esses dois componentes (familiaridade e recordação) formam a memória de reconhecimento. Essa, por sua vez, é um importante aspecto da memória declarativa, sendo um tipo de memória afetado em doenças psiquiátricas como a esquizofrenia (CALEV e cols., 1983; EDWARDS e cols., 2002), na doença de Alzheimer (DIDIC e cols., 2013) e estágios mais avançados de Parkinson (WHITTINGTON e cols., 2000). Por conseguinte, ao longo dos anos, esse tipo de memória tem recebido mais atenção na pesquisa clínica e pré-clínica, a fim de melhor elucidar seus aspectos neuropsicofisiológicos e investigar os efeitos de fatores como, privação de sono, alimentação, idade, doenças e estresse. Como no presente trabalho abordou-se, especificamente, os efeitos do estresse na memória de reconhecimento de primatas não-humanos esse aspecto será discutido com mais ênfase a seguir.

### **1.3. Estresse e a memória declarativa**

Todo ser vivo é constantemente confrontado com situações que podem lhe oferecer algum tipo de dano. Essas ameaças à homeostase de um organismo podem ser internas ou externas e geram uma resposta do corpo que comumente é conhecida

como estresse (LEVINE, 2005). Eventos estressantes (estressores) podem ser fisicamente tangíveis ou de natureza psicológica (JOËLS e cols., 2006).

A resposta ao estresse é essencialmente neuroendócrina, sendo capaz de gerar outros tipos de resposta, como um efeito comportamental. Ela consiste basicamente na ativação do sistema nervoso simpático (SNS) e na ativação do eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA; Figura 1.1).



**Figura 1.1.** Eixo hipotalâmico-pituitário-adrenal (HPA). Ao vivenciar um evento estressor, o cérebro ativa o eixo HPA. O hipotálamo secreta hormônio liberador de corticotrofina (CRH), que estimula a secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) no lobo anterior da glândula pituitária. Posteriormente o ACTH estimula o córtex das glândulas adrenais, localizadas acima dos rins, a secretar glicocorticoides (cortisol em humanos). O cortisol gera diversas respostas de estresse no organismo.

A ativação do SNS é rápida e leva à liberação de (nor)epinefrina pela medula das glândulas adrenais, localizadas acima dos rins. Essa ativação inicial causa diversos efeitos comumente associados ao estresse, como taquicardia, boca seca, agitação e hipervigilância. A hipervigilância, por sua vez, pode prejudicar funções executivas, como atenção seletiva, memória operacional e flexibilidade cognitiva

(HERMANS e cols., 2014; SHIELDS e cols., 2017). Em relação à memória, a ativação do SNS melhora a aquisição de informações importantes sobre aquele evento, agindo principalmente em regiões como o córtex pré-frontal, o hipocampo e a amígdala (JOËLS e cols., 2006; WIEMERS e cols., 2013).

O eixo HPA, ativado paralelamente ao SNS, leva à secreção de glicocorticóides (GC), que em roedores é principalmente a corticosterona e em primatas, o cortisol. Sabe-se que o cortisol afeta a atividade hipocampal (LOPEZ e cols., 1999; JOELS e cols., 2011; McEWEN e GIANAROS, 2011), que, por conseguinte, influencia diversos processos cognitivos, como diversos aspectos da memória declarativa já citados anteriormente.

Os GC exercem seus efeitos via a ativação de receptores glicocorticóides (GR) e mineralocorticóides (MR). Os GR estão vastamente distribuídos pelo cérebro, incluindo áreas importantes para a memória, como o hipocampo, enquanto os MR estão em menor número e mais restritos a regiões límbicas. Anteriormente acreditava-se que esses receptores existiam apenas dentro das células (receptores nucleares), e que seus efeitos eram lentos e duradouros, pois agiriam diretamente sobre o genoma. Contudo, existem evidências mais recentes de que os GR também são encontrados nas membranas celulares e exercem efeitos rápidos e não-genômicos (WOLF, 2017).

A exposição ao estresse (agudo ou crônico) tem efeitos complexos na cognição, incluindo o aprendizado e a memória. Sabe-se que o estresse, por exemplo, exerce um efeito rápido no córtex pré-frontal, aumentando sua atividade dopaminérgica e noradrenérgica (SHANSKY e LIPPS, 2013). Além disso, a ativação do SNS e do eixo HPA citadas acima também exercem um efeito em estruturas diretamente relacionadas ao sistema de memória declarativa. Em uma escala de tempo maior, o estresse pode até levar o sistema imunológico a aumentar a produção de proteínas inflamatórias, conhecidas como citocinas pró-inflamatórias (SLAVICH e IRWIN, 2014). Essas proteínas podem influenciar diretamente a atividade neural, se ligando em receptores de neurônios ou indiretamente via estimulação do nervo vago (DANTZER e

cols, 2008) e alterando funções do córtex pré-frontal, regiões do LTM, entre outras (HARRISON e cols, 2014).

Entretanto, estudos sobre os efeitos do estresse na memória têm gerado resultados bastante controversos. Nesse sentido há relatos que o estresse pode auxiliar, prejudicar ou até mesmo não ter efeito na memória (LI e cols., 2012). Essas incongruências podem se dar por diferenças na natureza, nível de aversão e duração do estressor (SAPOLSKY e cols., 1990), das características do sujeito, como sexo e idade (SAURO e cols., 2003; SHORS, 2004; WOLF, 2008), e ainda da fase da memória sendo modulada (SMEETS e cols., 2008).

O tipo de estressor utilizado pode moderar ou exacerbar o efeito observado na memória. Em humanos, por exemplo, utiliza-se bastante o Teste de Estresse Social de Trier, no qual o indivíduo deve dar uma entrevista e resolver problemas aritméticos em frente a uma plateia de avaliadores; mas também existe o teste pressórico ao frio, onde o indivíduo deve imergir o braço não dominante em água gelada; e também é possível combinar essas duas tarefas. Desses testes, o mais eficiente em aumentar os níveis de cortisol é o primeiro (SKOLUDA e cols., 2015).

Características do sujeito também podem alterar o efeito que estresse exerce sobre a memória. Um grande número de estudos tem apontado diferenças dependendo do sexo do participante (ANDREANO e CAHILL, 2006, 2009; MCCULLOUGH e YONELINAS, 2013), e aos hormônios sexuais femininos (BARROS, TUFIK e ANDERSEN, 2015). Em relação à idade, muitos estudos vêm comparando o desempenho de sujeitos jovens e idosos (BREMNER e NARAYAN., 1998; YANG e cols., 2003).

O efeito do estresse em cada fase do processamento da informação (aquisição, consolidação e evocação) – o qual será tema do presente trabalho – tem sido alvo de investigação em diversos estudos sobre memória declarativa. Na fase de aquisição da informação, mais especificamente, não há um consenso sobre os efeitos do estresse. DIAMOND e cols. (1996) relataram um pequeno prejuízo na memória

especial relacionada ao estresse agudo. Por outro lado, um estresse provocado por contenção ou choques na cauda prejudicou o desempenho em uma tarefa de memória de reconhecimento de objetos quando o intervalo entre o estressor e o teste foi de 3 h, mas não quando o intervalo foi de 5 min, o que indica que o estresse não afeta a aquisição inicial do objeto e sim sua retenção a longo-prazo (BAKER e KIM, 2002). Em humanos, há relatos de grandes prejuízos em testes em que os sujeitos deveriam se lembrar de palavras já vistas anteriormente (WOLKOWITZ e cols., 1990; KIRSCHBAUM e cols., 1996). Porém, esses estudos apresentavam as palavras completas ou parte das palavras (por exemplo as duas letras iniciais) para que o sujeito apontasse as palavras familiares ou as completasse. Outros estudos não conseguiram replicar esse efeito ao usarem abordagens experimentais distintas, como o teste de recordação livre, onde os indivíduos deveriam espontaneamente dizer as palavras que se lembravam (LUPIEN e cols., 1999; WOLF e cols., 2001; DOMINIQUE e cols., 2000).

Já um aumento dos níveis de cortisol induzido por estresse durante a fase de consolidação parece favorecer o aprendizado (McGAUGH e ROOZENDAAL, 2002). Contudo, esse favorecimento aparentemente só ocorre se o estresse faz parte do contexto do evento a ser lembrado (JOËLS e cols., 2006). Quando o estressor não fazia parte do contexto do teste de memória, ou seja, a performance esperada do animal no teste não se relacionava de maneira alguma ao estressor, MAROUN e AKIRAV (2008) relataram que o estresse prejudicou a consolidação dos animais habituados, enquanto que um efeito oposto foi visto nos animais não-habituados à tarefa, indicando que tanto o fator contexto estresse-teste quanto o nível de habituação do animal influencia os efeitos do estresse. LI e cols. (2012) indicaram que o estresse poderia prejudicar a transição da consolidação de uma memória de curto prazo em uma memória de longo prazo, e que a elevação de cortisol teria um importante papel nessa modulação.



Na fase de evocação, um estresse agudo parece prejudicar a memória (DE QUERVAIN e cols., 1998; ROOZENDAAL e cols., 2004), tendo o cortisol um efeito dose-dependente. DIAMOND e cols. (1992) discutem sobre uma curva em forma de “U” invertido causada pela ação do cortisol na plasticidade hipocampal de ratos. A corticosterona altera efeitos que neuromoduladores, como a serotonina e a norepinefrina, têm na excitabilidade hipocampal (JOËLS e cols., 1991), além de afetar a dinâmica de ligação de receptores GABA (MAJEWSKA e cols., 1985) e nos níveis de acetilcolina (GILAD e cols., 1985).

O efeito do estresse na evocação pode ainda ser tempo-dependente. Diferentes estudos testaram a evocação após aproximadamente 30 min do evento estressor, e relataram prejuízos (BUCHANAN e cols., 2006; KUHLMANN e cols., 2005; SMEETS e cols., 2008). SCHÖNFELD e cols. (2014) aplicaram um teste sob estresse, e testaram os sujeitos novamente 25 min após esse evento. Durante a realização do teste os sujeitos estressados demonstraram uma melhor evocação, mas depois dos 25 min tiveram um prejuízo. O prejuízo na memória e aprendizado pode ocorrer ainda nos primeiros minutos após o estresse, quando os GC estão exercendo efeitos não-genômicos, e pode persistir por mais de uma hora, indicando que efeitos genômicos dos GC também têm importante influência na evocação da memória (SCHWABE e WOLF, 2014).

Tendo em vista que o estresse é uma resposta fisiológica constantemente presente na vida de um indivíduo, e que experiências estressoras (agudas ou crônicas) podem ter efeitos rápidos e/ou duradouros na memória, podendo influenciá-la positiva ou negativamente, faz-se necessário uma melhor elucidação desses efeitos em cada uma das fases do processamento da informação. Além disso, diversas condições relevantes à saúde pública são relacionadas ao estresse. Algumas doenças estão relacionadas à hipercortisolemia (longa exposição a níveis elevados de cortisol), como a depressão (HOLSBOER, 2000; VAN PRAAG, 2004), e outras relacionadas à hipocortisolemia (baixos níveis de cortisol circulantes), como em pacientes com

transtorno de estresse pós-traumático (TEPT; YEHUDA, 2002). Indivíduos apresentando essas condições também têm efeitos na memória e aprendizado relacionados ao estresse.

Baseado em estudos prévios que demonstraram que GC e catecolaminas exercem vários efeitos no hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal após um episódio de estresse, é importante investigar o efeito dessa resposta fisiológica em sistemas de memória controladas ou influenciadas por estas áreas, como por exemplo a memória de reconhecimento. Investigar os efeitos do estresse na memória de reconhecimento, que é uma memória declarativa muito utilizada no cotidiano é um dos caminhos possíveis para melhor compreender seus mecanismos de ação e a resposta adaptativa do indivíduo frente a situações estressantes.

#### **1.4. Testes de memória de reconhecimento**

A fim de investigar os efeitos de fatores como o estresse na memória, faz-se necessário desenvolver metodologias onde é possível avaliar este processo cognitivo em condições controle e experimental. Dentro do estudo da memória, diversas tarefas podem ser empregadas no intuito de qualificar e quantificar o traço mnemônico dos sujeitos avaliados.

Tarefas de “lembrança”, geralmente denominadas tarefas de recordação livre (“*free recall*”) ou com pistas (“*cued recall*”) necessitam, portanto, de uma resposta específica do sujeito indicando sua evocação. Desta forma, essas tarefas geralmente necessitam respostas verbais e são mais utilizadas em humanos. As tarefas de reconhecimento, por outro lado, podem ser utilizadas sem a necessidade de resposta elaborada ou expressão verbal e, deste modo, constituem uma importante ferramenta para estudos em modelos animais (STERN e HASSELMO, 2009).

Exemplos de tarefas de reconhecimento amplamente utilizados são: tarefa de reconhecimento sim/não, baseada no trabalho sobre memória em crianças de FANTZ (1964), onde o sujeito deve responder “sim” ou não” para cada estímulo apresentado a

fim de discriminar os que ele se recorda de ter visto anteriormente; tarefa de escolha de acordo com o modelo com atraso ("*Delayed Matching to Sample*"; MISHKIN e DELACOUR, 1975) que consiste na apresentação de um único estímulo seguido de um intervalo, onde após o intervalo dois estímulos são apresentados e o sujeito deve selecionar entre eles o estímulo que ele viu anteriormente; e tarefa de escolha diferente do modelo com atraso ("*Delayed Non-Matching to Sample*"), variação onde o sujeito tem que escolher o estímulo novo (EICHENBAUM e cols., 1992).

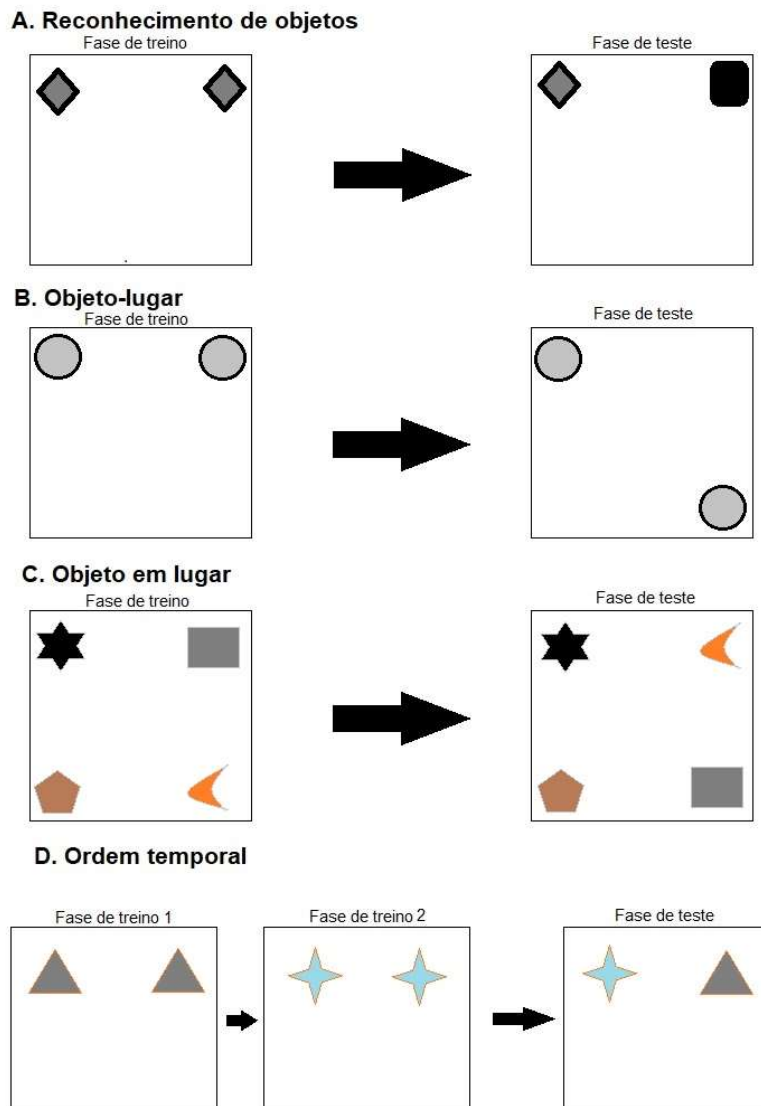
Para roedores e primatas não-humanos (PNH), tarefas relacionadas à escolha diferente do modelo são mais utilizadas, pois estes têm uma tendência natural em explorar estímulos novos que itens já mais familiares. Roedores, no entanto, tendem a explorar mais a partir de estímulos olfativos, enquanto primatas exploram mais visualmente (STERN e HASSELMO, 2009). Uma das limitações do teste de DNMS é que os participantes têm um tempo limitado para escolher sua resposta, de modo que sujeitos mais atentos poderão ter um desempenho melhor que sujeitos menos atentos, o que deixa a tarefa suscetível a um viés relacionado à atenção (LACREUSE e cols, 2013). Além disso, para muitos pesquisadores, essa tarefa na realidade avalia uma memória de trabalho, porque o animal aprende uma regra (que é a escolha de acordo ou diferente do modelo) de acordo com o treinamento, que é feito utilizando-se recompensas alimentares (DUDCHENKO, 2004). O reforço alimentar também pode ser um outro viés, pois (1) a expectativa de recompensa age em circuitos neurais (especialmente na amígdala) que podem influenciar a memória (SAVAGE e RAMOS, 2009), e (2) tarefas que incluem reforço não conseguem separar os efeitos de elementos extrínsecos ao tratamento como fome, resposta a estresse e sensibilidade à dor na memória sendo avaliada (BLASER e HEYSER, 2015).

Considerando a dificuldade do uso do teste de DNMS em modelos murinos, ENNACEUR e DELACOUR, em 1988, desenvolveram um teste comportamental baseado na tendência natural explorativa dos roedores mencionada acima. Essa tarefa, diferentemente dos testes de DMS e DNMS, não necessita de treinamento

prévio e não requer um reforço. Atualmente conhecido como o teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos (REO), ele consiste em uma fase inicial de treino e uma de teste. Na fase de treino, o animal é apresentado a dois objetos idênticos, e pode explorá-los livremente por um determinado tempo. Depois de um intervalo pré-estabelecido (que pode variar de minutos a várias horas), o animal é confrontado com dois objetos, podendo explorar ambos livremente. Um é idêntico ao que ele vira previamente, enquanto o outro objeto é novo. Então, um *Índice de Discriminação* é calculado a partir do tempo de exploração do objeto novo, o tempo de exploração do objeto familiar e o tempo total de exploração dos objetos.

Após o desenvolvimento do teste REO, outros procedimentos surgiram a partir dele, com a finalidade de explorar mecanismos neurais específicos de diferentes aspectos desse tipo de memória, como Reconhecimento Objeto-Lugar (ROL) e Reconhecimento de Ordem Temporal (Figura 1.2). Ainda existem outras variações, como o reconhecimento do objeto-contexto (DIX e AGGLETON, 1999), reconhecimento de objeto, local e contexto (EACOTT e NORMAN, 2004), entre outras. Quanto mais componentes se adiciona à avaliação do reconhecimento, mais complexa se torna a tarefa.

Atualmente, o teste REO é amplamente utilizado para investigar alterações na memória de reconhecimento, devido ao fato de ser um procedimento de baixo custo, não necessitar de uma motivação externa, recompensa ou punição, o treino e o teste poderem ser realizados em curtos espaços de tempo e a possibilidade de analisar facilmente diversos comportamentos, como atividade locomotora, reatividade à novidade, aprendizado, etc. (AMEEN-ALI e cols., 2015; KINNAVANE e cols., 2015). Essas características se mostram vantajosas pois possibilitam testar tratamentos que afetam as respostas sensoriais, motoras e motivacionais, além de serem mais facilmente transponíveis para humanos, pois em humanos a memória de reconhecimento geralmente não é testada em condições de restrição ou punição (ENNACEUR, 2010).



**Figura 1.2.** Diagrama dos quatro principais tipos de tarefas de reconhecimento. (A) teste REO, (B) teste ROL, (C) reconhecimento do objeto em lugar e (D) reconhecimento de ordem temporal.

Diferentes estudos têm indicado a importância do córtex perirrinal para o teste REO, já que essa estrutura está relacionada à identificação de objetos (LEE e cols., 2005; BUSSEY e SAKSIDA, 2005) e o aprendizado associativo objeto A x objeto B (BUCKLEY e GAFFAN, 1997). Lesões no córtex perirrinal também estão associadas a déficits no teste de objeto-em-lugar (BARKER e cols, 2007; JO e LEE, 2010), provavelmente desempenhando um papel na percepção do objeto e também na memória dele (WINTERS e cols, 2004). Já o hipocampo tem papel importante nos

testes de ROL, objeto-em-lugar e de ordem temporal (também chamado de recência), provavelmente devido ao fato de neurônios hipocampais responderem à localização de objetos (MULLER e STEAD, 1996), e sub-regiões do hipocampo contribuírem para a informação temporal de uma memória (HOGE e KESNER, 2007). Em primatas, o córtex pré-frontal medial tem papel importante na própria discriminação entre novidade e familiaridade (MILLER e cols, 1996; XIANG e BROWN, 2004) e lesões nesta área induzem déficits em tarefas REO em roedores (WARBURTON e BROWN, 2015). Além disso, ele também parece ter participação na tarefa de objeto-em-lugar (BARKER e cols, 2007) e no reconhecimento de ordem temporal (HANNESSON e cols, 2004). Lesões no tálamo parecem provocar os mesmos déficits que lesões no córtex pré-frontal (WARBURTON e BROWN, 2015).

Apesar de ter sido inicialmente desenvolvida para roedores, o teste de REO e suas variações já foram adaptados para outros animais, como por exemplo: peixes-zebra (MAY e cols., 2016), cachorros (CALLAHAN e cols., 2000), porcos (KORNUM e cols., 2007) e recentemente foi transposta para PNH (MELAMED e cols., 2017<sup>a,b</sup>; VANNUCHI e cols., 2020).

### **1.5. Calitriquídeos como modelo animal**

Modelos animais vêm sendo utilizados para investigação de fenômenos fisiológicos, patologias e desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas desde o século XIX (BERNARD, 1865), tendo em vista as limitações de estudos em humanos, que podem envolver aspectos éticos ou do próprio estado do sujeito experimental (em casos de doenças, tratamentos, etc.; SALÉN, 1994; HART, 1998). No entanto, pesquisas em animais têm sido alvo de diversas críticas, especialmente relacionadas à falta de translação de dados para humanos (HACKAM e REDELMEIER, 2006).

Os modelos animais mais empregados na pesquisa na área de neurociências têm sido ratos e camundongos, devido ao baixo custo de aquisição e manutenção em cativeiro, à sua facilidade na manipulação, administração de substâncias, manutenção

de grupos e linhagens, e disponibilidade de técnicas de manipulação genética (ELLENBROEK e YOUN, 2016). Além disso roedores são filogeneticamente mais próximos ao homem do que vários outros modelos de não-mamíferos (p.ex., peixes) e isso torna mais válida a comparação de comportamentos e efeitos fisiológicos com seres humanos. Entretanto, mesmo dentro do grupo dos mamíferos, a pesquisa com outros modelos animais tem avançado, e estudos com PNH têm se mostrado valiosos por conta das maiores similaridades com humanos em termos de comportamento social, fisiologia, anatomia e genética. A organização do cérebro dos PNH, especialmente o prosencéfalo, se aproxima do cérebro humano mais do que roedores e outros modelos animais, e sua alta capacidade de plasticidade neural faz com que estudos com aprendizado sejam mais próximos às condições vistas no homem (KING e cols., 1988). Deste modo, investigar estruturas, vias neurais e o próprio comportamento nestes animais podem ajudar a melhor compreender esses aspectos também no homem.

Historicamente, PNH do Velho Mundo, como o macaco *rhesus* (*Macaca mulata*), japonês (*Macaca fuscata*), cinomolgo (*Macaca fascicularis*), entre outros, têm sido mais utilizados em pesquisas biomédicas. No entanto, os custos de manutenção (habitação e alimentação) destes animais em cativeiro é grande, além de sua reprodução e maturação não ser rápida e, por estes motivos, não ser fácil fazer pesquisa com muitos indivíduos. Ademais, a pressão ética contra o estudo experimental com animais tão próximos ao homem tem crescido nos últimos anos.

Uma alternativa para tais dificuldades seria o uso de espécies de PNH do Novo Mundo, como por exemplo o mico (*Callithrix sp.*). A família Callitrichidae é uma família de PNH neotropicais arbóreos, de pequeno porte, que costumam viver em pequenos grupos territoriais, de 2 a 8 animais, e produzem regularmente gêmeos dizigóticos (RYLANDS e MITTERMEIER, 2009). O gênero *Callithrix* compreende micos endêmicos do Brasil, que ocorrem principalmente na Mata Atlântica. Algumas espécies

podem ocorrer também no Cerrado e na Caatinga (*Callithrix penicillata* e *Callithrix jacchus*, respectivamente; RYLANDS e cols., 2009).

O gênero *Callithrix* tem se tornado um importante primata utilizado em pesquisas comportamentais e biomédicas, por conta de seu tamanho corporal (em média 300-400 g), fácil manipulação e similaridades com humanos em termos de comportamentos sociais e relação de parentes e prole (ABBOTT e cols., 2003). Além disso, esses animais atingem a maturidade sexual com aproximadamente 1 ano de vida, têm um período gestacional de aproximadamente 145 dias em média e intervalo entre gestações de 160 dias, o que configura uma alta taxa reprodutiva (TARDIF e cols., 2003).

Considerando que os calitriquídeos têm um padrão cerebral (número de neurônio x massa cerebral) compartilhado pelos demais primatas (HERCULANO-HOUZEL e cols, 2007) e todas as características citadas acima, os micos configuram bons modelos animais em estudos que investigam aspectos neurológicos e procuram translacionar os resultados para humanos. Além disso, esses animais são menores e de mais fácil manuseio e transporte, além de ter tempos gestacionais mais curtos (WARD e VALLENDER, 2012). Tais características fazem desses animais um ótimo modelo animal para pesquisas em neurociências, incluindo a investigação dos efeitos de um fator ecologicamente relevante (estresse) sobre a cognição (vide item 1.5 para mais detalhes).

De fato, espécies do gênero *Callithrix* têm sido empregadas em diversos tipos de pesquisas, como por exemplo em estudos sobre a genética do quimerismo (SWEENEY e cols., 2012), o efeito de determinantes sociais na reprodução (BAKER e cols, 1999), farmacologia (BARROS e TOMAZ., 2002), medo e ansiedade (BARROS e cols., 2000; BARROS e TOMAZ, 2002) envelhecimento (TARDIF e cols., 2011), dependência (CAVALCANTE e cols., 2011; MELAMED e cols., 2017<sup>a,b</sup>) e cognição. Para esse último, já foram realizados estudos sobre memória espacial (MACDONALD e cols., 1994; PLATT e cols., 1996), memória operacional (SPINELLI e cols., 2004;



TSUJIMOTO e SAWAGUCHI, 2005) e também discriminação visual de objetos (LACREUSE e cols., 2013; MUNGER e cols., 2017). Após sequenciamento do genoma do *Callithrix jacchus* (SEQUENCING, 2014), o desenvolvimento de animais transgênicos (SASAKI e cols., 2009) e a indução de células pluripotentes a partir de células fetais do fígado dos mesmos (TOMIOKA e cols., 2010), pesquisas com este modelo animal tendem a aumentar.

O *Callithrix penicillata*, conhecido como mico-de-tufo-preto ou mico-estrela e que foi empregado como modelo animal no presente trabalho, é uma espécie predominante no cerrado. Essa espécie não está em risco de extinção, sendo considerado até mesmo uma espécie invasora em muitas áreas do Brasil (DE MORAIS e cols., 2008).

#### **1.6. Calitriquídeos e a resposta ao estresse**

Os estressores mais comuns utilizados em pesquisas com calitriquídeos são isolamento social, realocação de viveiro (sendo também utilizados em conjunto; JOHNSON e cols. 1996), confronto com predador ou um coespecífico (CILIA e PIPER, 1997), falta de cuidado parental (BIRNIE e cols., 2013), interação com humanos (CROSS e cols., 2004) e contenção (BOERE e cols., 2003 e 2005; PEREIRA e cols., 2019). Este último é um método simples, de baixo-custo, pouco invasivo e reversível, amplamente utilizado para avaliar os efeitos do estresse em animais (BUYNITSKY e MOSTOFISKY, 2009). A contenção consiste na restrição do movimento dos membros ou na diminuição do espaço para movimentação e locomoção, e foi o estressor empregado nos experimentos deste trabalho.

As pesquisas que têm utilizado calitriquídeos e as metodologias citadas acima encontraram diversas consequências fisiológicas e comportamentais em resposta ao estresse. O'BYRNE e cols. (1988) descreveram uma menor secreção do hormônio luteinizante (LH) em fêmeas de *Callithrix jacchus* submetidas a um estresse de contenção. Outros estudos corroboraram esse efeito prejudicial do estresse na

reprodução de micos (CUI, 1996; JOHNSON e cols.,1991). JOHNSON e cols. (1996) identificaram que um estresse social, como o isolamento e a formação de novos pares/grupos, ativa o eixo HPA e induz mudanças comportamentais, como hiperlocomoção, hiperfagia e *crouching* (ficar em posição agachada e imóvel). O estresse de contenção pode gerar alterações fisiológicas como o aumento da atividade do eixo HPA, imunossupressão, prejuízo na memória e falta de motivação (GLAVIN e cols., 1994). No entanto, esses efeitos da contenção se restringem ao estresse agudo, pois quando ocorre de forma recorrente, há uma amenização da ativação do eixo HPA (PARAMASTRI e cols., 2007).

Além dos comportamentos já citados acima, outros parâmetros também podem ser indicativos de estresse em calitriquídeos. Por exemplo, BASSETT e cols. (2003) utilizaram locomoção, coçar e marcação-de-cheiro. BARROS e cols. (2004) utilizaram como parâmetro: locomoção, exploração e vocalização “long call”. NORSCIA e PALAGI (2011) indicaram os comportamentos de coçar e apresentar menos interações de brincadeira com outros indivíduos.

É necessário ter cautela quando apenas parâmetros comportamentais ou fisiológicos são avaliados isoladamente, pois o primeiro nem sempre é uma indicação clara das condições fisiológicas do sujeito (HENNESSY e cols, 2009). NORCROSS e NEWMAN (1999) separaram casais de micos e observaram um aumento no cortisol e em vocalizações indicativas de estresse, mas a resposta comportamental veio antes do aumento hormonal. GALVÃO-COELHO e cols. (2012) também relataram que *C. jacchus* machos mantiveram respostas comportamentais a um estresse de isolamento e realocação de viveiro, mesmo depois que as respostas hormonais atenuaram devido ao convívio com um novo conspecífico. O presente estudo baseou-se no estudo de PEREIRA e cols. (2019) para considerar que há uma alteração fisiológica (elevação do cortisol) em indivíduos *C. penicillata* frente a um estresse agudo de contenção.

Visto que há uma vasta literatura sobre a resposta de calitriquídeos ao estresse, este modelo animal parece ser propício para o estudo dos efeitos que esse

tipo de evento pode induzir em diversas funções de um indivíduo, incluindo funções cognitivas. SOUSA e cols. (2015) avaliaram a memória operacional de *C. jacchus* expostos a um estresse crônico e agudo, mas não há relatos (publicados) dos efeitos de um estresse agudo na memória de reconhecimento em indivíduos do gênero *Callithrix*.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivo geral**

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar o efeito de um episódio agudo de estresse de contenção no desempenho de micos-estrela (*Callithrix penicillata*) adultos em um teste comportamental para avaliação da memória de reconhecimento.

### **2.2. Objetivos específicos**

O presente estudo visou, especificamente:

- a) determinar se micos-estrela adultos são capazes de realizar a tarefa de reconhecimento espontâneo de objetos (REO), empregando um intervalo de retenção de 6 h entre a sessão treino e teste;
- b) analisar o desempenho de micos-estrela adultos nesse mesmo teste de REO após serem submetidos a um evento agudo de 15 min de estresse de contenção realizado imediatamente antes da sessão treino (fase de aquisição da informação).
- c) avaliar o desempenho dos micos-estrela adultos nesse mesmo teste de memória, após serem submetidos a um evento agudo de 15 min de estresse de contenção aplicado imediatamente depois da sessão treino (fase de consolidação da informação); e
- d) avaliar o desempenho dos micos-estrela adultos nesse mesmo teste de memória, após serem submetidos a um evento agudo de 15 min de estresse de contenção realizado imediatamente antes da sessão teste (fase de evocação da informação).

### 3. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

IZQUIERDO (2002) afirma que “somos aquilo que recordamos”. Entende-se por esta linha de pensamento que a memória é uma função importante do SNC, responsável pelo processamento de informações e, a partir deste, planejar comportamentos futuros baseados em experiências passadas. Déficits nessa função acarretam diversos prejuízos aos indivíduos acometidos, tanto em aspectos clínicos, sociais, econômicos, entre outros.

Sabendo que o estresse é um evento inevitável na vida de um organismo, mas tendo em vista que ele é citado como a causa de diversos problemas físicos e psicológicos nos seres humanos (LUPIEN e LEPAGE, 2001), é importante termos uma melhor elucidação de como essa resposta neurofisiológica afeta diferentes aspectos da cognição, como a memória e o aprendizado.

Já é evidente que eventos emocionais ou estressantes podem criar memórias traumáticas e até mesmo levar ao desenvolvimento de doenças, como o transtorno do estresse pós-traumático ou transtorno depressivo maior (ROOZENDAAL e cols., 2009). Além disso, o estresse durante fases da vida de um indivíduo pode levar a dificuldades futuras de aprendizado (TSOORY e RICHTER-LEVIN, 2006). Todavia, ainda existe na literatura muitas controvérsias em termos do tipo de influência que o estresse gera sobre a memória, visto que efeitos específicos do estresse vão depender de fatores como a tarefa cognitiva empregada, a fase de memória avaliada, o tipo específico de estressor e sua duração e ainda características do sujeito.

Portanto, para melhor compreender como o estresse pode alterar a qualidade de vida de um indivíduo, faz-se necessário investigar os possíveis efeitos do estresse na memória, identificando: (1) quais sistemas de memória são afetados pelo estresse; (2) qual fase da memória é prejudicada ou favorecida; e (3) como diferentes indivíduos respondem a um mesmo estressor.

Neste trabalho, o protocolo de estresse utilizado foi o estresse agudo de contenção, que é amplamente utilizado em pesquisas que investigam respostas ao

estresse e já é capaz de exercer efeitos na memória declarativa em questão de poucos minutos, atendendo aos objetivos do presente trabalho. Em um estudo anterior, verificou-se a eficácia deste método para elevar os níveis de cortisol na espécie testada neste trabalho (PEREIRA e cols., 2019).

Estudos com PNH são especialmente importantes neste contexto de estresse e cognição, pois eles possibilitam a análise de respostas fisiológicas e comportamentais mais passíveis de comparação com humanos.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1. Aspectos éticos**

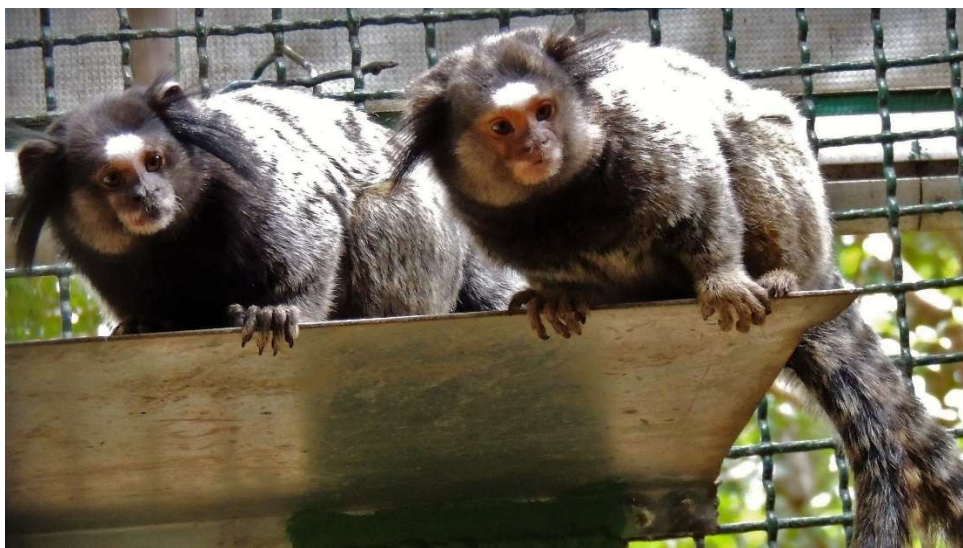
Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília (no. 114/2017; Anexo 1). Todos os experimentos foram realizados de acordo com as diretrizes para o cuidado e uso de animais de laboratório do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e seguiram a regulamentação brasileira para o uso científico de animais da Lei Arouca (nº 11.794/2008), que regulariza o uso científico de animais no Brasil. Além disso, o estudo foi realizado com animais mantidos no Centro de Primatologia da UnB (CPUUnB), o qual é credenciado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) como criadouro de primatas para fins científicos (registro no. 1/53/1999/000006-2). Todos os animais foram acompanhados por médicos veterinários durante e após os experimentos realizados no presente estudo.

### **4.2. Sujeitos e condições gerais de alojamento**

Para os procedimentos experimentais foi utilizado um total de 24 indivíduos adultos (>18 meses), machos e fêmeas, da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*; Figura 4.1). No início dos experimentos, os animais pesavam em média  $348 \pm 17$  g (média  $\pm$  erro padrão da média [epm]; variação 270 - 460 g). Os micos do CPUUnB são implantados subcutaneamente com um microchip de radiofrequência (134 kHz) contendo um código de identificação de 15 dígitos (BioThermo 985 LifeChip, Destron Fearing, South St. Paul, EUA). O microchip permite que os sujeitos sejam identificados via um leitor universal manual portátil (HS9002B Pocket Reader, Destron Fearing, São Caetano do Sul, Brasil).

Todos os sujeitos utilizados faziam parte do plantel permanente do CPUUnB, tendo sido repassados pelo IBAMA ou nascidos no próprio Centro. Embora o ciclo

estral não tenha sido controlado ou avaliado, fêmeas prenhas ou com prole recente não foram incluídas nesse estudo.



**Figura 4.1.** Fotografia de indivíduos da espécie mico-estrela (*Callithrix penicillata*) pertencentes ao plantel do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília. (Foto: Fernando Magela)

Os animais foram alojados, aos pares ou grupos mistos/familiares de 3-4 indivíduos da mesma espécie, no Pavilhão de Calitriquídeos do CPUnB (Figura 4.2). Esse pavilhão era composto por 24 viveiros dispostos em dois corredores paralelos, separados por um corredor central de segurança. Os animais não tinham acesso a esse corredor central, apenas ao seu respectivo viveiro. Um telhado cobria dois terços da extensão de cada viveiro e todo o corredor central, sendo feito de telha em fibrocimento opaca e ondulada, intercalada com telha de acrílico translúcida e ondulada. Assim, os animais foram mantidos sob condições naturais de temperatura, umidade e luminosidade (Figura 4.2).

Os animais foram alojados em viveiros padrões para calitriquídeos do CPUnB (2 x 1 x 2 m; C x L x A). Cada viveiro tinha duas paredes (laterais) de alvenaria e duas de tela metálica (frente e fundo; malha de 2,5 cm; Figura 4.2). A tela frontal do viveiro continha uma porta de acesso para o corredor central de segurança, enquanto que a tela metálica ao fundo proporcionava aos animais contato com o exterior do pavilhão. O teto do viveiro também era de tela metálica e o chão de cimento queimado. Cada



viveiro foi provido com uma caixa-ninho de bambu suspensa do teto, poleiros de madeira fixados em diferentes alturas, um recipiente fixado na tela frontal para recebimento de alimentos frescos e um tubo de PVC pendurado do teto para ração seca. Um sistema de fornecimento de água estava presente em cada viveiro, o qual podia ser acionado manualmente pelos próprios micos.



**Figura 4.2.** Fotografias do Pavilhão de Calitriquídeos do Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, onde os sujeitos experimentais (micos) foram alojados. (A) e (B) Vista externa dos viveiros; (C) Vista interna do corredor de segurança; (D) Vista de um viveiro a partir do corredor central de segurança. (Fotos (A) e (B): Marília Barros. Fotos (C) e (D): Fernando Magela)

Alimentos frescos foram fornecidos diariamente às 07:00 h e as sobras retiradas às 17:00 h. A dieta variou entre pedaços de frutas, legumes e verduras, por vezes acrescido de ovos cozidos, sementes/nozes, larvas de tenébrio e/ou peito de frango cozido. Além disso, água e ração para primatas estavam disponíveis *ad libitum*. As condições descritas para alojamento e manutenção dos animais estão de acordo com as normas e regulamentos do IBAMA.

### 4.3. Aparato experimental

O aparato utilizado foi o Campo Aberto (CA), consistindo em uma arena retangular (130 x 75 x 40 cm; C x L x A) suspensa a 1 m do chão via um suporte metálico (Figura 4.3). O CA tinha um chão de tela metálica (malha de 2,5 cm), três paredes de chapa de alumínio, e uma quarta parede e o teto de vidro transparente de aproximadamente 4mm de espessura. O teto e a parede de vidro possibilitaram a visualização do sujeito dentro do aparato. Uma porta do tipo-guilhotina, localizada centralmente na parede de metal oposta à parede de vidro, serviu de ponto de entrada e saída do CA. Para facilitar o rastreamento dos micos dentro do aparato durante as sessões experimentais, o CA e o chão logo abaixo dele foram pintados de branco, contrastando com a coloração mais escura dos micos (Figura 4.3).

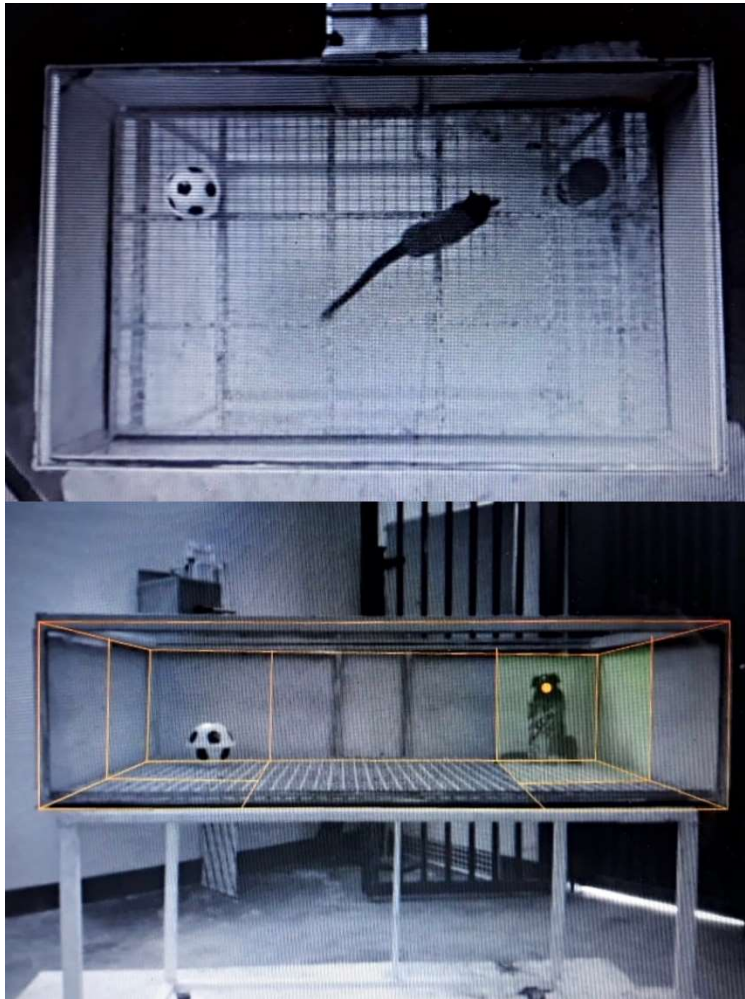


**Figura 4.3.** Fotografias do aparato do Campo Aberto utilizado nas sessões experimentais. À *Esquerda*: Vista lateral do aparato, com a caixa-transporte acoplada diretamente em frente a porta do tipo-guilhotina e evidenciando o teto e a parede (ao fundo) de vidro transparente; À *Direita*: Vista superior do aparato, evidenciando as três paredes de chapa de alumínio, o piso de tela metálica, e a porta do tipo-guilhotina. (Foto: Clarissa Vannuchi).

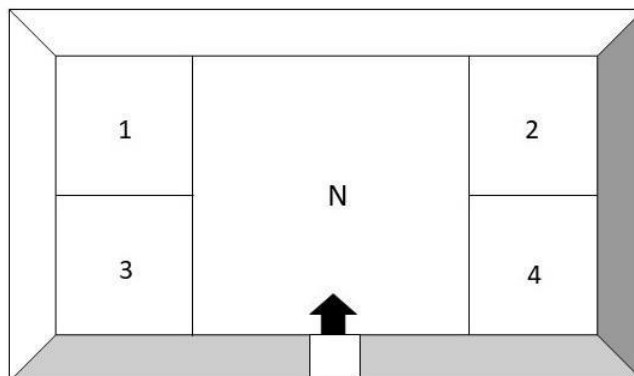
O aparato foi instalado em uma sala de experimento, localizada a aproximadamente 50 m do pavilhão de moradia dos animais. Portanto, cada sujeito foi levado do seu viveiro de moradia até a sala de experimento, e depois de volta a seu viveiro, via uma caixa-transporte (23 x 20 x 35 cm; C X L x A). Essa caixa, confeccionada em alumínio, era acoplada diretamente em frente à porta do tipo-guilhotina do CA (Figura 4.3).

A observação das sessões experimentais foi realizada via um circuito fechado de câmeras. Esse sistema consistiu em duas câmeras digitais (Logitech C920, Brasil), uma foi posicionada 1,5 m acima do aparato (vista superior; Figura 4.4) e a outra estava localizada 1,5 m em frente à parede de vidro do aparato (vista lateral; Figura 4.4). Ambas as câmeras foram conectadas a um computador portátil (*laptop*) localizado em uma sala adjacente à sala de experimento, fazendo com que o observador e o sujeito não tivessem contato direto durante as sessões experimentais.

A observação e o registro dos comportamentos foram realizados no programa *AnyMaze* (Stoelting Co., EUA) por apenas um experimentador em todos os experimentos. Nesse programa, o aparato foi dividido virtualmente em cinco quadrantes: quatro quadrantes externos e um quadrante central neutro (Figura 4.5). Os quadrantes externos tinham as mesmas dimensões (37,5 x 37,5 cm; C x A), correspondendo aos cantos do CA. Os mesmos foram utilizados como possíveis locais para posicionamento de objetos durante as sessões experimentais (vide item 4.4). O quadrante central (55 x 37,5 cm; C x A) foi considerado como sendo uma zona neutra, e assim neste local não foi colocado nenhum objeto durante os experimentos descritos abaixo.



**Figura 4.4.** Fotografias do aparato do Campo Aberto durante uma sessão experimental com um sujeito. *Imagem Superior:* vista da câmera de filmagem superior. *Imagem inferior:* vista da câmera de filmagem lateral. (Foto: André W.C. de Oliveira).



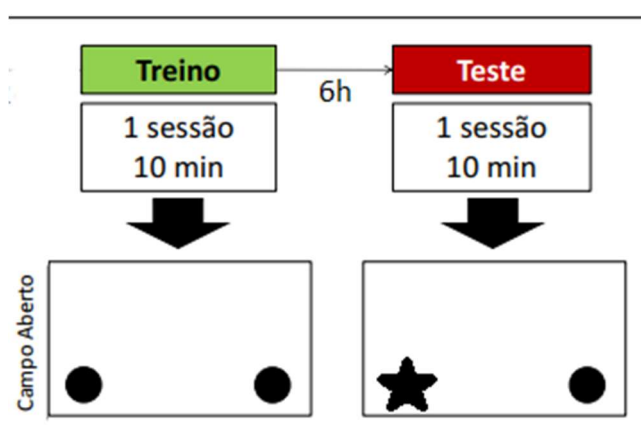
**Figura 4.5.** Representação esquemática do aparato do Campo Aberto utilizado durante as sessões experimentais, indicando sua divisão pelo programa AnyMaze em cinco quadrantes: quatro quadrantes externos com as mesmas dimensões (números 1-4) e um quadrante central maior (N). A seta indica a porta do tipo-guilhotina por onde os animais entram e saíam do aparato.



#### 4.4. Teste de Reconhecimento Espontâneo de Objetos

Em todos os experimentos realizados ao longo do presente estudo, a memória de reconhecimento dos sujeitos foi avaliada usando o teste de *Reconhecimento Espontâneo de Objetos* (REO), originalmente desenvolvido para roedores (ENNACEUR e cols., 1996). Uma vertente desse procedimento foi recentemente adaptada para primatas não-humanos (micos-estrela; teste de Reconhecimento Objeto-Lugar; MELAMED e cols., 2017a,b).

O teste de REO consistiu em duas sessões experimentais: uma sessão treino e uma sessão teste (Figura 4.6). Na primeira, duas cópias exatas de um mesmo objeto foram colocadas no chão do aparato do CA, cada exemplar em um quadrante externo distinto estabelecido de maneira aleatória. Portanto, para cada sujeito, a localização específica dos objetos dentro do aparato variou aleatoriamente. O sujeito pôde então explorar livremente o CA e os objetos durante 10 min. Após um intervalo de retenção de 6 h, o sujeito foi recolocado no mesmo aparato para realização da sessão teste. Para essa sessão, também foram usados dois objetos. Um dos objetos foi uma cópia exata do item visto anteriormente na sessão treino (objeto familiar), sendo esse objeto colocado aleatoriamente em um dos dois quadrantes anteriormente ocupados. No outro quadrante, foi colocado um item desconhecido (objeto novo). Durante a sessão teste, o sujeito também pôde explorar livremente o CA e os objetos por 10 min.



**Figura 4.6.** Representação esquemática do teste de *Reconhecimento Espontâneo de Objeto* usado no presente estudo. Na sessão treino, os círculos representam objeto estímulo, estando posicionados em uma das possíveis configurações dentro do Campo Aberto. O local de posicionamento dos objetos variou entre os sujeitos. Na sessão teste, um dos objetos foi substituído por um item novo (estrela).

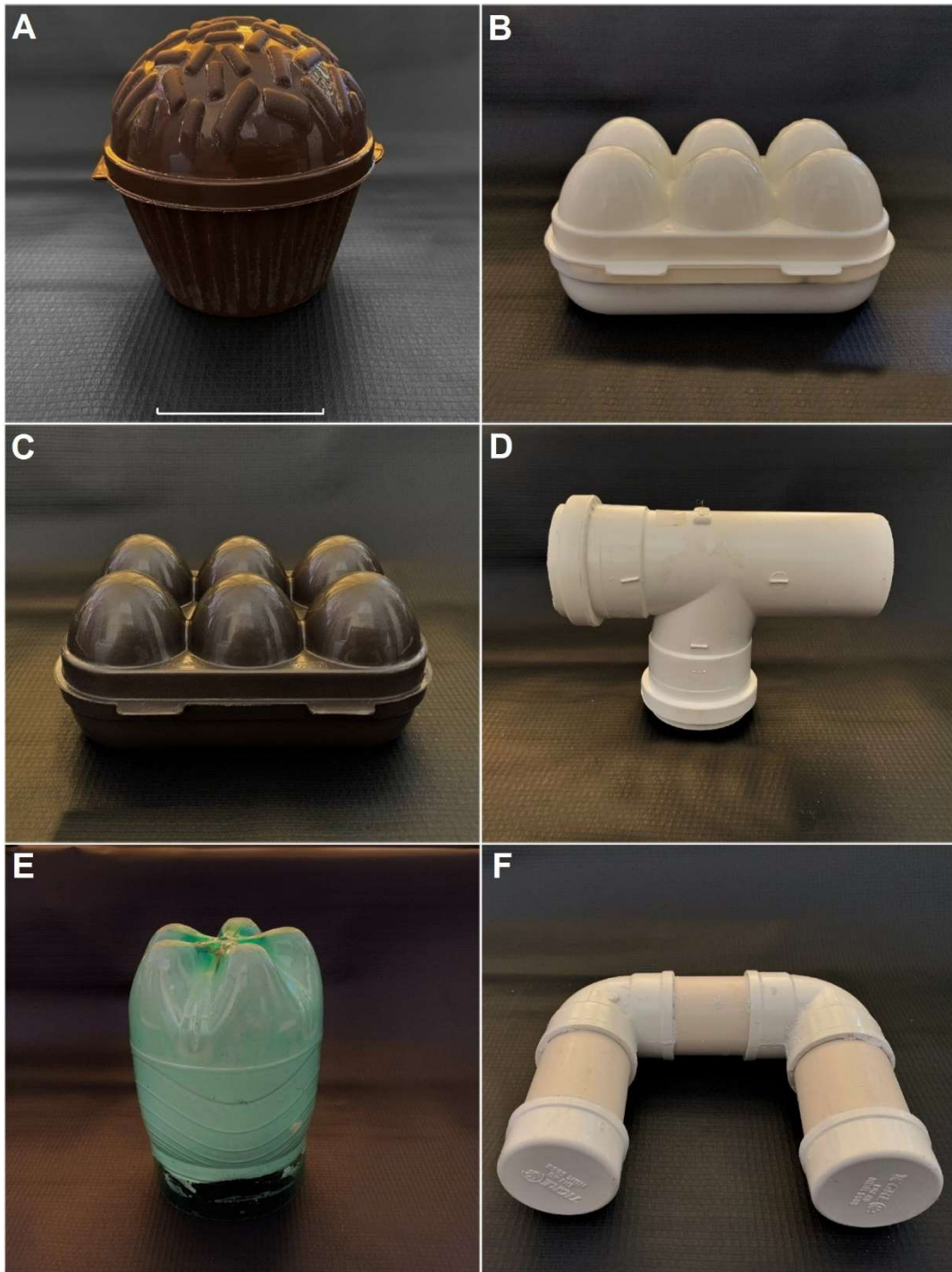
#### 4.5. Objetos usados no teste de REO

Para cada experimento realizado empregando o teste de REO (vide item 4.6) foram utilizados conjuntos distintos de objetos, que variaram entre as etapas do estudo (vide tabela I no Anexo 2). No total foram usados três conjuntos diferentes de objeto. Cada conjunto de objeto consistiu em duas cópias exatas de dois objetos diferentes.

Todos os objetos consistiram em estímulos neutros e etologicamente irrelevantes para os animais. Os sujeitos não haviam tido contato prévio com os objetos utilizados. Além disso, todos os objetos foram preenchidos com gesso para que os animais não pudessem erguer ou deslocar os objetos.

Os objetos usados foram (Figura 4.7):

- A. um recipiente de plástico marrom (tipo *tupperware*) em formato de *cupcake* (10 cm de diâmetro x 9,5 cm de altura);
- B. um porta-ovos de plástico bege com capacidade para seis ovos (13 cm de comprimento x 8 cm de largura x 7 cm de altura);
- C. um porta-ovos de plástico cinza com capacidade para 6 ovos (13 cm de comprimento x 8 cm de largura x 7 cm de altura);
- D. um cano de PVC branco no formato da letra “T” (15 cm de comprimento x 6,5 cm de diâmetro na base x 10,5 cm de altura);
- E. garrafa plástica verde de refrigerante cortada ao meio (9 cm de diâmetro x 14 cm de altura);
- F. um cano de PVC branco no formato da letra “C” (15 cm de comprimento x 12 cm de largura x 4,5 de altura).



**Figura 4.7.** Fotografia dos objetos utilizados como estímulo no teste de REO. Os objetos estão representados aqui conforme foram posicionados no aparato do Campo Aberto durante as sessões experimentais. Os pares utilizados em cada experimento realizado foram: objetos A e B; objetos C e D; e objetos E e F. Linha branca em (A) representa a escala = 10 cm.

#### 4.6. Procedimento experimental

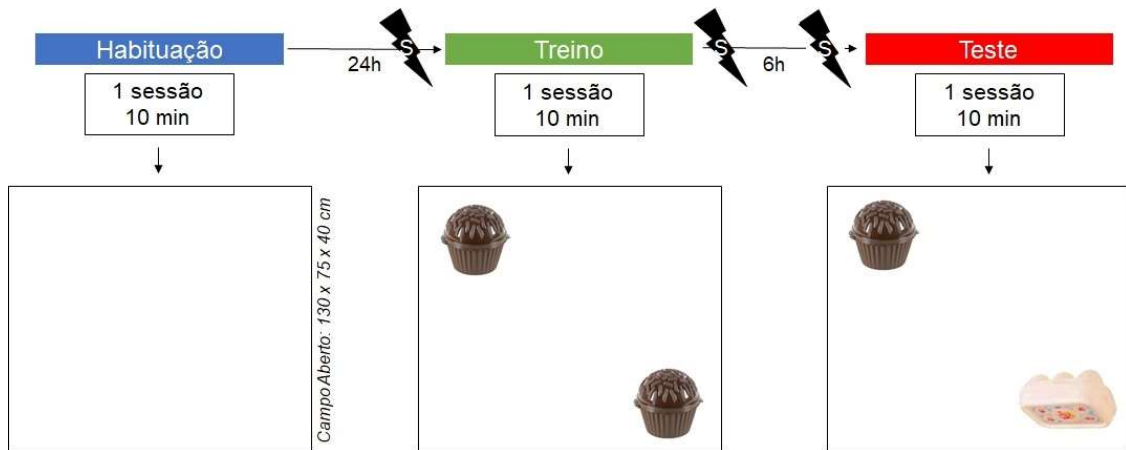
Por questões de planejamento metodológico, o presente estudo foi realizado em três etapas, separadas em intervalos de pelo menos dois meses. As duas

primeiras etapas tiveram animais estressados previamente ao treino, após o treino e que não passaram pelo protocolo de estresse (grupo controle). Na terceira e última etapa foram incluídos animais submetidos ao estresse previamente ao teste (Tabela I no Anexo 2). Em cada uma das etapas, foram utilizados pares distintos de objetos, e para cada animal os objetos novo e familiar, assim como os quadrantes nos quais eles seriam posicionados no campo aberto, foram designados de maneira aleatória.

Para fins didáticos, os dados de todas as etapas foram divididas e serão aqui apresentados em três experimentos. Em cada um desses experimentos, foi avaliado o efeito de um episódio agudo de estresse de contenção em uma das diferentes fases da memória: na aquisição (Experimento 1), na consolidação (Experimento 2) e na evocação (Experimento 3).

Em todos os experimentos, cada sujeito foi primeiramente submetido a uma sessão de habituação de 10 min ao aparato do CA (Figura 4.8). Durante essa sessão, o sujeito pôde explorar livremente todo o aparato, mas na ausência de qualquer objeto. Essa sessão de habituação foi realizada entre às 08:00 e 12:00 h. No dia seguinte, cada sujeito foi submetido ao teste de REO, conforme descrito acima (vide item 4.4), havendo, portanto, uma sessão treino de 10 min e uma sessão teste de 10 min, realizadas em um intervalo de 6 h (Figura 4.8). Assim, as sessões treino foram realizadas no período da manhã (08:00 às 12:00 h) e as sessões teste no período vespertino (14:00 às 17:00 h).





**Figura 4.8.** Representação esquemática do procedimento empregado nos três experimentos realizados, consistindo em uma sessão de habituação, seguida após um intervalo de 24 h pelo teste de REO (sessões treino e teste). O intervalo entre as sessões treino e teste foi de 6 h. Para o Experimento 1, o evento agudo de estresse de contenção de 10 min na caixa-transporte foi realizado logo antes do treino, representado aqui pelo relâmpago (S). Para o Experimento 2 o estresse foi realizado imediatamente após o treino e para o Experimento 3 foi logo antes do teste. Os objetos que estão representados dentro da arena retangular do Campo Aberto correspondem apenas aos objetos usados no Experimento 1.

Para realização do teste de REO, os animais de cada experimento foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais: estresse ou controle. Os animais do grupo de estresse foram submetidos a um único evento de estresse de contenção antes da sessão treino (Experimento 1), imediatamente após a sessão treino (Experimento 2) ou imediatamente antes da sessão teste (Experimento 3) (Figura 4.8). Independente do momento em que ocorreu, esse episódio de estresse consistiu em colocar o sujeito na caixa-transporte, descrita anteriormente (vide item 4.3), por um período de 15 min. Durante esse intervalo, a caixa-transporte permaneceu na mesma sala de experimento onde estava localizado o aparato do CA. Assim, durante o período de contenção, o sujeito não teve contato visual ou olfativo com os demais membros do plantel de calitriquídeos do CPUUnB. Após período de estresse de contenção, o animal foi liberado na arena do CA dando início a sessão treino (Experimento 1) ou teste (Experimento 3), ou foi levado de volta ao seu viveiro de moradia (Experimento 2), conforme o procedimento pré-estabelecido para cada experimento. Os animais pertencentes ao grupo controle não passaram por esse período de 15 min de contenção na caixa-transporte, e realizaram o teste REO conforme descrito no item 4.4.

Para todas as sessões realizadas, o sujeito foi capturado em seu viveiro de moradia por um experimentador treinado e com o auxílio de um puçá. Após a captura, conferiu-se a identificação do animal pelo seu microchip subcutâneo, usando uma leitura universal manual portátil (HS9002B Pocket Reader, Destron Fearing, São Caetano do Sul, Brasil). Então, o animal foi colocado na caixa-transporte e levado até a sala de experimento para realização da sessão experimental correspondente. Ao final da sessão, o mico foi levado de volta ao seu viveiro de moradia dentro da caixa-transporte. Após cada sessão, o aparato e os objetos utilizados foram higienizados com álcool 70%.

#### **4.6.1. Experimento 1: efeito do estresse pré-treino**

Nesse primeiro experimento foi avaliado o efeito de um episódio agudo de estresse de contenção, realizado imediatamente antes da sessão treino, no desempenho dos animais no teste de REO (Figura 4.8). Para tanto, doze animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos experimentais: controle e estresse (n=6/grupo). Todos os animais foram individualmente submetidos a sessão de habituação e ao teste de REO, descritos anteriormente. Contudo, nesse experimento, os animais do grupo de estresse só foram liberados no CA para a realização da sessão treino após terem permanecido por um período de 15 min na caixa-transporte. Já os animais do grupo controle foram liberados imediatamente no CA, dando início a sessão treino.

Os objetos utilizados nesse experimento foram o *tupperware* no formato de *cupcake* e o porta-ovos bege (vide descrição completa no item 4.5). Metade dos sujeitos foram treinados com o *tupperware* de *cupcake* (objeto familiar), sendo o porta-ovos bege o objeto novo na sessão teste. Para a outra metade, o porta-ovos bege foi usado no treino (objeto familiar), enquanto o *tupperware* de *cupcake* foi o objeto novo na sessão teste.

#### **4.6.2. Experimento 2: efeito do estresse pós-treino**

No segundo experimento foi avaliado o efeito de um episódio agudo de estresse de contenção, realizado imediatamente após a sessão treino, no desempenho dos animais no teste de REO (Figura 4.8). Aqui, 12 micos foram usados: seis no grupo controle e seis no grupo estresse. Ressalta-se que, com o intuito de reduzir o número total de animais usados no presente estudo, os sujeitos do grupo controle correspondem, na verdade, aos mesmos animais do grupo controle do Experimento 1. Tal medida foi possível considerando que o mesmo procedimento adotado no Experimento 1 também foi usado nesse experimento. Desta forma, os dados do grupo controle correspondem aos mesmos dados do experimento anterior.

Assim, os animais do grupo de estresse foram individualmente submetidos à sessão de habituação e ao teste de REO, descritos anteriormente. Porém, logo após a sessão treino desse experimento, os animais do grupo de estresse permaneceram na caixa-transporte por um período de 15 min. Somente após esse intervalo é que os mesmos foram levados de volta aos seus viveiros de moradia. Os animais do grupo controle, conforme já descrito no experimento anterior, foram levados de volta aos seus viveiros logo após o encerramento da sessão treino.

Os objetos utilizados aqui, para o grupo estresse, foram o cano de PVC branco no formato da letra “T” e a garrafa plástica verde de refrigerante cortada ao meio (vide descrição completa no item 4.5). Metade dos sujeitos foram treinados com o cano de PVC (objeto familiar), sendo a garrafa plástica o objeto novo na sessão teste. Para a outra metade, a garrafa plástica foi usada no treino (objeto familiar), enquanto o cano de PVC foi o objeto novo na sessão teste.

#### **4.6.3. Experimento 3: efeito do estresse pré-teste**

No último experimento foi avaliado o efeito de um episódio agudo de estresse de contenção, realizado imediatamente antes da sessão teste, no desempenho dos animais no teste de REO (Figura 4.8). Nesse experimento também foram utilizados 12

micos: seis no grupo controle e seis no grupo estresse. O grupo controle também correspondeu aqui aos mesmos animais e dados do grupo controle do Experimento 1.

Assim, os animais do grupo de estresse foram individualmente submetidos a mesma sessão de habituação e ao teste de REO, descritos anteriormente. Contudo, nesse experimento, os animais do grupo de estresse só foram liberados no CA para a realização da sessão teste após terem permanecido por um período de 15 min na caixa-transporte. Já os animais do grupo controle foram liberados imediatamente no CA, dando início a sessão teste.

Os objetos utilizados nesse experimento, para o grupo estresse, foram o cano de PVC branco no formato da letra “C” e o porta-ovos cinza (vide descrição completa no item 4.5). Metade dos sujeitos foram treinados com o cano de PVC (objeto familiar), sendo o porta-ovos cinza o objeto novo na sessão teste. Para a outra metade, o porta-ovos cinza foi usado no treino (objeto familiar), enquanto o cano de PVC foi o objeto novo na sessão teste.

#### **4.7. Registro e análise dos dados**

A observação das sessões experimentais e o registro dos comportamentos foram realizados usando o programa *AnyMaze* (Stoelting. Co., EUA). Um experimentador previamente treinado, com 95% de confiabilidade intra-observador dentro do grupo de pesquisa, registrou manualmente os seguintes comportamentos:

- 1) *Exploração do objeto* – tempo que o sujeito ficou em contato físico com o objeto utilizando as mãos, pés, nariz e boca, assim como os episódios de *head-cock* (movimento pendular da cabeça de um lado ao outro olhando para o objeto), olhar direto (orientação fixa e rápida da cabeça direcionado ao objeto) e monitoramento visual (movimentos lentos de varredura da cabeça direcionados ao objeto), uma

vez que micos possuem uma orientação predominantemente visual em resposta a estímulos em seu ambiente (FORSTER, 1995); e

- 2) *Locomoção* – tempo que o sujeito permaneceu em movimento por um período superior a 2 s.

Como descrito em DERE e cols. (2007), a ocorrência de uma memória de reconhecimento é evidenciada se, na sessão teste, o animal explorar significativamente mais o objeto novo do que o familiar, considerando que os micos exploram preferencialmente itens novos no seu ambiente (FORSTER, 1995), o que indicaria que o objeto familiar foi reconhecido. Mas, para minimizar a influência de diferenças inter-individuais no tempo de exploração de cada objeto, foi calculado o seguinte índice para a sessão teste, de acordo com ENNACEUR e DELACOUR (1988):

$$\text{Índice de Discriminação (ID)} = \frac{\text{Exploração Objeto Novo} - \text{Exploração Objeto Familiar}}{\text{Exploração Total dos Objetos}}$$

Um ID igual a zero indica que o animal explorou igualmente os dois objetos (ao acaso). Caso o ID seja significativamente maior do que zero, ele indica que o animal explorou mais o objeto novo, enquanto um ID significativamente negativo indica que o animal explorou mais o objeto familiar.

Além disso, também foi analisada a latência para a primeira exploração dos objetos na sessão teste, ou seja, quanto tempo levou, desde o início da sessão, para o indivíduo efetuar o primeiro contato exploratório físico ou visual com cada objeto. Tal parâmetro também pode ser visto como uma medida para avaliar a neofilia (KENDAL e cols., 2005).

Os resultados foram expressados como a média dos valores e o erro padrão da média ( $\pm$ epm) ou como a mediana e a amplitude interquartis. A segunda forma de

apresentação dos dados foi somente aplicada para os resultados de latência para a 1ª exploração.

#### 4.8. Análise estatística

Para cada um dos experimentos realizados, os dados foram analisados de modo a avaliar possíveis diferenças entre os grupos (estresse x controle) em termos de:

- 1) tempo de exploração do objeto novo vs. o objeto familiar na sessão teste;
- 2) latência para a primeira exploração na sessão teste;
- 3) tempo de exploração total dos objetos nas sessões treino vs. teste; e
- 4) locomoção nas sessões treino vs. teste.

Para cada análise indicada acima, os dados foram analisados usando o teste de Análise de Variância (ANOVA) de duas vias de desenho misto (*mixed design two-way ANOVA*), sendo “grupo” o fator independente (controle x estresse) e “objeto” (novo x familiar) ou “sessão” (treino x teste) a variável dependente. Uma vez que dados sobre latência possuem uma distribuição não-paramétrica, para a análise dos resultados sobre a latência para a primeira exploração os dados foram primeiro *log* transformados (base 10) para depois serem analisados estatisticamente. Entretanto, esses resultados sobre a latência foram apresentados graficamente abaixo como mediana e intervalo interquartis.

Além disso, o *Índice de Discriminação*, calculado para a sessão teste e para cada grupo, foi comparado ao valor de zero (nível do acaso) empregando o teste-t para uma amostra (*one-sample t-test*). Para cada experimento, o valor do *Índice de Discriminação* também foi analisado para detectar possíveis diferenças entre os grupos estresse e controle usando o teste-t para amostras independentes.

Por fim, o teste de correlação de Pearson foi usado para estabelecer se o valor do ID estava relacionado a exploração total dos objetos na sessão treino ou aos níveis de locomoção da sessão teste.

Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico *SPSS* (IBM Co., EUA; v. 25), e o nível de significância adotado em todos os testes foi de  $p \leq 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

Os valores das médias ( $\pm$  erro padrão da média) e medianas (e quartis) obtidas em cada experimento estão descritas no Anexo 3.

### 5.1. Experimento 1: efeito do estresse pré-treino

Este experimento avaliou os efeitos de um episódio de estresse agudo de contenção, realizado logo antes da sessão treino, no desempenho dos micos no teste de REO. Aqui, ambos os grupos (controle e estresse) exploraram significativamente mais o objeto novo do que o objeto familiar na sessão teste (*fator objeto*:  $F_{1,10}=8,00$ ;  $p=0,02$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=0,004$ ;  $p=0,95$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,15$ ;  $p=0,71$ ; Figura 5.1). Esse dado foi corroborado pela análise do ID (Figura 5.1), uma vez que, para ambos os grupos, o valor observado foi significativamente maior que zero (*grupo controle*:  $t_5=4,00$ ;  $p=0,01$ ; *grupo estresse*:  $t_5=4,89$ ;  $p=0,01$ ). Além disso, não houve diferença significativa entre o ID dos dois grupos ( $t_{10}=0,84$ ;  $p=0,42$ ).

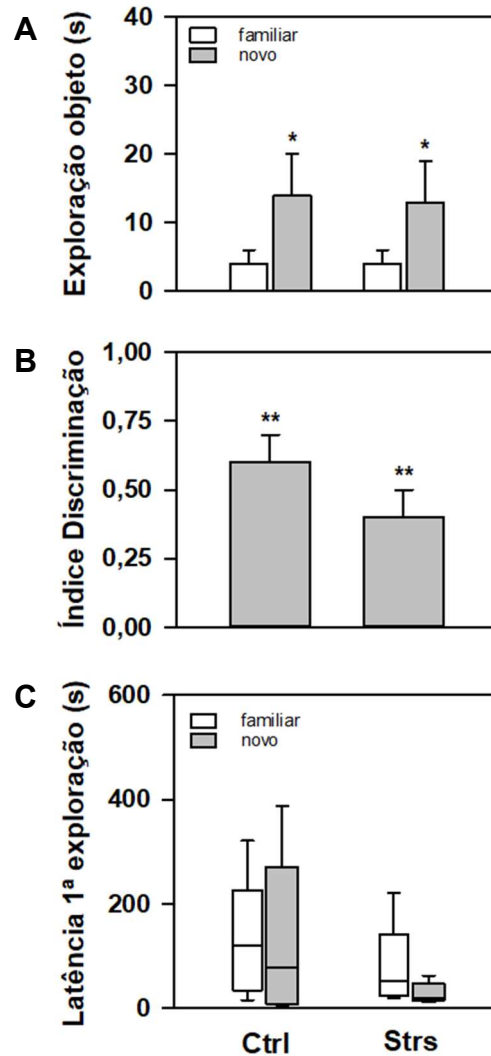
Na latência da primeira exploração dos objetos novo e familiar, também não foi observada uma diferença significativa entre os dois objetos ou as duas sessões experimentais (*fator objeto*:  $F_{1,10}=1,80$ ;  $p=0,21$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=1,92$ ;  $p=0,20$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,20$ ;  $p=0,66$ ; Figura 5.1).

Em termos da exploração total dos objetos, não houve diferença significativa entre os grupos controle e estresse, nem entre as sessões treino e teste (*fator sessão*:  $F_{1,10}=0,27$ ;  $p=0,61$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=0,26$ ;  $p=0,88$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,01$ ;  $p=0,91$ ; Figura 5.2). Ao avaliar os níveis de locomoção durante o teste de REO, também não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos ou as sessões experimentais (*fator sessão*:  $F_{1,10}=0,08$ ;  $p=0,78$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=1,59$ ;  $p=0,24$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,04$ ;  $p=0,84$ ; Figura 5.2).

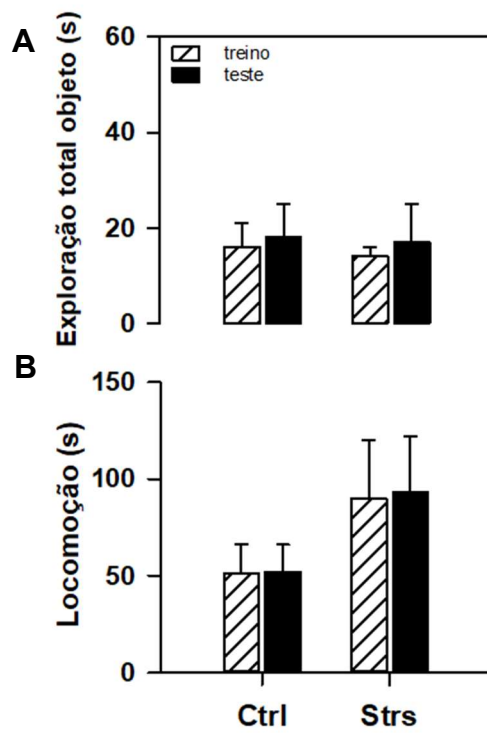
Por fim, os valores do ID não estavam correlacionados aos níveis de exploração total dos objetos durante a sessão treino, para nenhum dos dois grupos experimentais (Figura 5.3). Contudo, o ID demonstrou estar negativamente



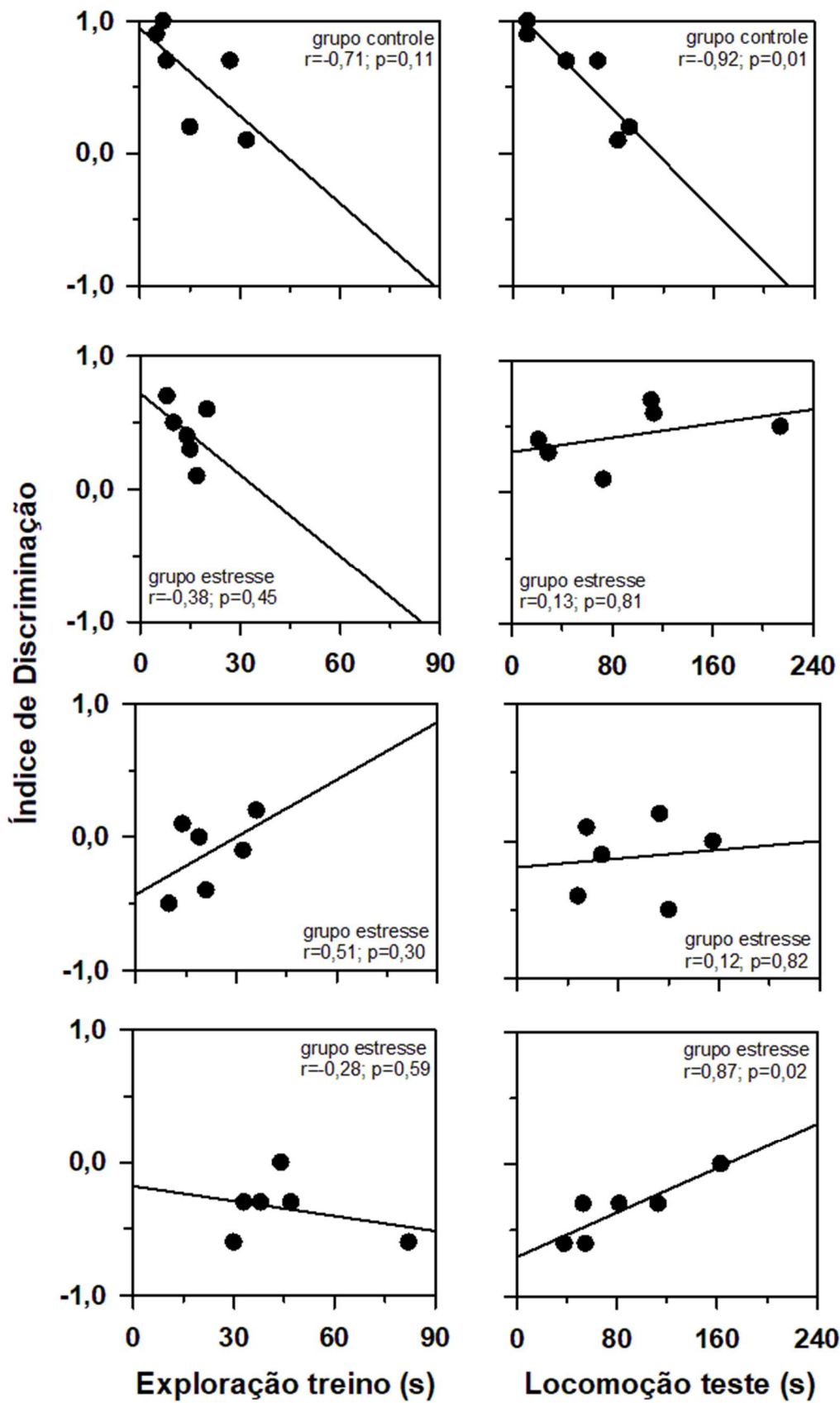
correlacionado aos níveis de locomoção visto na sessão teste, mas isso apenas no grupo controle (Figura 5.3).



**Figura 5.1.** Desempenho dos micos do grupo controle (Ctrl) e estresse pré-treino (Strs) no teste de REO. **(A)** Tempo de exploração, em segundos (média + epm), dos objetos familiar e novo na sessão teste; **(B)** Índice de discriminação calculado para a sessão teste (média + epm); **(C)** Latência, em segundos (mediana e intervalo interquartil), para a primeira exploração de cada objeto na sessão teste. n=6/grupo; \*p<0,05 vs. objeto familiar, \*\*p<0,05 vs. valor de zero (nível do acaso).



**Figura 5.2.** Tempo médio (+epm; em segundos) despendido na exploração dos dois objetos (A) e em locomoção (B) pelos micos dos grupos controle (Ctrl) e estresse pré-treino (Strs) nas sessões treino e teste da tarefa de REO.



**Figura 5.3.** Relação entre o Índice de Discriminação e os níveis de exploração total na sessão treino ou de locomoção na sessão teste de cada grupo experimental avaliado no presente estudo. Os dados estão expressos como o coeficiente  $r$  do teste de correlação de Pearson (e valor de  $p$ ); \* $p<0,05$ .

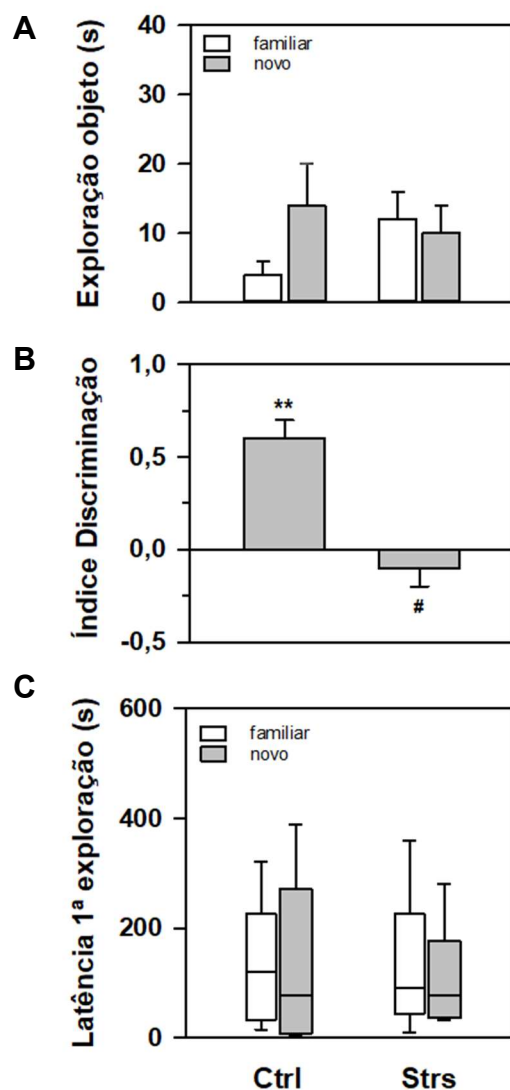
## 5.2. Experimento 2: efeito do estresse pós-treino

O segundo experimento avaliou os efeitos de um estresse agudo de contenção, realizado imediatamente após a sessão treino, no desempenho dos micos no teste de REO. Nesse experimento foi observado que, diferentemente do grupo controle, que explorou mais o objeto novo do que o familiar na sessão teste, apesar de não atingir níveis significativos, o grupo estresse explorou os dois objetos equitativamente nessa mesma sessão (*fator objeto*:  $F_{1,10}=2,75$ ;  $p=0,13$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=0,16$ ;  $p=0,70$ ; *interação*:  $F_{1,10}=5,06$ ;  $p=0,05$ ; Figura 5.4). Houve porém uma interação significativa entre os fatores objeto vs. grupo. Esse resultado foi corroborado pelos valores observados em termos do ID (Figura 5.4), visto que apenas no grupo controle o índice foi significativamente diferente (maior) de zero (*grupo controle*:  $t_5=4,00$ ;  $p=0,01$ ; *grupo estresse*:  $t_5=-1,07$ ;  $p=0,34$ ). Além disso, o ID desses dois grupos diferiu significativamente ( $t_{10}=3,84$ ;  $p=0,003$ ).

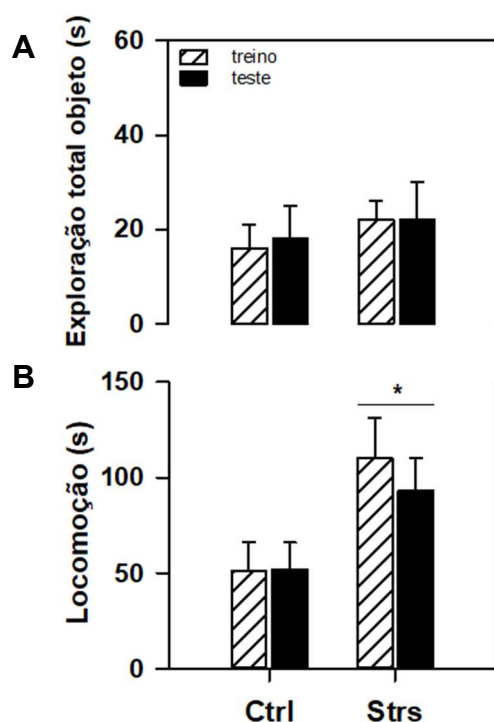
Na latência para a primeira exploração dos objetos, não houve diferença significativa entre os objetos ou entre as sessões (*fator objeto*:  $F_{1,10}=0,17$ ;  $p=0,69$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=0,09$ ;  $p=0,77$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,17$ ;  $p=0,69$ ; Figura 5.4).

No que diz respeito a exploração total dos objetos durante as sessões treino e teste, não houve diferenças significativas entre essas sessões, nem entre os grupos controle e estresse (*fator sessão*:  $F_{1,10}=0,09$ ;  $p=0,77$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=0,52$ ;  $p=0,49$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,04$ ;  $p=0,85$ ; Figura 5.5). Além disso, na locomoção, não foram observadas diferenças significativas entre sessões, enquanto que os níveis vistos entre os grupos controle e estresse diferiram significativamente (*fator sessão*:  $F_{1,10}=0,92$ ;  $p=0,36$ ; *fator tratamento*:  $F_{1,10}=5,01$ ;  $p=0,05$ ; *interação*:  $F_{1,10}=1,07$ ;  $p=0,33$ ; Figura 5.5).

Para o grupo estresse (pós-treino), não foi detectada uma correlação entre os valores do ID e os níveis de exploração total na sessão treino ou com a duração da locomoção na sessão teste (Figura 5.3).



**Figura 5.4.** Desempenho dos micos do grupo controle (Ctrl) e estresse pós-treino (Strs) no teste REO. **(A)** Tempo de exploração, em segundos (média + epm), dos objetos novo e familiar na sessão teste; **(B)** Índice de discriminação calculado para a sessão teste (média + epm); **(C)** Latência, em segundos (mediana e intervalo interquartil), para a primeira exploração de cada objeto na sessão teste. \*\* $p < 0,05$  vs. valor de zero (nível do acaso), # $p < 0,05$  vs. controle.

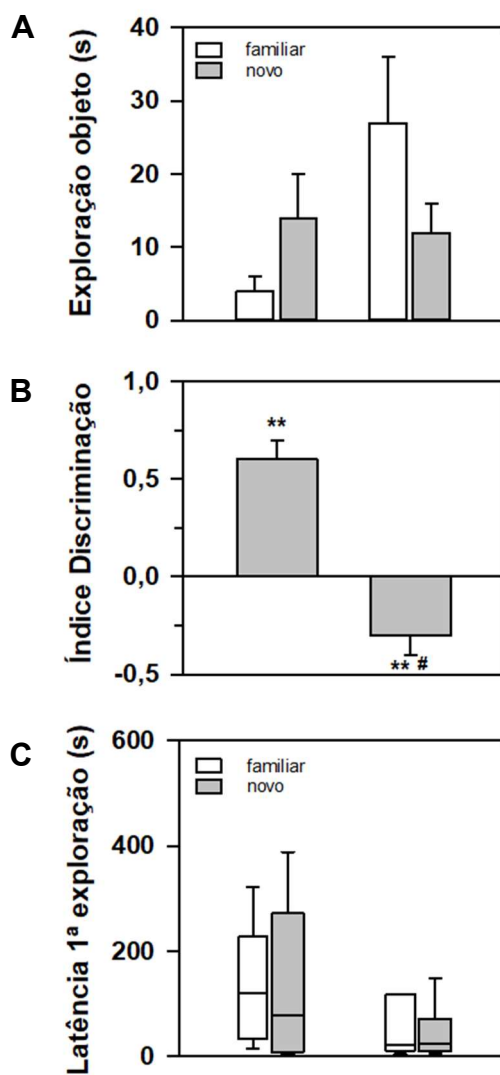


**Figura 5.5.** Tempo médio (+epm; em segundos) despendido na exploração dos dois objetos (A) e em locomoção (B) pelos micos dos grupos controle (Ctrl) e estresse pós-treino (Strs) nas sessões treino e teste da tarefa de REO. \* $p < 0,05$  vs. controle.

### 5.3. Experimento 3: efeito do estresse pré-teste

No último experimento foram analisados os efeitos de um estresse agudo de contenção, realizado imediatamente antes da sessão teste, no desempenho dos micos no teste de REO. Aqui, assim como no Experimento 2, não foi observada uma diferença significativa entre a exploração do objeto novo e do objeto familiar apenas para o grupo estresse, mas havendo um efeito significativo apenas na interação entre os fatores objeto x grupo (*fator objeto*:  $F_{1,10}=0,19$ ;  $p=0,67$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=2,25$ ;  $p=0,16$ ; *interação*:  $F_{1,10}=7,45$ ;  $p=0,02$ ; Figura 5.6). Ao analisar o ID calculado para a sessão teste (Figura 5.6), o índice foi significativamente maior que zero no caso do grupo controle ( $t_5=4,00$ ;  $p=0,01$ ), enquanto esse mesmo parâmetro foi significativamente menor que zero no grupo estresse ( $t_5=-3,75$ ;  $p=0,01$ ). A comparação

direta entre os dois grupos também relevou uma diferença significativa em termos do ID ( $t_{10}=5,39$ ;  $p=0,0003$ ).

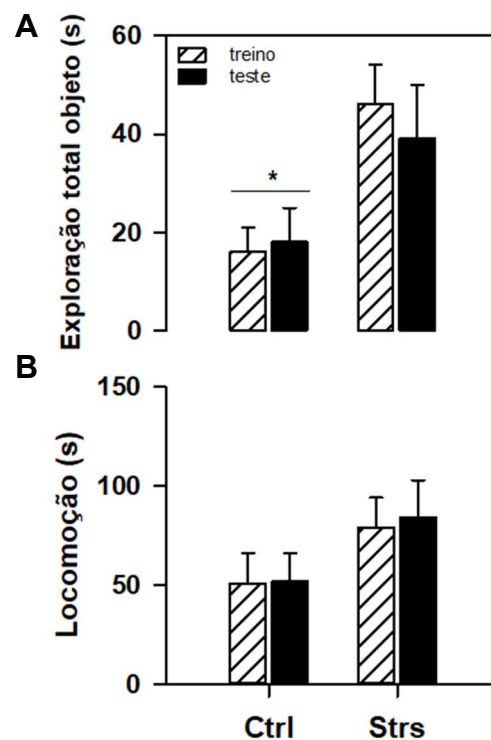


**Figura 5.6.** Desempenho dos micos do grupo controle (Ctrl) e estresse pré-teste (Strs) no teste de REO. **(A)** Tempo de exploração, em segundos (média + epm), dos objetos familiar e novo na sessão teste; **(B)** Índice de discriminação calculado para a sessão teste (média + epm); **(C)** Latência, em segundos (média e intervalo interquartil), para a primeira exploração de cada objeto na sessão teste. \*\* $p<0,05$  vs. valor de zero (nível do acaso), # $p<0,05$  vs. controle.

Nos dados referentes à latência para a primeira exploração dos objetos, não foi observada uma diferença significativa entre os itens familiar versus novo, ou entre os

grupos controle e estresse (*fator objeto*:  $F_{1,10}=0,17$ ;  $p=0,69$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=4,02$ ;  $p=0,07$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,17$ ;  $p=0,69$ ; Figura 5.6).

Em termos do tempo de exploração total dos objetos, foi observada uma diferença significativa entre os dois grupos experimentais, mas não entre as sessões treino e teste, e tampouco houve uma interação significativa entre esses dois fatores (*fator sessão*:  $F_{1,10}=0,12$ ;  $p=0,73$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=7,62$ ;  $p=0,02$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,44$ ;  $p=0,52$ ; Figura 5.7). Na atividade locomotora dos animais, não houve diferenças significativas entre as sessões ou entre os grupos experimentais (*fator sessão*:  $F_{1,10}=0,72$ ;  $p=0,80$ ; *fator grupo*:  $F_{1,10}=2,17$ ;  $p=0,17$ ; *interação*:  $F_{1,10}=0,40$ ;  $p=0,85$ ; Figura 5.7).



**Figura 5.7.** Tempo médio (+epm; em segundos) despendido na exploração dos dois objetos (A) e em locomoção (B) pelos micos dos grupos controle (Ctrl) e estresse pré-teste (Strs) nas sessões treino e teste da tarefa de REO. \* $p<0,5$  vs estresse pre-teste

Para o grupo estresse (pré-teste), não foi detectada uma correlação entre os valores do ID e os níveis de exploração total registrados na sessão treino. Porém, o ID



do grupo estresse teve uma correlação positiva com os níveis de locomoção registrados na sessão teste (Figura 5.3).

## **6. DISCUSSÃO**

### **6.1. Estresse pré-treino não influenciou a aquisição**

O teste REO baseia-se na tendência natural dos animais de explorar aspectos novos em um ambiente (DERE e cols., 2007). Por conseguinte, se o animal explora preferencialmente o objeto novo em detrimento do objeto familiar na sessão teste, é apontado que o mesmo se lembra do objeto familiar e este já não configura uma novidade. Os micos do grupo controle e os que passaram pelo estresse antes da sessão treino exploraram o objeto novo por significativamente mais tempo do que o familiar durante a sessão teste (Figuras 5.1 (A e B)). Como não houve diferença entre os grupos, os animais de ambos os grupos foram capazes de discriminar de forma semelhante entre o objeto novo e o familiar. Desta forma, um evento de estresse agudo de contenção, ocorrido imediatamente antes da fase de aquisição, não parece ter influenciado o desempenho dos micos no teste de REO, empregando um intervalo de retenção de 6 h.

Em humanos, WOLKOWITZ e cols. (1990) e KIRSCHBAUM e colaboradores (1996) observaram um efeito prejudicial do estresse na aquisição de uma memória declarativa, mas outros autores não encontraram esse efeito em tarefas de recordação livre (LUPIEN e cols., 1999; WOLF e cols., 2001; DOMINIQUE e cols., 2000). Quanto à memória de reconhecimento, mais especificamente, BAKER e KIM (2002) demonstraram que um estresse de contenção combinado com um estresse de choque nas patas prejudicou a aquisição da memória de reconhecimento de objetos em ratos, utilizando um intervalo de retenção de 3 h entre o treino e o teste. Entretanto, vale destacar que no presente estudo foi empregado apenas um estresse de contenção, o que pode ser considerado um estresse de menor intensidade. De fato, o resultado encontrado aqui com os micos é condizente com outros estudos realizados com roedores e que utilizaram o mesmo tipo de estressor (LI e cols., 2012; VARGAS-LÓPEZ e cols., 2015) ou um estresse por imersão em água (NELISSEN e cols., 2018).

Portanto, os resultados do Experimento 1 sugerem que um evento moderado de estresse agudo, como o estresse de contenção, ocorrido antes da aquisição da informação não parece prejudicar a memória de reconhecimento de objetos de PNH, conforme já relatado em roedores.

AMEEN-ALI e EACOTT (2015) sugerem que diferentes aspectos podem influenciar a resposta dos sujeitos no teste de REO, assim como em outros tipos de procedimentos que também estão baseadas na exploração espontânea. Uma delas consiste em uma mudança no interesse do animal em explorar os objetos ao longo das diferentes sessões do procedimento. Vale ressaltar, porém, que o tempo total de exploração dos objetos no presente estudo permaneceu constante entre as sessões treino e teste e entre os grupos (Figura 5.2 (A)). Isso sugere que não houve alteração na motivação para explorar os objetos entre sessões ou condições experimentais. Portanto, a motivação dos micos em explorar os objetos não parece ter influenciado o resultado observado. Da mesma maneira, não foi observada uma diferença significativa em termos da locomoção dos micos entre as sessões treino e teste, ou entre os grupos, o que minimiza a possibilidade de mudanças na atividade locomotora ter afetado o desempenho dos animais no teste de REO (Figura 5.2 (B)).

Quanto à latência para a primeira exploração, não foram observadas diferenças significativas entre os objetos, nem entre os grupos experimentais. MERKOW e cols. (2015) empregaram em humanos a latência de resposta como um parâmetro para avaliar a confiança do sujeito em suas respostas em uma tarefa de reconhecimento. De fato, um estudo prévio já havia demonstrado que sujeitos respondem mais rápido quando confiam na acurácia de suas respostas (KAHANA, 2012).

Além disso, DAY e cols. (2003) relataram que micos neofílicos se aproximaram e exploraram um estímulo novo mais rapidamente que animais neofóbicos, os quais são mais lentos para tal, e utilizaram a latência da primeira exploração como indicativo de memória. Em VANNUCHI e cols. (2020), micos-estrela levaram menos tempo para explorar um objeto deslocado na tarefa de ROL com um intervalo de 24 h, e passaram

mais tempo explorando este mesmo objeto. Nessa tarefa de ROL, os dois objetos são idênticos, e, portanto, o aspecto de novidade observado pelo animal é a diferente localização. Neste caso, a latência para a primeira exploração coincidiu com o objeto que foi mais explorado durante a sessão teste, que no caso foi o objeto que se encontrava em uma localização que não era familiar ao animal. Já com um intervalo de retenção de 48 h, não houve preferência pelo objeto deslocado e também não houve diferença na latência da primeira exploração.

Contudo, no presente trabalho, vale ressaltar que, apesar dos animais terem começado a explorar os dois objetos após um intervalo de tempo semelhante (Figura 5.1 (C)), os mesmos passaram em seguida a explorar o objeto novo por um período de tempo significativamente maior que o objeto familiar. O fato de aqui não ter sido observada uma diferença entre a latência para começar a explorar os dois objetos na sessão teste indica que talvez este parâmetro esteja dissociado da preferência por um determinado objeto, e em particular no teste de REO. Nesse teste, apenas as características dos objetos diferem e isso deve ser percebido pelo sujeito, enquanto em outras versões desse procedimento o que muda é a localização dos objetos (ex.: teste de ROL). Nos estudos de DAY e cols. (2003) e VANNUCHI e cols. (2020), citados acima, a localização dos mesmos objetos mudou ao longo das sessões, e essa nova associação objeto-local pode ter levado os animais a explorarem mais rapidamente aquele novo aspecto do ambiente, levando a discrepância vista em termos dos resultados do presente estudo em termos da latência para primeira exploração.

## **6.2. Estresse pós-treino prejudicou a consolidação**

Neste experimento, o estresse de contenção ocorrido logo após a sessão treino diminuiu o desempenho dos micos no teste REO, que passaram o mesmo tempo explorando o objeto novo e familiar na sessão teste (Figura 5.4 (A)). Esse resultado foi demonstrado pelo valor do ID do grupo de estresse, que não diferiu significativamente

de zero (Figura 5.4 (B)). Visto que os dois grupos experimentais diferiram apenas em termos da ocorrência ou não do episódio agudo estresse de contenção, os resultados observados nesse experimento sugerem que o grupo de estresse não foi capaz de lembrar de já ter visto o objeto familiar. Assim, o estresse ocorrido logo após a sessão treino parece ter influenciado de forma negativa a consolidação da memória de reconhecimento dos micos.

A ativação do sistema noradrenérgico e o aumento dos níveis de cortisol durante a consolidação da memória favoreceu, de forma dose-dependente, o aprendizado de roedores em tarefas de medo condicionado, esQUIVA inibitória e memória espacial (McGAUGH e ROOZENDAAL, 2002). No entanto, a exposição a um episódio de estresse nem sempre parece induzir uma melhora no desempenho no teste de memória de reconhecimento. BARNES e cols. (2017) avaliaram o efeito da privação de sono durante 3 h na consolidação de uma memória de reconhecimento de ratos, e não encontraram qualquer efeito. Esse estressor, entretanto, pode não ter sido suficiente para elevar os níveis hormonais e ativar o sistema noradrenérgico dos animais. Já LI e cols. (2012) observaram que um estresse agudo de contenção (eficaz em elevar os níveis circulantes de cortisol/corticosterona) afetou a transição de uma memória de curto prazo para uma de longo prazo, quando esse evento estressor foi aplicado na fase inicial do processo de consolidação (*early consolidation*), ou seja, logo após a aquisição da informação. Portanto, após intervalos de retenção curtos (4 h), o desempenho de camundongos no teste REO não foi afetado. No entanto, com um intervalo entre treino e teste foi mais prolongado (24 h), o estresse agudo de contenção prejudicou a memória de reconhecimento. GUERCIO e cols. (2014) observaram um déficit semelhante na memória de reconhecimento de camundongos submetidos a um estresse de contenção pós-treino e após um intervalo de retenção de 24 h.

Por outro lado, depois de um intervalo de retenção de apenas 3 h, ratos que haviam sido submetidos a um estresse por imersão de 5 min em água logo após o

treino não foram capazes de discriminar entre um objeto novo e um familiar, tendo, portanto, um prejuízo em sua memória de reconhecimento (NELISSEN e cols., 2018). Essa aparente discrepância com estudos indicados anteriormente pode ser devido a diferenças metodológicas. Os animais no estudo de LI e cols. (2012), que não foram previamente habituados ao procedimento do teste de REO, demonstraram ter uma memória de reconhecimento depois de 4 h, a qual permaneceu mesmo depois de 24 h, embora de forma menos pronunciada. Já no estudo de NELLISEN e cols. (2018), os animais passaram diversas vezes pelo teste de REO antes de serem submetidos ao estresse e, portanto, já tinham sido habituados a esse procedimento experimental. Portanto, um evento estressor pode vir a induzir efeitos diferentes em animais habituados a este aspecto de novidade do teste, comparado aos que não foram previamente habituados.

De fato, ROOZENDAAL e cols. (2006) relataram que a administração de corticosterona, imediatamente após o treino, em ratos que nunca haviam passado pelo procedimento facilitou a consolidação da informação, o que não ocorreu quando os animais já eram habituados ao contexto da tarefa. Um efeito semelhante também foi observado por MAROUN e AKIRAV (2008), em que ratos não-habituados previamente ao teste de REO, e que foram expostos a um estresse pós-treino, tiveram uma melhora no seu desempenho nesse teste, enquanto ratos que já haviam sido habituados e que foram submetidos ao mesmo tipo de estresse e no mesmo momento tiveram um prejuízo na sua memória de reconhecimento demonstrada no teste de REO. Esse efeito benéfico dos glicocorticoides na consolidação da memória parece ser dependente de uma ativação noradrenérgica concomitante na amígdala basolateral que acontece em situações com forte conteúdo emocional (ROOZENDAAL e cols., 2006). Assim, quanto mais habituados os animais estiverem, menor será esta ativação e, portanto, menos provável que a consolidação venha a ser favorecida.

Os sujeitos experimentais do presente estudo foram micos-estrela adultos pertencentes ao plantel permanente do CPUUnB. Esses animais já haviam sido

previamente empregados como sujeitos experimentais em diferentes estudos, embora nenhum desses tenha ocorrido há menos de dois meses antes do início da presente investigação. Assim, entende-se que os micos tenham algum nível de habituação à diferentes procedimentos necessários para a realização do teste de REO, como: captura, transporte e presença dos experimentadores. Essa habituação prévia pode ter então ocasionado uma menor ativação noradrenérgica frente ao procedimento do teste de REO. Segundo ROOZENDAAL e cols. (2006), tal fato parece diminuir o efeito facilitador que glicocorticóides liberados durante uma situação de estresse podem ter sob a consolidação da memória, podendo vir até mesmo a induzir um efeito deletério, a depender da intensidade do estresse. Nos micos (não-experimental ingênuos) do presente estudo, a contenção de 15 min ocorrida imediatamente após o treino parece ter de fato prejudicado o desempenho dos animais no teste de REO com um intervalo de retenção de 6 h.

Além disso, como visto no Experimento 1, não houve diferença significativa entre os objetos ou entre os grupos em termos da latência para a primeira exploração (Figura 5.4 (C)), corroborando a idéia de que esse parâmetro nem sempre indica uma neofilia ou neofobia do sujeito experimental no teste de REO. Em relação a exploração total dos objetos, também não houve diferenças significativas entre as sessões ou entre grupos, novamente indicando que não houve um viés de falta ou diminuição de motivação em explorar os objetos no resultado do teste REO (Figura 5.5 (A)).

Em termos da locomoção, não foi detectada uma diferença significativa no tempo em que os animais passaram se locomovendo ao longo nas sessões treino e teste. Porém, o grupo estresse passou significativamente mais tempo se locomovendo do que o grupo controle (Figura 5.5 (B)). Essa diferença, entretanto, não pode ser necessariamente atribuída ao estressor *per se*, uma vez que esse evento ocorreu apenas depois da sessão treino e os níveis de locomoção estavam mais elevados em ambas as sessões. Esse resultado se deve, provavelmente, a uma tendência inerente desse grupo de animais de passar mais tempo se locomovendo.

### **6.3. Estresse pré-teste alterou a preferência exploratória**

Quando os animais foram submetidos ao episódio de estresse de contenção logo antes da realização da sessão teste da tarefa de REO (Experimento 3), observou-se que não houve diferença significativa entre o tempo de exploração do objeto novo e do familiar na sessão teste (Figura 5.6 (A)). Nessa mesma sessão, os animais que não haviam sido submetidos ao estresse exploraram por mais tempo o objeto novo, comparado ao item que já era mais familiar, mesmo que não tenha atingido níveis significativos. Porém, o grupo experimental do sujeito influenciou significativamente o tempo de exploração dos objetos. Vale ressaltar, ainda, que aqui houve uma maior variabilidade inter-individual nos animais do grupo controle. Assim, ao analisar o ID, que minimiza variações individuais nos níveis iniciais de exploração dos objetos (sessão treino; DIX e AGGLETON, 1999), foi possível observar que os animais não-estressados, de fato, exploraram significativamente mais o objeto novo do que o familiar, enquanto uma relação oposta foi detectada para o grupo submetido ao estresse de contenção, havendo uma exploração significativamente maior do objeto familiar do que o novo (Figura 5.6 (B)).

EAGLE e cols. (2013) sugeriram que um prejuízo no desempenho na tarefa REO após um período de estresse pode não ser devido necessariamente a um déficit de memória em si, e sim a uma perturbação específica no nível de preferência por novidade no ambiente. De acordo com essa proposta, uma situação de estresse estaria afetando mais aspectos relacionados a neofilia do que a evocação da memória de reconhecimento caso o objeto familiar estiver sendo explorado mais do que o item novo na sessão teste da tarefa de REO. No caso de ter ocorrido um prejuízo na evocação de memória, por conta do estresse, esperaria-se observar um padrão equitativo de exploração dos dois objetos.

Conforme citado acima, os micos no presente estudo exploraram por mais tempo o objeto familiar, em detrimento do objeto novo, o que sugere que o estresse de contenção do presente estudo possa ter tido um efeito maior sobre a preferência por



novidade. Em calitriquídeos, essa preferência pelo familiar em situações de estresse poderia corresponder a um comportamento defensivo ou preventivo quando o animal se sente ameaçado. Ao longo de sua evolução, esses pequenos primatas parecem ter desenvolvido uma boa memória espacial e de reconhecimento, sendo capazes de recordar rapidamente a localização de fontes de alimentos, como frutos e gomas de árvores, que já são conhecidas (BICCA-MARQUES e GABBER, 2004). Além disso, os micos são altamente vulneráveis a ataques de predadores aéreos (aves) e terrestres (gatos selvagens e serpentes), e possivelmente desenvolveram uma boa memória para indícios da presença de predadores encontrados previamente no seu ambiente (FERRARI, 2009). Em condições experimentais, como demonstrado anteriormente, esses animais são capazes de realizar testes de reconhecimento de objeto (MELAMED e cols, 2017a,b) e objeto-lugar (VANNUCHI e cols., 2020) após um um intervalo de retenção de até 24 h.

Ratos que receberam corticosterona, 1 h ou 24 h antes da realização da sessão teste, também exploraram o objeto familiar por mais tempo, comparado ao item que era novo (VARGAZ-LOPES e cols., 2015). De fato, tanto o estresse, quanto a administração de corticosterona, podem reduzir a preferência de roedores por estímulos novos (ROSELLINI e WIDMAN, 1989).

Apesar do fato de animais ansiosos nem sempre demonstrarem uma neofobia, acredita-se que a ansiedade pode sim vir a priorizar a aquisição de estímulos relacionados à segurança e sobrevivência (ENNACEUR e cols., 2009). Em ratos, um episódio de estresse agudo, que induziu um comportamento defensivo, também fez com que os esses mesmos animais explorassem menos objetos novos dentro de um ambiente já familiar (ROSELLINI e WIDMAN, 1989). Da mesma foram, camundongos infectados com uma enterotoxina estafilocócica A, a qual induz um aumento de corticosterona de forma dose-dependente, exploraram significativamente menos os objetos novos no teste de REO, sem alterar a atividade locomotora (KAWASHIMA e KUSNECOV, 2002). Ainda, a administração prévia de ansiolíticos ou antidepressivos

(SSR125543, antagonista do fator liberador de corticotrofina 1; SSR149415, antagonista do receptor de vasopressina; e fluoxetina, inibidor da receptação de serotonina) bloquearam os efeitos do estresse na tarefa REO realizada em roedores, enquanto a donepezila, um fármaco empregado no tratamento de déficits de memória que inibe a atividade de enzima acetilcolinesterase, não teve efeito (URANI e cols., 2011).

Por outro lado, ENNACEUR e colaboradores (2010) indicaram outra possibilidade para tentar explicar a exploração preferencial pelo objeto familiar, comparada ao do objeto novo, em casos de estresse ocorrido logo antes da evocação da informação. Esses autores apontaram para o fato do resultado do teste REO ser dependente da memória do objeto familiar que foi adquirida durante a fase inicial de treino. Essa informação deverá, portanto, ser atualizada posteriormente ou a memória decairá com o tempo. Intervalos longos entre o momento da aquisição e da evocação podem resultar no fenômeno onde o indivíduo vem a explorar mais o objeto familiar por conta de uma incerteza sobre a experiência passada com aquele item. Assim, uma exploração preferencial pelo objeto familiar se daria por causa de uma memória residual, e essa familiaridade faria com que o objeto já visto atraia mais a atenção do que o objeto novo. Para melhor elucidar essa questão, mais estudos sobre a alteração na preferência por novidade de micos-estrela após um estresse agudo são necessários. O uso de fármacos, como no estudo de URANI e cols. (2011) poderia auxiliar na identificação dos mecanismos por trás desse comportamento observado.

Além disso, como visto nos Experimentos 1 e 2, não houve diferença significativa em termos da latência para a primeira exploração, tanto entre os objetos, quanto entre os grupos (Figura 5.6 (C)). Ao analisar a exploração total dos objetos nas sessões treino e teste, não foi detectada uma diferença significativa entre as sessões (Figura 5.7 (A)), o que indica que a motivação para explorar os objetos ao longo do procedimento experimental mais uma vez manteve-se constante. Houve sim uma diferença significativa entre os grupos, uma vez que o grupo de animais submetidos ao

episódio de estresse de contenção logo antes da sessão teste terem passado mais tempo explorando os dois objetos do que o grupo controle. Entretanto, não é possível relacionar este fato ao evento estressor empregado no experimento, esse padrão mais elevado de exploração dos objetos já foi detectado antes mesmo dos animais passarem pelo evento de estresse (i.e., já na sessão treino). Vale lembrar que os animais foram divididos nos grupos experimentais de forma aleatória. Assim, como visto no Experimento 2, esse resultado pode ser devido mais a uma característica inerente desse grupo de indivíduos. Possíveis alterações na locomoção também não parecem ter influenciado os resultados vistos no teste de REO, haja visto que esse parâmetro permaneceu constante ao longo das sessões e foi similar entre os grupos experimentais (Figura 5.7 (B)).

Por fim, acredita-se que um tempo mínimo de exploração dos objetos deve ocorrer na sessão treino para que se possa observar uma preferência por novidade no teste REO (ALBASSER e cols., 2009; GASKIN e cols., 2010). Mas, há dados conflitantes na literatura a esse respeito, uma vez que GASKIN e cols. (2010) não observaram uma correlação direta entre essas variáveis. Com o intuito de contribuir para esse aspecto, essa correlação foi analisada no presente estudo e discutida no item a seguir.

#### **6.4. Exploração inicial não influenciou o desempenho no teste de REO**

Para melhor investigar os efeitos de um episódio agudo de estresse de contenção na memória de reconhecimento dos micos-estrela no teste REO, os níveis de exploração dos objetos na sessão treino foram correlacionados aos ID calculados para a sessão teste. ALBASSER e cols. (2009) relataram que quanto mais tempo o indivíduo passou inicialmente investigando o objeto familiar na sessão treino, maior foi o desempenho de roedores no teste de REO visto pelo valor calculado do ID. Nesse sentido, foi sugerido que quanto maior for a exploração dos objetos no treino, a

aquisição da memória para o objeto será mais forte e, portanto, o animal discriminará com sucesso os objetos novo e familiar na sessão teste.

Contudo, em todos os grupos de micos avaliados no presente estudo, os níveis de exploração dos objetos na sessão treino e o ID não estavam correlacionados (Figura 5.3). Esse resultado contrasta com os dados relatados por ALBASSER e cols. (2009), mas corrobora outros estudos em roedores que também não detectaram uma correlação entre esses parâmetros (AKKERMAN e cols., 2012; GASKIN e cols., 2010). De acordo com GASKIN e cols. (2010), é possível que uma correlação entre a exploração no treino e o ID ocorra ocasionalmente, como visto no experimento de ALBASSER e cols. (2009), mas que esse tempo inicial de exploração nem sempre é capaz de prever de maneira confiável uma preferência pelo objeto novo. Portanto, esse aspecto não deve ser utilizado como um indicativo confiável da qualidade da aquisição da informação, uma vez que animais que exploram por menos tempo também podem ter explorado o suficiente para adquirir uma memória do objeto e assim vir a discriminá-lo de um objeto novo em um evento futuro (AKKERMAN e cols., 2012).

#### **6.5. Relação entre nível de locomoção e desempenho no teste REO**

Sabe-se que o estresse, com a consequente ativação do eixo HPA e liberação de cortisol/corticosterona, também pode vir a induzir respostas comportamentais relacionadas à ansiedade, mesmo em indivíduos saudáveis (SHIN e LIBERZON, 2009). Assim, no presente estudo, foi considerada a possibilidade de que o episódio agudo de estresse de contenção que os micos foram submetidos também possa ter gerado um efeito ansiogênico. Já foi demonstrado que esse tipo de estressor é capaz de elevar significativamente os níveis circulantes de cortisol nessa mesma espécie (PEREIRA e cols., 2019).

Em micos, a atividade locomotora é muito utilizada como um indicador comportamental de ansiedade (BARROS e cols., 2000). Porém, conforme já discutido

anteriormente, os níveis de locomoção detectados durante o teste de REO foram semelhantes entre os diferentes grupos experimentais.

Apesar do estresse de contenção não ter induzido uma resposta ansiogênica de hiperlocomoção, que é comumente vista em micos submetidos a eventos ansiogênicos, o nível de locomoção durante a sessão – em termos individuais – pode ter influenciado o comportamento de exploração dos objetos no teste de REO e, por conseguinte, a memória de reconhecimento dos sujeitos. De fato, na análise comportamental realizada no presente estudo, os comportamentos de “locomoção” e “exploração do objeto” foram mutuamente excludentes. Desta forma, o nível de locomoção detectado na sessão teste e o ID de todos os grupos foram correlacionados (Figura 5.3).

Nos animais submetidos ao estresse antes e logo após o treino, não foi detectada uma correlação entre esses parâmetros. Vale lembrar que os micos dos grupos de estresse pré-treino e pós-treino se locomoveram mais que o grupo controle, embora o primeiro não tenha dado um efeito significativo, enquanto o segundo sim. Esse perfil comportamental, particularmente no grupo de estresse pós-treino, parece ser algo inerente do grupo, pois o padrão de locomoção foi o mesmo ao longo das sessões, independente de quando o estresse ocorreu. Essa característica pode representar um perfil/traço de maior ansiedade dos animais (BARROS e cols., 2000). Para esses dois grupos, não foi detectada uma correlação entre a locomoção na sessão teste e o ID. Um perfil similar já foi observado em roedores nos testes de REO (HOPKINS e BUCCI, 2010) e de ROL (OZAWA e cols., 2011).

Por outro lado, os níveis de locomoção na sessão teste estavam relacionados ao ID nos grupos controle e estresse pré-teste, os quais apresentaram níveis semelhantes de locomoção. No grupo controle, essa correlação foi negativa, indicando que quanto mais tempo o animal passou se locomovendo, menos tempo foi dispendido explorando o objeto novo em relação ao familiar. Assim, os animais não submetidos ao estresse, mas com maiores traços inerentes de ansiedade, parecem ter tido um

menor desempenho no teste REO, indicando uma possível relação entre um comportamento do tipo ansioso e a memória de reconhecimento ou a preferência por explorar novidade.

No grupo de estresse pré-teste, a correlação foi positiva, o que significa que quanto mais o sujeito se locomoveu na sessão teste, maior foi o valor do ID. Mas como os ID deste grupo foram todos negativos, com uma preferência exploratória pelo objeto familiar, uma maior locomoção implica aqui em um ID mais próximo de zero, o que seria uma menor preferência pelo objeto familiar em relação ao objeto novo.

Apesar de uma aparente discrepância entre esses resultados, nesses dois grupos uma maior locomoção resultou em uma piora da memória de reconhecimento. No grupo controle, essa piora estaria representada por ID com valores menores (i.e., menos exploração do objeto novo em relação ao familiar), enquanto no grupo de estresse pré-teste essa piora estaria representada por ID com valores maiores (i.e., menos exploração do objeto familiar em relação ao objeto novo e, assim, valores de ID mais próximos de zero).

Nesses dois grupos, um menor nível de ansiedade basal pode ter facilitado a identificação de variações inter-indivíduos. CONRAD e cols. (2004), utilizando estresse de contenção e um teste de memória espacial (labirinto em Y) em ratos, encontraram uma correlação apenas para as fêmeas controle que estavam no período estral. Picos de hormônios nesse período podem ter um efeito ansiolítico (MARCONDES e cols., 2001; FRYE e WALF, 2002; SAYIN e cols., 2014), o que pode ter permitido a identificação de variações nos níveis de ansiedade entre os animais analisados e sua influência no teste de memória espacial utilizado. No entanto, é importante ressaltar que no presente estudo outros comportamentos indicativos de ansiedade – além da locomoção não foram avaliados, e, portanto, mais estudos são necessários para verificar se o padrão de locomoção de fato se relaciona a um nível de ansiedade basal, e se esse nível de ansiedade tem efeito sobre a memória de reconhecimento.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram estudos prévios que indicam que micos-estrela são capazes de realizar uma tarefa de reconhecimento de objetos com um intervalo de retenção de 6 h.

Além disso, um episódio agudo de estresse de contenção por 15 min afetou o desempenho dos animais no teste REO. Porém, o efeito observado dependeu do momento em que esse evento estressor foi aplicado. Quando o estresse ocorreu imediatamente antes do treino, a memória de reconhecimento dos animais não foi afetada. Quando o evento ocorreu imediatamente após o treino (i.e., no início da fase de consolidação da informação), houve uma piora na capacidade de memória de reconhecimento dos sujeitos. Já imediatamente antes do teste, o estresse de contenção parece ter alterado a preferência exploratória dos animais, os quais passaram então a explorar mais o objeto familiar. Essa preferência pelo o que já era familiar no ambiente pode ser um comportamento adaptativo ao estresse e não necessariamente um déficit de memória.

Os resultados não foram influenciados por alterações na motivação para explorar os objetos ou na locomoção, uma vez que esses parâmetros permaneceram constantes ao longo do procedimento experimental. Além disso, o nível de exploração inicial do objeto não estava relacionado à capacidade de os micos reconhecerem o mesmo objeto posteriormente, conforme estudos anteriores com roedores já haviam demonstrado. No entanto, para os grupos controle e de estresse pré-teste, a locomoção detectada na sessão teste teve correlação com a capacidade de reconhecer os objetos. Essa correlação pode indicar que há uma relação entre a ansiedade basal dos animais (indicada pela atividade locomotora) e a memória de reconhecimento. São necessários mais estudos comportamentais para investigar essa hipótese.

Portanto, um episódio agudo de estresse pode, via diferentes formas, influenciar a memória de reconhecimento de objetos em uma espécie de PNH – sendo

o efeito específico dependente do momento em que o evento ocorrer. Isso é um importante passo inicial para um melhor entendimento acerca desse tipo de memória em um modelo animal mais translacional para o homem. Estudos futuros nesta área poderão investigar: (1) os mecanismos neurais envolvidos nos efeitos do estresse em cada fase da memória; (2) manipulações farmacológicas que visem prevenir esses efeitos; (3) a preferência por familiaridade como estratégia defensiva em situações adversas; entre outros.



## 8. REFERÊNCIAS

Abbott, D. H., Barnett, D. K., Colman, R. J., Yamamoto, M. E., & Schultz-Darken, N. J. (2003). Aspects of common marmoset basic biology and life history important for biomedical research. *Comparative Medicine*, 53(4), 339-350.

Aggleton, J. P., & Brown, M. W. (2006). Interleaving brain systems for episodic and recognition memory. *Trends in Cognitive Sciences*, 10(10), 455-463.

Aggleton, J. P., Vann, S. D., Denby, C., Dix, S., Mayes, A. R., Roberts, N., & Yonelinas, A. P. (2005). Sparing of the familiarity component of recognition memory in a patient with hippocampal pathology. *Neuropsychologia*, 43(12), 1810-1823.

Akkerman, S., Blokland, A., Reneerkens, O., van Goethem, N. P., Bollen, E., Gijssels, H. J., Lieben, C. K. J., Steinbusch, H. W. M., & Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: methodological considerations on exploration and discrimination measures. *Behavioural Brain Research*, 232(2), 335-347.

Albasser, M. M., Davies, M., Futter, J. E., & Aggleton, J. P. (2009). Magnitude of the object recognition deficit associated with perirhinal cortex damage in rats: Effects of varying the lesion extent and the duration of the sample period. *Behavioral Neuroscience*, 123(1), 115-124.

Ameen-Ali, K. E., Easton, A., & Eacott, M. J. (2015). Moving beyond standard procedures to assess spontaneous recognition memory. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 53, 37-51.

Andreano, J. M., & Cahill, L. (2006). Glucocorticoid release and memory consolidation in men and women. *Psychological Science*, 17(6), 466-470.

Andreano, J. M., & Cahill, L. (2009). Sex influences on the neurobiology of learning and memory. *Learning & Memory*, 16(4), 248-266.

Baddeley, A. D. (2000). Short-term and working memory. *The Oxford Handbook of Memory*, 4, 77-92.

Baker, J. V., Abbott, D. H., & Saltzman, W. (1999). Social determinants of reproductive failure in male common marmosets housed with their natal family. *Animal Behaviour*, *58*(3), 501-513.

Baker, K. B., & Kim, J. J. (2002). Effects of stress and hippocampal NMDA receptor antagonism on recognition memory in rats. *Learning & Memory*, *9*(2), 58-65.

Barco, A., Bailey, C. H., & Kandel, E. R. (2006). Common molecular mechanisms in explicit and implicit memory. *Journal of Neurochemistry*, *97*(6), 1520-1533.

Barker, G. R., Bird, F., Alexander, V., & Warburton, E. C. (2007). Recognition memory for objects, place, and temporal order: a disconnection analysis of the role of the medial prefrontal cortex and perirhinal cortex. *Journal of Neuroscience*, *27*(11), 2948-2957.

Barker, G. R., & Warburton, E. C. (2011). When is the hippocampus involved in recognition memory?. *Journal of Neuroscience*, *31*(29), 10721-10731.

Barnes, A. K., Smith, S. B., & Datta, S. (2017). Beyond emotional and spatial processes: cognitive dysfunction in a depressive phenotype produced by long photoperiod exposure. *PloS one*, *12*(1), e0170032.

Barros, L. A., Tufik, S., & Andersen, M. L. (2015). The role of progesterone in memory: an overview of three decades. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *49*, 193-204.

Barros, M., & Tomaz, C. (2002). Non-human primate models for investigating fear and anxiety. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *26*(2), 187-201.

Barros, M., Boere, V., Huston, J. P., & Tomaz, C. (2000). Measuring fear and anxiety in the marmoset (*Callithrix penicillata*) with a novel predator confrontation model: effects of diazepam. *Behavioural Brain Research*, *108*(2), 205-211.

Barros, M., de Souza Silva, M. A., Huston, J. P., & Tomaz, C. (2004). Multibehavioral analysis of fear and anxiety before, during, and after experimentally induced predatory stress in *Callithrix penicillata*. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *78*(2), 357-367.

Bassett, L., Buchanan-Smith, H. M., McKinley, J., & Smith, T. E. (2003). Effects of training on stress-related behavior of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) in relation to coping with routine husbandry procedures. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 6(3), 221-233.

Bernard, C. (1865). *Introduction à l'Étude de la Médecine Expérimentale par m. Claude Bernard*. Baillière.

Bicca-Marques, J. C., & Garber, P. A. (2004). Use of spatial, visual, and olfactory information during foraging in wild nocturnal and diurnal anthropoids: a field experiment comparing *Aotus*, *Callicebus*, and *Saguinus*. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 62(3), 171-187.

Birnie, A. K., Taylor, J. H., Cavanaugh, J., & French, J. A. (2013). Quality of maternal and paternal care predicts later stress reactivity in the cooperatively-breeding marmoset (*Callithrix geoffroyi*). *Psychoneuroendocrinology*, 38(12), 3003-3014.

Blaser, R., & Heyser, C. (2015). Spontaneous object recognition: a promising approach to the comparative study of memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 183.

Boere, V., Pinheiro, E. C., De Oliveira e Silva, I., Paludo, G. R., Canale, G., Pianta, T., Welker, A., & Rocha-de-Moura, R. C. (2005). Comparison between sex and age class on some physiological, thermal, and hematological indices of the cerrado's marmoset (*Callithrix penicillata*). *Journal of Medical Primatology*, 34(3), 156-162.

Boere, V., Silva, I. O., Canale, G., Pianta, T., & Tomaz, C. (2003). Correlation between tympanic and rectal temperature in marmosets (*Callithrix penicillata*) under acute stress. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40, 90-95.

Bremner, J. D., & Narayan, M. (1998). The effects of stress on memory and the hippocampus throughout the life cycle: Implications for childhood development and aging. *Development and Psychopathology*, 10(4), 871-885.

Brown, M. W., & Aggleton, J. P. (2001). Recognition memory: what are the roles of the perirhinal cortex and hippocampus?. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(1), 51.

Buchanan, T. W., Tranel, D., & Adolphs, R. (2006). Impaired memory retrieval correlates with individual differences in cortisol response but not autonomic response. *Learning & Memory*, 13(3), 382-387.

Buckley, M. J., & Gaffan, D. (1997). Impairment of visual object-discrimination learning after perirhinal cortex ablation. *Behavioral Neuroscience*, 111(3), 467.

Bussey, T. J., Duck, J., Muir, J. L., & Aggleton, J. P. (2000). Distinct patterns of behavioural impairments resulting from fornix transection or neurotoxic lesions of the perirhinal and postrhinal cortices in the rat. *Behavioural Brain Research*, 111(1-2), 187-202.

Bussey, T. J., Saksida, L. M., & Murray, E. A. (2005). The perceptual-mnemonic/feature conjunction model of perirhinal cortex function. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, 58(3-4b), 269-282.

Buynitsky, T., & Mostofsky, D. I. (2009). Restraint stress in biobehavioral research: recent developments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(7), 1089-1098.

Calev, A., Venables, P. H., & Monk, A. F. (1983). Evidence for distinct verbal memory pathologies in severely and mildly disturbed schizophrenics. *Schizophrenia Bulletin*, 9(2), 247-264.

Callahan, H., Ikeda-Douglas, C., Head, E., Cotman, C. W., & Milgram, N. W. (2000). Development of a protocol for studying object recognition memory in the dog. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 24, 693-707.

Carlesimo, G. A., Lombardi, M. G., Caltagirone, C., & Barban, F. (2015). Recollection and familiarity in the human thalamus. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 54, 18-28.

Cavalcante, J. C., Cândido, P. L., Sita, L. V., do Nascimento Jr, E. S., de Souza Cavalcante, J., de Oliveira Costa, M. S. M., Cioni, J. B., & Elias, C. F. (2011). Comparative distribution of cocaine-and amphetamine-regulated transcript (CART) in the hypothalamus of the capuchin monkey (*Cebus apella*) and the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Brain Research*, 1425, 47-61.

Chiba, A. A., Kesner, R. P., & Gibson, C. J. (1997). Memory for temporal order of new and familiar spatial location sequences: role of the medial prefrontal cortex. *Learning & Memory*, 4(4), 311-317.

Cilia, J., & Piper, D. C. (1997). Marmoset conspecific confrontation: an ethologically-based model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 58(1), 85-91.

Clayton, N. S., & Dickinson, A. (1998). Episodic-like memory during cache recovery by scrub jays. *Nature*, 395(6699), 272-274.

Conrad, C. D., Jackson, J. L., Wiczorek, L., Baran, S. E., Harman, J. S., Wright, R. L., & Korol, D. L. (2004). Acute stress impairs spatial memory in male but not female rats: influence of estrous cycle. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(3), 569-579.

Corkin, S. (2002). What's new with the amnesic patient HM?. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(2), 153-160.

Cross, L., Brown, M. W., Aggleton, J. P., & Warburton, E. C. (2013). The medial dorsal thalamic nucleus and the medial prefrontal cortex of the rat function together to support associative recognition and recency but not item recognition. *Learning & Memory*, 20(1), 41-50.

Cross, N., Pines, M. K., & Rogers, L. J. (2004). Saliva sampling to assess cortisol levels in unrestrained common marmosets and the effect of behavioral stress. *American Journal of Primatology*, 62(2), 107-114.

Cui, K. H. (1996). The effect of stress on semen reduction in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Human Reproduction*, 11(3), 568-573.

Dantzer, R., O'Connor, J. C., Freund, G. G., Johnson, R. W., & Kelley, K. W. (2008). From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(1), 46-56.

Davis, M. (1992). The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual Review of Neuroscience*, 15(1), 353-375.

Day, R. L., Coe, R. L., Kendal, J. R., & Laland, K. N. (2003). Neophilia, innovation and social learning: a study of intergeneric differences in callitrichid monkeys. *Animal Behaviour*, 65(3), 559-571.

de Moraes Jr, M. M., Ruiz-Miranda, C. R., Gratiol, A. D., de Andrade, C. C., Lima, C. S., Martins, A., & Beck, B. B. (2008). Os sagüis, *Callithrix jacchus* e *penicillata*, como espécies invasoras na região de ocorrência do mico-leão dourado. *Conservação do Mico-Leão-Dourado*, 28820, 86-117.

de Quervain, D. J. F., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L. (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*, 394(6695), 787-790.

Dere, E., Huston, J. P., & Silva, M. A. D. S. (2007). The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 31(5), 673-704.

Diamond, D. M., Bennett, M. C., Fleshner, M., & Rose, G. M. (1992). Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation. *Hippocampus*, 2(4), 421-430.

Diamond, D. M., Fleshner, M., Ingersoll, N., & Rose, G. (1996). Psychological stress impairs spatial working memory: relevance to electrophysiological studies of hippocampal function. *Behavioral Neuroscience*, 110(4), 661-672.

Didic, M., Felician, O., Barbeau, E. J., Mancini, J., Latger-Florence, C., Tramon, E., & Ceccaldi, M. (2013). Impaired visual recognition memory predicts Alzheimer's disease in amnesic mild cognitive impairment. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 35(5-6), 291-299.

Dix, S. L., & Aggleton, J. P. (1999). Extending the spontaneous preference test of recognition: evidence of object-location and object-context recognition. *Behavioural Brain Research*, 99(2), 191-200.

Dominique, J. F., Roozendaal, B., Nitsch, R. M., McGaugh, J. L., & Hock, C. (2000). Acute cortisone administration impairs retrieval of long-term declarative memory in humans. *Nature Neuroscience*, 3(4), 313-314.

Dudchenko, P. A. (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 28(7), 699-709.

Dunn, J. C. (2004). Remember-know: a matter of confidence. *Psychological Review*, 111(2), 524-542.

Dusek, J. A., & Eichenbaum, H. (1997). The hippocampus and memory for orderly stimulus relations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(13), 7109-7114.

Eacott, M. J., & Norman, G. (2004). Integrated memory for object, place, and context in rats: a possible model of episodic-like memory?. *Journal of Neuroscience*, 24(8), 1948-1953.

Eagle, A. L., Fitzpatrick, C. J., & Perrine, S. A. (2013). Single prolonged stress impairs social and object novelty recognition in rats. *Behavioural Brain Research*, 256, 591-597.

Edwards, J., Jackson, H.J., & Pattison, P.E. (2002). Emotion recognition via facial expression and affective prosody in schizophrenia: a methodological review. *Clinical Psychology Review*, 22, 789 – 832. Erratum in: *Clinical Psychology Review*; 22, 1267-1285.

Eichenbaum, H., Otto, T., & Cohen, N. J. (1992). The hippocampus—What does it do?. *Behavioral and Neural Biology*, 57, 2-36.

Ellenbroek, B., & Yoon, J. (2016). Rodent models in neuroscience research: is it a rat race?. *Disease Models & Mechanisms*, 9(10), 1079-1087.

Ennaceur, A. (2010). One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behavioural Brain Research*, 215(2), 244-254.

Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, 31(1), 47-59.

Ennaceur, A., Michalikova, S., & Chazot, P. L. (2009). Do rats really express neophobia towards novel objects? Experimental evidence from exposure to novelty and to an object recognition task in an open space and an enclosed space. *Behavioural Brain Research*, 197(2), 417-434.

Ennaceur, A., Neave, N., & Aggleton, J. P. (1996). Neurotoxic lesions of the perirhinal cortex do not mimic the behavioural effects of fornix transection in the rat. *Behavioural Brain Research*, 80(1-2), 9-25.

Fantz, R. L. (1964). Visual experience in infants: Decreased attention to familiar patterns relative to novel ones. *Science*, 146(3644), 668-670.

Ferrari, S. F. (2009). Predation risk and antipredator strategies. In *South American Primates*, 251-277. Springer, New York, NY.

Forster, F. C. (1995). Exploratory behavior and learning in laboratory marmosets (*Callithrix jacchus jacchus*): Comparisons between experimental-cage and home-cage activity. *Primates*, 36(4), 501-514.

Fortin, N. J., Wright, S. P., & Eichenbaum, H. (2004). Recollection-like memory retrieval in rats is dependent on the hippocampus. *Nature*, 431(7005), 188-191.

Frye, C. A., & Walf, A. A. (2002). Changes in progesterone metabolites in the hippocampus can modulate open field and forced swim test behavior of proestrous rats. *Hormones and Behavior*, 41(3), 306-315.

Gaffan, D. (1992). Amnesia for complex naturalistic scenes and for objects following fornix transection in the rhesus monkey. *European Journal of Neuroscience*, 4(5), 381-388.

Galvão-coelho, N. L., Silva, H. P. A., & de Sousa, M. B. C. (2012). The influence of sex and relatedness on stress response in common marmosets (*Callithrix jacchus*). *American Journal of Primatology*, 74(9), 819-827.

Gaskin, S., Tardif, M., Cole, E., Piterkin, P., Kayello, L., & Mumby, D. G. (2010). Object familiarization and novel-object preference in rats. *Behavioural Processes*, 83(1), 61-71.



Gilad, G. M., Mahon, B. D., Finkelstein, Y., Koffler, B., & Gilad, V. H. (1985). Stress-induced activation of the hippocampal cholinergic system and the pituitary-adrenocortical axis. *Brain Research*, *347*(2), 404-408.

Glavin, G. B., Paré, W. P., Sandbak, T., Bakke, H. K., & Murison, R. (1994). Restraint stress in biomedical research: an update. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *18*(2), 223-249.

Griffiths, D., Dickinson, A., & Clayton, N. (1999). Episodic memory: what can animals remember about their past?. *Trends in Cognitive Sciences*, *3*(2), 74-80.

Guercio, G. D., Bevictori, L., Vargas-Lopes, C., Madeira, C., Oliveira, A., Carvalho, V. F., d'Ávila, J.C., & Panizzutti, R. (2014). D-serine prevents cognitive deficits induced by acute stress. *Neuropharmacology*, *86*, 1-8.

Hackam, D. G., & Redelmeier, D. A. (2006). Translation of research evidence from animals to humans. *Jama*, *296*(14), 1727-1732.

Hannesson, D. K., Howland, J. G., & Phillips, A. G. (2004). Interaction between perirhinal and medial prefrontal cortex is required for temporal order but not recognition memory for objects in rats. *Journal of Neuroscience*, *24*(19), 4596-4604.

Harrison, N. A., Doeller, C. F., Voon, V., Burgess, N., & Critchley, H. D. (2014). Peripheral inflammation acutely impairs human spatial memory via actions on medial temporal lobe glucose metabolism. *Biological Psychiatry*, *76*(7), 585-593.

Hart, L. A. (1998). *Responsible conduct with animals in research* (196). England: Oxford Univ. Press.

Hennessy, M. B., Kaiser, S., & Sachser, N. (2009). Social buffering of the stress response: diversity, mechanisms, and functions. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *30*(4), 470-482.

Herculano-Houzel, S., Collins, C. E., Wong, P., & Kaas, J. H. (2007). Cellular scaling rules for primate brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(9), 3562-3567.

Hermans, E. J., Henckens, M. J., Joëls, M., & Fernández, G. (2014). Dynamic adaptation of large-scale brain networks in response to acute stressors. *Trends in Neurosciences*, 37(6), 304-314.

Hoge, J., & Kesner, R. P. (2007). Role of CA3 and CA1 subregions of the dorsal hippocampus on temporal processing of objects. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88(2), 225-231.

Holsboer, F. (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology*, 23(5), 477-501.

Hopkins, M. E., & Bucci, D. J. (2010). BDNF expression in perirhinal cortex is associated with exercise-induced improvement in object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 94(2), 278-284.

Isaac, C. L., Holdstock, J. S., Cezayirli, E., Roberts, J. N., Holmes, C. J., & Mayes, A. R. (1998). Amnesia in a patient with lesions limited to the dorsomedial thalamic nucleus. *Neurocase*, 4(6), 497-508.

Izquierdo, I. (1989). Memórias. *Estudos Avançados*, 3(6), 89-112.

Izquierdo, I. (2002). *Memória*, 1ª Edição. Porto Alegre, Editora ARTMED.

Izquierdo, I., Bevilaqua, L. R., & Cammarota, M. (2006). A arte de esquecer. *Estudos Avançados*, 20(58), 289-296.

Jo, Y. S., & Lee, I. (2010). Disconnection of the hippocampal–perirhinal cortical circuits severely disrupts object–place paired associative memory. *Journal of Neuroscience*, 30(29), 9850-9858.

Joëls, M., Fernandez, G., & Roozendaal, B. (2011). Stress and emotional memory: a matter of timing. *Trends in cognitive sciences*, 15(6), 280-288.

Joëls, M., Heslen, W., & De Kloet, E. R. (1991). Mineralocorticoid hormones suppress serotonin-induced hyperpolarization of rat hippocampal CA1 neurons. *Journal of Neuroscience*, 11(8), 2288-2294.

Joëls, M., Pu, Z., Wiegert, O., Oitzl, M. S., & Krugers, H. J. (2006). Learning under stress: how does it work?. *Trends in Cognitive Sciences*, 10(4), 152-158.

Johnson, E. O., Kamilaris, T. C., Carter, C. S., Calogero, A. E., Gold, P. W., & Chrousos, G. P. (1996). The biobehavioral consequences of psychogenic stress in a small, social primate (*Callithrix jacchus jacchus*). *Biological Psychiatry*, 40(5), 317-337.

Johnson, E. O., Kamilaris, T. C., Carter, S., Gold, P. W., & Chrousos, G. P. (1991). "Environmental stress" and reproductive success in the common marmoset (*Callithrix jacchus jacchus*). *American Journal of Primatology*, 25(3), 191-201.

Kahana, M. J. (2012). *Foundations of human memory*. OUP USA.

Kandel, E., Schwartz, J., Jessell, T., Siegelbaum, S., & Hudspeth, A. J. (2014). Aprendizagem e memória. In: *Princípios de Neurociências (1256-1273)*. AMGH Editora.

Kawashima, N., & Kusnecov, A. W. (2002). Effects of staphylococcal enterotoxin A on pituitary–adrenal activation and neophobic behavior in the C57BL/6 mouse. *Journal of Neuroimmunology*, 123(1-2), 41-49.

Kendal, R. L., Coe, R. L., & Laland, K. N. (2005). Age differences in neophilia, exploration, and innovation in family groups of callitrichid monkeys. *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 66(2), 167-188.

King, F. A., Yarbrough, C. J., Anderson, D. C., Gordon, T. P., & Gould, K. G. (1988). Primates. *Science*, 240(4858), 1475-1482.

Kinnavane, L., Albasser, M. M., & Aggleton, J. P. (2015). Advances in the behavioural testing and network imaging of rodent recognition memory. *Behavioural Brain Research*, 285, 67-78.

Kirschbaum, C., Wolf, O. T., May, M., Wippich, W., & Hellhammer, D. H. (1996). Stress-and treatment-induced elevations of cortisol levels associated with impaired declarative memory in healthy adults. *Life Sciences*, 58(17), 1475-1483.

Klein, S. B., Cosmides, L., Tooby, J., & Chance, S. (2002). Decisions and the evolution of memory: multiple systems, multiple functions. *Psychological Review*, *109*(2), 306-329.

Knowlton, B. J., Mangels, J. A., & Squire, L. R. (1996). A neostriatal habit learning system in humans. *Science*, *273*(5280), 1399-1402.

Kornum, B. R., Thygesen, K. S., Nielsen, T. R., Knudsen, G. M., & Lind, N. M. (2007). The effect of the inter-phase delay interval in the spontaneous object recognition test for pigs. *Behavioural Brain Research*, *181*(2), 210-217.

Krebs, J. R. (1983). Animal behaviour: From Skinner box to the field. *Nature*, *304*(5922), 117-117.

Kuhlmann, S., Piel, M., & Wolf, O. T. (2005). Impaired memory retrieval after psychosocial stress in healthy young men. *Journal of Neuroscience*, *25*(11), 2977-2982.

Lacreuse, A., Schatz, K., Strazzullo, S., King, H. M., & Ready, R. (2013). Attentional biases and memory for emotional stimuli in men and male rhesus monkeys. *Animal Cognition*, *16*(6), 861-871.

LeDoux, J. (2003). The emotional brain, fear, and the amygdala. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *23*(4-5), 727-738.

Lee, A. C., Buckley, M. J., Pegman, S. J., Spiers, H., Scahill, V. L., Gaffan, D., Bussey T. J., Davies R. R., Kapur N., Hodges J. R., Graham K. S. (2005). Specialization in the medial temporal lobe for processing of objects and scenes. *Hippocampus*, *15*(6), 782-797.

Levine, S. (2005) Stress: an historical perspective. In: Steckler, T., Kalin, N. H., & Reul, J. H. M. (2005). *Handbook of Stress and The Brain part 1: The Neurobiology of Stress*, *15*, 3–23, Elsevier.

Li, S., Fan, Y. X., Wang, W., & Tang, Y. Y. (2012). Effects of acute restraint stress on different components of memory as assessed by object-recognition and object-location tasks in mice. *Behavioural Brain Research*, *227*(1), 199-207.

López, J. F., Akil, H., & Watson, S. J. (1999). Neural circuits mediating stress. *Biological Psychiatry*, 46(11), 1461-1471.

Lupien, S. J., & Lepage, M. (2001). Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behavioural Brain Research*, 127(1-2), 137-158.

Lupien, S. J., Gillin, C. J., & Hauger, R. L. (1999). Working memory is more sensitive than declarative memory to the acute effects of corticosteroids: A dose-response study in humans. *Behavioral Neuroscience*, 113(3), 420.

MacDonald, S. E., Pang, J. C., & Gibeault, S. (1994). Marmoset (*Callithrix jacchus jacchus*) spatial memory in a foraging task: Win-stay versus win-shift strategies. *Journal of Comparative Psychology*, 108(4), 328.

Majewska, M. D., Bisslerbe, J. C., & Eskay, R. L. (1985). Glucocorticoids are modulators of GABAA receptors in brain. *Brain Research*, 339(1), 178-182.

Mandler, G. (1980). Recognizing: The judgment of previous occurrence. *Psychological Review*, 87(3), 252-271.

Marcondes, F. K., Miguel, K. J., Melo, L. L., & Spadari-Bratfisch, R. C. (2001). Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiology & Behavior*, 74(4-5), 435-440.

Maroun, M., & Akirav, I. (2008). Arousal and stress effects on consolidation and reconsolidation of recognition memory. *Neuropsychopharmacology*, 33(2), 394-405.

May, Z., Morrill, A., Holcombe, A., Johnston, T., Gallup, J., Fouad, K., Schalomon, M., & Hamilton, T. J. (2016). Object recognition memory in zebrafish. *Behavioural Brain Research*, 296, 199-210.

Mccormick, D. A., Lavond, D. G., Clark, G. A., Kettner, R. E., Rising, C. E., & Thompson, R. F. (1981). The engram found? Role of the cerebellum in classical conditioning of nictitating membrane and eyelid responses. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 18(3), 103-105.

McCullough, A. M., & Yonelinas, A. P. (2013). Cold-pressor stress after learning enhances familiarity-based recognition memory in men. *Neurobiology of Learning and Memory*, 106, 11-17.

McEwen, B. S., & Gianaros, P. J. (2011). Stress-and allostasis-induced brain plasticity. *Annual Review of Medicine*, 62, 431-445.

McGaugh, J. L., & Roozendaal, B. (2002). Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(2), 205-210.

Melamed<sup>a</sup>, J. L., de Jesus, F. M., Aquino, J., Vannuchi, C. R., Duarte, R. B., Maior, R. S., Tomaz, C., & Barros, M. (2017). Differential modulatory effects of cocaine on marmoset monkey recognition memory. *In Progress in Brain Research*, 235, 155-176. Elsevier.

Melamed<sup>b</sup>, J. L., de Jesus, F. M., Maior, R. S., & Barros, M. (2017). Scopolamine induces deficits in spontaneous object-location recognition and fear-learning in marmoset monkeys. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 395.

Merkow, M. B., Burke, J. F., & Kahana, M. J. (2015). The human hippocampus contributes to both the recollection and familiarity components of recognition memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(46), 14378-14383.

Miller, E. K., Erickson, C. A., & Desimone, R. (1996). Neural mechanisms of visual working memory in prefrontal cortex of the macaque. *Journal of Neuroscience*, 16(16), 5154-5167.

Mishkin, M., & Delacour, J. (1975). An analysis of short-term visual memory in the monkey. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 1(4), 326.

Mishkin, M., Malamut, B., & Bachevalier, J. (1984). Memories and habits: Two neural systems. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65-77.

Muller, R. U., & Stead, M. (1996). Hippocampal place cells connected by Hebbian synapses can solve spatial problems. *Hippocampus*, 6(6), 709-719.

Munger, E. L., Takemoto, A., Raghanti, M. A., & Nakamura, K. (2017). Visual discrimination and reversal learning in aged common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Neuroscience Research*, 124, 57-62.

Nelissen, E., Prickaerts, J., & Blokland, A. (2018). Acute stress negatively affects object recognition early memory consolidation and memory retrieval unrelated to state-dependency. *Behavioural Brain Research*, 345, 9-12.

Norcross, J. L., & Newman, J. D. (1999). Effects of separation and novelty on distress vocalizations and cortisol in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *American Journal of Primatology: Official Journal of the American Society of Primatologists*, 47(3), 209-222.

Norscia, I., & Palagi, E. (2011). When play is a family business: adult play, hierarchy, and possible stress reduction in common marmosets. *Primates*, 52(2), 101-104.

O'Byrne, K. T., Lunn, S. F., & Dixson, A. F. (1988). Effects of acute stress on the patterns of LH secretion in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Journal of Endocrinology*, 118(2), 259-264.

Ozawa, T., Yamada, K., & Ichitani, Y. (2011). Long-term object location memory in rats: Effects of sample phase and delay length in spontaneous place recognition test. *Neuroscience Letters*, 497(1), 37-41.

Paramastri, Y., Royo, F., Eberova, J., Carlsson, H. E., Sajuthi, D., Fernstrom, A. L., Pamungkas, J., Hau, J. (2007). Urinary and fecal immunoglobulin A, cortisol and 11-17 dioxoandrostanes, and serum cortisol in metabolic cage housed female cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Journal of medical primatology*, 36(6), 355-364.

Parker, A., Eacott, M. J., & Gaffan, D. (1997). The recognition memory deficit caused by mediodorsal thalamic lesion in non-human primates: a comparison with rhinal cortex lesion. *European Journal of Neuroscience*, 9(11), 2423-2431.

Pavlov, I. P. (1927). *Conditional reflexes: an investigation of the physiological activity of the cerebral cortex*.

Pereira, L. C., Maior, R. S., & Barros, M. (2019). Rightward tympanic membrane temperature bias during acute restraint-isolation stress in marmoset monkeys. *Frontiers in Neuroscience*, *13*, 913.

Platt, M. L., Brannon, E. M., Briese, T. L., & French, J. A. (1996). Differences in feeding ecology predict differences in performance between golden lion tamarins (*Leontopithecus rosalia*) and Wied's marmosets (*Callithrix kuhli*) on spatial and visual memory tasks. *Animal Learning & Behavior*, *24*(4), 384-393.

Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Hall, W. C., LaMantia, A. S., McNamara, J. O., & White, L. E. (2010). *Neurociências*, 4<sup>a</sup>. Artmed Editora.

Roosendaal, B., Hahn, E. L., Nathan, S. V., Dominique, J. F., & McGaugh, J. L. (2004). Glucocorticoid effects on memory retrieval require concurrent noradrenergic activity in the hippocampus and basolateral amygdala. *Journal of Neuroscience*, *24*(37), 8161-8169.

Roosendaal, B., McEwen, B. S., & Chattarji, S. (2009). Stress, memory and the amygdala. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(6), 423-433.

Roosendaal, B., Okuda, S., Van der Zee, E. A., & McGaugh, J. L. (2006). Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(17), 6741-6746.

Rosellini, R. A., & Widman, D. R. (1989). Prior exposure to stress reduces the diversity of exploratory behavior of novel objects in the rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, *103*(4), 339-346.

Rugg, M. D., & Yonelinas, A. P. (2003). Human recognition memory: a cognitive neuroscience perspective. *Trends in Cognitive Sciences*, *7*(7), 313-319.

Rylands, A. B., & Mittermeier, R. A. (2009). The diversity of the New World primates (Platyrrhini): an annotated taxonomy. In *South American Primates*, 23-54. Springer, New York, NY.



Rylands, A. B., Coimbra-Filho, A. F., & Mittermeier, R. A. (2009). The systematics and distributions of the marmosets (*Callithrix*, *Callibella*, *Cebuella*, and *Mico*) and callimico (*Callimico*)(*Callitrichidae*, *Primates*). In *The Smallest Anthropoids*, 25-61. Springer, Boston, MA.

Salén, J. C. W. (1994). Animal models: principles and problems. In: Rollin B. E., Kesel, M. L. (1995). *The Experimental Animal in Biomedical Research: Care, Husbandry and Well-Being: an Overview by Species*, 3ed. Boston: CRC Press.

Sapolsky, R. M., Uno, H., Rebert, C. S., & Finch, C. E. (1990). Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *Journal of Neuroscience*, 10(9), 2897-2902.

Sasaki E., Suemizu H., Shimada A., Hanazawa K., Oiwa R., Kamioka M., Tomioka I., Sotomaru Y., Hirakawa R., Eto T., Shiozawa S., Maeda T., Ito M., Ito R., Kito C., Yagihashi C., Kawai K., Miyoshi H., Tanioka Y., Tamaoki N., Habu S., Okano H., & Nomura T. (2009). Generation of transgenic non-human primates with germline transmission. *Nature*, 459(7246), 523–527.

Sauro, M. D., Jorgensen, R. S., & Teal Pedlow, C. (2003). Stress, glucocorticoids, and memory: a meta-analytic review. *Stress*, 6(4), 235-245.

Savage, L. M., & Ramos, R. L. (2009). Reward expectation alters learning and memory: the impact of the amygdala on appetitive-driven behaviors. *Behavioural Brain Research*, 198(1), 1-12.

Sayin, A., Derinöz, O., Yüksel, N., Şahin, S., & Bolay, H. (2014). The effects of the estrus cycle and citalopram on anxiety-like behaviors and c-fos expression in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 124, 180-187.

Schacter, D. L. (1992). Priming and multiple memory systems: Perceptual mechanisms of implicit memory. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 4(3), 244-256.

Schönfeld, P., Ackermann, K., & Schwabe, L. (2014). Remembering under stress: Different roles of autonomic arousal and glucocorticoids in memory retrieval. *Psychoneuroendocrinology*, 39, 249-256.

Schwabe, L., & Wolf, O. T. (2014). Timing matters: temporal dynamics of stress effects on memory retrieval. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 14(3), 1041-1048.

Sequencing, T. M. G. (2014). The common marmoset genome provides insight into primate biology and evolution. *Nature Genetics*, 46(8), 850-857.

Shansky, R. M., & Lipps, J. (2013). Stress-induced cognitive dysfunction: hormone-neurotransmitter interactions in the prefrontal cortex. *Frontiers in Human Neuroscience*, 7, 123.

Shettleworth, S. J. (2009). *Cognition, evolution, and behavior*. Oxford university press.

Shields, G. S., Sazma, M. A., McCullough, A. M., & Yonelinas, A. P. (2017). The effects of acute stress on episodic memory: a meta-analysis and integrative review. *Psychological Bulletin*, 143(6), 636-675.

Shin, L. M., & Liberzon, I. (2010). The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 169-191.

Shors, T. J. (2004). Learning during stressful times. *Learning & Memory*, 11(2), 137-144.

Skinner, E. I., & Fernandes, M. A. (2007). Neural correlates of recollection and familiarity: A review of neuroimaging and patient data. *Neuropsychologia*, 45(10), 2163-2179.

Skoluda, N., Strahler, J., Schlotz, W., Niederberger, L., Marques, S., Fischer, S., Thoma, M. V., Spoerri, C., Ehlert, U., & Nater, U. M. (2015). Intra-individual psychological and physiological responses to acute laboratory stressors of different intensity. *Psychoneuroendocrinology*, 51, 227-236.

Slavich, G. M., & Irwin, M. R. (2014). From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychological Bulletin*, 140(3), 774-815.

Smeets, T., Otgaar, H., Candel, I., & Wolf, O. T. (2008). True or false? Memory is differentially affected by stress-induced cortisol elevations and sympathetic activity at consolidation and retrieval. *Psychoneuroendocrinology*, 33(10), 1378-1386.

Sousa, M. B. C. D., Galvão, A. C. D. M., Sales, C. J. R., Castro, D. C. D., & Galvão-Coelho, N. L. (2015). Endocrine and cognitive adaptations to cope with stress in immature common marmosets (*Callithrix jacchus*): sex and age matter. *Frontiers in Psychiatry*, 6, 160.

Spinelli, S., Pennanen, L., Dettling, A. C., Feldon, J., Higgins, G. A., & Pryce, C. R. (2004). Performance of the marmoset monkey on computerized tasks of attention and working memory. *Cognitive Brain Research*, 19(2), 123-137.

Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171-177.

Squire, L. R., Wixted, J. T., & Clark, R. E. (2007). Recognition memory and the medial temporal lobe: a new perspective. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(11), 872-883.

Stern, C. E., & Hasselmo, M. E. (2009). Recognition Memory. *Encyclopedia of Neuroscience*, 1, 49-54.

Sweeney, C. G., Curran, E., Westmoreland, S. V., Mansfield, K. G., & Vallender, E. J. (2012). Quantitative molecular assessment of chimerism across tissues in marmosets and tamarins. *BMC Genomics*, 13(1), 98.

Tardif, S. D., Mansfield, K. G., Ratnam, R., Ross, C. N., & Ziegler, T. E. (2011). The marmoset as a model of aging and age-related diseases. *ILAR Journal*, 52(1), 54-65.

Tardif, S. D., Smucny, D. A., Abbott, D. H., Mansfield, K., Schultz-Darken, N., & Yamamoto, M. E. (2003). Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Comparative Medicine*, 53(4), 364-368.

Thompson, R. F., & Steinmetz, J. E. (2009). The role of the cerebellum in classical conditioning of discrete behavioral responses. *Neuroscience*, 162(3), 732-755.

Thorpe, S., Fize, D., & Marlot, C. (1996). Speed of processing in the human visual system. *Nature*, *381*(6582), 520-522.

Tomioka I., Maeda T., Shimada H., Kawai K., Okada Y., Igarashi H., Oiwa R., Iwasaki T., Aoki M., Kimura T., Shiozawa S., Shinohara H., Suemizu H., Sasaki E., & Okano H. (2010). Generating induced pluripotent stem cells from common marmoset (*Callithrix jacchus*) fetal liver cells using defined factors, including Lin28. *Genes Cells*, *15*, 959–969

Tsoory, M., & Richter-Levin, G. (2006). Learning under stress in the adult rat is differentially affected by 'juvenile' or 'adolescent' stress. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *9*(6), 713-728.

Tsujimoto, S., & Sawaguchi, T. (2005). Neuronal activity representing temporal prediction of reward in the primate prefrontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, *93*(6), 3687-3692.

Tulving, E. (1972). Episodic and semantic memory. *Organization of Memory*, *1*, 381-403.

Tulving, E. (1983). Ecphoric processes in episodic memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, *302*(1110), 361-371.

Tulving, E. (1985). Memory and consciousness. *Canadian Psychology/Psychologie Canadienne*, *26*(1), 1-12.

Tulving, E. (2002). Episodic memory: from mind to brain. *Annual Review of Psychology*, *53*(1), 1-25.

Urani, A., Philbert, J., Cohen, C., & Griebel, G. (2011). The corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonist, SSR125543, and the vasopressin 1b receptor antagonist, SSR149415, prevent stress-induced cognitive impairment in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *98*(3), 425-431.

Van Praag, H. M. (2004). Can stress cause depression? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *28*(5), 891-907.

Vannuchi, C. R., Costa, C. S., de Jesus, F. M., Maior, R. S., & Barros, M. (2020). Sex, diurnal variation and retention interval differently affect performance of marmoset monkeys in a recognition memory task for object location. *Behavioural Brain Research*, 379(3), 112334.

Vargas-López, V., Torres-Berrio, A., González-Martínez, L., Múnera, A., & Lamprea, M. R. (2015). Acute restraint stress and corticosterone transiently disrupts novelty preference in an object recognition task. *Behavioural Brain Research*, 291, 60-66.

Wais, P. E., Wixted, J. T., Hopkins, R. O., & Squire, L. R. (2006). The hippocampus supports both the recollection and the familiarity components of recognition memory. *Neuron*, 49(3), 459-466.

Warburton, E. C., & Brown, M. W. (2015). Neural circuitry for rat recognition memory. *Behavioural Brain Research*, 285, 131-139.

Ward, J. M., & Vallender, E. J. (2012). The resurgence and genetic implications of New World primates in biomedical research. *Trends in Genetics*, 28(12), 586-591.

Whittington, C. J., Podd, J., & Kan, M. M. (2000). Recognition memory impairment in Parkinson's disease: power and meta-analyses. *Neuropsychology*, 14(2), 233-246.

Wiemers, U. S., Sauvage, M. M., Schoofs, D., Hamacher-Dang, T. C., & Wolf, O. T. (2013). What we remember from a stressful episode. *Psychoneuroendocrinology*, 38(10), 2268-2277.

Wilson, B. A., Baddeley, A. D., & Kapur, N. (1995). Dense amnesia in a professional musician following herpes simplex virus encephalitis. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 17(5), 668-681.

Winters, B. D., Forwood, S. E., Cowell, R. A., Saksida, L. M., & Bussey, T. J. (2004). Double dissociation between the effects of peri-postrhinal cortex and hippocampal lesions on tests of object recognition and spatial memory: heterogeneity of function within the temporal lobe. *Journal of Neuroscience*, 24(26), 5901-5908.

Winters, B. D., Saksida, L. M., & Bussey, T. J. (2008). Object recognition memory: neurobiological mechanisms of encoding, consolidation and retrieval. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 32(5), 1055-1070.

Wolf, O. T. (2008). The influence of stress hormones on emotional memory: relevance for psychopathology. *Acta Psychologica*, 127(3), 513-531.

Wolf, O. T. (2017). Stress and memory retrieval: mechanisms and consequences. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 14, 40-46.

Wolf, O. T., Schommer, N. C., Hellhammer, D. H., McEwen, B. S., & Kirschbaum, C. (2001). The relationship between stress induced cortisol levels and memory differs between men and women. *Psychoneuroendocrinology*, 26(7), 711-720.

Wolkowitz, O. M., Reus, V. I., Weingartner, H., Thompson, K., Breier, A., Doran, A., Rubinow, D., & Pickar, D. (1990). Cognitive effects of corticosteroids. *The American Journal of Psychiatry*, 147(10), 1297-1303.

Xiang, J. Z., & Brown, M. W. (2004). Neuronal responses related to long-term recognition memory processes in prefrontal cortex. *Neuron*, 42(5), 817-829.

Yang, Y., Cao, J., Xiong, W., Zhang, J., Zhou, Q., Wei, H., Liang, C., Deng, J., Li, T., Yang, S., & Xu, L. (2003). Both Stress Experience and Age Determined the Impairment or Enhancement Effect of Stress on Spatial Memory Retrieval. *Journal of Endocrinology*, 178, 45-54.

Yehuda, R. (2002). Post-traumatic stress disorder. *New England Journal of Medicine*, 346(2), 108-114.

Yonelinas, A. P. (2001). Components of episodic memory: the contribution of recollection and familiarity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 356(1413), 1363-1374.

Zola-Morgan, S., Squire, L. R., & Ramus, S. J. (1994). Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus*, 4(4), 483-495.

## ANEXO 1



**Universidade de Brasília**  
Instituto de Ciências Biológicas  
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 6 de março de 2018.

### DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado "EFEITO DO ESTRESSE NA MEMÓRIA DE RECONHECIMENTO DE PRIMATAS NÃO-HUMANOS (CALLITHRIX PENICILLATA).", Protocolo n.º 114/2017, sob responsabilidade da Professora Marília Barros foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília. Este projeto foi aprovado para utilização de: *Callithrix penicillata* (24)

A presente aprovação é válida pelo período de: 01/03/2018 a 31/12/2021.



Prof. Dr. Cássio José da Silva  
Coordenador da CEUA – UnB



\*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.

## ANEXO 2

**Tabela I.** Relação das três etapas realizadas neste estudo, indicando os sujeitos testados em cada uma delas, o tratamento (TTO) de estresse ao qual eles foram submetidos e os objetos utilizados na sessão teste da tarefa de REO.

| DIA DO TESTE    | REO | SUJEITO | TTO. ESTRESSE    | OBJETO              |                     |
|-----------------|-----|---------|------------------|---------------------|---------------------|
|                 |     |         |                  | Familiar            | Novo                |
| <b>1ª Etapa</b> |     | 1       | antes do treino  | cupcake             | caixa de ovos bege  |
|                 |     | 2       | antes do treino  | cupcake             | caixa de ovos bege  |
|                 |     | 3       | depois do treino | cupcake             | caixa de ovos bege  |
|                 |     | 4       | depois do treino | caixa de ovos bege  | cupcake             |
|                 |     | 5       | antes do treino  | caixa de ovos bege  | cupcake             |
|                 |     | 6       | antes do treino  | cupcake             | caixa de ovos bege  |
|                 |     | 7       | depois do treino | cupcake             | caixa de ovos bege  |
|                 |     | 8       | depois do treino | caixa de ovos bege  | cupcake             |
|                 |     | 9       | depois do treino | cupcake             | caixa de ovos bege  |
| <b>2ª Etapa</b> |     | 10      | antes do treino  | cano em "C"         | garrafa PET         |
|                 |     | 11      | antes do treino  | garrafa PET         | cano em "C"         |
|                 |     | 12      | depois do treino | cano em "C"         | garrafa PET         |
|                 |     | 13      | controle         | cano em "C"         | garrafa PET         |
|                 |     | 14      | controle         | garrafa PET         | cano em "C"         |
|                 |     | 15      | controle         | garrafa PET         | cano em "C"         |
|                 |     | 16      | controle         | garrafa PET         | cano em "C"         |
|                 |     | 17      | controle         | cano em "C"         | garrafa PET         |
|                 |     | 18      | controle         | garrafa PET         | cano em "C"         |
| <b>3ª Etapa</b> |     | 19      | antes do teste   | caixa de ovos cinza | cano em "T"         |
|                 |     | 20      | antes do teste   | cano em "T"         | caixa de ovos cinza |
|                 |     | 21      | antes do teste   | caixa de ovos cinza | cano em "T"         |
|                 |     | 22      | antes do teste   | cano em "T"         | caixa de ovos cinza |
|                 |     | 23      | antes do teste   | caixa de ovos cinza | cano em "T"         |
|                 |     | 24      | antes do teste   | cano em "T"         | caixa de ovos cinza |



### ANEXO 3

**Tabela II.** Média  $\pm$  erro padrão da média (epm; em segundos) da exploração de cada objeto nas sessões treino e teste em todos os grupos experimentais.

| Grupo experimental  | Objeto na sessão treino |            | Objeto na sessão teste |            |
|---------------------|-------------------------|------------|------------------------|------------|
|                     | Familiar                | Novo       | Familiar               | Novo       |
| controle            | 8 $\pm$ 3               | 8 $\pm$ 2  | 4 $\pm$ 2              | 14 $\pm$ 6 |
| estresse pré-treino | 7 $\pm$ 1               | 7 $\pm$ 1  | 4 $\pm$ 2              | 13 $\pm$ 6 |
| estresse pós-treino | 13 $\pm$ 3              | 9 $\pm$ 2  | 12 $\pm$ 4             | 10 $\pm$ 4 |
| estresse pré-teste  | 24 $\pm$ 6              | 21 $\pm$ 3 | 27 $\pm$ 9             | 12 $\pm$ 4 |

**Tabela III.** Média  $\pm$  erro padrão da média (epm) dos índices de discriminação de todos os grupos experimentais.

| Grupo experimental  | Índice de discriminação |
|---------------------|-------------------------|
| controle            | 0,6 $\pm$ 0,1           |
| estresse pré-treino | 0,4 $\pm$ 0,1           |
| estresse pós-treino | -0,1 $\pm$ 0,1          |
| estresse pré-teste  | -0,3 $\pm$ 0,1          |

**Tabela IV.** Mediana (e quartis 25 e 75%) da latência para a primeira exploração dos objetos familiar e novo na sessão teste de todos os grupos experimentais.

| Grupo experimental  | Objeto familiar | Objeto novo  |
|---------------------|-----------------|--------------|
| controle            | 119 (41, 194)   | 78 (19, 201) |
| estresse pré-treino | 53 (30, 101)    | 20 (16, 36)  |
| estresse pós-treino | 91 (55, 166)    | 78 (39, 134) |
| estresse pré-teste  | 22 (13, 95)     | 24 (13, 40)  |