

**MEMÓRIA EMOCIONAL EM MACACOS-PREGO (*Cebus* spp.):
DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO TESTE E EFEITOS DOS
HORMÔNIOS ESTRADIOL E PROGESTERONA**

Orientanda: Carina Tostes Abreu

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz

Co-Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Clotilde Henriques Tavares

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade de Brasília como
parte dos requisitos para a obtenção do título
de Doutora em Biologia Animal.

Brasília

2006

DEDICO

Ao meu raio de sol de todas as manhãs, minha filha Ludmila
e ao meu amor e companheiro, Diogo

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília e Programa de Pós-graduação em Biologia Animal pela oportunidade de realizar este projeto e curso de doutorado.

Ao Professor Carlos Alberto Bezerra Tomaz pela orientação, transmissão de conhecimentos, ajuda durante todo o trabalho, e, principalmente, pela confiança, pois conseguiu acreditar mais na minha capacidade do que eu mesma.

À Professora Maria Clotilde Henriques Tavares, minha co-orientadora, pela orientação, amizade e credibilidade, além da participação na coleta de material, observação dos comportamentos e julgamento das fotografias.

À Professora Maria Bernardete Cordeiro de Sousa pela extração e dosagem dos hormônios e pelas sugestões e críticas para versão final da tese.

Ao Professor Valdir Figueiras Pessoa pelas sugestões desde o início do projeto, bem como pelas críticas e contribuições ao projeto e à tese.

À Professora Marília Barros pela leitura crítica e sugestões à tese, e pela cessão de espaço para armazenamento do material coletado.

Aos Professores Francisco Neves e Ricardo Pratese pela participação como membros da banca examinadora e valiosas contribuições na versão final.

Às colegas: Arianna Marchetti e Armida D'Onofrio, que vieram de tão longe para apoiar o projeto, pelas fotografias, informatização e classificação das imagens.

À Dra. Úrsula Rodrigues Gomes pelo julgamento das fotografias e participação na coleta de material e observações comportamentais.

À Paola Rabello Vieira pela coleta de material e pelas muitas horas dedicadas ao julgamento das fotografias de macacos.

À Elisa Suganuma pelo julgamento das fotografias de macacos e soluções de problemas com o equipamento. Pela amizade e por estar sempre disponível para solucionar minhas dúvidas.

À Isabel Cavalcante Waga pelas coletas de material e observação dos comportamentos.

À Michelline Resende pelo julgamento das fotografias de macacos.

Ao colega Carlos Uribe Valêncio pela ajuda com o programa computacional, instalação de software e sugestões nas análises estatísticas.

Aos veterinários Dr. Raimundo Oliveira da Silva e Dr. Danilo S. Teixeira e ao tratador Geinaldo Vieira da Silva, pelo tratamento dos animais e manutenção do Centro de Primatologia da UnB, pelo auxílio nas diversas tarefas necessárias ao projeto, bem como coleta de material para as dosagens hormonais.

Às amigas: Maria Cristina Braga, pela leitura crítica e correções na tese, e Camila Meireles e Juliana Paes de Castro, pelas correções no abstract e, principalmente, pelo carinho e atenção.

À Maria Marta Mariano, técnica do Laboratório de Neurociências e Comportamento, e à Nara e à Daniele, secretárias da Biologia Animal, pela disponibilidade, bom humor e orientações para consertos de equipamentos e documentação pessoal.

Aos colegas de laboratório Simone, Rodrigo, Sofia, Pedro, Isabella, Michelline e Victória, que me apoiaram ou participaram do projeto.

Aos meus queridos sujeitos, os macacos-prego: Drica, Mila, Ronaldinha, Rosa, Salomé, Romeu, Pingo, Guga e Reginaldo, pela participação no projeto e por me fazerem sorrir e serem tão prestativos e carinhosos.

Ao IBAMA pela concessão de afastamento parcial durante um ano para conclusão do curso e aos servidores da Coordenação de Gestão do Desempenho dos Recursos Humanos pelo apoio e orientação com relação à licença.

À todos os meus amigos e aos meus irmãos, que, de alguma forma, participaram desse importante e delicado momento da minha vida, me oferecendo estímulo e desejando sucesso. Por me ouvirem, fornecerem idéias e pelos momentos de descontração e diversão.

À minha família, principalmente meus pais Ângela e Pedro, pelo incentivo e ajuda, pois sempre me apoiaram e me convenceram a não desistir.

À Ludmila e Diogo, que ficaram ao meu lado durante todo o projeto, coletas e redação da tese, e que tiveram paciência para suportar as minhas crises e dificuldades, oferecendo carinho e alegria.

RESUMO

A memória é a habilidade dos seres vivos de adquirir, reter e utilizar informações ou conhecimentos. O benefício da emoção na memória pode ser considerado adaptativo, uma vez que aumenta as chances de informações relevantes estarem disponíveis no futuro. Dessa forma, eventos com significado emocional serão memorizados mais facilmente do que eventos sem conteúdo emocional. Além disso, os hormônios das gônadas afetam permanentemente a organização cerebral e uma variedade de comportamentos. Há indícios de que os estrógenos modulem o funcionamento cognitivo e intensifiquem a memória. Assim sendo, este trabalho propôs investigar a ação dos hormônios sexuais (estradiol e progesterona) no desempenho cognitivo de fêmeas de macacos-prego em testes de memória operacional emocional e verificar se a memória operacional pode ser facilitada pelo conteúdo emocional do estímulo visual na tarefa de escolha-diferente-do-modelo com atraso de 8 segundos. Para isso, foi desenvolvido um conjunto de 384 fotografias de faces de macacos-prego (*Cebus* spp.) classificadas de acordo com a valência emocional em positivas/agradáveis, negativas/aversivas ou neutras/indiferentes. Cinco fêmeas e dois machos de macacos-prego adultos foram testados utilizando um programa computacional específico e com um monitor do tipo tela sensível ao toque. Figuras geométricas (controles) e fotos de faces co-específicas foram utilizadas como estímulos. Foi também comparado o desempenho de quatro fêmeas entre duas fases experimentais, sendo uma com administração via oral de 0,11 mg/dia de valerato de estradiol e outra durante a flutuação natural do ciclo menstrual, utilizando placebo. Os resultados não indicaram diferenças significativas no desempenho dos sujeitos entre as fotos com valências positiva, negativa e neutra. Entretanto, os macacos apresentaram desempenho acima do limite superior da aleatoriedade para todos os tipos de estímulos, demonstrando assim a sua capacidade de responder ao teste utilizando fotografias de faces co-específicas como estímulo visual. O desempenho dos animais no teste foi superior com figuras geométricas quando comparadas com fotografias faciais de macacos-prego. Quanto ao experimento hormonal, as dosagens fecais de estradiol mostraram que houve aumento significativo nos níveis fecais de estradiol na semana de tratamento com valerato de estradiol. Além disso, constatou-se um aumento significativo nos comportamentos sexuais das fêmeas durante a semana com administração exógena de estradiol e correlação positiva entre os níveis de estradiol e a duração e a frequência dos comportamentos sexuais. Os resultados do presente estudo não confirmam nossa hipótese inicial de que as fêmeas de macaco-prego poderiam apresentar um melhor desempenho no teste DNMS quando os níveis de estrogênio estivessem altos, mesmo para estímulos com valor emocional, mas corroboram os estudos realizados com macacas rhesus jovens. Não foi encontrada correlação significativa entre os níveis de hormônios e o

desempenho nos testes para nenhum dos tipos de estímulo, reforçando a idéia de que o desempenho das macacas *Cebus* no teste de memória operacional utilizado não foi sensível às alterações nos níveis hormonais. Este primeiro estudo demonstra a importância de se entender melhor a influencia da expressividade emocional na memória e indica a possível aplicação do paradigma adotado neste trabalho na investigação da memória operacional emocional em primatas não-humanos.

Palavras-chave: macaco-prego, *Cebus* spp.; memória operacional emocional; faces emocionais; non-matching-to-sample test; estradiol; progesterona.

ABSTRACT

Memory is the ability of living beings to acquire, retain and retrieve information or knowledge. The benefit of emotion on memory can be considered adaptive as it increases the chances that survival-relevant information will be available in the future. Therefore, emotionally meaningful events are more easily remembered than events devoid of emotional content. Moreover, gonadal hormones affect brain organization permanently, as well as a variety of behaviors. There are indications that estrogens modulate cognitive functioning and intensify memory. Thus, this research proposes to investigate the role of sexual hormones (estradiol and progesterone) on the cognitive performance of female capuchin monkeys during emotional working memory tests and to examine whether working memory can benefit from the emotional content of visual stimuli in the non-matching-to-sample task with 8 seconds delay. In this study a pool of 384 pictures of capuchin monkey (*Cebus spp.*) faces classified according to the emotional valence (positive/pleasant, negative/unpleasant and neutral/indifferent) was developed. Five female and two male adult capuchin monkeys were tested with a computer system and touch screen. Geometric figures (control) and the co-specific face pictures were used as stimuli. Moreover, four female performances between two experimental phases, one with the oral administration of 0,11 mg/day of estradiol valerato and another one during the natural fluctuation of the menstrual cycle, were compared. The subjects showed a similar performance to positive, negative and neutral pictures. However, the monkeys performed above the upper confidence limits around chance to all kinds of stimuli, indicating that they are able to learn the tests that use emotional faces. Furthermore, the performances of the capuchin monkeys improved when using the geometric figures as opposed to the co-specific pictures. Concerning the hormonal experiment, there was a significant increase in the estradiol levels found in the feces during the week of treatment with estradiol valerato. There was also a statistical increase in the females' sexual behaviors during that same week. In addition, a positive correlation was found between the levels of estradiol and the duration and the frequency of sexual behaviors. These females' performances on the DNMS tasks between the treatments (estradiol x placebo) did not reveal statistical differences for any of the stimuli (geometric, positive, negative and neutral). These results do not confirm our initial hypothesis that female capuchin monkeys could present better performances in DNMS test with higher levels of estrogen, including for emotional value stimuli, although they corroborate the studies with young rhesus monkeys. No significant correlation between the hormone levels and the performance in the tests for any of the stimulus types was found, granting the idea that the performance of the *Cebus* females in the working memory test used was not sensitive to the hormonal levels alterations. This preliminary study provides relevant

information concerning the understanding of the influences of emotional expressiveness on memory and indicates the possible usefulness of applying the paradigm adopted by it in the investigation of emotional working memory in non-human primates.

Keywords: monkeys, *Cebus* spp.; emotional working memory; emotional faces; non-matching-to-sample test; estradiol; progesterone.

Figura 1. Esquema de classificação da memória em classes (filogenética e ontogenética), sistemas (curto prazo, longo prazo e operacional) e tipos (declarativa e não-declarativa).....3

Figura 2. Principais componentes do sistema límbico no lobo temporal. Vista medial e inferior de um hemisfério cerebral. Retirado do site: <http://www.psiquiatriageral.com.br/cerebro/emocoes.htm>5

Figura 3. Ciclo menstrual Humano. Imagem digitalizada à partir de Guyton, 1992.....10

Figura 4. Progesterona imunorreativa dosada na urina durante cinco ciclos consecutivos de uma fêmea de macaco-prego. As cetras indicam a menstruação. Imagem digitalizada de Carosi et al., 1999.....17

Figura 5. Aparato experimental (carrinho com equipamentos).....22

Figura 6. Exemplos de estímulos geométricos (6 figuras).....24

Figura 7. Exemplos de fotografias de *Cebus* spp. (estímulos emocionais). a,b – positivos ou agradáveis. c,d – neutros ou indiferentes. e,f – negativos ou aversivos.....26

Figura 8. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. na primeira sessão de teste-piloto. N = 15 testes por estímulo para cada animal.....35

Figura 9. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. (N = 7) nos testes-piloto para cada tipo de estímulo. N = 119 tentativas para estímulo geométrico e 77 testes para os estímulos positivo, negativo e neutro para cada sessão.....36

Figura 10. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. (N = 7) no teste DNMS. N = 350 testes por estímulo. * Teste Krukak-Wallis, $p < 0,001$ para estímulo geométrico comparado aos demais tipos de estímulos.....37

Figura 11. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=100 tentativas por tipo de estímulo por sujeito. A linha pontilhada equivale ao limite superior de aleatoriedade de 95%. As letras a, b e c representam diferenças significativas entre estímulos para cada animal. Teste Tukey, $p < 0,05$38

Figura 12. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. (N = 7) no teste DNMS para a semana 1 (sessões 1 a 5) e semana 2 (sessões 6 a 10). N = 350 tentativas por tipo de estímulo por semana.....40

Figura 13. Desempenho médio + EPM das fêmeas de <i>Cebus</i> spp. (N = 4) no teste DNMS. N=200 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.....	42
Figura 14. Desempenho médio + EPM da Fêmea 1 de <i>Cebus</i> spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.....	42
Figura 15. Desempenho médio + EPM da Fêmea 2 de <i>Cebus</i> spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.....	43
Figura 16. Desempenho médio + EPM da Fêmea 3 de <i>Cebus</i> spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.....	43
Figura 17. Desempenho médio + EPM da Fêmea 4 de <i>Cebus</i> spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento. * Teste Wilcoxon, $p < 0,05$ para comparação entre tratamentos.....	44
Figura 18. Concentração fecal de estradiol ($\mu\text{g/g}$ de fezes) e progesterona ($\mu\text{g/g}$ de fezes) das cinco fêmeas <i>Cebus</i> spp. durante o tratamento. Nas Fêmeas 1 e 2 os dias 2 a 6 correspondem ao placebo e os dias 9 a 13 são dosagens correspondentes à administração de estradiol. Nas Fêmeas 3 e 4 os dias 2 a 6 correspondem ao estradiol e os dias 9 a 13 placebo. Nos dias 1 e 8 foram feitas coletas antes das administração de hormônio ou placebo (controle). No dia 7 não foram realizadas amostragens de fezes. A Fêmea 5 não participou dos tratamentos.....	45
Figura 19. Duração das classes de comportamento + EPM das fêmeas de <i>Cebus</i> spp. (N = 4) para os tratamentos. * Teste Wilcoxon, $p < 0,05$ para comparação entre tratamentos.....	47
Figura 20. Duração das categorias de comportamento sexual + EPM das fêmeas de <i>Cebus</i> spp. (N = 4) para os tratamentos. * Teste Wilcoxon, $p < 0,05$ para comparação entre tratamentos.....	47
Figura 21. Frequência média por observação + EPM das classes de comportamento das fêmeas de <i>Cebus</i> spp. (N = 4) para os tratamentos.....	48
Figura 22. Frequência média por observação + EPM das categorias de comportamento sexual das fêmeas de <i>Cebus</i> spp. (N = 4) para os tratamentos. So/Vo/Sorr = Levantar sobrancelhas, vocalização característica e/ou sorrir.....	49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Variáveis utilizadas em cada fase experimental.....	23
Tabela 2. Descrição das categorias de comportamento sexual observadas.....	29
Tabela 3. Modelagem dos sujeitos de <i>Cebus</i> spp. no teste DNMS, entre junho/05 e janeiro /06. Total de sessões realizadas e sessões com desempenho acima do critério (80% de acerto). N = 40 tentativas por sessão.....	34
Tabela 4. Desempenho (% de acerto) diário dos sujeitos de <i>Cebus</i> spp. no teste DNMS. N=10 tentativas de cada estímulo por dia.....	39
Tabela 5. Comparação do desempenho de <i>Cebus</i> spp. (N = 7) no teste DNMTS entre os sexos. N = 2000 tentativas de fêmeas e 800 tentativas de machos.....	40
Tabela 6. Comparação do desempenho de <i>Cebus</i> spp. (N = 7) no teste DNMTS entre os sexos em cada tipo de estímulo. N=500 tentativas para fêmeas por estímulo e 200 tentativas de machos para cada estímulo.....	41

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	III
RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABELAS.....	XI
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1. COGNIÇÃO E MEMÓRIA.....	2
1.1.1. Classificação da Memória e Estruturas Neurais Relacionadas.....	3
1.1.1.1. Classes de Memória.....	3
1.1.1.2. Sistemas de Memória.....	3
1.1.1.3. Tipos de Memória.....	4
1.1.1.4. Testes para avaliação da memória operacional.....	6
1.1. EMOÇÃO E COGNIÇÃO.....	6
1.3. HORMÔNIOS SEXUAIS.....	9
1.3.1. Ciclos.....	9
1.3.1.1. Ciclo estral.....	9
1.3.1.2. Ciclo menstrual.....	10
1.3.2. A influência dos hormônios sexuais na cognição.....	11
1.4. PRIMATAS NÃO-HUMANOS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS.....	15
1.4.1. O macaco-prego.....	16
1.5. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	18
2. OBJETIVOS.....	20
2.1. OBJETIVO GERAL.....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1. SUJEITOS.....	21
3.2. ASPECTOS ÉTICOS.....	21
3.3. EQUIPAMENTOS.....	22
3.4. PROGRAMA COMPUTACIONAL (SYSMEM).....	22
3.5. PROCEDIMENTO.....	23
3.5.1. Treinamento de toque à tela - Modelagem.....	24
3.5.2. Teste de Escolha Diferente do Modelo com Atraso (DNMS).....	25
3.5.3. Estímulos.....	25
3.5.4. Tratamento hormonal.....	27
3.5.5. Observações comportamentais.....	28

3.6. DOSAGEM HORMONAL	30
3.6.1. Coleta de material	30
3.6.2. Extração dos hormônios	31
3.6.3. Dosagem	31
3.7. ANÁLISE DE DADOS	33
3.7.1. Estatística	33
4. RESULTADOS	34
4.1. MODELAGEM	34
4.2. ESTUDOS-PILOTO	35
4.3. TESTES DE ESCOLHA-DIFERENTE-DO-MODELO COM ATRASO	36
4.4. DOSAGENS HORMONAIS	44
4.5. OBSERVAÇÕES COMPORTAMENTAIS	46
5. DISCUSSÃO	50
5.1. MODELAGEM	50
5.2. ESTUDOS-PILOTO	50
5.3. DOSAGENS HORMONAIS	51
5.4. COMPORTAMENTO SEXUAL	52
5.5. DESEMPENHO DAS FÊMEAS NO TESTE DNMS COM E SEM A ADMINISTRAÇÃO DE VALERATO DE ESTRADIOL	53
5.6. DESEMPENHO NO TESTE DNMS COM DIFERENTES ESTÍMULOS	56
5.7. DESEMPENHO NO TESTE DNMS EMOCIONAL ENTRE OS SEXOS	59
6. CONCLUSÕES	61
6.1. CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
ANEXOS	74

1. INTRODUÇÃO

1.1. COGNIÇÃO E MEMÓRIA

A Cognição inclui a percepção, o aprendizado, a memória e a tomada de decisões. Em síntese, todas as formas nas quais os animais recebem informações sobre o mundo através dos sentidos, as processam, as retêm e decidem a ação (Shettleworth, 2001).

A memória é a habilidade dos seres vivos de adquirir, reter e utilizar informações ou conhecimentos (Tulving, 1987). Segundo Baddeley (1999), a memória humana consiste num sistema de armazenamento e de recuperação da informação que é obtida através dos sentidos, os quais influem de alguma maneira no que é lembrado, pois a memória é um registro permanente das percepções. A memória compreende um conjunto de habilidades mediadas por diferentes módulos do sistema nervoso que funcionam de forma independente, porém cooperativa (ver Xavier, 1993). O processamento nestes módulos ocorre de forma paralela e distribuída, permitindo que um grande número de unidades de processamento influencie outras em qualquer momento e que uma grande quantidade de informação seja processada concomitantemente.

O estabelecimento de correlações entre os diferentes tipos e sistemas de memória e módulos do sistema nervoso começou com observações de pacientes com danos cerebrais identificáveis que apresentavam déficits específicos de memória. Atualmente, a utilização das técnicas de neuroimagem, incluindo a tomografia por emissão de pósitrons (PET) e ressonância magnética (MRI) e de registro de potenciais evocados (ERP), permite investigar unidades funcionais de memória em indivíduos normais durante o desempenho de tarefas que envolvem um ou mais sistemas de memória. Além disso, a utilização de modelos animais vem possibilitando identificar estruturas e conexões cerebrais que, quando seletivamente danificadas, produzem alterações no funcionamento normal dos diferentes tipos de memória.

De acordo com Tomaz (1993), a memorização ocorre em diferentes estágios. O primeiro consiste na aquisição da informação que chega por meio dos sentidos (audição, visão, tato, olfato, gustação) com a apresentação do estímulo. Essa informação é processada pelos sistemas sensoriais e é armazenada no sistema de curto prazo. Para que a informação seja retida é necessária sua transmissão para um sistema de memória mais estável, de longo prazo, por meio de um processo denominado consolidação. A recuperação da informação é chamada de evocação, sendo a última etapa na formação de memória e que, por sua vez, desencadeia as respostas comportamentais.

1.1.1. Classificação da Memória e Estruturas Neurais Relacionadas

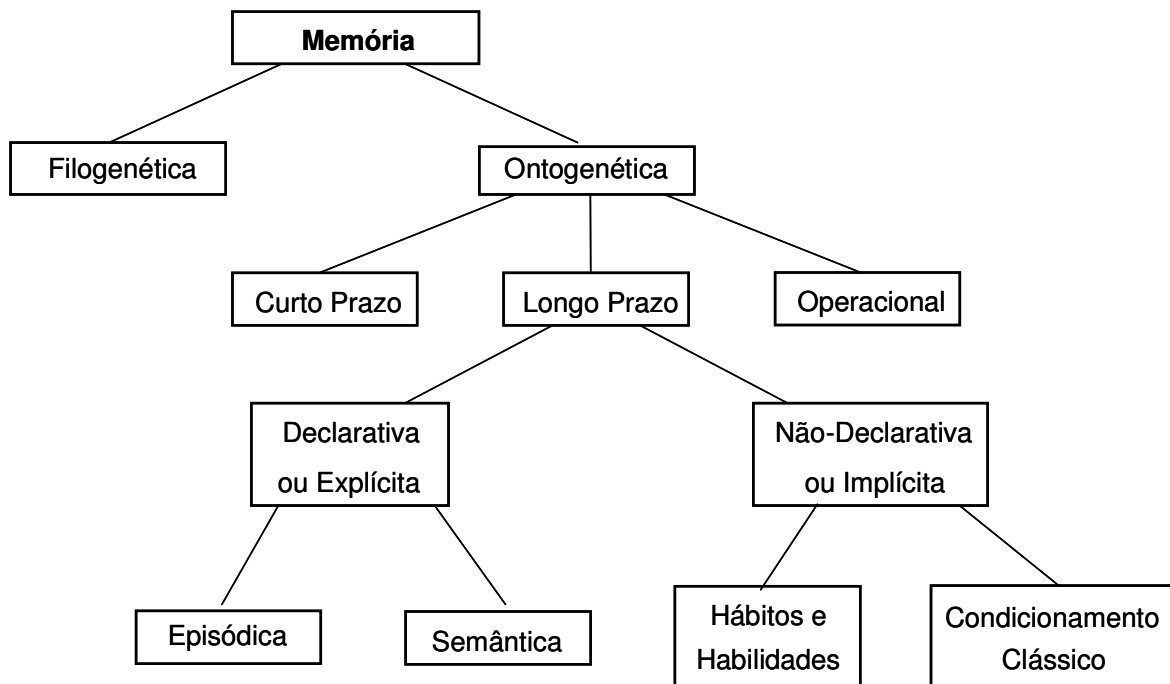


Figura 1. Esquema de classificação da memória em classes (filogenética e ontogenética), sistemas (curto prazo, longo prazo e operacional) e tipos (declarativa e não-declarativa).

1.1.1.1. Classes de Memória

A partir de análises etológicas e neurobiológicas do comportamento pode-se considerar duas classes distintas de memória: a filogenética e a ontogenética (Tomaz & Costa, 2001). A memória filogenética está presente em todos os seres vivos e diz respeito à informação acumulada geneticamente ao longo da evolução. Essa memória é responsável pela manutenção de informações fundamentais para a sobrevivência de uma espécie em seu habitat. A memória filogenética possui representação nos sistemas sensoriais primários e neocorticais motores (Fuster, 1995).

A memória ontogenética é adquirida pelo indivíduo por meio de suas experiências cotidianas com o processo de aprendizagem e não é transferida geneticamente às futuras gerações (Tomaz & Costa, 2001).

1.1.1.2. Sistemas de Memória

Com relação à dimensão temporal, podem-se distinguir as memórias de curta duração, de duração intermediária e de longa duração. A contribuição relativa de cada região cerebral parece depender da natureza da informação processada.

A memória operacional refere-se ao arquivamento temporário de informação para o desempenho de tarefas cognitivas. Embora ela tenha sido usualmente identificada como memória de curta duração, esta última mostrou-se simplificada para lidar com os tipos de retenção de informação por curtos períodos na realização de testes experimentais. Assim, desenvolveu-se o conceito de memória operacional como um sistema de capacidade limitada e com múltiplos componentes (Baddeley, 1992), que compreende um sistema de controle de atenção, o “executivo central”, auxiliado por dois sistemas de suporte responsáveis pelo arquivamento temporário e manipulação de informações, um de natureza visuo-espacial e outro de natureza fonológica. Dessa forma, a memória operacional é um tipo de memória transitória capaz de manter informações por períodos variáveis em função da utilidade da informação. Esse sistema tem acesso aos objetivos de processamento, aos planos de ação e às informações armazenadas nos sistemas de curto e de longo prazo, possuindo, portanto, uma função integradora.

Esse tipo de memória parece depender particularmente da atividade do lobo frontal e do hipocampo. Um estudo utilizando ressonância magnética funcional (fMRI) demonstrou que nos testes de escolha-de-acordo-com-modelo com atraso (DMS) e de escolha-diferente-do-modelo com atraso (DNMS) houve grande ativação do lado direito do hipocampo durante a fase de codificação (Monk *et al.*, 2002).

1.1.1.3. Tipos de Memória

Apesar de aceita a proposta da existência de diferentes módulos de memória, há discrepância quanto à quantidade de tipos existente e à relação entre eles (Ver Figura 1). Squire e Zola-Morgan (1991) propuseram a divisão da memória de longa duração em memória declarativa (ou explícita) e memória não-declarativa (processual ou implícita). De acordo com estes autores, a memória declarativa refere-se à retenção de experiências do passado e pode ser subdividida em memória para fatos (ou semântica) e para eventos (ou episódica). Essa memória depende das estruturas do lobo temporal medial e do diencéfalo.

A memória não-declarativa é adquirida gradualmente ao longo de diversas experiências e pode ser evidenciada apenas através do desempenho, não havendo possibilidade de acesso consciente ao seu conteúdo. Essa memória é subdividida em: 1) habilidade e hábitos, dependente do estriado; 2) pré-ativação, relacionada ao neocórtex; 3) condicionamento clássico simples, que depende da amígdala nas respostas emocionais e do cerebelo nas respostas da musculatura esquelética; e 4) aprendizagem não associativa, incluindo habituação e sensibilização, relacionada à atividade das vias reflexas.

Assim, os traços de memória não estão restritos a uma única estrutura do sistema nervoso. Diferentes regiões do cérebro processam, simultaneamente, estímulos do ambiente interno e externo (Squire & Zola-Morgan, 1991). Tomaz e Costa (2001)

argumentam que a consolidação da informação parece ser mediada por estruturas do lobo temporal, incluindo o hipocampo, a amígdala, o córtex entorrinal e o giro parahipocampal (Fig. 2). Squire e Zola-Morgan (1996) têm descrito cada uma dessas estruturas. A formação hipocampal consiste em dois componentes: região hipocampal e córtex entorrinal. A região hipocampal é formada por células do próprio hipocampo, pelo giro denteado e pelo complexo subicular. O córtex entorrinal, por sua vez, é a maior fonte de projeções corticais para a região hipocampal e recebe cerca de dois terços do *input* cortical, provenientes dos córtices perirrinal e parahipocampal adjacentes, além de inervações diretas do bulbo olfatório, dos córtices órbito-frontal, insular e cingulado e do giro temporal superior.

A amígdala também apresenta um importante papel na memória. Essa estrutura, composta por um complexo de núcleos, localiza-se em posição rostral ao hipocampo no lobo temporal medial. O núcleo basolateral, um dos componentes do complexo amigdaloide, é reconhecido como modulador emocional da memória. Esse núcleo emite projeções para o hipocampo e córtex entorrinal, duas das regiões corticais que participam do processo de consolidação da memória declarativa (McGaugh, 2000; McGaugh, 2004). Vários estudos realizados em humanos (Adolphs *et al.*, 1997; Adolphs *et al.*, 1999; Cahill & McGaugh, 1995; Cahill *et al.*, 2001; Dolcos *et al.*, 2005; Frank & Tomaz, 2003a; Frank & Tomaz, 2003b; Hamann *et al.*, 1999) e em modelos animais (McGaugh, 2004; Tomaz *et al.*, 2003) têm relacionado a amígdala com os processos de modulação da memória, especificamente com a facilitação da memória produzida por um estado de ativação emocional.

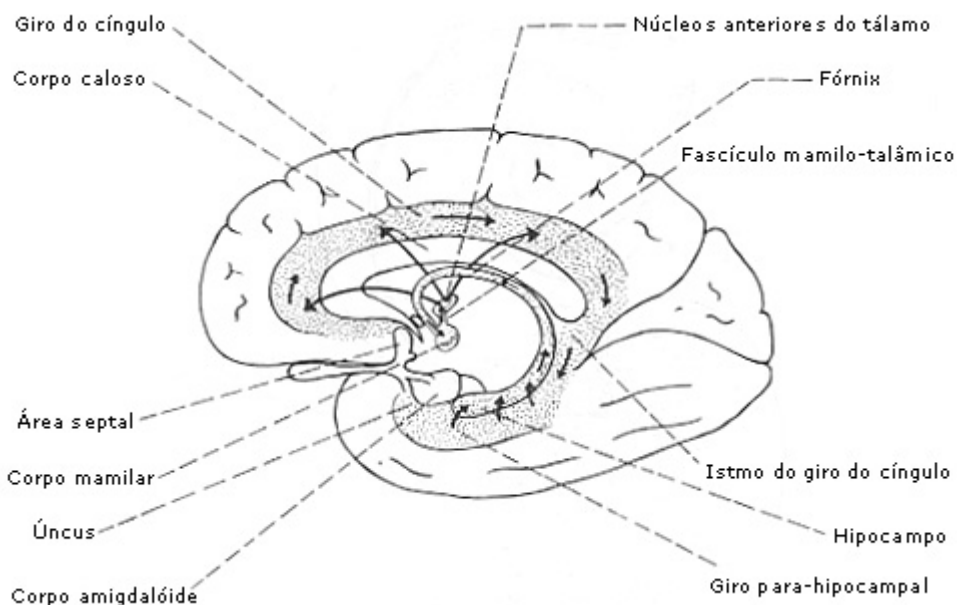


Figura 2. Principais componentes do sistema límbico no lobo temporal. Vista medial e inferior de um hemisfério cerebral. Retirado do site: <http://www.psiquiatriageral.com.br/cerebro/emocoas.htm>

1.1.1.4. Testes para avaliação da memória operacional

Um teste tradicionalmente utilizado para avaliar o sistema de memória operacional em humanos e primatas não humanos é o teste de escolha-de-acordo-com-o-modelo com atraso (*Delayed matching-to-sample*, DMS) e a variação escolha-diferente-do-modelo com atraso (*Delayed non-matching-to-sample*, DNMS). São testes de memória de reconhecimento visual dependente dos lobos frontal e temporal (Mishkin, 1990). Estes testes consistem na apresentação de um estímulo (modelo) durante um intervalo fixo e após um retardo (atraso) são apresentados dois estímulos, sendo um deles igual ao previamente apresentado (modelo) e outro diferente. No DMS, a escolha correta seria o modelo, enquanto no DNMS o sujeito deve escolher o estímulo novo, diferente do modelo. Por ser o teste utilizado no presente estudo, o DNMS será melhor explicado na sessão de métodos.

Outro teste utilizado para investigar a memória operacional é o teste de discriminação seqüencial concorrente (*Concurrent discrimination learning*, CDL). Neste teste são apresentados, sequencialmente, pares de estímulos, sendo apenas um estímulo do par a resposta certa. O sujeito deve aprender e memorizar qual estímulo de cada par corresponde ao acerto. O teste CDL também é utilizado para sujeitos humanos e primatas não-humanos.

1.1. EMOÇÃO E COGNIÇÃO

As emoções consistem em padrões de respostas fisiológicas e comportamentos típicos de cada espécie (Carlson, 2001). Elas representam um complexo estado psicológico e fisiológico que permite ao organismo perceber se os eventos ambientais são favoráveis ou desagradáveis. O sucesso reprodutivo do indivíduo depende da habilidade de encontrar rapidamente situações potencialmente perigosas no meio ambiente (Georgiou *et al.*, 2005) e responder adequadamente nessas situações. Assim, a capacidade de qualificar as situações ambientais é um produto da seleção natural, tornando-se um evento de extrema importância ao longo da evolução. Nessa perspectiva, o benefício da emoção na memória pode ser considerado adaptativo, uma vez que aumenta as chances de informações relevantes estarem disponíveis no futuro (Dolan, 2002). Dessa forma, eventos com significado emocional serão memorizados mais facilmente do que eventos sem conteúdo emocional.

As respostas emocionais consistem de três tipos de componentes: comportamental, autonômico e hormonal (Carlson, 2001). Segundo Dolan (2002), ao contrário da maioria dos estados psicológicos, as emoções são incorporadas e manifestadas em padrões de expressão facial perceptíveis e estereotipados, comportamentos e estimulação autônoma, sendo menos suscetíveis às intenções que outros estados psicológicos. Além disso, as emoções têm efeito global sobre todos os aspectos cognitivos. As expressões faciais de emoção têm papel importante na comunicação das necessidades e intenções das pessoas (Darwin, 1872). Os humanos aprendem a detectar o significado de faces emocionais, podendo, por exemplo, evitar interações sociais indesejáveis (Calvo & Esteves, 2005).

As emoções podem ser definidas com base em duas dimensões primárias: intensidade (contínuo que varia entre calmo e excitado) e valência (agradável/positiva, neutra e desagradável/negativa) (Hamann, 2003).

Uma perspectiva evolucionária da emoção sugere que eventos ambientais com valor emocional devem ter o processamento preferencial da percepção, com aumento na atenção. A influência da emoção na atenção pode ser estudada em testes clássicos de procura visual e de orientação espacial. Em humanos, nos testes de procura visual, o tempo necessário para encontrar um alvo específico aumenta em proporção direta com o número de objetos irrelevantes utilizados para distrair o sujeito. Entretanto, para estímulos emocionais ocorre uma detecção mais rápida do alvo para faces com expressões positivas ou negativas, ou para cobras e aranhas, apresentando uma maior ativação da atenção nos estímulos de medo relevantes (Ohman *et al.*, 2001). Um efeito similar ocorreu nos testes de orientação espacial, quando respostas mais rápidas se correlacionaram a alvos que apareciam no mesmo lado de uma dica emocional (e.g., faces, aranhas, palavras ameaçadoras) e respostas mais lentas quando o alvo aparecia do lado oposto (Armony & Dolan, 2002).

A série de emoções a qual um animal é suscetível reflete a complexidade de seu nicho adaptativo. Nos primatas superiores (macacos e grandes primatas), particularmente nos humanos, isso envolve demandas de contexto físico, sociocultural e interpessoal (Dolan, 2002). As interações sociais usualmente ocorrem por meio de mecanismos de comunicação (sinais e exhibições) que são trocados entre dois ou mais indivíduos. Alguns sinais ajudam o receptor a prever o comportamento subsequente do sinalizador e responder apropriadamente (Preuschoft, 2000). Sinais de comunicação apresentam-se de várias maneiras e podem ser expressos através dos modos visual, vocal, tátil e olfativo (Fragaszy *et al.*, 2004).

Faces são dicas particularmente fortes para expressar informações emocionais e tem sido proposto que a amígdala participa desse reconhecimento de

emoções nas expressões faciais (Adolphs & Tranel, 2003; Hamann *et al.*, 1996), mais especificamente as expressões negativas, incluindo o medo e a tristeza (Adolphs & Tranel, 2004). Na maioria dos estudos com humanos, faces emocionais (com valências positivas e negativas) são mais facilmente recordadas que faces neutras (Abrisqueta-Gomez *et al.*, 2002; Calvo & Esteves, 2005; Dolcos *et al.*, 2005; Sergerie *et al.*, 2005). Em alguns estudos, o desempenho na memorização de faces com valências negativas foi melhor do que com faces positivas e neutras (Comblain *et al.*, 2004; Johansson *et al.* 2004). O valor evolutivo dos eventos negativos que indicam “perigo” pode ser uma explicação para essa melhor memória. Além disso, normalmente o alerta/ativação produzido pelas valências negativas é maior do que a das valências positivas, o que pode resultar no melhor desempenho.

A expressão emocional pode facilitar um ou mais estágios da memória, incluindo a criação de novos traços de memória (codificação), a estabilização e permanência desses traços (consolidação e armazenamento) e o acesso final aos traços armazenados (evocação). A amígdala parece regular o componente afetivo da memória através da modulação da atividade hipocampal via interação com o córtex pré-frontal e demais regiões corticais que têm demonstrado papel significativo na memória emocional (Dolan, 2002; Gray *et al.*, 2002; Perlstein *et al.*, 2002; Johansson *et al.*, 2004). A maioria dessas pesquisas considera apenas a fase inicial da memória (codificação). Utilizando a técnica de ressonância magnética funcional (fMRI) em sujeitos humanos, Dolcos e colaboradores (2005) demonstraram grande ativação da amígdala, córtex entorrinal e hipocampo durante o processo de evocação de imagens faciais memorizadas um ano antes.

Nishijo e colaboradores (2003) analisaram as respostas neuronais da amígdala de macacos japoneses (*Macaca fuscata*) durante a discriminação de expressões faciais e discriminação de vários estímulos recompensadores e aversivos, como comida e objetos associados a choques elétricos. Os resultados desse estudo indicaram aumento preferencial da atividade de alguns neurônios da amígdala em resposta a expressões faciais humanas (fotografias). Além disso, expressões faciais de uma pessoa familiar ao macaco tiveram maiores representações discriminadas do que aquelas de pessoas não familiares. Um outro grupamento de neurônios amigdalóides respondeu a vários objetos biologicamente importantes, incluindo comida, recompensa e pessoas reais, e exibiu modulação das respostas a objetos em diferentes situações e das pessoas quando estas se aproximavam ou se afastavam dos macacos. Esses resultados sugerem a existência de pelo menos duas classes de neurônios amigdalóides: uma que estaria envolvida em processos independentes do próprio estado emocional do animal, como reconhecimento de expressões faciais e dedução do estado emocional de outro indivíduo e a segunda que

estaria envolvida com a avaliação de todos os estímulos emocionais baseados no próprio estado emocional interno (Nishijo *et al.*, 2003).

As relações entre emoção e cognição são de extrema importância. Acredita-se que essas interações sejam não-específicas, isto é, os estados emocionais favoráveis ou desagradáveis causam impacto difuso na cognição. Estudos têm utilizado fMRI para investigar se estados emocionais podem seletivamente influenciar a atividade neural em áreas cerebrais específicas como os córtices orbitofrontal (Perlstein *et al.*, 2002) e préfrontal lateral (Gray *et al.*, 2002; Perlstein *et al.*, 2002; Sergerie *et al.*, 2005) como evidência da integração entre emoção e cognição.

Um estudo da atividade elétrica no córtex pré-frontal de macacos rhesus indicou neurônios seletivos para faces no córtex pré-frontal durante a visualização de faces coespecíficas e desempenho em testes de memória operacional (Ó Scalaidhe *et al.*, 1999).

Os resultados dos testes de memória operacional com indução de estados emocionais em humanos realizados por Gray e colaboradores (2002) indicaram que as emoções e cognição superior podem estar integradas, ou seja, em algum momento do processamento a especialização é perdida e a cognição e a emoção contribuem, conjunta e igualmente, para o controle do pensamento e do comportamento.

Estudos anatômicos indicam que o córtex orbitofrontal é extensamente interconectado com a amígdala, o estriado ventral, o hipotálamo e outras áreas implicadas no processamento emocional (Cavada *et al.*, 2000 *apud* Perlstein *et al.*, 2002; Öngür & Price, 2000 *apud* Perlstein *et al.*, 2002).

1.3. HORMÔNIOS SEXUAIS

1.3.1. Ciclos

1.3.1.1. Ciclo estral

O ciclo estral ocorre em todos os mamíferos não primatas e alguns primatas e se caracteriza por não apresentar a menstruação. Em ratas, sua duração tem em média 4 a 5 dias, durante todo o ano. Apesar de não apresentar sangramento vaginal, os mecanismos endócrinos que se envolvem nesse processo se assemelham muito aos do ciclo menstrual. O Ciclo estral se apresenta dividido em quatro períodos: proestro, estro (cio), metaestro e diestro.

No proestro observa-se um aumento gradativo da parede do útero. No início dessa fase os níveis de progesterona são baixos e crescentes até atingir um pico no final da fase. Os níveis de estradiol atingem seu pico também nessa fase. No estro, ocorre a ovulação e a fêmea fica receptiva ao macho. Caso não ocorra a fecundação, forma-se um pequeno corpo lúteo na fase de metaestro, que regride na fase de diestro. A concentração de progesterona é alta no metaestro, e diminui na fase de diestro. O estradiol, de modo geral, mantém-se em níveis considerados baixos e quase constantes durante o metaestro e diestro.

1.3.1.2. Ciclo menstrual

O ciclo menstrual humano tem aproximadamente 28 dias (Fig. 3). Durante os primeiros dias, logo após a menstruação, verifica-se aumento leve a moderado nas concentrações dos hormônios gonadotrópicos da adeno-hipófise (hormônio luteinizante - LH e hormônio folículo estimulante - FSH). Esses hormônios determinam o início do crescimento de novos folículos nos ovários. Essa etapa, a fase folicular, apresenta níveis crescentes de estradiol, de acordo com o desenvolvimento dos folículos, chegando a um pico no final da fase, poucos dias antes da ovulação. Um dos folículos torna-se maduro e ocorre a ovulação cerca de um dia depois dos picos de LH e FSH, mais ou menos no 14º dia. Nessa fase os níveis de progesterona são baixos e começam a ter um pequeno aumento cerca de dois dias antes da ovulação.

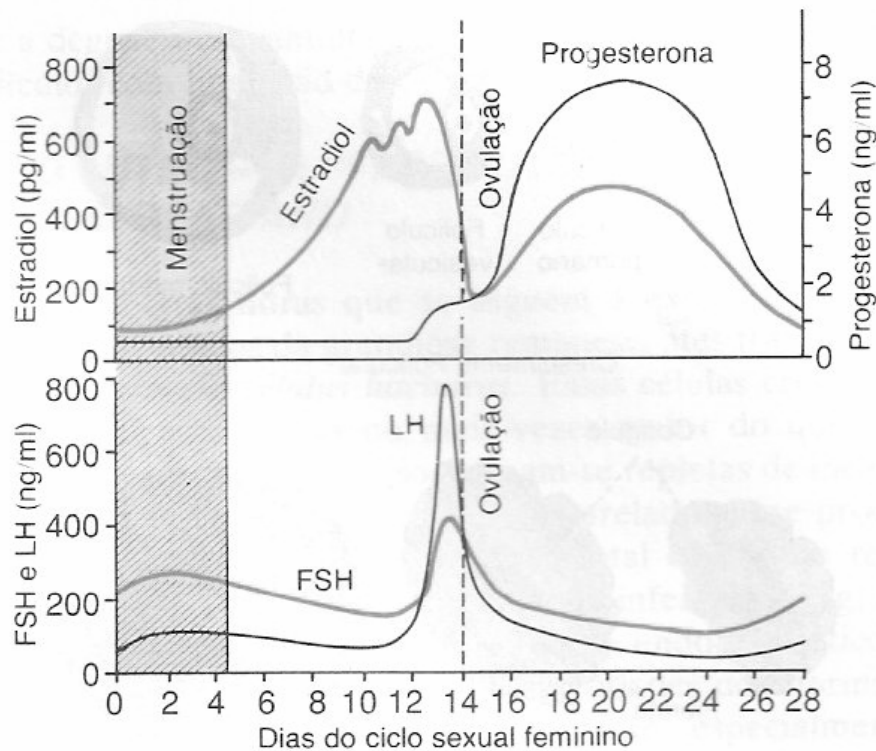


Figura 3. Ciclo menstrual humano. Imagem digitalizada à partir de Guyton, 1992.

Após a ovulação, as células secretoras do folículo transformam-se no corpo lúteo, que secreta grandes quantidades dos hormônios ovarianos estrogênio e progesterona. Essa fase do ciclo feminino é denominada lútea e apresenta altas concentrações de estradiol e progesterona e baixos níveis de LH e FSH. Depois de 2 semanas o corpo lúteo degenera, e, em consequência, os hormônios estradiol e progesterona diminuem acentuadamente e começa a menstruação. Inicia-se, então, um novo ciclo.

1.3.2. A influência dos hormônios sexuais na cognição

Os hormônios esteróides secretados pelos ovários podem agir no sistema nervoso central (SNC), principalmente nas áreas talâmicas e hipotalâmicas, para regular funções endócrinas e comportamentos relacionados ao sexo (Maggi & Perez, 1985). Estas ações incluem: regulação da secreção de hormônios hipofisários, estimulação do endométrio, manutenção da gestação, promoção da função mamária e, em algumas espécies, ativação dos comportamentos sexuais e maternais. Além disso, os estrógenos e a progesterona parecem participar também no controle das áreas motoras e límbicas, afetando aspectos da fisiologia e comportamentos que não são tipicamente considerados reprodutivos. O fato de que são encontrados receptores para estrógenos e progesterona em numerosas estruturas cerebrais extra-hipotalâmicas tem colaborado para um aumento nos estudos sobre a regulação hormonal de funções cerebrais não relacionadas ao controle endócrino ou ao comportamento sexual.

Existem evidências de que as diferenças sexuais na cognição são controladas por fatores hormonais (Halpern, 1992). Os hormônios das gônadas afetam permanentemente a organização cerebral e uma variedade de comportamentos dimórficos reprodutivos e não reprodutivos (Goy & McEwen, 1980). Estes hormônios exercem uma influência modulatória ou ativacional em padrões cerebrais previamente organizados em adultos (Arnold & Gorski, 1984), incluindo alguns efeitos em funções cognitivas (Williams & Meck, 1991). Geralmente tem sido observado que os homens apresentam facilidade nas habilidades visuo-espaciais e matemáticas enquanto as mulheres demonstram vantagens nas habilidades verbais, na velocidade da percepção e na coordenação motora fina (Epting & Overman, 1998; Halari *et al.*, 2005; Halpern, 1992).

O papel dos hormônios esteróides sexuais no funcionamento neuropsicológico, principalmente a possibilidade de que os estrógenos intensifiquem a memória, tem sido abordado em vários estudos. Grande parte desse interesse pelos hormônios sexuais se deve às informações recentes de que a Terapia de Reposição de

Estrogênio (TRE) pode diminuir o risco da doença de Alzheimer e o declínio de memória decorrente do envelhecimento (ver revisão em Cholerton *et al.*, 2002).

A deficiência de estrogênio em mulheres jovens após a ovariectomia (Sherwin, 1988) ou a supressão temporária da função ovariana (Sherwin & Tulandi, 1996) resulta em déficit na memória verbal que pode ser revertido pela TRE. Além disso, acredita-se também que a deficiência de estrogênio na menopausa possa estar associada ao agravamento do declínio cognitivo relacionado à idade (Halbreich *et al.*, 1995) e que alguns desses efeitos possam ser reduzidos ou até revertidos pela TRE (Miller *et al.*, 2002; Sherwin, 1997; Resnick *et al.*, 1997). O tratamento com estrogênios tem maior efeito de proteção da memória quando iniciado imediatamente após a ovariectomia em mulheres pré-menopausa ou logo após cessar o ciclo menstrual na menopausa (Sherwin, 2006). Estudos sugerem que a TRE pode também reduzir o risco de uma mulher desenvolver o mal de Alzheimer (Henderson, 1997), embora a terapia não previna o declínio cognitivo em mulheres que já possuam a doença (Mulnard *et al.*, 2000). Segundo Marriot e Wenk (2004) a administração contínua e a longo prazo de estrogênios (simples ou combinados com progestinas) pode levar a efeitos deletérios na função endócrina e imune, tendo como consequência negativa o agravamento de doenças neuroinflamatórias existentes (por ex.: Alzheimer). De acordo com estes autores, tais efeitos poderiam ser mitigados utilizando-se uma terapia que imitasse o ciclo natural de flutuação hormonal de uma mulher jovem.

Na maioria das espécies de mamíferos estudadas pode-se encontrar uma grande quantidade de sítios de receptores específicos para estrógenos nas áreas pre-óptica (núcleos pre-ópticos mediais e intersticiais, estria terminal), hipotalâmica (núcleos infundibulares, ventromediais e pré-mamilares-ventrais) e amigdalóide (núcleos mediais, corticais e basais) (Keefer & Stumpf, 1975). Estudos mais recentes têm identificado receptores de estrógenos em numerosos sítios cerebrais, incluindo o hipocampo, a amígdala, o córtex cerebral, o mesencéfalo, o tronco cerebral, a hipófise, o prosencéfalo basal, a área pré-óptica e o hipotálamo (Blurton-Jones *et al.*, 1999; Gundlah *et al.*, 2000; McEwen, 2001).

Já os receptores de progesterona parecem estar espalhados pelo cérebro. Proteínas que se ligam especificamente a esse hormônio podem ser encontradas no córtex, habênula, área postrema, hipotálamo, lâmina terminal, bulbo olfatório, hipocampo, núcleo caudado e cerebelo (MacLusky *et al.*, 1980; Moguilewsky & Raynaud, 1979; Umberkoman-Wiita & Kumar, 1979). Embora a progesterona afete o humor (Buckwalker *et al.*, 1999), os efeitos potenciais desse hormônio na cognição ainda precisam ser estabelecidos. Como os estrógenos induzem alterações no útero, eles são normalmente administrados combinados a uma droga que exiba atividade similar à progesterona. No cérebro, a progesterona pode aumentar ou se opor à ação dos estrógenos, dependendo do processo fisiológico (Foy *et*

al., 2000). Assim, ainda são necessários estudos para determinar se os efeitos benéficos dos estrógenos na cognição são, de fato, influenciados pela progesterona e, caso positivo, como isso ocorre.

Estudos sobre os efeitos de estrogênios no cérebro têm elucidado alguns mecanismos pelos quais esses hormônios podem afetar a cognição. Como citado anteriormente, os receptores de estrogênio estão localizados em regiões não-reprodutivas do cérebro, como hipocampo, córtex cerebral e amígdala, que estão criticamente envolvidas nos processos de memória (Tomaz & Costa, 2001). Vários trabalhos indicam que o estradiol é capaz de alterar a morfologia e a fisiologia do cérebro em regiões importantes para os processos de memória (Brinton *et al.*, 2000; Cordoba-Montoya & Carrer, 1997; Gibbs, 1998; Green & Simpkins, 2000; Tanapat *et al.*, 1999; Woolley, 1998).

O mecanismo preciso pelo qual os estrogênios influenciam a memória ainda não está definitivamente esclarecido, mas existem razões para acreditar que o hipocampo e o lobo parietal inferior podem mediar esse efeito (Maki *et al.*, 2002). Dados de estudos utilizando modelos animais sugerem que estrógenos podem modificar o número e a eficácia de sinapses no hipocampo (Adams & Morrison, 2003; Woolley & McEwen, 1992; Woolley *et al.* 1997), o que pode implicar em efeitos na memória de mulheres. Em ratos, Good e colaboradores (1999) demonstraram que as alterações cíclicas dos níveis endógenos de estrógenos modulam a indução de potenciação de longa duração (LTP) e de depressão de longa duração (LTD) na região CA1 do hipocampo. Altos níveis de estrógenos resultam na indução e manutenção de LTP e impedem a indução de LTD (Good *et al.*, 1999). Segundo o modelo de Daniel e Dohanich (2001), os estrógenos estimulam a síntese e a liberação de acetilcolina, que, por sua vez inibe a liberação de ácido gama aminobutírico (GABA) no hipocampo. Essa inibição do GABA libera para excitação os principais neurônios do hipocampo, levando ao aumento da atividade bioeletrogênica, a proliferação de receptores para glutamato e a conseqüente expansão dos contatos sinápticos com outros neurônios (Dohanich, 2003).

Além desses efeitos no hipocampo, a ovariectomia reduz a densidade de axônios no córtex pré-frontal, enquanto a reposição de estrógenos e progesterona promove a sua restauração (Kritzer & Kohama, 1998; Kritzer & Kohama, 1999). A integridade do córtex pré-frontal é crítica para as funções executivas, uma vez que seu complexo circuito neural consolida informações das conexões corticais, subcorticais e límbicas. A depleção experimental da dopamina pré-frontal em macacos rhesus e a degeneração de neurônios dopaminérgicos, que conectam a substância negra com o núcleo caudado, em portadores da doença de Parkinson estão associadas a déficits na memória operacional (Brown & Marsden, 1988; Gotham *et al.*, 1988). Estudos com neuroimagem funcional indicam alterações dependentes de hormônios no funcionamento do lobo frontal. Mulheres na

menopausa tratadas por 21 dias com estrógenos conjugados de eqüinos apresentaram uma maior ativação no giro frontal superior durante um teste de memória operacional verbal avaliado por ressonância magnética funcional (fMRI) (Shaywitz *et al.*, 1999). Segundo resultados obtidos por Keenan e colaboradores (2001), o córtex pré-frontal com seu circuito neural pode ser o sítio primário do efeito dos estrogênios no cérebro.

Se os estrogênios modulam o funcionamento cognitivo, as flutuações naturais dos seus níveis durante o ciclo menstrual normal podem estar associadas a variações no desempenho cognitivo em determinados testes. Alguns aspectos do comportamento e das funções neurais em ratas são influenciados pelas mudanças hormonais durante o ciclo estral ou após a ovariectomia e a administração de hormônios ovarianos (Díaz-Véliz *et al.*, 1997). Estudos comportamentais têm mostrado que o desempenho no teste de esquiva ativa é melhor no diestro, mas piora no estro (Díaz-Véliz *et al.*, 1989). Além disso, a ovariectomia facilita o condicionamento de esquiva, enquanto a administração sistêmica de uma simples dose de estradiol benzoato prejudica esse aprendizado (Díaz-Véliz *et al.*, 1991; Goodman *et al.*, 2004).

Diversos estudos em mulheres têm demonstrado que, durante as fases pré-ovulatória e lútea do ciclo menstrual, quando os níveis de estrogênio estão altos, a fluência verbal e as habilidades motoras manuais estão melhores, já as habilidades espaciais estão deficitárias. Durante a menstruação, quando os níveis de estrogênios estão baixos, as habilidades espaciais aumentam, enquanto as verbais e manuais diminuem (Broverman *et al.*, 1981; Hampson, 1990; Hausmann *et al.*, 2000; Komnenich *et al.*, 1978; Silverman & Phillips, 1993). Entretanto, resultados mostrando mudanças cognitivas ao longo do ciclo menstrual não têm sido consistentemente confirmados (Epting & Overman, 1998; Halari *et al.*, 2005). O uso de métodos diferentes entre os estudos, a utilização de testes diferencialmente sensíveis às variações hormonais, além da falta de precisão para identificar a fase do ciclo podem explicar, pelo menos em parte, as discrepâncias na literatura.

Lacreuse e colaboradores (2001) investigaram as flutuações na memória de reconhecimento espacial ao longo do ciclo menstrual em fêmeas de macacos rhesus. As macacas apresentaram melhor memória espacial durante as fases folicular e lútea, mas o desempenho no teste de memória operacional escolha-de-acordo-com-o-modelo com atraso (DMS) não apresentou flutuações ao longo do ciclo. Esse estudo foi o primeiro na literatura a investigar se o desempenho cognitivo flutua ao longo do ciclo menstrual em primatas não-humanos.

Para examinar os efeitos dos estrógenos na cognição, Lacreuse & Herndon (2003) testaram fêmeas de macaco rhesus ovariectomizadas tratadas com etinil estradiol (EE₂) e placebo. Foram utilizados quatro testes: DMS e três versões (facial, objeto e

espacial) do teste de reconhecimento espacial com atraso (*Spatial-delayed recognition span test* - DRST). As macacas apresentaram um déficit no desempenho quando tratadas com EE₂ apenas para testes usando faces de macacos rhesus como estímulos, sugerindo que o EE₂ causou um efeito prejudicial no processamento de faces co-específicas. Segundo os autores, o estradiol pode elevar a sensibilidade para categorias específicas de estímulo visual que tenham um alto significado emocional para a fêmea de macaco rhesus. Por exemplo, o estradiol pode fazer com que a macaca evite um estímulo aversivo (e.g. faces ameaçadoras), reduzindo o número de respostas corretas, ou que ela responda sem precisão para faces de interesse particular (e.g. filhotes). Assim, o conteúdo emocional do estímulo pode ter influenciado as respostas.

Outros estudos utilizando fêmeas ovariectomizadas de macacos rhesus indicam que a atenção visuo-espacial é sensível aos níveis de estrógeno em fêmeas jovens, mas múltiplos domínios cognitivos são sensíveis aos estrogênios em macacas de meia idade (Tinkler & Voytko, 2005). Rapp e colaboradores (2003), estudando fêmeas ovariectomizadas de rhesus de meia idade (22 anos, que, em termos de idade, podem ser comparadas a mulheres entre 55 e 65 anos), demonstraram que os níveis de hormônios ovarianos regulam o envelhecimento cognitivo nas macacas com menopausa cirúrgica. O tratamento com estrógenos reverte o déficit cognitivo relacionado à idade em um tipo de teste de memória operacional espacial, mas apenas uma melhora modesta foi encontrada no teste DNMS, que também avalia a memória operacional (Rapp *et al.*, 2003).

Em conjunto, esses estudos sugerem que a capacidade de memória de macacas jovens não foi sensível à ovariectomia ou à reposição de estrogênios. Em contraste, a atenção visuo-espacial e o processamento de faces podem ser afetados pela ausência de estrogênios ou pela sua reposição. Portanto, nesses trabalhos utilizando fêmeas ovariectomizadas de macacos rhesus, alguns aspectos da cognição flutuam com o ciclo menstrual, mas a ovariectomia e a reposição de estrógeno apresentam efeitos modestos na função cognitiva. Primatas não-humanos, por estarem entre roedores e humanos, constituem um modelo valioso para o entendimento das ações hormonais no cérebro e na cognição, bem como para o desenvolvimento de intervenções hormonais efetivas contra o envelhecimento cognitivo (Lacreuse, 2006).

1.4. PRIMATAS NÃO-HUMANOS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS

Primatas não-humanos possuem similaridades com humanos em praticamente todos os aspectos de sua anatomia, endocrinologia, fisiologia e por isso são modelos apropriados para um grande número de disciplinas (King *et al.*, 1988). Em termos

de comportamento, as similaridades abrangem padrões de ação inatos, como movimentos corporais e sinais de comunicação, bem como táticas comportamentais altamente flexíveis e engenhosas estratégias para a solução de problemas (Preuschoft, 2000). Em geral, a ordem primata é bastante diversa em praticamente todas as características comportamentais. Esse fato pode ser atribuído, ao menos em parte, ao padrão da sua história de vida. Os indivíduos dessa ordem atingem a maturidade sexual relativamente tarde, têm uma prole pouco numerosa e um alto investimento parental para cada filhote (Tomasello & Call, 1997). Esse longo período de imaturidade e o grande investimento parental obrigam os primatas a utilizarem soluções que incluem um maior aprendizado sobre as exigências particulares do seu ambiente, resultando em habilidades cognitivas comportamentais mais flexíveis e complexas.

Grande parte dos estudos cognitivos utiliza primatas do Velho Mundo como modelos experimentais. Já os conhecimentos a respeito das habilidades cognitivas em macacos do Novo Mundo, incluindo a utilização desses animais em testes de cognição, ainda são escassos, merecendo uma maior atenção por parte dos pesquisadores.

Pesquisas sobre os efeitos cognitivos do envelhecimento e da reposição de hormônios em humanos são complicadas devido à dificuldade de manter os tratamentos e de controlar os grupos de acordo com idade, grau de instrução, estado de saúde e outras características dos sujeitos que influenciam a função neuropsicológica independentemente dos níveis hormonais. Informações sobre variáveis adicionais críticas, como formulação da droga, dosagem, duração da TRE, conformidade com a terapia e eficácia do tratamento em termos de níveis hormonais na circulação, são também freqüentemente indisponíveis ou de difícil obtenção (Rapp *et al.*, 2003). Diante dessas limitações, fica fácil entender porque estudos sobre as influências dos hormônios ovarianos no envelhecimento cognitivo de mulheres apresentam resultados conflitantes. Além de possibilitar todo esse controle, a utilização de macacos em estudos sobre hormônios gonadais pode evitar os efeitos indiretos na cognição mediados pelas expectativas das mulheres sobre as alterações comportamentais induzidas por hormônios. Os sujeitos podem ser testados diariamente durante um ciclo, enquanto as mulheres são testadas tipicamente uma ou duas vezes na fase folicular e uma vez na fase lútea e pré-ovulatória. A utilização de macacas também permite ensaios hormonais diários.

1.4.1. O macaco-prego

O macaco-prego (*Cebus spp.*) é um macaco do Novo Mundo ou platirrino, da família Cebidae, subfamília Cebinae. Possui ampla distribuição na América do Sul, desde a Colômbia até o norte da Argentina.

Essa espécie apresenta médio porte e pesam entre 2,5 e 4,5 Kg. São quadrúpedes arbóreos, podendo, às vezes, descer ao chão para forragear. A alimentação é bastante variada (onívora), podendo se alimentar de folhas, frutos, pequenos invertebrados, pequenos vertebrados e ovos. Em cativeiro, indivíduos dessa espécie podem viver aproximadamente 40 anos e são considerados adultos com cerca de quatro anos (machos) e cinco anos (fêmeas), quando se observa o início de sua capacidade reprodutiva. O ciclo menstrual médio de fêmeas de *C. apella* tem duração de $20,6 \pm 1,6$ dias, compreendendo uma fase folicular de $6,1 \pm 1,0$ dias e uma fase lútea de $14,5 \pm 1,0$ dias (Carosi *et al.*, 1999).

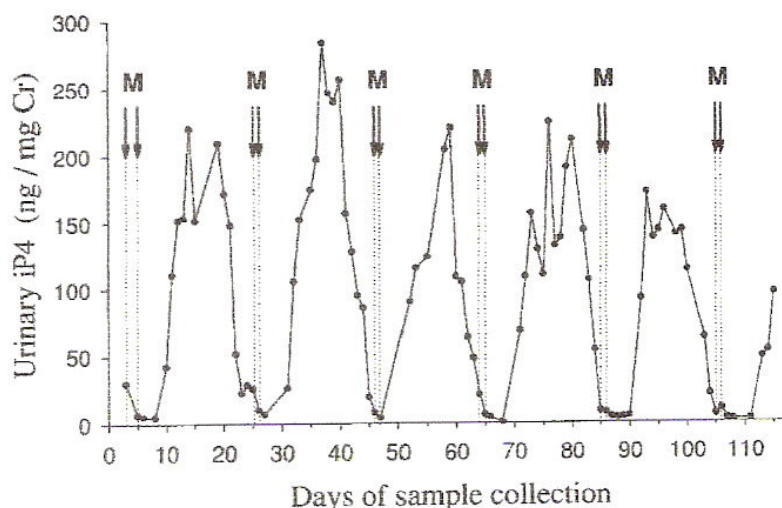


Figura 4. Progesterona imunorreativa dosada na urina durante cinco ciclos consecutivos de uma fêmea de macaco-prego. As cetras indicam a menstruação. Imagem digitalizada de Carosi *et al.*, 1999.

Esta espécie apresenta um grande volume cerebral em relação ao seu peso corporal, fato que a aproxima bastante dos chimpanzés (Jerison, 1973). Essa razão peso do cérebro/peso do corpo tem sido postulada por alguns autores como um indicativo indireto de uma capacidade cognitiva desenvolvida (Antinucci, 1990). Esses animais apresentam ainda estratégias de forrageamento diferentes de outras espécies, habilidade manual altamente elaborada e grande plasticidade comportamental, adaptando-se a nichos ecológicos distintos (Fragaszy, 1990; Napier & Napier, 1985). Além disso, eles demonstram capacidade de utilização de ferramentas (Visalberghi, 1993) e conseguem responder a testes de memória operacional como escolha-de-acordo-com modelo com atraso (DMS) (Tomaz *et al.*, 2000), escolha-diferente-do-modelo com atraso (DNMS) e discriminação seqüencial concorrente (Tavares & Tomaz, 2002; Resende *et al.*, 2003).

Macacos-prego possuem um rico repertório de expressões faciais e posturas corporais que exprimem uma variedade de informações para seus co-específicos (Fragaszy *et al.*, 2004). O macaco-prego tem mobilidade bem desenvolvida da musculatura facial que atinge uma variabilidade expressiva considerável e apresenta acuidade visual excelente

para discernir os sinais de outros indivíduos (Weigel, 1978). Nesse estudo foram analisadas seqüências de sinais de comunicação de *C. apella* para documentar que cada expressão facial única é acompanhada de uma resposta específica previsível de outro membro do grupo (Weigel, 1978). Esse pesquisador argumenta que as expressões faciais apresentam significado para os indivíduos receptores. Muitos sinais visuais dos macacos-prego e seu contexto são similares àqueles encontrados em macacos do Velho Mundo (família *Cercopithecidae*) (Oppenheimer, 1968; Weigel, 1978; Fragaszy *et al.*, 2004). Contudo, assim como os grandes primatas e macacos do velho mundo, macacos-prego exibem e interpretam uma variedade enorme de mensagens visuais que facilitam suas interações sociais.

1.5. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Como mencionado anteriormente, o macaco-prego apresenta capacidade cognitiva bem desenvolvida, conseguindo responder a testes de memória operacional que envolvem regras como escolha-de-acordo-com modelo com atraso (DMS) escolha-diferente-do-modelo com atraso (DNMS) e discriminação seqüencial concorrente. Além disso, existem evidências de que esses animais exibem e interpretam uma variedade enorme de mensagens visuais que facilitam suas interações sociais, incluindo as expressões faciais de emoção. Somando-se a estas características, destaca-se que a espécie ocorre naturalmente no bioma cerrado e na região de Brasília. Outro aspecto importante, é que as fêmeas de *Cebus* spp. apresentam ciclo menstrual similar ao ciclo de mulheres e comportamentos que podem ser utilizados na caracterização das fases do ciclo. Juntas, essas características tornam o macaco-prego um modelo adequado ao projeto de pesquisa proposto.

De acordo com o nosso conhecimento, não existem pesquisas que investiguem o papel das expressões faciais de emoção na facilitação da memória operacional em primatas não-humanos. No presente estudo foi desenvolvido um conjunto de 384 fotografias de faces de macacos-prego classificadas de acordo com a valência emocional (positiva, negativa e neutra), para examinar se o conteúdo emocional pode beneficiar a memória operacional no teste de escolha-diferente-do-modelo com atraso (DNMS).

O teste de escolha-diferente-do-modelo (*Non-matching-to-sample*) tem sido amplamente empregado para investigar a memória de reconhecimento visual em humanos e macacos (Tavares & Tomaz, 2002). Existem evidências de que esse tipo de memória melhora com o uso de estrogênio em mulheres após a menopausa (Resnick *et al.*, 1998) e

tende a ser prejudicado em fêmeas de macaco rhesus idosas com deficiência de estrogênio (Lacreuse *et al.*, 2000). Neste trabalho, hipotetizamos que as fêmeas de macaco-prego poderiam apresentar um melhor desempenho nas tarefas de DNMS quando os níveis de estrogênio estivessem altos. Além disso, acreditamos que a memória operacional deveria ser diferencialmente influenciada pelo tipo de estímulo, com melhor desempenho para valências emocionais (positiva e negativa) em comparação aos estímulos neutros.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS:

- Desenvolver um teste de memória operacional emocional para utilização em macacos-prego (*Cebus spp.*).
- Investigar a ação dos hormônios sexuais (estradiol e progesterona) sobre o desempenho cognitivo de fêmeas de macaco-prego em testes de memória operacional utilizando estímulos com conteúdo emocional.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Desenvolver um conjunto de fotografias com diferentes expressões faciais de macacos-prego, julgadas de acordo com a valência emocional em: positivas (favoráveis), negativas (aversivas) e neutras (sem carga emocional);
2. Avaliar a ação do estradiol no desempenho cognitivo no teste de escolha-diferente-do-modelo com atraso (DNMS), através da comparação das respostas corretas entre duas fases experimentais, sendo uma com administração exógena de estradiol e outra durante a flutuação natural do ciclo menstrual;
3. Investigar se existe correlação entre os níveis de progesterona e o desempenho cognitivo no teste DNMS;
4. Mensurar os níveis de estradiol e progesterona das fêmeas através das fezes;
5. Investigar se o desempenho no DNMS com estímulos emocionais varia quanto ao sexo;
6. Comparar o desempenho e o tempo de resposta dos animais no teste de DNMS entre quatro categorias de estímulos: figuras geométricas e fotografias de faces positivas, neutras e negativas;
7. Avaliar o repertório comportamental exibido pelas fêmeas nas duas fases do experimento (tratamento com estradiol e placebo).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. SUJEITOS

Participaram do estudo cinco fêmeas e dois machos de macaco-prego (*Cebus* spp.) adultos, entre 5 e 10 anos de idade. Esses animais foram mantidos em cativeiro no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília, situado na Fazenda Água Limpa, à 30 km do centro da cidade. A fazenda possui uma área de 4.340 ha, dos quais metade corresponde à área de proteção ambiental. Os viveiros em que se encontram os macacos situam-se na área de reserva, em meio à mata de galeria, o que proporciona aos animais exposição a condições naturais de luminosidade, temperatura, umidade e pressão atmosférica. O Centro de Primatologia da UnB dispõe de assistência veterinária permanente e as normas de manutenção dos animais em cativeiro estão de acordo com o IBAMA - Instituto Nacional dos Recursos Renováveis e do Meio Ambiente.

Os sujeitos estavam expostos às mesmas condições de tratamento e mantidos em casais ou grupos de três animais por recinto, que mede 4m de comprimento x 2,5m de largura x 3m de altura. Os viveiros possuem um sistema de divisão interna com porta guilhotina que permite a separação do sujeito de seu(s) companheiro(s) durante as sessões experimentais. Eles foram testados em seus próprios recintos para evitar distúrbios de comportamento que podem ser resultantes da captura e transporte para um ambiente diferente.

Os animais foram alimentados diariamente entre 7:00h e 7:30h da manhã, com uma dieta à base de frutas, legumes, ovos, ração e suplementos vitamínicos. Às 17:30h, o restante da alimentação era retirado dos viveiros dos animais. Água foi fornecida *ad libitum*, exceto durante as sessões experimentais.

Todos os sujeitos estavam familiarizados com os equipamentos e com a utilização da tela sensível ao toque. Apenas duas fêmeas (3 e 5) eram ingênuas no teste DNMS, no entanto os outros animais foram testados nesta tarefa pela última vez cerca de 3 anos antes do início da modelagem.

3.2. ASPECTOS ÉTICOS

O projeto de pesquisa e seus procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso Animal do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília (ANEXO I).

3.3. EQUIPAMENTOS

O equipamento utilizado na coleta dos dados consistiu de um microcomputador portátil (Compac Presario 1247) acoplado a um monitor com tela sensível ao toque (LG Studio Works 440, Microtouch) que permite a apresentação simultânea da imagem no microcomputador e monitor. Conectado ao microcomputador, havia um dispensador de pelotas de ração, operado automática ou manualmente.

Os aparelhos foram montados em um carrinho de madeira medindo 60 cm de comprimento x 60 cm de largura x 1 m de altura, que pode ser deslocado de um viveiro para o outro (Fig. 3). O carrinho continha duas aberturas em sua parte frontal. Uma abertura de 28 x 21cm que permitia ao macaco o acesso à tela do monitor e outra por onde se projetava uma mangueira através da qual a ração era liberada (3 x 2cm).



Figura 5. Aparato experimental (carrinho com equipamentos).

3.4. PROGRAMA COMPUTACIONAL (SYSTEMEM)

Para gerar os testes de memória foi utilizado o programa SYSTEMEM, desenvolvido por Ricardo S. Chiba, 2001. O SYSTEMEM foi programado em linguagem Delphi e é compatível com o sistema Microsoft Windows 98 ou XP.

Nesse programa o experimentador colocava o nome do sujeito e a sessão que seria realizada. Havia um atalho que permitia ao experimentador manipular parâmetros do teste, como a cor de fundo da tela, o número de tentativas, o tempo de intervalo entre as tentativas, a apresentação aleatória ou programada dos estímulos de cada tentativa, o tempo de retardo e a posição fixa ou aleatória dos estímulos na tela. O programa registrava automaticamente a hora de início e fim de cada tentativa, o número de tentativas realizadas pelo sujeito, o desempenho do sujeito em termos de acerto ou erro, bem como o tempo de reação para cada tentativa de teste e o código das figuras utilizadas.

3.5. PROCEDIMENTO

Os animais foram treinados em seus próprios viveiros de moradia no Centro de Primatologia. O preparo da sessão experimental envolveu: a separação do sujeito de seu(s) companheiro(s) através do sistema de divisão interna do viveiro e a colocação do equipamento em frente ao seu viveiro, de forma que a tela do microcomputador ficasse voltada para onde o sujeito se encontrava.

Tabela 1. Variáveis utilizadas em cada fase experimental.

Variáveis	Modelagem	Piloto 1	Piloto 2	Teste 1	Teste 2
Tipo de estímulo	Geométrico	Foto Face	Geométrico + Foto Face	Geométrico + Foto Face	Geométrico + Foto Face
Duração do teste	Até atingir critério	1 sessão	3 sessões	5 sessões	5 sessões
Período	Junho/2005 a Janeiro/2006	Janeiro/2006	Janeiro/2006	Janeiro/2006	Janeiro/2006 e fevereiro/2006
N° tentativas/sessão	40	45	50	50	50
Tempo entre tentativas	2 s	4 s	4 s	4 s	4 s
Retardo (Atraso)	4 s	8 s	8 s	8 s	8 s
Valerato de Estradiol	Não	Não	Não	Fêmea 3 e Fêmea 4	Fêmea 1 e Fêmea 2
Placebo	Não	Não	Não	Fêmea 1 e Fêmea 2	Fêmea 3 e Fêmea 4

O macaco respondia à exigência do teste passando a mão pela grade da porta do viveiro e tocando o estímulo apresentado na tela do monitor. Para cada resposta correta, ocorria a apresentação de um tom agudo e a liberação do reforço, que consistia em um pedaço de amendoim ou uma pelota de ração com sabor de banana (190mg, Noyes, Lancaster, NH). As respostas erradas eram acompanhadas de um tom grave.

As fases experimentais são apresentadas na Tabela 1.

3.5.1. Treinamento de toque à tela - Modelagem

Para os animais aprenderem a tarefa, foi utilizado o método de aproximação sucessiva até obter dos sujeitos a resposta apropriada de toque à tela. O experimentador segurava uma pelota de ração em frente à tela do monitor na presença do estímulo, possibilitando que o animal tocasse na tela para pegar a ração. Tentativas espontâneas de toque à tela foram inicialmente recompensadas com a liberação de uma pelota de ração, mesmo na ausência do estímulo. Na etapa seguinte, o animal somente foi recompensado apenas quando tocava a tela sobre o local de apresentação do estímulo.

Durante a fase de treinamento, os estímulos apresentados foram 426 figuras com diferentes formas e cores e tamanho de 7x 7cm, do Clip-art Word ou confeccionadas no Paint Brush e gravadas em formato Bitmap. A Figura 4 apresenta exemplos das figuras utilizadas na modelagem e testes.

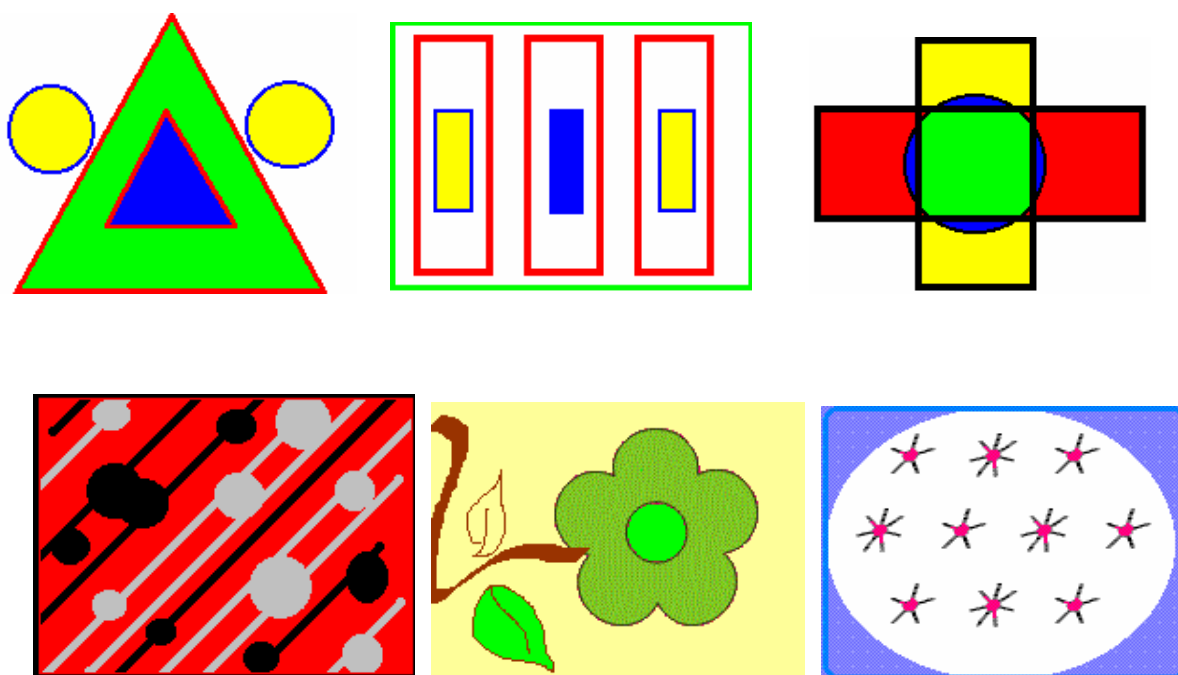


Figura 6. Exemplos de estímulos geométricos (6 figuras).

3.5.2. Teste de Escolha Diferente do Modelo com Atraso (DNMS)

Na versão computadorizada utilizada no presente estudo, o teste teve início com a apresentação de um estímulo (modelo) no centro da tela do monitor. O estímulo era suprimido e seguido de um intervalo fixo (definido pelo experimentador). Após este intervalo, dois estímulos eram apresentados para o animal em posições pré-estabelecidas na tela, sendo um deles igual ao previamente apresentado e outro diferente. O sujeito deveria escolher o estímulo diferente do modelo anteriormente apresentado. Os estímulos não se repetiam numa mesma sessão experimental, de modo que o sujeito teve que aprender a regra do teste para que seu desempenho fosse superior ao acaso.

Os animais foram treinados até que atingissem um critério de 80% de acertos numa sessão de 40 tentativas, ou seja, mínimo de 32 respostas certas na sessão (Modelagem, Tabela 1).

Para familiarização dos sujeitos com os estímulos emocionais foram realizadas 4 sessões de estudos-piloto. Na primeira destas sessões (Piloto 1, Tab. 1) foram utilizadas apenas fotografias como estímulos. Esta sessão foi composta de 45 tentativas, sendo 15 com fotos consideradas positivas, 15 neutras e 15 negativas. As outras 3 sessões de testes piloto (Piloto 2, Tab. 1) apresentavam a mesma seqüência de estímulos utilizada nas sessões de teste (conforme explicação adiante).

Para os testes, foram preparadas 5 sessões contendo 50 tentativas de DNMS (Teste 1 e Teste 2, Tab. 1). As 10 tentativas iniciais eram para treinamento e descarte. As outras 40 foram distribuídas em 10 tentativas com cada tipo de estímulo (figuras geométricas e fotos positivas, negativas e neutras) que foram intercaladas. Para compor cada par de estímulos fotográficos foram consideradas a mesma valência emocional, sexo, idade (jovem ou adulto), posição da cabeça (frente ou perfil) e presença ou ausência da grade do viveiro. Nenhum estímulo foi repetido a cada cinco sessões de teste.

Os macacos foram testados em dois blocos de cinco dias consecutivos, sendo que as mesmas cinco sessões foram repetidas no primeiro e no segundo blocos. O atraso entre o aparecimento do modelo e os dois estímulos para escolha foi de 8 segundos.

Todas as sessões experimentais foram transcritas manualmente pela experimentadora em fichas de registro (modelo no ANEXO II).

3.5.3. Estímulos

Foram utilizados como estímulos 426 figuras geométricas (as mesmas utilizadas na modelagem) e 476 fotografias de *Cebus* spp., com tamanho de aproximadamente 7 x 7 cm. Para a confecção das imagens de *Cebus* spp. foram

fotografados os animais do Centro de Primatologia, do Zoológico de Brasília e do Parque Nacional de Brasília em várias situações.

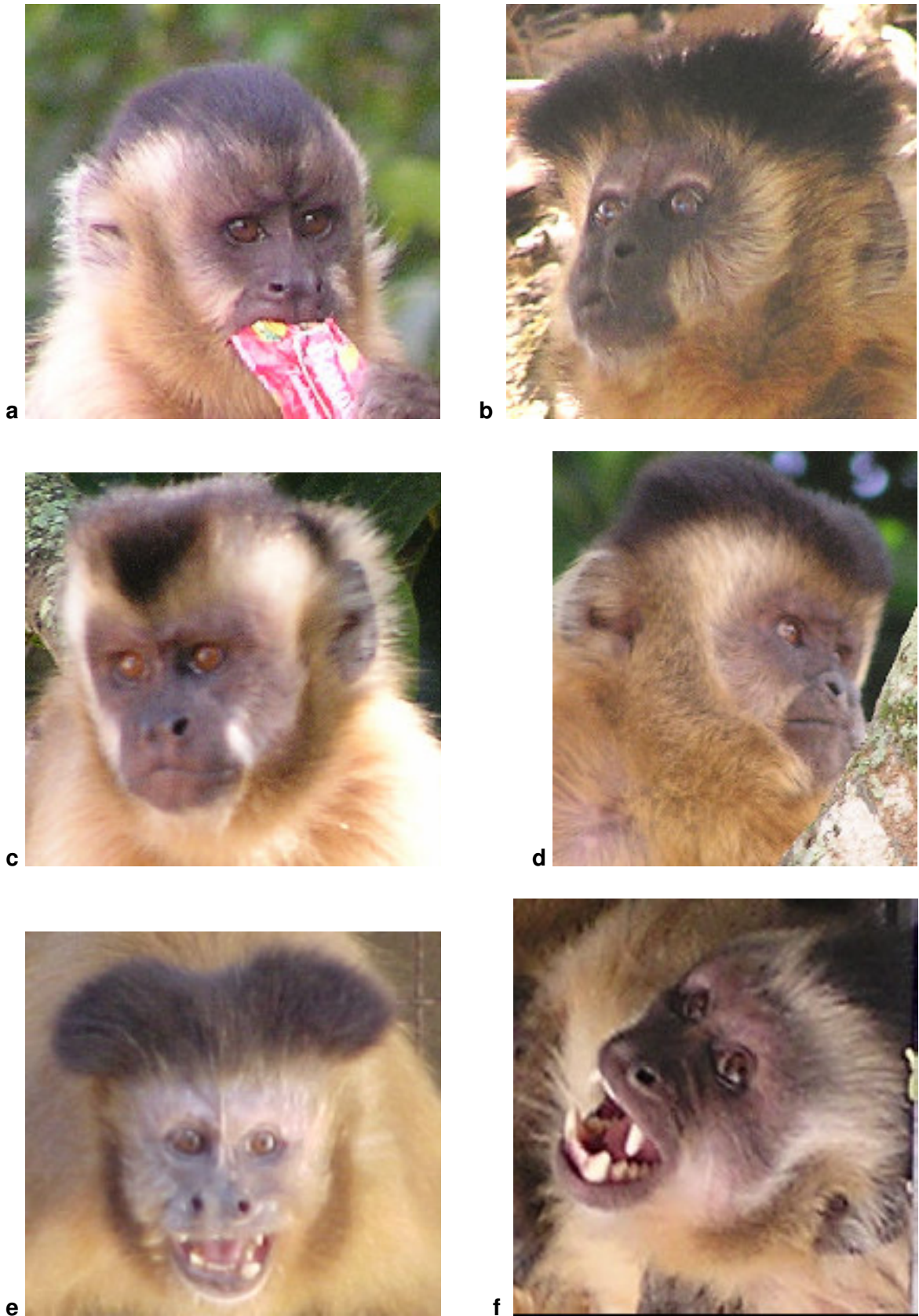


Figura 7. Exemplos de fotografias de *Cebus* spp. (estímulos emocionais). a,b – positivos ou agradáveis. c,d – neutros ou indiferentes. e,f – negativos ou aversivos.

A edição das imagens foi realizada no programa Paint Brush e gravadas no formato Bitmap. O conteúdo emocional de cada fotografia foi julgado por cinco avaliadores independentes, todos com experiência prévia com macacos-prego de pelo menos um ano.

As fotografias foram classificadas de acordo com o conteúdo emocional em positivas (ver Figuras 5a e 5b), neutras (ver Fig. 5c e 5d) e negativas (ver Fig. 5e e 5f). Foram consideradas positivas as situações agradáveis como catação, brincadeiras, afiliações, presença de filhotes, entre outras. Os estímulos neutros foram as situações consideradas pelos avaliadores como sem carga emocional. Já os estímulos negativos/aversivos foram assim classificados por serem fotografias de faces em situações conflitantes como brigas, ameaças, ataques e medo.

Foram preparados dois conjuntos de fotos para a realização de estudos-piloto e dos testes. Durante os testes-piloto foram observadas as reações dos animais em responderem a um teste contendo imagens de sua própria espécie. O conjunto de fotos para estes estudos-piloto foi composto de 83 fotos, com concordância que variou entre 60% e 100% no conteúdo emocional entre os pesquisadores que avaliaram as imagens. Para a fase de teste, foram utilizadas 384 fotos, cuja concordância mínima na valência emocional foi de 80%, ou seja, concordância de no mínimo 4 dos 5 juízes.

3.5.4. Tratamento hormonal

Quanto à administração de estrógenos foram testadas quatro fêmeas (Fêmeas 1 a 4) das 5 fêmeas, pois uma das fêmeas treinadas pariu uma mês antes da realização do experimento (Fêmea 5) e o tratamento com hormônio poderia reduzir a sua produção de leite.

Durante o treinamento das fêmeas era possível observar a presença de comportamento sexual relacionado à fase ovulatória do ciclo (comportamentos que serão descritos no tópico “Observações comportamentais”). Aparentemente, a fase ovulatória da Fêmea 1 foi próximo ao dia 15/01/2006, das Fêmeas 2 e 4 aproximadamente no dia 13/01/2006 e da Fêmea 3 no dia 26/01/2006. As Fêmeas 2 e 3 apresentaram comportamentos sexuais muito sutis, portanto não foi confiável a determinação da fase do ciclo através do comportamento para essas fêmeas. Assim, cada uma dessas fêmeas (2 e 3) foi colocada em um grupo, sendo uma o controle da outra. Com a estimativa da fase ovulatória após 20 dias, foram escolhidas as fêmeas que tomariam hormônio na primeira e na segunda semana na tentativa de coincidir o pico natural de estradiol com a semana de administração do valerato de estradiol.

Para comparação entre níveis de estrógenos foi utilizado um protocolo de tratamento com valerato de estradiol numa dosagem de 0,11 mg/ind/dia, calculada a partir

da dosagem diária utilizada em terapia de reposição hormonal de mulheres e de acordo com estudos prévios da literatura em macacos rhesus (Lacreuse & Herndon, 2003). O valerato de estradiol foi manipulado na Farmacotécnica – Instituto de manipulações farmacêuticas LTDA, em pó e colocado em cápsulas na dosagem exata. Às 10:00h o pó era misturado em suco de uva e oferecido em uma seringa para as fêmeas que participaram do experimento. O placebo consistiu em oferecer uma seringa de suco de uva sem o hormônio. Nesse horário as fêmeas já haviam sido alimentadas. Foram dois blocos de cinco dias de testes. Para evitar efeito de aprendizagem no teste, duas fêmeas tomavam o placebo e duas o hormônio, na primeira semana de teste. Na semana seguinte alternaram-se as fêmeas que tomaram hormônio. Assim, na primeira semana (de 25 a 29 de janeiro de 2006), as fêmeas 1 e 2 tomaram placebo, enquanto as fêmeas 3 e 4 tomaram o hormônio. Na segunda semana (de 01 a 05 de fevereiro de 2006) inverteu-se a ordem, as fêmeas que tomaram hormônio passaram a receber o placebo e vice-versa.

3.5.5. Observações comportamentais

A coleta de dados comportamentais foi realizada no período de 25 de janeiro a 06 de fevereiro de 2006. O registro do comportamento teve por finalidade relacionar possíveis alterações comportamentais com os níveis hormonais de estrogênios e progesterona dosados, principalmente devido ao tratamento hormonal.

Durante o tratamento com hormônio e placebo foi observado diariamente o comportamento de cada fêmea em quatro blocos de 10 minutos, sendo dois no período matutino e dois no vespertino. Cada bloco era composto de 5 minutos de observação contínua e 5 minutos de registros instantâneos tomados a cada 15 segundos. Carosi e colaboradores (1999) observaram que, em fêmeas de *C. apella* alguns comportamentos sexuais são cíclicos e coincidem com o ciclo menstrual. O protocolo de observação e as classes de comportamentos foram baseadas no artigo de Carosi e Visalberghi (2002). O modelo de ficha de registro utilizada encontra-se no ANEXO III.

Na observação contínua (duração do comportamento) foram registrados os comportamentos: catação, atividade, estereotipia, repouso, corte, contato físico com conotação sexual, tentativa de cópula e exibição para o macho (ver descrições de comportamentos sexuais na Tabela 2). O comportamento de braço tenso não foi verificado em nenhuma sessão de observação. Foram anotados também os eventos de agressividade e de tocar e correr, caso acontecessem. Nas anotações de campo, o comportamento “atividade” era subdividido em alimentação, forrageamento, deslocamento, vigília/observação, amamentação e brincadeira, mas durante a análise estatística esses comportamentos foram agrupados nessa categoria (atividade).

Tabela 2. Descrição das categorias de comportamento sexual observadas.

Comportamento (técnica de observação)	Descrição
So/Vo/Sorr (RI) Levantar as sobrancelhas “ <i>eyebrow raising</i> ” Sorrir “ <i>grin</i> ” Vocalizar	Levantar as sobrancelhas – movimento das sobrancelhas para cima e retornar para a posição relaxada com a conseqüente elevação do topete, retificação da pele da testa e exposição das pálpebras. Esse comportamento é realizado por ambos os sexos e, quando realizado sem sorriso e vocalização, pode ocorrer também em situações não reprodutivas como interações afiliativas, brincadeiras sociais ou até após eventos de agressão. Neste trabalho foram computados apenas os eventos isolados de “levantar as sobrancelhas” quando relacionados à atividade reprodutiva. Sorrir com vocalização – levantar e abaixar as extremidades da boca ritmicamente com a mandíbula fechada, mostrando os dentes algumas vezes. A vocalização da fêmea é mais ou menos contínua como um assobio suave que freqüentemente torna-se um gemido rouco.
Axilas (RI) “ <i>chest rubbing</i> ”	Fêmea esfrega lentamente a pele das axilas com a(s) mão(s) do braço oposto. Os movimentos são usualmente para cima e para baixo e são repetidos várias vezes na seqüência.
Genitália (RI) “ <i>masturbation</i> ”	Masturbação. Fêmea estimula a própria genitália com uma das mãos.
Encarar (RI) “ <i>mutual gaze</i> ”	Fêmea e macho mantém contato visual mútuo durante mais de 3 segundos. Envolve o comportamento de levantar as sobrancelhas.
Inclinar a cabeça (RI) “ <i>head cocking</i> ”	Fêmea inclina a cabeça para um lado (cerca de 45°). O lado pode ser trocado após alguns segundos.
Corte (OC)	Fêmea realiza comportamentos de So/Vo/Sorr e/ou esfregar axilas e/ou inclinar a cabeça para o parceiro.
Contato Físico (OC)	Foram observados e considerados todos os contatos físicos relacionados ao ato reprodutivo, com exceção da tentativa de cópula. São comuns os seguintes comportamentos: 1. tocar o corpo (<i>body touching</i>) – fêmea toca gentilmente o corpo do macho com uma das mãos por pelo menos 2 segundos; 2. postura frontal (<i>frontal posture</i>) – fêmea sentada em frente ao macho mantém um dos braços estendido tocando o peito do macho com a mão; 3. postura de costas (<i>back posture</i>) – fêmea sentada de costas para o macho olha para trás virando a cabeça enquanto mantém a mão tocando o peito do macho; 4. sentar no colo (<i>backing into lap</i>) – fêmea senta-se de costas no colo do macho (pode ocorrer tentativa de cópula na seqüência).
Tentativa de cópula (OC) “ <i>mounting</i> ”	Macho monta na fêmea na posição de cópula e faz movimentos repetidos com os quadris. Pode ocorrer também da fêmea montar no macho.
Exibição (OC)	Fêmea deitada, com as pernas abertas e apoiada com as mãos no substrato, mostra a genitália para o macho encarando-o. Geralmente ocorre juntamente o comportamento de levantar as sobrancelhas.
Braço tenso (OC) “ <i>extended arm</i> ”	Fêmea estende um ou ambos os braços na direção do macho sem tocá-lo. Geralmente ela está sentada encarando o macho. Esse comportamento pode ser realizado também pelo macho.
Tocar e correr (ocorrências durante a OC) “ <i>touching-and-running</i> ”	Fêmea empurra rapidamente o corpo do macho com sua mão e foge correndo.

Abreviações: RI – registro instantâneo (intervalo de 15 s); OC – Observação contínua.

Nos registros instantâneos foram observados os mesmos comportamentos não sexuais que na observação contínua. Já os comportamentos sexuais, além das categorias da observação contínua foram consideradas as ocorrências dos comportamentos: levantar as sobrancelhas e/ou Sorrir e/ou vocalizar (So/Vo/Sorr), esfregar as axilas, tocar a genitália (masturbação da fêmea), inclinar a cabeça e encarar (Tab.2).

3.6. DOSAGEM HORMONAL

O ciclo ovariano de fêmeas de macaco-prego tem sido caracterizado pela medição de estrógeno, LH e progesterona no plasma (Nagle *et al.*, 1979; Nagle & Denari, 1983). Nagle e Denari (1983) também encontraram perfis similares de progesterona em amostras de urina e de plasma, mas os dados foram limitados a apenas um ciclo menstrual. A determinação urinária das progestinas: progesterona imunoreativa (iP4) e pregnanediol glucuronido (iPdG) revelaram claramente as fases folicular e lútea, apresentando perfis similares àqueles descritos para a progesterona plasmática (Nagle *et al.* 1979; Nagle & Denari, 1983; Carosi *et al.*, 1999). Além disso, a duração média do ciclo ovariano e das suas fases folicular e lútea, calculados com base nos perfis de progestina urinária, foram similares aos medidos no plasma sanguíneo (Nagle *et al.*, 1979; Nagle & Denari, 1983; Carosi *et al.*, 1999). Assim, a dosagem direta de iP4 ou de iPdG na urina pode ser utilizada para o monitoramento do ciclo menstrual. Segundo Carosi e colaboradores (1999), a medição urinária da progestina iP4 parece demonstrar mais estabilidade na linha de base da fase folicular e maior aumento na fase lútea em relação à iPdG.

A comparação entre as dosagens de progestinas da urina e das fezes revelou que na maioria dos ciclos, os coeficientes de correlação mais altos foram obtidos entre amostras sem ajuste de tempo (i.e., não foi necessário considerar um atraso entre as concentrações de progestinas na urina e nas fezes) e, em média, o aumento pós-ovulatório nas progestinas fecais ocorreu no mesmo dia em que se observou a elevação da iP4 na urina (Carosi *et al.*, 1999). Com isso, a dosagem das progestinas imunoreativas nas fezes pode ser utilizada alternativamente para o monitoramento do ciclo menstrual de fêmeas de *Cebus* spp.

3.6.1. Coleta de material

Para determinação das concentrações hormonais foram coletadas amostras diárias de fezes durante a fase de testes. Ao acordar, as fêmeas testadas eram separadas dos demais membros do grupo na parte da frente dos respectivos viveiros. As suas fezes eram coletadas entre 9:00h e 10:30h. Para os dias em que não foram encontradas fezes

nesse horário, algumas coletas foram realizadas mais tarde, caso a fêmea fosse vista evacuando. Após a coleta, as amostras foram colocadas em freezer e armazenadas à temperatura de -20 °C. As amostras foram enviadas para análise no Laboratório de Medidas Hormonais do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), em Natal.

3.6.2. Extração dos hormônios

Para cada amostra foram dosados os hormônios estradiol (E2) e progesterona (P4). O processo de extração foi executado conforme descrito por Ziegler e colaboradores (1996), e compreendeu as etapas de hidrólise e solvólise. A primeira dessas etapas tem o objetivo de separar os esteróides (glucuronídeos e sulfatos) que estão na forma livre e sob conjugação simples que são solúveis em água, enquanto a segunda tem o objetivo de separar os esteróides que estão sob dupla e tripla conjugação do restante do material da amostra. Essas duas etapas consistem dos seguintes passos experimentais, conforme descrito em Albuquerque (2003):

Hidrólise - as fezes foram homogeneizadas com o auxílio de uma espátula e depois pesadas em conteúdo de 0,1g em balança de precisão. Em seguida, foram adicionados 5 ml de etanol 50%. Após este procedimento, as amostras foram agitadas em vórtex por cerca de 5 minutos, centrifugadas e decantadas em tubos de vidro de 7 ml. Posteriormente, os sobrenadantes foram estocados em freezer a -20°C.

Solvólise - as amostras hidrolisadas foram acondicionadas à temperatura ambiente durante 10 minutos e o volume de 500 µl de cada amostra foi pipetado em tubos de extração. Em seguida, foram adicionados à cada amostra os volumes de 100 µl de cloreto de sódio saturado, 50 µl de ácido sulfúrico e 5 ml de acetato de etila. Após estes procedimentos, os tubos foram levados ao agitador durante 1 minuto e depois colocados em banho-maria à 40°C durante toda a noite. No dia seguinte, foram adicionados 2,5 ml de água destilada e filtrada. As amostras foram agitadas em vórtex durante 5 minutos e depois centrifugadas a 3.000 rpm durante 3 minutos. O sobrenadante foi separado em tubos de 12 x 75 mm, que foram levados para secar em banho-maria até a parte líquida ser toda evaporada. O volume foi re-suspendido utilizando 500 µl de álcool etílico. Por último, as amostras foram agitadas durante 30 segundos.

3.6.3. Dosagem

Após o procedimento de extração, foi utilizada a técnica imuno-enzimática (ELISA) para dosagem do estradiol e da progesterona. A parte técnica foi realizada de

acordo com o protocolo desenvolvido originalmente por Munro e Stabenfeldt (1984 *apud* Sousa & Ziegler, 1998), para dosagem de esteróides no plasma e modificada para o emprego em fezes, conforme descrito em Sousa e Ziegler (1998). Neste processo, inicialmente foi feita a validação da técnica verificando se houve existência de paralelismo entre as curvas e a precisão do ensaio. Os coeficientes de variação inter e intra-ensaio foram 3,49 e 7,17 respectivamente para o estradiol e 5,60 e 3,87 respectivamente Para a progesterona.

Conforme descrito em Albuquerque (2003), o procedimento geral para determinação dos níveis de esteróides em fezes consistiu nos seguintes passos:

1. Pipetagem de um volume da amostra após a sua retirada da geladeira e agitação durante 5 segundos;
2. Secagem do volume com jato de ar em banho-maria à 40° C;
3. Adição aos tubos após secagem de 300 µl da solução preparada com a enzima (HRP) conjugada ao respectivo hormônio;
4. Agitação dos tubos e transferência do volume, para tubos de plástico de 1,6 ml;
5. Pipetagem de um volume de 100µl em cada um dos furos da placas (Nunc) contendo o anticorpo anti-Progesterona ou anti-Estradiol;
6. Incubação das placas durante 2 horas em câmara de umidade;
7. Após este período, foi feita a adição de 100µl/furo da placa da solução preparada a partir de 25 ml de tampão citrato (citric acid anhydrous- C₆H₈O₇ / SIGMA) a 10%, ABTS (2,2'-azino-bis 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid / SIGMA) 250 µl do substrato e 80 µl de H₂O₂ a 15%;
8. Incubação da placa por cerca de 1 hora na câmara de umidade;
9. Adição de 100µl/furo da placa da solução para parar a reação, preparada a partir de 25 ml da solução de ácido fluorídrico (3,5 ml de ácido fluorídrico a 70%, 6,0 ml de NaOH 1M, completando o volume para 50 ml, com 25 ml de água destilada e 50 µl de EDTA (Ethylenediamine-tetraacetic acid / SIGMA)).
10. Leitura da densidade óptica no espectrofotômetro (Dynatech, MR-500), com filtro de 410 nm.

3.7. ANÁLISE DE DADOS

3.7.1. Estatística

Para análise dos resultados foi utilizado o programa SPSS 13.0 for Windows. O desempenho foi calculado com base nas médias do número de respostas corretas e do tempo de resposta na tarefa diária para cada sujeito em cada fase do tratamento hormonal, no caso das fêmeas.

O desempenho foi comparado entre as semanas de teste e entre os tratamentos (hormônio X placebo) utilizando o teste não-paramétrico de Wilcoxon, para cada tipo de estímulo (geométrico, positivo, neutro e negativo) e total. Para comparação entre os sexos, foi utilizado o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, também para cada tipo de estímulo (geométrico, positivo, neutro e negativo) e total.

Foram comparadas as respostas corretas e o tempo de reação entre os estímulos geométrico, positivo, neutro e negativo através da análise de variância não-paramétrica (Kruskal-Wallis) e, quando detectada diferença, foi realizado *post hoc* o teste de Tukey para verificar quais foram os parâmetros diferentes. Esta análise foi realizada para o grupo todo, para cada indivíduo e também considerando cada sessão de cada indivíduo.

Para a comparação dos níveis fecais dos hormônios estradiol e progesterona entre os tratamentos (estradiol e placebo) foi utilizada a análise de variância (ANOVA).

As classes de comportamento e as categorias de comportamento sexual foram comparadas entre os tratamentos através do teste de Wilcoxon.

Foi feita a correlação de Spearman entre o desempenho médio das fêmeas em cada dia de teste e o nível dos hormônios progesterona e estradiol e também entre o tempo ou frequência do comportamento sexual e a concentração fecal destes dois hormônios.

Para avaliar a significância das comparações foi considerado o $p = 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1. MODELAGEM

A modelagem foi iniciada com 11 animais, sendo 7 fêmeas e 4 machos. Para garantir o aprendizado do teste foi utilizado um critério de no mínimo 80% de acerto em pelo menos uma sessão de modelagem, ou seja, 32 acertos em 40 tentativas.

Duas fêmeas não aprenderam a tocar no estímulo (apenas na tela em qualquer momento). Dois machos que estavam sendo modelados no teste (DNMS) não foram testados, pois um deles fugiu antes de completar o treinamento e o outro não atingiu o critério de 80% de acerto em nenhuma sessão.

As fêmeas demoraram de 44 a 55 sessões para atingirem o critério exceto a Fêmea 2 que chegou a acertar no máximo 75% na 62^a sessão (Tabela 3). Apesar de não ter atingido o critério, o desempenho da Fêmea 2 nos testes não foi pior que o dos outros animais. A Fêmea 1 atingiu o critério nas sessões 44 a 47, a Fêmea 3 nas sessões 48, 60, 63, 64, 66, 69 e 70, a Fêmea 4 nas sessões 55 e 59 da modelagem e a Fêmea 5 nas sessões 46, 50, 51 e 52 (Tabela 3). Apesar das Fêmeas 3 e 5 serem ingênuas no teste DNMS utilizando computador, elas não demoraram mais para atingir o critério de 80% de respostas certas na sessão.

Tabela 3. Modelagem dos sujeitos de *Cebus* spp. no teste DNMS, entre junho/05 e janeiro /06. Total de sessões realizadas e sessões com desempenho acima do critério (80% de acerto). N = 40 tentativas por sessão.

Sujeito	Total de sessões de modelagem	Sessões acima de 80% de acerto
Fêmea 1	47	44 ^a , 45 ^a , 46 ^a e 47 ^a
Fêmea 2	70	Não atingiu o critério
Fêmea 3	70	48 ^a , 60 ^a , 63 ^a , 64 ^a , 66 ^a , 69 ^a e 70 ^a
Fêmea 4	66	55 ^a e 59 ^a
Fêmea 5	53	46 ^a , 50 ^a , 51 ^a e 52 ^a
Macho 1	38	20 ^a , 21 ^a , 32 ^a , 33 ^a , 37 ^a e 38 ^a
Macho 2	35	12 ^a , 13 ^a , 23 ^a , 24 ^a , 25 ^a , 26 ^a , 28 ^a , 29 ^a , 30 ^a , 31 ^a , 32 ^a , 34 ^a e 35 ^a

Os machos atingiram o critério mais rapidamente, o Macho 1 na 20^a sessão e o Macho 2 na 12^a (Tabela 3). O Macho 1 ficou acima de 80% nas sessões 20, 21, 32, 33, 37 e 38 e o Macho 2 obteve mais de 80% de acerto em 12 sessões. Este último sujeito

permaneceu na modelagem nestas 12 sessões, pois as fotografias ainda não estavam prontas para início dos testes.

4.2. ESTUDOS-PILOTO

Conforme explicado na sessão de métodos, foram realizadas quatro sessões de estudos-piloto. A Figura 8 apresenta o desempenho de todos os sujeitos na primeira sessão de testes-piloto. Não foram encontradas diferenças estatísticas no desempenho entre os três tipos de estímulos utilizados (positivo, negativo e neutro) (Kruskal-Wallis = 2,962; $p = 0,227$).

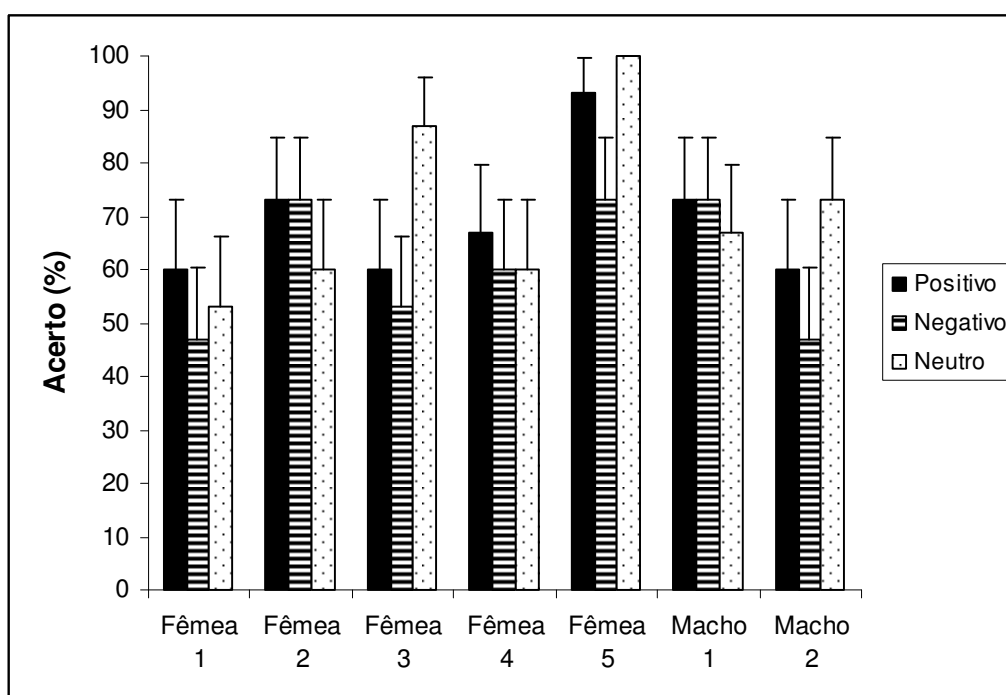


Figura 8. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. na primeira sessão de teste-piloto. N = 15 testes por estímulo para cada animal.

Após a primeira sessão de testes-piloto decidiu-se pela inclusão dos estímulos geométricos (utilizados na modelagem) nos testes e nas demais sessões-piloto. A Figura 9 ilustra os desempenhos médios para cada estímulo em cada sessão. Quando consideradas as quatro sessões de estudos-piloto foi encontrada diferença significativa entre os estímulos (Kruskal-Wallis = 49,662; $p < 0,001$), apresentando desempenho com figuras geométricas superior a todos os estímulos fotográficos.

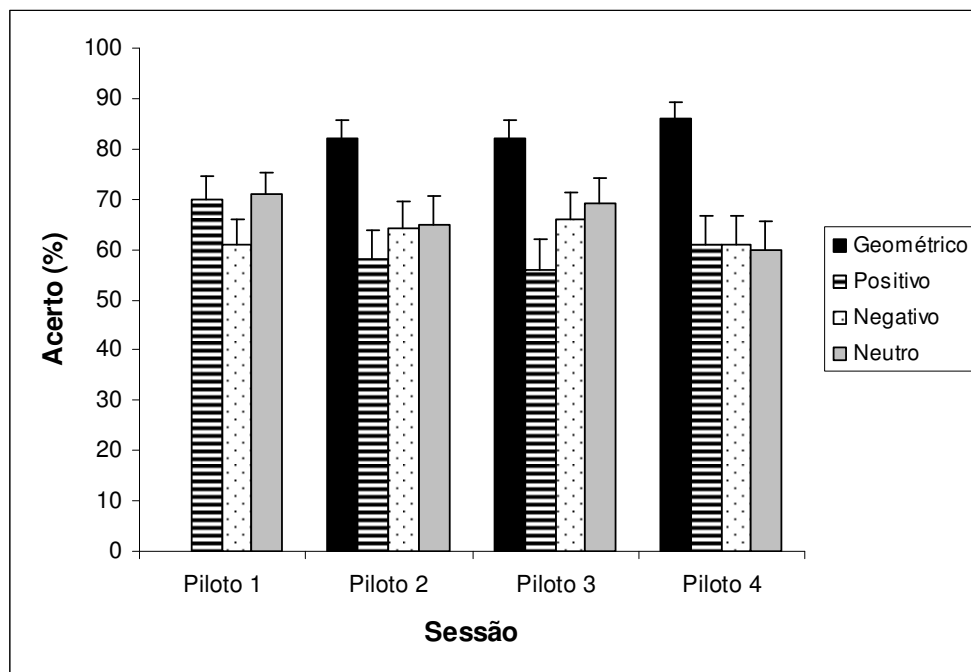


Figura 9. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. (N = 7) nos testes-piloto para cada tipo de estímulo. N = 119 tentativas para estímulo geométrico e 77 testes para os estímulos positivo, negativo e neutro para cada sessão.

4.3. TESTES DE ESCOLHA-DIFERENTE-DO-MODELO COM ATRASO

Foram analisados os resultados de desempenho (% acerto) e de tempo de resposta (TR) no teste DNMS para as duas semanas de testes (dois blocos de 5 dias).

O desempenho no teste DNMS foi significativamente maior quando utilizada figura geométrica como estímulo em comparação com todos os estímulos fotográficos (Fig. 10; Kruskal-Wallis = 47,705; $p < 0,001$). A média \pm EPM do desempenho de cada estímulo, considerando todas as tentativas de todos os animais em conjunto, foi de 87,7% \pm 1 de acerto na figura geométrica, 62,9% \pm 2 na fotografia positiva, 64,7% \pm 2 na negativa e 66,3% \pm 2 na neutra.

Na análise individual, os sujeitos Fêmea 4 (Kruskal-Wallis = 28,055; $p < 0,001$), Fêmea 5 (Kruskal-Wallis = 38,982; $p < 0,001$) e Macho 2 (Kruskal-Wallis = 23,609; $p < 0,001$) apresentaram maior desempenho estatístico com figuras geométricas comparado ao desempenho de todos os demais estímulos (Fig. 11). O desempenho da Fêmea 1 foi significativamente melhor nas figuras geométricas em comparação aos estímulos positivo e neutro (Kruskal-Wallis = 13,458; $p = 0,004$). As Fêmeas 2 (Kruskal-Wallis = 17,871; $p < 0,001$) e 3 (Kruskal-Wallis = 11,085; $p = 0,011$) obtiveram melhor desempenho para figura geométrica quando comparado ao desempenho observado para estímulos negativo e neutro, enquanto o Macho 1 (Kruskal-Wallis = 17,929; $p < 0,001$) apresentou melhor

desempenho para figuras geométricas em relação às respostas nos estímulos positivo e negativo.

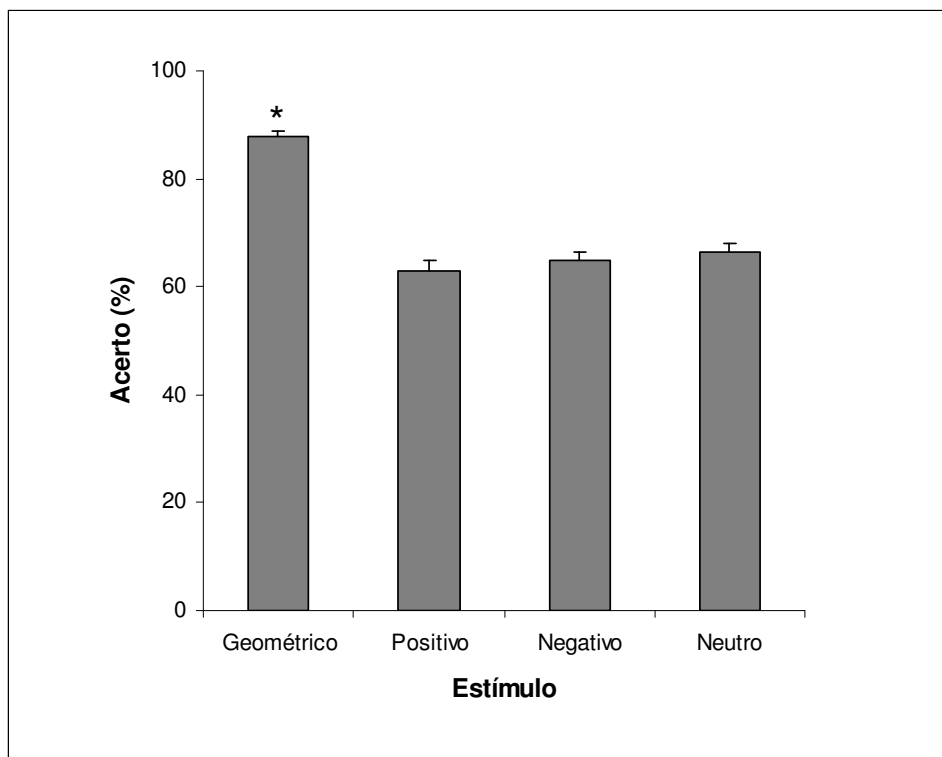


Figura 10. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. (N = 7) no teste DNMS. N = 350 testes por estímulo. * Teste Kruskal-Wallis, $p < 0,001$ para estímulo geométrico comparado aos demais tipos de estímulos.

Não houve diferença estatística no desempenho entre os sujeitos para nenhuma valência emocional dos estímulos faciais (Fig. 11. Geométrico: Kruskal-Wallis = 9,769; $p = 0,135$; Positivo: K-W = 7,051; $p = 0,316$; Negativo: K-W = 2,949; $p = 0,815$; Neutro: K-W = 3,549; $p = 0,737$).

Apenas para o estímulo fotográfico positivo os sujeitos Fêmea 5 e Macho 1 apresentaram desempenho inferior ao limite superior de confiança (aleatoriedade).

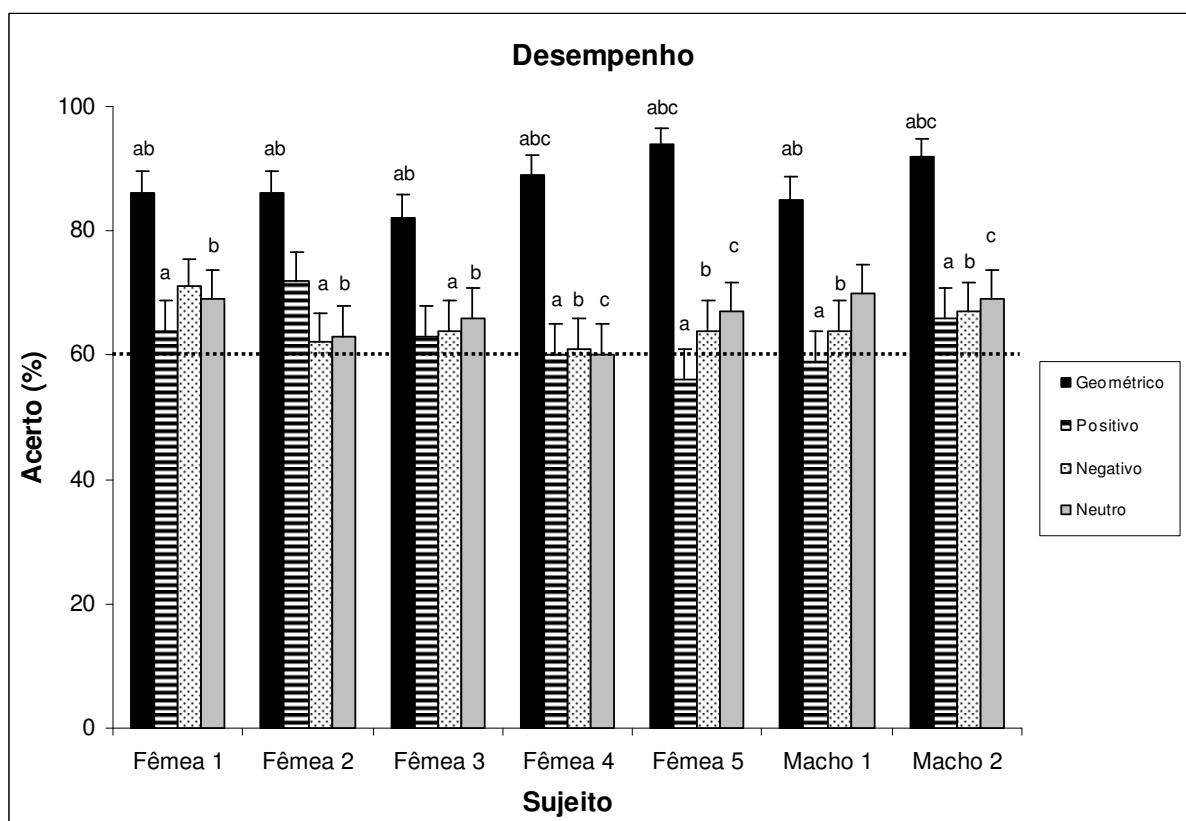


Figura 11. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=100 tentativas por tipo de estímulo por sujeito. A linha pontilhada equivale ao limite superior de aleatoriedade de 95%. As letras a, b e c representam diferenças significativas entre estímulos para cada animal. Teste Tukey, $p < 0,05$.

A Tabela 4 mostra o desempenho de cada sujeito para cada dia de teste. Os valores para figura geométrica se mantiveram sempre acima do limite superior de aleatoriedade exceto no primeiro dia de teste da fêmea 4 que obteve 60% de acerto. Para as fotografias o número de sessões que ficaram abaixo do limite superior foi de 38 nas positivas, 33 nas negativas e 31 nas neutras, somando todas as sessões de todos os sujeitos, num total de 70 sessões para cada estímulo. Na Tabela 4 as letras representam diferenças estatísticas entre estímulos que contenham a mesma letra, por exemplo, a Fêmea 1 no dia 10 apresenta desempenho superior com estímulo geométrico com relação ao estímulo positivo (representado pela letra a) e também melhor desempenho com estímulo negativo quando comparado ao positivo (b).

Não foi encontrada diferença significativa entre as semanas de teste para nenhum estímulo (Fig. 12, Mann-Whitney; Geométrico: $U = 59500$; $p = 0,250$; Positivo: $U = 61250$; $p = 1,000$; Negativo: $U = 60395$; $p = 0,693$; Neutro: $U = 60200$; $p = 0,632$).

Tabela 4. Desempenho (% de acerto) diário dos sujeitos de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=10 tentativas de cada estímulo por dia.

SUJEITO	ESTÍMULO	DIA 1	DIA 2	DIA 3	DIA 4	DIA 5	DIA 6	DIA 7	DIA 8	DIA 9	DIA 10
Fêmea 1	Geométrico	80	80	80	100	90	80	100	70	90	90 a
	Positivo	80	60	70	70	30*	60	70	80	80	40 ab
	Negativo	50	80	70	80	80	70	20*	70	90	100 b
	Neutro	80	60	60	90	80	60	90	50	50	70
Fêmea 2	Geométrico	90	90	80	90	70	90	80	100	100 a	70
	Positivo	80	80	50	70	80	90	60	70	80	60
	Negativo	60	80	70	40	70	60	80	60	40 a	60
	Neutro	50	70	50	70	60	60	70	80	50	70
Fêmea 3	Geométrico	70	90	60	100 a	100	80	60	80	90	90
	Positivo	50	70	80	60	70	60	70	60	60	50
	Negativo	60	70	100	20 ab	60	70	80	60	60	60
	Neutro	70	60	70	80 b	70	70	70	40	70	60
Fêmea 4	Geométrico	60	80	80	90	100	100	90 a	90	100 a	100
	Positivo	90	30	60	40	50	60	70	90	40 a	70
	Negativo	50	50	60	70	60	60	70	70	50	70
	Neutro	80	70	60	50	50	50	30 a	90	70	50
Fêmea 5	Geométrico	90	90	90	90 a	100	90	90	100	100	100 a
	Positivo	60	70	50	70	50	50	40	60	70	40 a
	Negativo	70	60	90	30 a	70	70	80	70	50	50
	Neutro	70	70	80	50	70	60	60	80	70	60
Macho 1	Geométrico	70	80	80	90	100	90	90	90	70	90
	Positivo	40	80	50	70	60	40	60	70	50	70
	Negativo	70	70	80	70	60	60	50	60	70	50
	Neutro	70	80	50	60	80	80	80	60	60	80
Macho 2	Geométrico	100	90	100	90	80	80	90	100	90	100
	Positivo	60	80	60	70	60	60	60	60	70	80
	Negativo	50	60	50	50	80	90	60	70	80	80
	Neutro	60	80	60	80	60	70	70	70	50	90

As letras a, b e c representam diferenças significativas entre estímulos para cada sujeito e o asterisco apresenta valor diferente com relação a todos os outros estímulos na mesma sessão. Teste Tukey, $p < 0,05$.

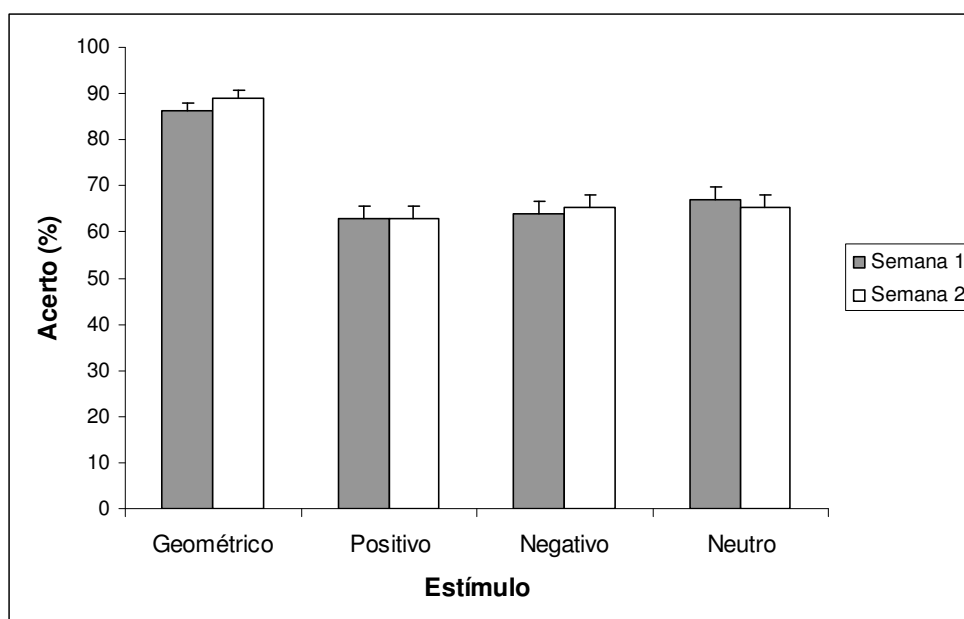


Figura 12. Desempenho médio + EPM dos sujeitos de *Cebus* spp. (N = 7) no teste DNMS para a semana 1 (sessões 1 a 5) e semana 2 (sessões 6 a 10). N = 350 tentativas por tipo de estímulo por semana.

Conforme apresentado nas Tabelas 5 e 6, não houve diferença estatística no desempenho do teste DNMS entre machos e fêmeas (Mann-Whitney; $U = 787600$; $p = 0,417$), nem quando comparados em cada tipo de estímulo (Mann-Whitney; Geométrico: $U = 49450$; $p = 0,689$; Positivo: $U = 49750$; $p = 0,902$; Negativo: $U = 49450$; $p = 0,783$; Neutro: $U = 47750$; $p = 0,256$). Quanto ao tempo de resposta (TR), os machos demoraram mais para responder ao teste (Mann-Whitney, $U = 693866$; $p < 0,001$). Eles foram significativamente mais lentos para os estímulos: Positivo ($U = 40763$; $p < 0,001$), Negativo ($U = 43462$; $p = 0,007$) e Neutro ($U = 43528$; $p = 0,007$), mas não apresentaram diferença significativa no tempo de resposta em relação às fêmeas para o estímulo Geométrico ($U = 45686$; $p = 0,074$).

Tabela 5. Comparação do desempenho de *Cebus* spp. (N = 7) no teste DNMTS entre os sexos. N = 2000 tentativas de fêmeas e 800 tentativas de machos.

Sexo	Desempenho (acerto)	TR (ms)
	Média ± EPM	Média ± EPM
Feminino	69,95% ± 1	1276 ± 25 *
Masculino	71,50% ± 2	1339 ± 35 *
Total	70,39% ± 1	1294 ± 20

* Teste Mann-Whitney, $p < 0,05$ para comparação entre sexos.

Tabela 6. Comparação do desempenho de *Cebus* spp. (N = 7) no teste DNMTS entre os sexos em cada tipo de estímulo. N=500 tentativas para fêmeas por estímulo e 200 tentativas de machos para cada estímulo.

Estímulo	Sexo	Desempenho (acerto)	TR (ms)
		Média ± EPM	Média ± EPM
Geométrico	Feminino	87,40% ± 1	1279 ± 48
	Masculino	88,50% ± 2	1341 ± 53
	Total	87,71% ± 1	1297 ± 37
Positivo	Feminino	63,00% ± 2	1219 ± 38
	Masculino	62,50% ± 3	1326 ± 39
	Total	62,86% ± 2	1249 ± 29
Negativo	Feminino	64,40% ± 2	1277 ± 37
	Masculino	65,50% ± 3	1331 ± 60
	Total	64,71% ± 2	1293 ± 32
Neutro	Feminino	65,00% ± 2	1328 ± 68
	Masculino	69,50% ± 3	1360 ± 110
	Total	66,29% ± 2	1337 ± 58

* Teste Mann-Whitney, $p < 0,05$ para comparação entre sexos.

O tempo de resposta dos animais não foi significativamente diferente entre os estímulos utilizados no teste de DNMS (Tab. 6, Kruskal-Wallis = 1481; $p = 0,687$). Os valores médios variaram entre 1249 ± 29 e 1337 ± 58 .

Para as fêmeas que participaram do tratamento farmacológico não houve diferença significativa no desempenho entre os testes realizados durante o período em que o placebo foi administrado e os testes com hormônio para nenhum dos estímulos (Fig. 13, Wilcoxon; Geométrico: $Z = -0,480$; $p = 0,631$; Positivo: $Z = -0,110$; $p = 0,913$; Negativo: $Z = -0,834$; $p = 0,404$; Neutro: $Z = -0,417$; $p = 0,677$). Quando os tratamentos foram comparados (placebo X estradiol) individualmente para cada fêmea (Figs. 14, 15, 16 e 17), foi observada diferença significativa apenas para a Fêmea 4 com figura geométrica (Fig. 17, Wilcoxon; $Z = -2,333$; $p = 0,020$), com melhor desempenho nos testes utilizando placebo ($96\% \pm 5,5$ de acerto) em relação ao tratamento com estradiol ($82\% \pm 2,8$ de acerto).

Além disso, não foi encontrada correlação significativa entre os níveis fecais de estradiol e o desempenho (Spearman, $r = 0,023$; $p = 0,89$), nem entre os valores de estradiol e o desempenho em cada estímulo: geométrico (Spearman, $r = 0,012$; $p = 0,945$), positivo (Spearman, $r = 0,035$; $p = 0,833$), negativo (Spearman, $r = 0,067$; $p = 0,688$) e neutro (Spearman, $r = -0,030$; $p = 0,859$). Também não houve correlação entre as concentrações de progesterona e desempenho (Spearman, $r = 0,085$; $p = 0,612$) e entre

progesterona e desempenho para os estímulos: geométrico (Spearman, $r = 0,071$; $p = 0,67$), positivo (Spearman, $r = 0,106$; $p = 0,526$), negativo (Spearman, $r = -0,147$; $p = 0,38$) e neutro (Spearman, $r = 0,176$; $p = 0,291$).

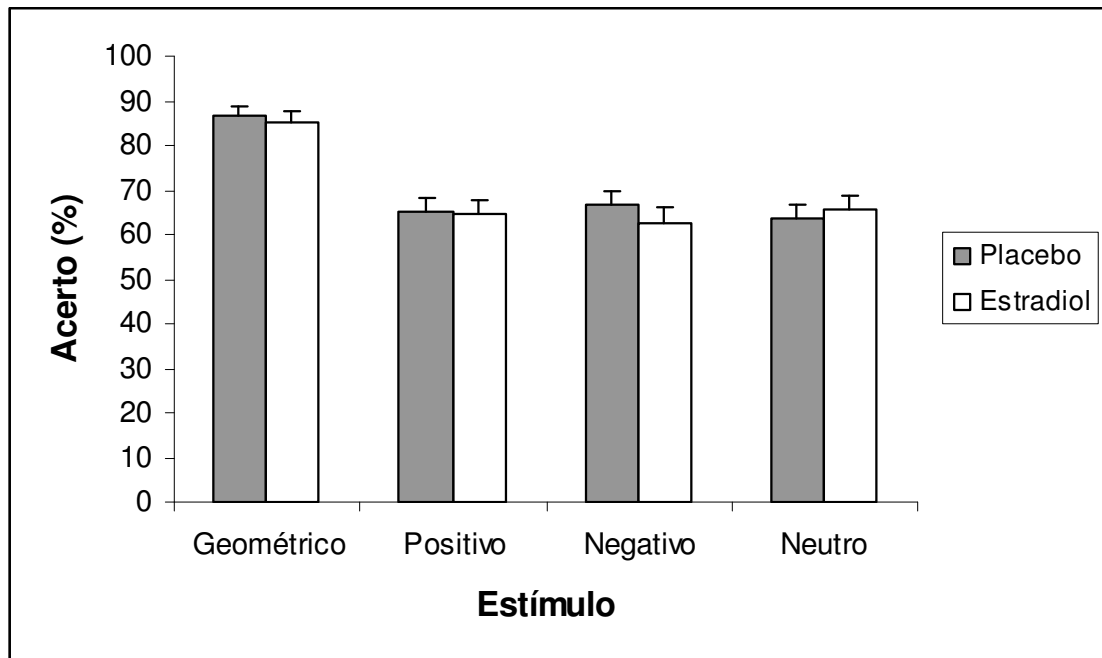


Figura 13. Desempenho médio + EPM das fêmeas de *Cebus* spp. (N = 4) no teste DNMS. N=200 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.

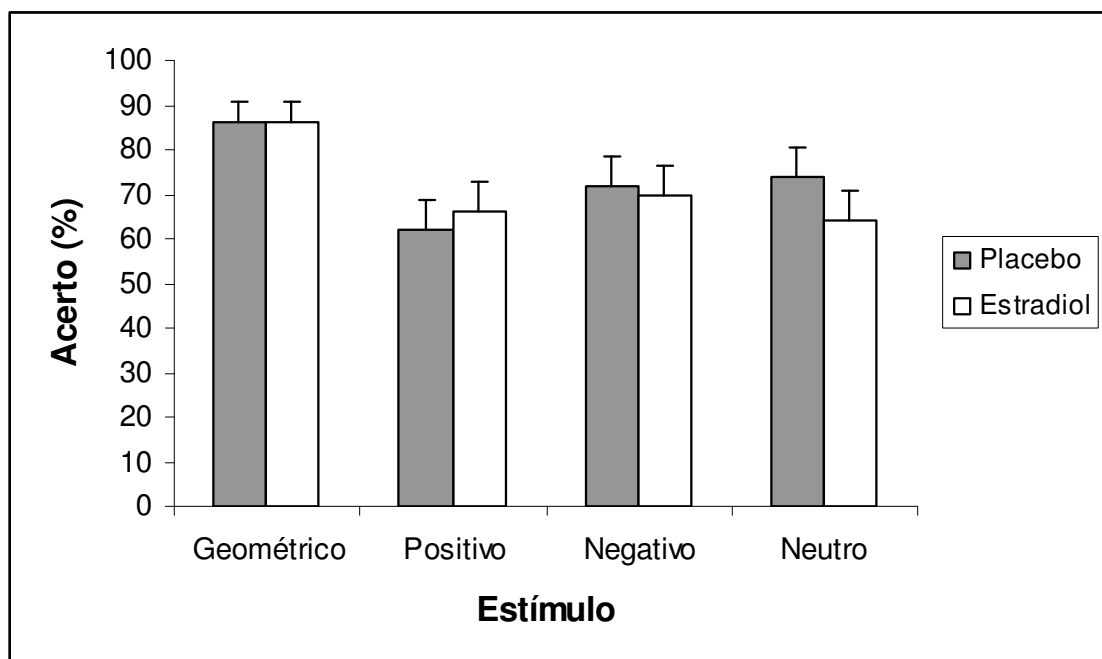


Figura 14. Desempenho médio + EPM da Fêmea 1 de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.

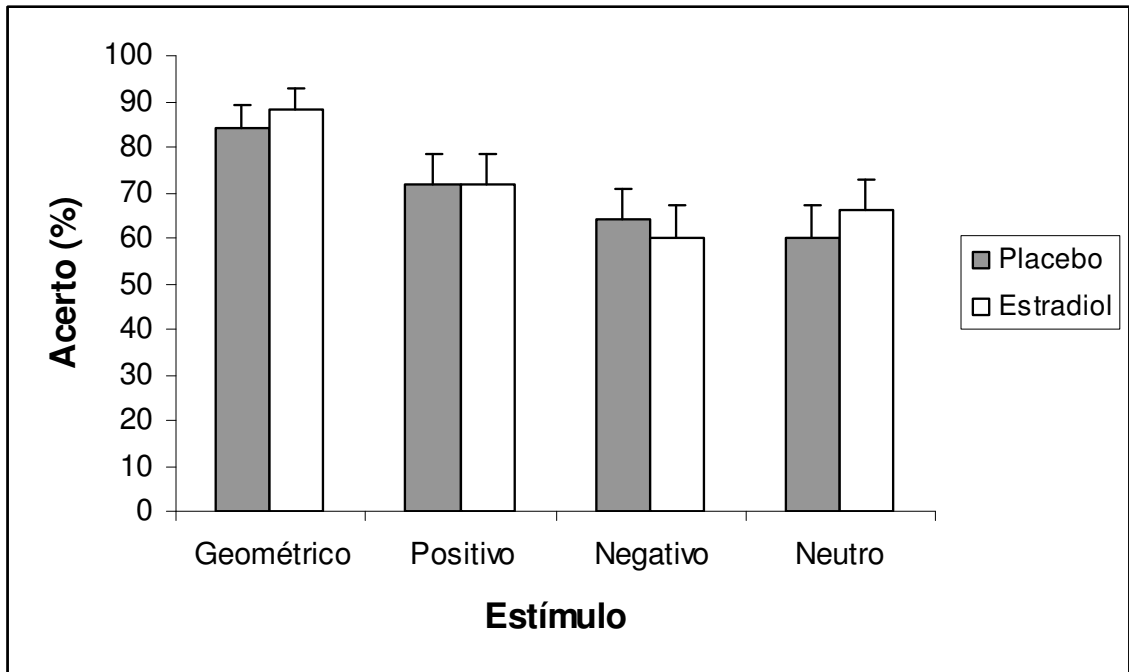


Figura 15. Desempenho médio + EPM da Fêmea 2 de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.

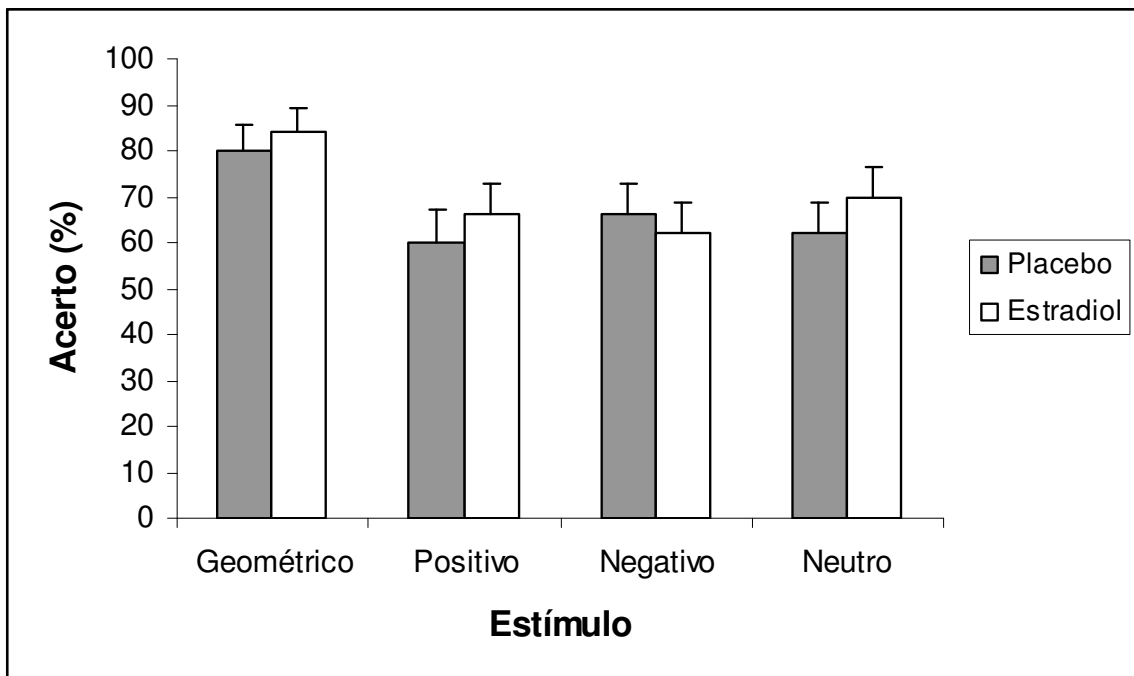


Figura 16. Desempenho médio + EPM da Fêmea 3 de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento.

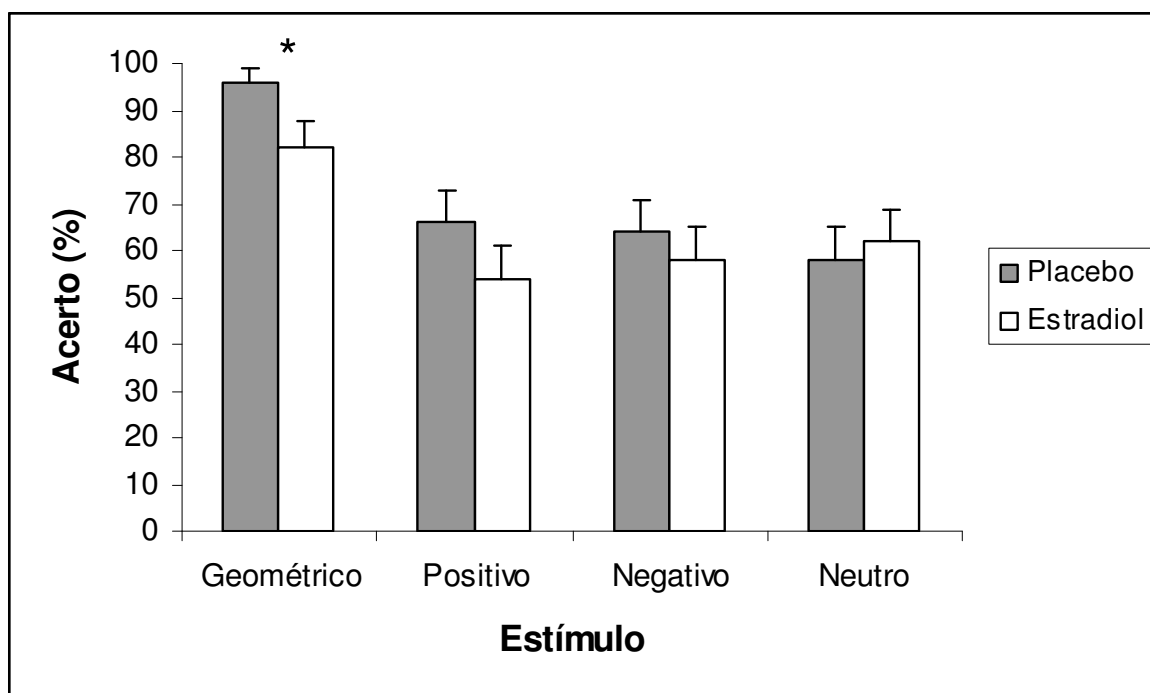


Figura 17. Desempenho médio + EPM da Fêmea 4 de *Cebus* spp. no teste DNMS. N=50 tentativas por tipo de estímulo por tratamento. * Teste Wilcoxon, $p < 0,05$ para comparação entre tratamentos.

4.4. DOSAGENS HORMONAIS

Durante a realização dos testes foram dosados os hormônios estradiol e progesterona a partir das fezes das fêmeas. A concentração fecal de estradiol foi significativamente maior na semana de tratamento com estradiol em relação à semana com utilização de placebo (ANOVA, $F = 4,250$; $p < 0,05$) apenas quando considerado o grupo todo. Não houve diferença significativa na concentração fecal de progesterona entre os tratamentos (placebo x estradiol) (ANOVA, $F = 0,869$; $p = 0,859$). Na análise individual não foi observada nenhuma diferença significativa nos níveis dos hormônios estradiol e progesterona entre os tratamentos para cada fêmea.

Os valores fecais de estradiol e progesterona são apresentados na Figura 18. A Fêmea 1 apresentou alto valor de estradiol no dia 12 ($102,5 \mu\text{g} / \text{g}$ de fezes), sendo que os demais valores foram entre $0,1$ e $24,7 \mu\text{g} / \text{g}$ de fezes. A concentração fecal de progesterona foi baixa (entre $8,6$ e $72,7 \mu\text{g} / \text{g}$ de fezes).

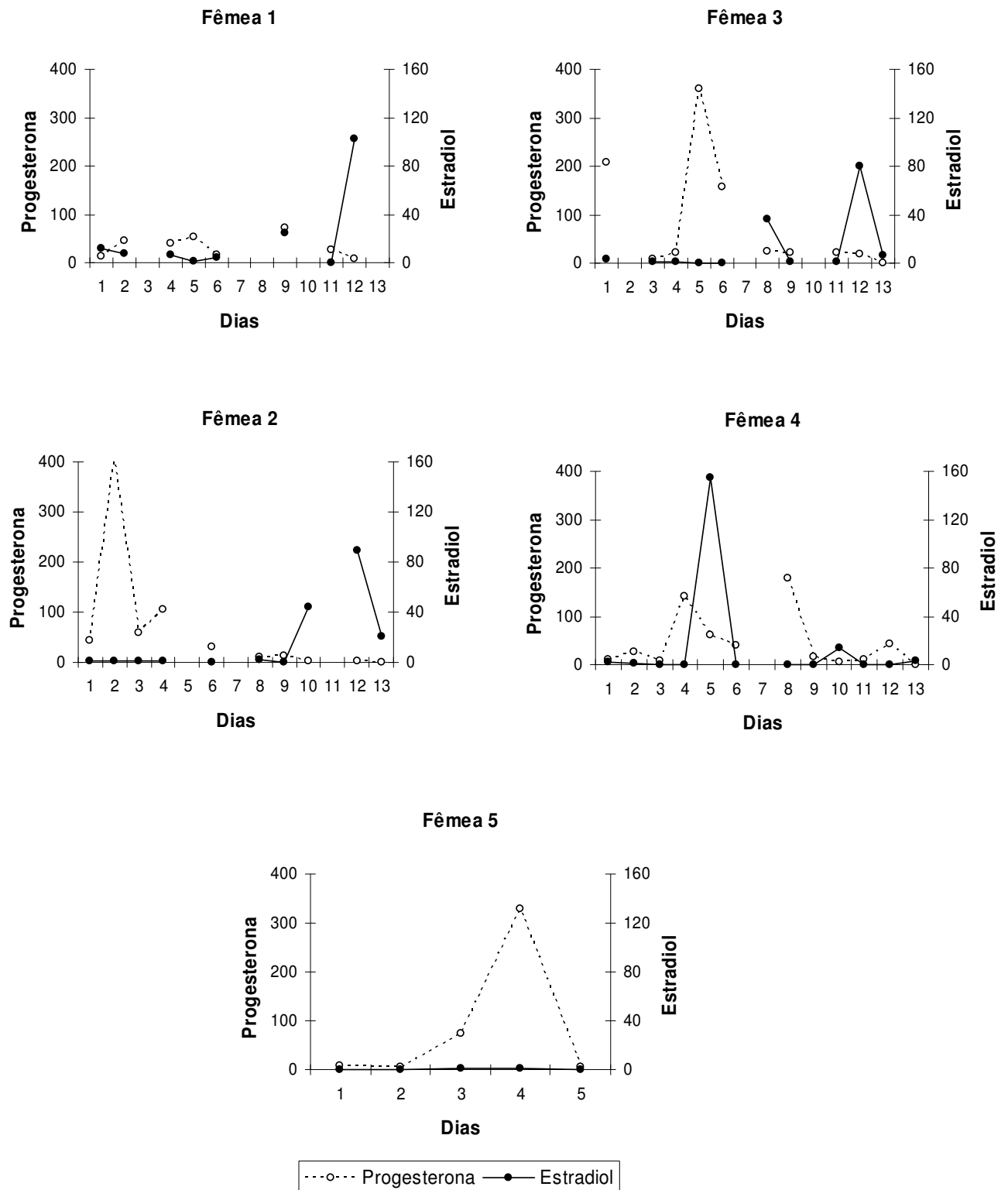


Figura 18. Concentração fecal de estradiol ($\mu\text{g/g}$ de fezes) e progesterona ($\mu\text{g/g}$ de fezes) das cinco fêmeas *Cebus* spp. durante o tratamento. Nas Fêmeas 1 e 2 os dias 2 a 6 correspondem ao placebo e os dias 9 a 13 são dosagens correspondentes à administração de estradiol. Nas Fêmeas 3 e 4 os dias 2 a 6 correspondem ao estradiol e os dias 9 a 13 placebo. Nos dias 1 e 8 foram feitas coletas antes das administração de hormônio ou placebo (controle). No dia 7 não foram realizadas amostragens de fezes. A Fêmea 5 não participou dos tratamentos.

A Fêmea 2 apresentou uma alta de estradiol entre os dias 10 e 12. Como não foi possível coletar as fezes desta fêmea no dia 11, não podemos afirmar qual foi o dia do pico de estradiol. O maior valor registrado foi no dia 12, com 89 µg / g de fezes. Os valores mais altos de progesterona da Fêmea 2 foram entre os dias 1 e 4, variando entre 44,7 e 403,5 µg / g de fezes. Na segunda semana os valores de progesterona foram bem mais baixos, entre 0,1 e 12,3 µg / g de fezes.

Apesar de receber o tratamento com estradiol nos dias 1 a 5, a Fêmea 3 teve o pico de estradiol no dia 12, com 80,2 µg / g de fezes. Os valores de estradiol dessa segunda semana foram bastante variáveis, entre 0,8 e 80,2 µg / g de fezes. Na primeira semana, quando houve administração de estradiol, os valores foram mais baixos, entre 0,2 e 3,5 µg / g de fezes. Esta fêmea apresentou valores mais altos de progesterona na primeira semana, entre 8,3 e 359,0 µg / g de fezes. Na segunda semana a concentração fecal de progesterona dosada foi entre 0,1 e 23,3 µg / g de fezes.

A Fêmea 4 apresentou pico de estradiol no dia 5, com 154,3 µg / g de fezes. Os demais valores de estradiol foram baixos, variando entre um mínimo de 0,001 µg / g de fezes na primeira semana e máximo de 14,1 µg / g de fezes na segunda semana. As concentrações de progesterona ficaram entre 8,4 e 142,5 µg / g de fezes na primeira semana e 0,1 e 179,0 µg / g de fezes na segunda semana.

4.5. OBSERVAÇÕES COMPORTAMENTAIS

Houve aumento significativo na duração do comportamento sexual das fêmeas durante o tratamento com estradiol (Fig. 19, Wilcoxon, $Z = -1,978$; $p = 0,048$). No entanto, quando comparados os comportamentos entre os tratamentos (placebo X estradiol) individualmente, não foi observada diferença significativa para cada fêmea (Wilcoxon; Fêmea 1: $Z = -1,461$; $p = 0,144$; Fêmea 2: $Z = -0,447$; $p = 0,655$; Fêmea 3: $Z = -0,365$; $p = 0,715$; Fêmea 4: $Z = -1,826$; $p = 0,068$).

Foi observada uma correlação positiva significativa entre a duração do comportamento sexual e o nível de estradiol fecal (Spearman, $r=0,633$; $P<0,001$) e entre a frequência de ocorrência do comportamento sexual e a concentração de estradiol (Spearman, $r=0,624$; $P<0,001$). Individualmente, houve correlação positiva significativa entre duração do comportamento sexual e estradiol para as Fêmeas 1 (Spearman, $r = 0,958$; $p = 0,001$), 2 (Spearman, $r = 0,872$; $p = 0,005$) e 4 (Spearman, $r = 0,868$; $p = 0,001$). Quanto à frequência de ocorrência de comportamento sexual, apenas a Fêmea 4 apresentou correlação com os níveis de estradiol (Spearman, $r = 0,838$; $p = 0,002$).

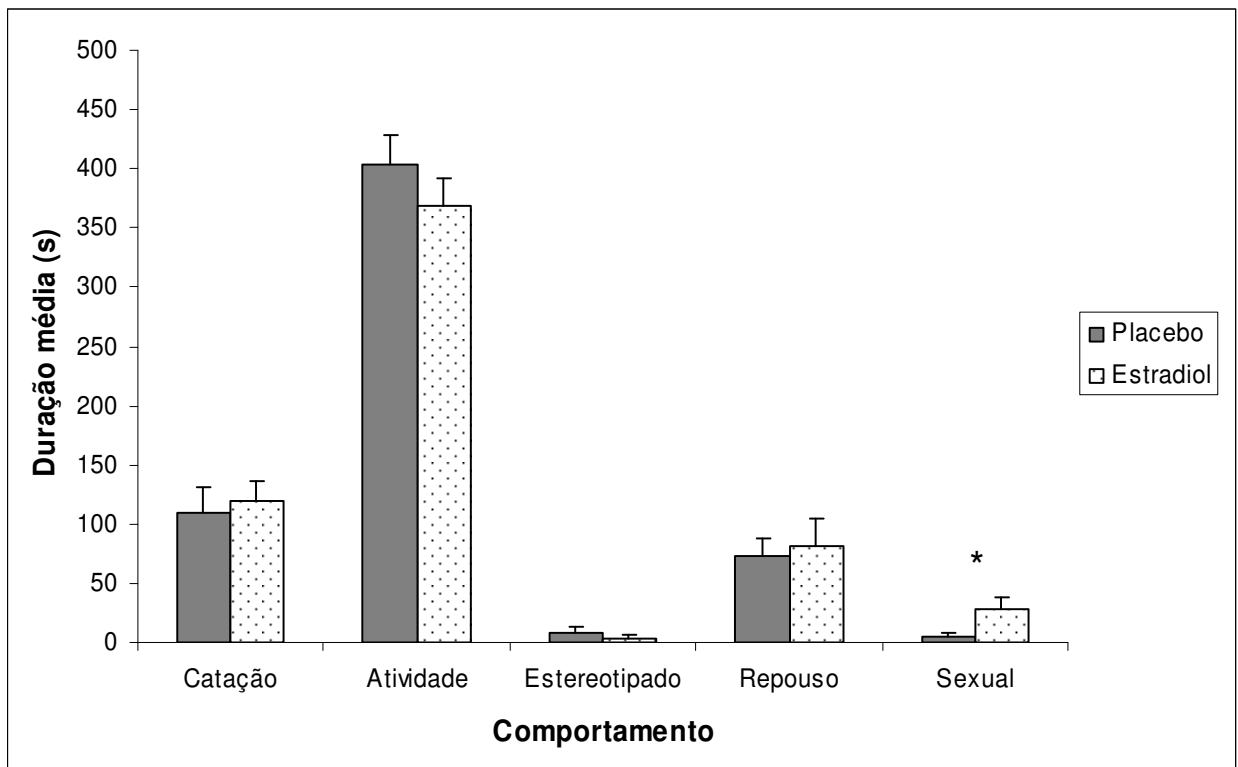


Figura 19. Duração das classes de comportamento + EPM das fêmeas de *Cebus* spp. (N = 4) para os tratamentos. * Teste Wilcoxon, $p < 0,05$ para comparação entre tratamentos.

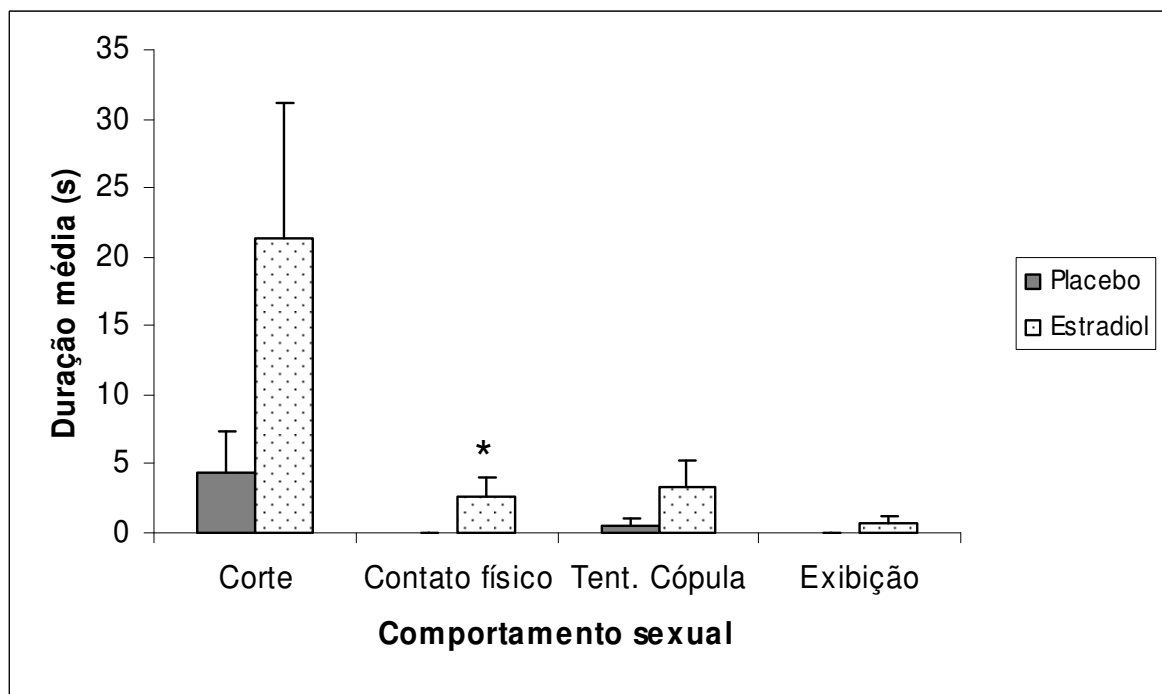


Figura 20. Duração das categorias de comportamento sexual + EPM das fêmeas de *Cebus* spp. (N = 4) para os tratamentos. * Teste Wilcoxon, $p < 0,05$ para comparação entre tratamentos.

Não foi encontrada correlação entre a concentração fecal de progesterona e o comportamento sexual.

Quando separados os comportamentos sexuais observados, a categoria contato físico apresentou aumento significativo durante o tratamento com estradiol (Fig. 20, Wilcoxon, $Z = -2,023$; $p = 0,043$).

Não foi encontrada diferença significativa entre tratamentos para as freqüências de comportamento (Fig. 21, Wilcoxon; Catação: $Z = -0,239$; $p = 0,811$; Atividade: $Z = -0,517$; $p = 0,605$; Estereotipado: $Z = -0,838$; $p = 0,402$; Repouso: $Z = -0,797$; $p = 0,426$; Sexual: $Z = -1,290$; $p = 0,197$), nem para cada categoria de comportamento sexual separadamente (Fig.22, Wilcoxon; So/Vo/Sorr: $Z = -1,601$; $p = 0,109$; Esfregar axilas: $Z = -0,378$; $p = 0,705$; Masturbação: $Z = -0,368$; $p = 0,713$; Inclinação de cabeça: $Z = -1,134$; $p = 0,257$; Encarar: $Z = -1,200$; $p = 0,230$; Tentativa de cópula: $Z = -0,447$; $p = 0,655$).

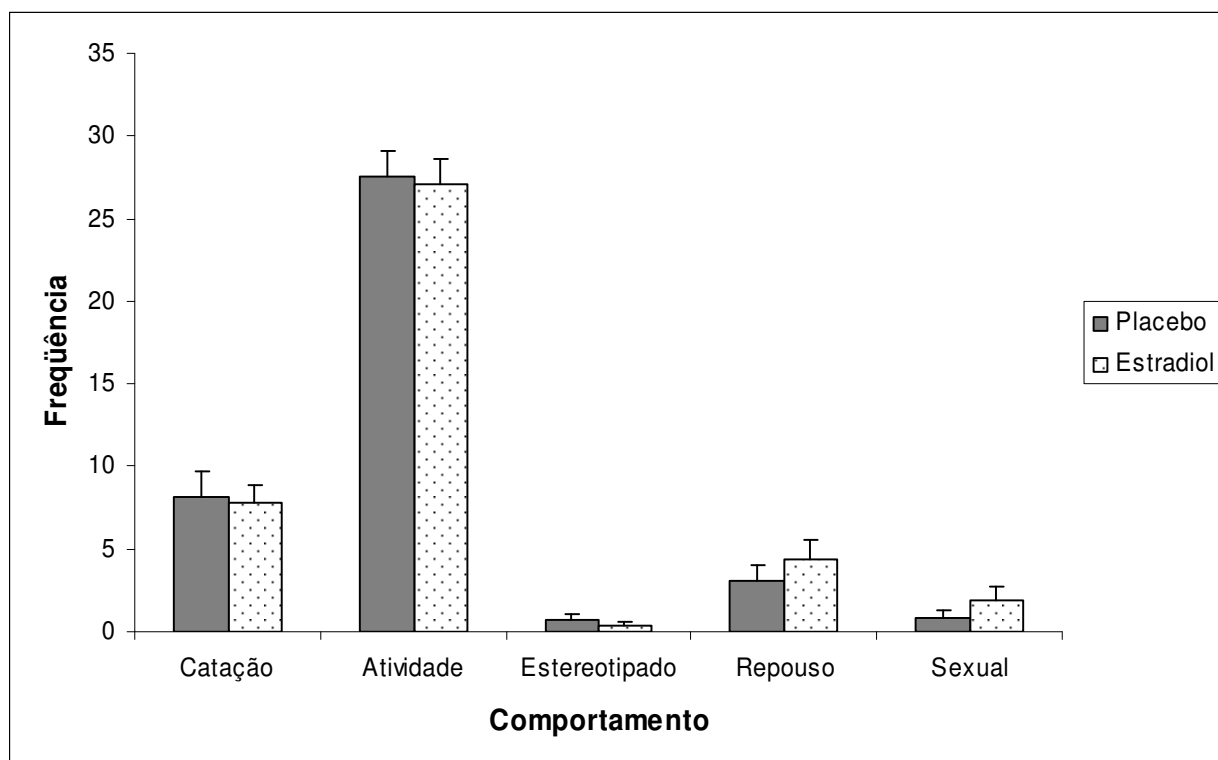


Figura 21. Freqüência média por observação + EPM das classes de comportamento das fêmeas de *Cebus* spp. (N = 4) para os tratamentos.

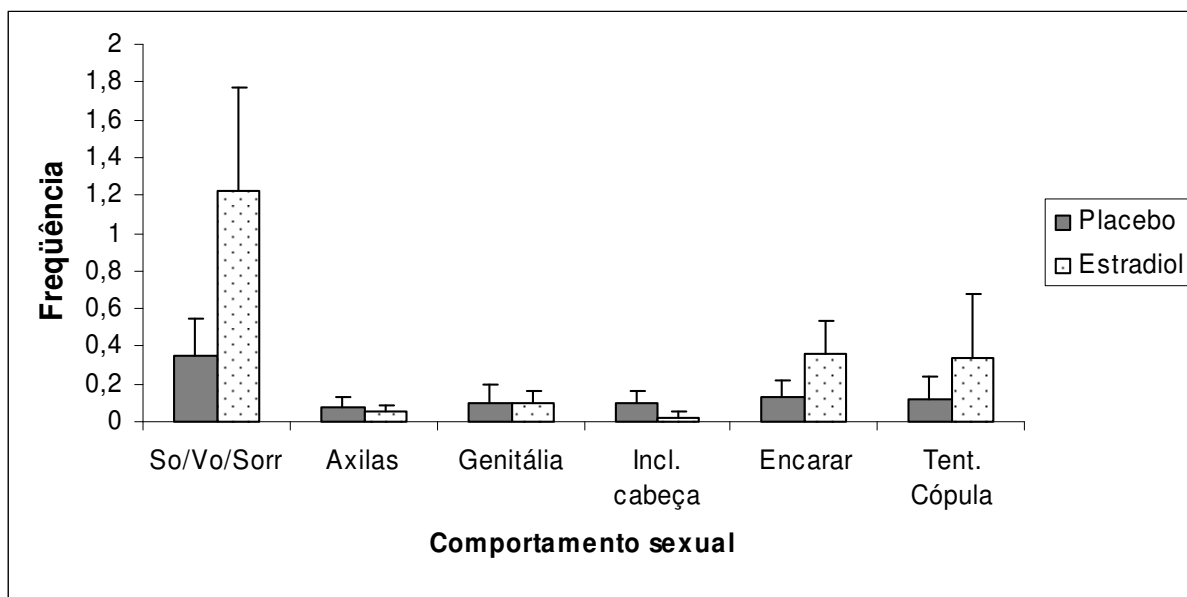


Figura 22. Frequência média por observação + EPM das categorias de comportamento sexual das fêmeas de *Cebus* spp. (N = 4) para os tratamentos. So/Vo/Sorr = Levantar sobrancelhas, vocalização característica e/ou sorrir.

5. DISCUSSÃO

5.1. MODELAGEM

Nesta etapa, os sujeitos estavam familiarizados com a utilização da tela sensível ao toque e apenas duas fêmeas (3 e 5) eram ingênuas no teste DNMS, por isso, esperava-se que o aprendizado para os sujeitos que já haviam sido submetidos anteriormente ao teste fosse mais rápido. No entanto, todos os animais demoraram a atingir o critério de 80% de respostas certas na sessão. Cada fêmea levou no mínimo 1750 tentativas para alcançar o critério de aprendizagem, enquanto os machos demoraram 800 (Macho 1) e 480 (Macho 2) tentativas para atingirem o critério de aprendizado. Apesar das Fêmeas 3 e 5 serem ingênuas no teste DNMS utilizando computador, elas levaram o mesmo tempo das fêmeas treinadas para atingirem o critério.

Os outros animais foram testados nesta tarefa pela última vez cerca de 3 anos antes do início da modelagem, sendo uma possível explicação para a demora no aprendizado. Ressalta-se que estes animais também estavam participando de outros dois experimentos, simultaneamente, todos utilizando computador, com testes que envolviam regras totalmente diferentes, sendo um de ilusão e outro de memória espacial. Talvez a demora no aprendizado se deva também à dificuldade em aprender a responder três testes diferentes durante o mesmo período de treinamento.

5.2. ESTUDOS-PILOTO

Foi observado um menor desempenho na primeira sessão de estudo-piloto com a utilização apenas das fotografias, por isso decidiu-se pela inclusão dos estímulos geométricos nos testes e nas demais sessões-piloto. No entanto, não foi encontrada diferença significativa entre os estímulos para cada sessão de estudos-piloto. Isso pode ser explicado pelo fato do número de tentativas ser muito pequeno nos testes-piloto, 119 tentativas de estímulos geométricos e 77 para cada um dos estímulos fotográficos (positivos, negativos e neutros) em cada sessão de testes (considerando os sete animais testados). Possivelmente com um número maior de tentativas a diferença seria significativa, como ocorreu na fase de testes.

5.3. DOSAGENS HORMONAIS

O ciclo menstrual médio de fêmeas de *C. apella* tem duração de $20,6 \pm 1,6$ dias, compreendendo uma fase folicular de $6,1 \pm 1,0$ dias e uma fase lútea de $14,5 \pm 1,0$ dias (Carosi *et al.*, 1999). A dosagem da progesterona é importante para o monitoramento do ciclo menstrual de fêmeas de *Cebus* spp., uma vez que as fases do ciclo são definidas com base nas flutuações dos hormônios: hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH), estrógenos e progestinas. Assim, considerando as dosagens hormonais encontradas, aparentemente as Fêmeas 1, 2 e 3 estavam na fase lútea na primeira semana, devido aos valores mais altos de progesterona, e na fase folicular na segunda semana, atingindo o pico de estradiol (fase pré-ovulatória) no 11° (Fêmea 2) e 12° (Fêmeas 1 e 3) dia de coletas. Especula-se ainda que a Fêmea 1 tenha adiantado um pouco o pico de estradiol com a estimulação do valerato de estradiol na segunda semana, pois os valores de progesterona ainda estavam altos no início dessa semana, correspondendo à fase lútea. Apesar de ter sido administrado valerato de estradiol na Fêmea 3 entre os dias 1 e 5, esta fêmea não apresentou aumento nos níveis de estradiol na primeira semana. A Fêmea 4 parece também ter tido o pico de estradiol estimulado pela administração de hormônio, pois os valores de progesterona foram altos durante todo o experimento, correspondendo, portanto, à fase lútea. Contudo, como não foi realizado o controle da liberação natural de estrógenos através da supressão temporária das gônadas ou através da ovariectomia, não é possível afirmar se os picos de estradiol foram naturais, ou se foram devidos à administração de estradiol.

Foram observadas grandes variações nos valores hormonais diários, principalmente na progesterona. Provavelmente, a explicação para esta variação está na coleta do material, que não ocorreu logo após a fêmea defecar, mas sim em um horário constante do dia. Desta forma, havia uma maior degradação dos hormônios quando o intervalo entre a evacuação e a coleta das fezes foi maior. Apesar desta variação diária, a dosagem hormonal parece ter sido eficaz, pois, além dos gráficos indicarem flutuações hormonais esperadas em ciclos menstruais normais, foram dosados níveis de estradiol constantemente baixos na Fêmea 5, sendo o esperado para esta fêmea que havia tido filhote recentemente (um mês antes) e o estava amamentando.

A dosagem hormonal não detectou aumento nos níveis de estradiol devido à administração de valerato de estradiol, pois a maior concentração de estradiol encontrada na semana com a droga se deve, provavelmente, aos picos de estradiol que ocorreram naturalmente na semana de tratamento para 3 das fêmeas. Assim, considerando que a dosagem através das fezes reflete os níveis plasmáticos deste hormônio e que o protocolo

experimental tenha sido bem empregado, encontramos pelo menos três possíveis explicações para esta falha na detecção: 1) a administração diária de 0,11 mg de valerato de estradiol não produziu aumento significativo nos níveis de estradiol de fêmeas jovens com função ovariana normal e, neste caso esta administração hormonal pode, ou não, ter contribuído na elevação dos níveis acarretando no pico de estradiol; 2) o método de coleta das fezes não permitiu a detecção das diferenças entre os níveis diários, por se tratarem de aumentos pequenos; 3) o número de amostras foi pequeno para garantir diferença estatística. Apesar disso, a comparação do desempenho entre os tratamentos foi realizada considerando as semanas de tratamentos (blocos de cinco dias de testes), pois, além de terem sido comparados os mesmos testes entre essas semanas, evitando assim uma possível diferença devida à utilização de estímulos diferentes, houve diferença estatística na dosagem hormonal geral entre as semanas e também diferença comportamental, que pode indicar o aumento nos níveis de estradiol, como veremos a seguir.

5.4. COMPORTAMENTO SEXUAL

Como esperado, no presente estudo foi observado um aumento significativo dos comportamentos sexuais da fêmea direcionados para o macho durante a semana com administração exógena de valerato de estradiol. Além disso, foi encontrada correlação positiva entre os níveis de estradiol e a duração e a frequência de ocorrência dos comportamentos sexuais. As observações comportamentais foram baseadas no artigo de Carosi e colaboradores (1999), que descreveu aumento dos comportamentos sexuais de fêmeas de *Cebus apella* durante a fase pré-ovulatória. Segundo estes autores, o monitoramento do ciclo menstrual pode ser realizado através da observação comportamental. Assim, os dados comportamentais do nosso estudo reforçam os resultados das dosagens fecais.

Ressalta-se que todos os comportamentos sexuais observados (corte, contato físico, tentativa de cópula, exibição, levantar as sobrancelhas / vocalizar / sorrir) tiveram aumento da frequência durante a semana de tratamento com os hormônios. Entretanto, apenas o contato físico apresentou aumento significativo. Provavelmente, com o aumento do número de sujeitos e de dias de observação este resultado seria significativo nas análises estatísticas.

O aumento dos comportamentos sexuais ocorreu principalmente nos dias de pico de estradiol (fase pré-ovulatória), confirmado pela correlação entre comportamento e níveis de estradiol. No entanto, na observação de tempo total dos comportamentos, houve aumento durante o efeito da administração de estradiol. Herndon e colaboradores (1989) testaram o comportamento sexual de fêmeas de macacos rhesus ovariectomizadas através

de dois tratamentos de estrógeno: reposição constante e ciclo menstrual artificial. Estes autores encontraram aumento no comportamento de monta durante o pico de estrógeno, quando o tratamento era cíclico e no início, quando o tratamento era constante. Os comportamentos de toque no quadril (que no estudo refletia refugo da monta) e ameaça de longe por parte do macho foram mais freqüentes na condição constante do que durante o tratamento cíclico, sugerindo uma perda de coordenação da motivação entre macho e fêmea. Não foram encontrados outros estudos de comparação dos comportamentos sexuais durante a administração de hormônios, mas nossos resultados sugerem aumento dos comportamentos sexuais com a administração de estradiol e durante o pico de estrógeno.

Não foi encontrada correlação entre a concentração fecal de progesterona e o comportamento sexual, o que era esperado, uma vez que as progestinas não são hormônios diretamente relacionados com a ovulação.

5.5. DESEMPENHO DAS FÊMEAS NO TESTE DNMS COM E SEM A ADMINISTRAÇÃO DE VALERATO DE ESTRADIOL

De acordo com os resultados, não houve diferença estatística no desempenho no teste de escolha-diferente-do-modelo com atraso de 8 segundos (DNMS) entre os tratamentos (estradiol x placebo) para nenhum dos estímulos. Na análise individual, apenas uma fêmea apresentou melhor desempenho na fase de placebo para estímulo geométrico. É importante destacar que houve aumento significativo nos níveis fecais de estradiol na semana de tratamento com valerato de estradiol. Estes resultados corroboram com estudos anteriores realizados com macacas rhesus, que serão citados abaixo.

Na literatura existem poucos estudos sobre os efeitos das flutuações hormonais do ciclo menstrual na função cognitiva de macacos. Em estudo sobre o desempenho em testes de memória operacional ao longo do ciclo menstrual em fêmeas de macacos rhesus, Lacreuse e colaboradores (2001) não encontraram variação significativa no desempenho do teste de escolha-de-acordo-com-o-modelo com atraso de trinta segundos e sem atraso em função do ciclo menstrual. Eles também observaram que as macacas apresentaram uma leve piora nas respostas do teste de reconhecimento espacial com atraso (DRST) na fase pré-ovulatória, concluindo que altos níveis de estrógenos podem prejudicar alguns aspectos da cognição espacial. Este trabalho (Lacreuse *et al.*, 2001) sugere que as flutuações de hormônios ovarianos têm pequenos efeitos em alguns aspectos da memória e atenção durante o ciclo menstrual em macacas.

Estudos utilizando macacas jovens com menopausa cirúrgica (ovariectomizadas) demonstraram que a capacidade de memória (nos testes escolha-de-

acordo-com-o-modelo (DMS), reconhecimento espacial (DRST), posição do estímulo após retardo e discriminação concorrente) não foi sensível à ovariectomia ou à reposição de estrogênios (Lacreuse & Herndon, 2003; Voytko, 2000). Em contraste, a atenção visuo-espacial e o processamento de faces podem ser afetados pela abstinência de estrogênios ou pela sua reposição (Lacreuse & Herndon, 2003). Em macacas ovariectomizadas de meia idade o tratamento com estrógenos reverteu o déficit relacionado à idade em um teste de memória operacional espacial, mas apenas uma melhora modesta foi encontrada no teste de DNMS (Rapp *et al.*, 2003).

Portanto, alguns aspectos da cognição flutuam com o ciclo menstrual, mas a remoção ou a reposição de estrógenos em macacas jovens parece estar limitada a funções não-mnemônicas como atenção ou aspectos do processamento de faces. Em contraste, uma grande parte da função cognitiva, incluindo a memória, é sensível à privação ou à reposição de estrógenos em macacas idosas. Nesse sentido, estudos morfológicos têm indicado alterações nas regiões dos lobos frontal e temporal medial. A ovariectomia reduz a densidade de axônios imunoreativos pela tirosina-hidroxilase no córtex pré-frontal dorsolateral em macacas, enquanto a terapia de reposição hormonal promove a sua restauração (Kritzer & Kohama, 1998). A ovariectomia também causa a diminuição da densidade de fibras imunoreativas pela colina acetil-transferase e aumenta a densidade de axônios imunoreativos pela dopamina beta-hidroxilase. A reposição de estrogênio atenua esses efeitos (Kritzer & Kohama, 1999). O estradiol também diminui a monoamina oxidase (MAO), uma enzima envolvida na degradação da dopamina (McEwen, 2001). Assim, em macacas jovens a função de memória mediada pelo córtex pré-frontal ou pelos lobos temporais mediais parece relativamente insensível à estimulação por estrógenos, apesar das claras alterações neuromorfológicas nestas áreas decorrentes da privação ou da reposição de estrógenos. Com isso, pode-se dizer que cérebros de primatas jovens podem tolerar grandes alterações morfológicas sem resultar em conseqüências sérias na função cognitiva, enquanto mudanças similares podem prejudicar a função cognitiva em cérebros idosos (Lacreuse, 2006).

Em mulheres vários estudos têm demonstrado que durante as fases pré-ovulatória e lútea do ciclo menstrual a fluência verbal e as habilidades motoras manuais estão melhores, já as habilidades espaciais estão deficitárias e durante a menstruação as habilidades espaciais aumentam enquanto as verbais e manuais diminuem (Broverman *et al.*, 1981; Hampson, 1990; Hausmann *et al.*, 2000; Komnenich *et al.*, 1978; Silverman & Phillips, 1993). Entretanto, resultados mostrando mudanças cognitivas ao longo do ciclo menstrual não têm sido consistentemente confirmados (Epting & Overman, 1998; Halari *et al.*, 2005). Em mulheres jovens, a supressão química (Sherwin & Tulandi, 1996) ou cirúrgica (Sherwin, 1988) dos hormônios gonadais está associada com prejuízos na memória verbal

que podem ser revertidos pela terapia de reposição de estrógenos (Sherwin & Tulandi, 1996). Essas diferenças com estudos em macacas podem estar relacionadas com as especializações neurais que o desempenho em testes verbais requer (Lacreuse, 2006).

Embora os mecanismos ainda não tenham sido descobertos, é possível que alterações nos níveis de hormônios ovarianos ao longo do ciclo modulem o desempenho ao influenciar as estratégias cognitivas utilizadas para responder aos testes (Korol, 2004). Especificamente, elevações nos níveis de estrógenos influenciam ratas a utilizarem estratégias de aprendizado sensíveis ao hipocampo enquanto níveis baixos promovem o uso de estratégias sensíveis ao estriado (Korol, 2004).

Os resultados do presente estudo não confirmam nossa hipótese inicial de que as fêmeas de macaco-prego poderiam apresentar um melhor desempenho nas tarefas de DNMS quando os níveis de estrogênio estivessem altos, mas corroboram os estudos realizados com macacas rhesus, que demonstram flutuações apenas na cognição espacial em fêmeas jovens (Lacreuse *et al.*, 2001; Lacreuse & Herndon, 2003; Voytko, 2000). Os resultados de pesquisas com mulheres são bastante discrepantes. Apesar dos nossos resultados estarem de acordo com a literatura, os dados devem ser analisados com cautela. Foi encontrada diferença significativa nas concentrações de estradiol entre as semanas de testes, mas a variação individual entre os dias de cada fase é muito grande. Além disso, uma das fêmeas apresentou o pico de estradiol na semana em que o tratamento administrado foi o placebo. Nesse sentido, não foi encontrada correlação significativa entre os níveis de hormônios e o desempenho nos testes para nenhum dos tipos de estímulo, reforçando os resultados encontrados, ou seja, o desempenho das macacas *Cebus* no teste de memória operacional utilizado não foi sensível às alterações nos níveis hormonais. Novos estudos investigando a influência das concentrações de hormônios ovarianos na cognição de *Cebus* spp., tanto durante o ciclo menstrual, quanto através de manipulação controlada das concentrações hormonais, devem ser realizados para confirmar estes resultados.

Existem poucos estudos investigando a ação dos hormônios ovarianos durante o ciclo menstrual na cognição, principalmente em primatas não-humanos. Por outro lado, devido aos benefícios da reposição de estrógenos na menopausa, há muitas pesquisas sobre a privação de estrógenos decorrente da menopausa, da ovariectomia ou através de fármacos e sua reposição. Além disso, existem poucos trabalhos que exploram a influência das administrações de hormônios em mulheres jovens com função ovariana normal, mas a administração de hormônios para a contracepção é uma prática freqüente entre mulheres, podendo acontecer desde muito precocemente. Nesse sentido, são necessários estudos sobre a ação e o efeito dos hormônios usados para contracepção na cognição e também sobre os seus efeitos com a utilização a longo prazo.

Quanto à progesterona, não foi encontrada diferença significativa na concentração fecal de progesterona entre os tratamentos (placebo x estradiol). Além disso, não houve correlação entre as concentrações de progesterona e desempenho total e nem entre progesterona e desempenho para cada estímulo (geométrico, positivo, negativo e neutro). Embora a progesterona afete o humor (Buckwalker *et al.*, 1999), os potenciais efeitos deste hormônio na cognição ainda precisam ser estabelecidos.

5.6. DESEMPENHO NO TESTE DNMS COM DIFERENTES ESTÍMULOS

No nosso conhecimento, este estudo foi o primeiro a investigar a memória operacional utilizando expressões faciais de emoção em primatas não-humanos. Os resultados não mostraram diferenças entre as fotografias com valência emocional e as fotografias neutras no teste de escolha diferente do modelo com atraso de 8 segundos (DNMS). Entretanto, os macacos obtiveram desempenho acima do limite superior de confiança para todos os tipos de estímulo, indicando que eles foram capazes de aprender e executar um teste utilizando faces emocionais.

Nos primatas, a interação social coordenada depende da habilidade dos indivíduos em prever o que é provável que os demais indivíduos do grupo façam em um dado momento, como por exemplo, se é provável que eles briguem ou que fujam. Existem várias fontes de informação que são utilizadas para esta previsão. Isto inclui o reconhecimento de “*displays*” ritualizados, a compreensão de sinais de comunicação aprendidos e o conhecimento de várias seqüências comportamentais recorrentes que são utilizadas em contextos particulares (Tomasello & Call, 1997). Weigel (1978) analisou seqüências de sinais de comunicação de *C. apella* para documentar que cada expressão facial única é acompanhada de uma resposta específica previsível de outro membro do grupo e argumentou que as expressões faciais apresentam significado para os indivíduos receptores. Entretanto, a maior parte dos sinais visuais dos macacos-prego é acompanhada de vocalizações específicas e de um contexto associado (ver descrição das expressões faciais em Frigaszy *et al.*, 2004). Além disso, os movimentos e a expressão corporal são também importantes no reconhecimento da valência emocional.

A interpretação das expressões faciais dos macacos pelos seus pares não é simples, nem fácil. É impossível aplicar conceitos simplificados como “medo” ou “agressão” para expressões destes animais cujos sentimentos podem somente ser supostos. Estudando assimetrias instantâneas nas expressões faciais de macacos rhesus, Hauser e Akre (2001) listaram pelo menos dois problemas com seu esquema de classificação, que era composto de um contínuo entre expressões negativas/recuo e positivas/aproximação. Primeiro, algumas emoções negativas são associadas com afastamento enquanto outras

são associadas com aproximação. Segundo, algumas expressões são associadas com relativamente mais estados emocionais ambíguos, por exemplo, enquanto estalar os lábios (*lip smacks*) parece estar associado com emoção negativa quando produzido por subordinados na aproximação de dominantes, esta expressão pode ser também produzida por indivíduos envolvidos em catação, sendo considerada uma emoção positiva.

Assim, a classificação das fotografias faciais em valências emocionais no presente estudo constituiu uma das dificuldades do projeto e uma possível fonte de erros. Os macacos-prego do Centro de Primatologia da UnB produzem uma grande variedade de expressões faciais e de vocalizações observadas durante nossos estudos. Decidiu-se utilizar a experiência dos pesquisadores com os macacos para julgar as valências, pois devido à familiarização destes pesquisadores com o comportamento típico dos macacos-prego, nós acreditamos que esses pesquisadores seriam capazes de perceber as intenções (consequentemente, as expressões emocionais) dos macacos em algumas fotografias. No entanto, o julgamento das fotografias foi baseado no referencial humano e, naturalmente, pode não corresponder à percepção de um macaco-prego observando a mesma figura de uma face co-específica. Uma forma de solucionar esta dúvida seria tentando verificar as respostas comportamentais e fisiológicas exibidas pelos animais mediante a exposição das fotografias cujas valências foram julgadas pelos pesquisadores. Como mencionado anteriormente, a identificação da emoção não se baseia somente na expressão facial, mas na postura, na vocalização, na movimentação e em toda a contextualização.

De acordo com a literatura, em estudos com macacos rhesus, Nakayama e colaboradores (2005) observaram uma redução da temperatura nasal em estados emocionais negativos, durante a entrada e aproximação de uma pessoa “ameaçadora” (vestida com macacão do laboratório e acompanhada de puçá). Frequentemente os macacos também apresentavam algumas expressões faciais negativas como mostrar os dentes em silêncio (*silent bared-teeth*), encarar com a boca aberta (*staring open-mouth*) e estalar os lábios. Em pesquisas com sujeitos humanos, Dimberg e colaboradores (2000) observaram respostas de reação na musculatura facial correspondente a estímulos faciais de alegria e raiva. Liberzon e colaboradores (2000) encontraram aumento da atividade cerebral bilateral nas amígdalas, áreas talâmicas e hipotalâmicas, mesencéfalo e no córtex lateral pré-frontal esquerdo, além de aumento na resposta galvânica (condutância da pele). Considerando estes estudos, alguns sinais fisiológicos, como mudanças na temperatura nasal, resposta galvânica e expressões comportamentais, ou até movimentos da pupila e alterações na temperatura de outras áreas, poderiam ser indicadores da valência das fotografias para os macacos.

Fotografias que exibem apenas as faces foram escolhidas no intuito de reduzir as possíveis variáveis contidas nas figuras. Além disso, o rosto apresenta dicas

importantes na expressão de informações emocionais (Adolphs & Tranel, 2003). Outra dificuldade encontrada neste projeto foi no próprio julgamento das fotografias pelos pesquisadores. Neste sentido, o problema na classificação das fotografias é que na maioria das situações a observação do corpo (inclinação, posição dos membros), dos movimentos e das vocalizações associadas à expressão facial é extremamente necessária (algumas vezes indispensável) para contextualizar a valência emocional da face. Esta dificuldade para avaliar as valências observando apenas expressões faciais pode ter ocorrido durante o julgamento dos pesquisadores, que inclusive relataram este problema, e também com os próprios macacos, ao observarem a exibição das fotografias durante os testes. Por isso, para minimizar os erros, o julgamento foi realizado utilizando apenas fotos das faces e foram consideradas apenas fotografias com um mínimo de 80% de concordância na valência emocional entre os pesquisadores. Como mencionado anteriormente, em futuros estudos seria interessante analisar as reações fisiológicas e comportamentais dos macacos ao observarem as fotografias.

As emoções podem ser definidas com base em duas dimensões primárias: intensidade (ativação, entre calmo e excitado) e valência (agradável/positiva, neutra e desagradável/negativa) (Hamann, 2003). Além da avaliação das valências, outra explicação para não termos encontrado melhor desempenho para fotografias com estímulos emocionais em relação às neutras seria a intensidade de cada valência.

Os macacos-prego apresentaram desempenho muito superior no teste DNMS com estímulos geométricos comparados a todos os estímulos fotográficos de faces co-específicas, com ou sem valor emocional. Embora tenham sido utilizadas apenas figuras geométricas nas sessões de treinamento, foram realizadas quatro sessões de estudos-piloto utilizando fotografias de faces de macacos-prego para diminuir o efeito de aprendizado com figuras geométricas. A primeira sessão piloto apresentava somente fotografias e as outras três sessões eram como as sessões de teste. Por serem apenas 10 tentativas de cada estímulo por sessão, não houve diferença estatística entre os 4 tipos de estímulos nas sessões de testes-piloto, mas os resultados mostravam uma tendência de melhores desempenhos para figuras geométricas. Como pode ser observado nos resultados, não houve aumento significativo no desempenho da primeira para a segunda semana de testes (Blocos 1 e 2) para nenhum tipo de estímulo. Apesar de não ter sido observado um efeito de aprendizado entre as semanas de teste, os macacos apresentaram maior número de acertos para os estímulos geométricos e existem pelo menos três possíveis explicações para este melhor desempenho: 1° - figuras geométricas são estímulos mais fáceis de diferenciar; 2° - os sujeitos têm um histórico de aprendizado de testes utilizando este tipo de estímulo e 3° - as fotografias de faces co-específicas desviam a atenção dos sujeitos.

Primeiro, foram utilizadas pelo menos 426 figuras geométricas entre a fase de modelagem dos sujeitos e os testes. Além dessa grande quantidade, as figuras eram bastante variadas, apresentando dicas de cores e formas bem diferenciadas. Aparentemente, havia diferença mais realçada para as figuras geométricas do que entre as faces.

Segundo, além de terem sido modelados durante sete meses com os estímulos geométricos, todos os sujeitos apresentam experiência de treinamento prévio para vários tipos de testes com a utilização apenas de figuras geométricas. Uma forma de testar essa hipótese seria através da realização de treinamento de sujeitos ingênuos com fotografias de faces de macacos-prego e a posterior comparação do desempenho em testes utilizando as fotografias e as figuras geométricas.

Terceiro, as fotografias de faces co-específicas constituíram numa novidade como estímulos utilizados em testes e também são estímulos que representam o cotidiano dos macacos, possuindo valor natural para estes animais. Assim, estas fotografias são capazes de desviar a atenção dos macacos do teste, pois são demasiado atrativas para eles. Com isso, eles acabam por responder de forma menos acurada aos testes. Uma importante evidência para esta explicação está no fato de que o desempenho com as figuras geométricas é melhor quando comparado às fotografias de qualquer valência (positiva, negativa ou neutra).

Os tempos de resposta entre categorias de estímulos foram similares, demonstrando que os sujeitos estavam motivados a responder ao teste independentemente do tipo de estímulo. Como os macacos não tiveram problemas em realizar o teste, esta seria uma forte evidência da viabilidade do teste utilizando fotos de faces co-específicas.

Em conjunto, nossos resultados mostram que os macacos-prego foram capazes de responder a este novo teste para memória operacional. Este primeiro estudo demonstra a importância de se entender melhor a influência da expressividade emocional na memória e indica a possível aplicação do paradigma adotado neste trabalho na investigação da memória operacional emocional em outras espécies de primatas não humanos.

5.7. DESEMPENHO NO TESTE DNMS EMOCIONAL ENTRE OS SEXOS

As diferenças no desempenho das habilidades cognitivas entre os sexos é bem documentada para humanos. Tipicamente, os homens apresentam melhor desempenho que as mulheres em testes espaciais que requerem transformações na memória operacional visuo-espacial, como rotação mental e combinação de objetos tridimensionais (Epting & Overman, 1998; Halpern, 1992; Voyer *et al.*, 1995). Já as

mulheres, apresentam desempenho superior nos testes de fluência verbal e geração de sinônimos (Halpern, 1992). Em macacos rhesus, tem sido observado que machos apresentam uma vantagem em teste de reconhecimento espacial com atraso (TREA) (Lacreuse *et al.*, 1999). No presente estudo não houve diferença estatística no desempenho do teste DNMS entre machos e fêmeas para nenhum tipo de estímulo (geométrico, positivo, negativo e neutro).

As diferenças entre homens e mulheres são evidenciadas tanto no desempenho das tarefas, quanto nos tempos de resposta (Halari *et al.*, 2005). No nosso estudo os machos foram significativamente mais lentos que as fêmeas. Apesar de homens responderem mais rapidamente neste tipo de teste, nos estudos com macacos-prego as fêmeas têm apresentado respostas mais rápidas (Suganuma, 2006; Tavares, 2002). Isso pode ser atribuído ao fato dos machos estarem mais vigilantes, pois os animais são testados nos próprios viveiros, sem isolamento acústico ou visual. Outra provável explicação seria devido aos machos terem mãos maiores e braços mais robustos, o que dificulta a passagem da pata pela grade, atrasando, assim, a resposta.

6. CONCLUSÕES

O presente estudo foi o primeiro a investigar a memória operacional utilizando expressões faciais de emoção em primatas não-humanos. Além disso, foi analisada a ação dos hormônios estradiol e progesterona sobre o desempenho das fêmeas nos testes de memória operacional com conteúdo emocional.

Ao contrário do esperado, os macacos-prego não apresentaram melhor desempenho no teste de escolha-diferente-do-modelo com atraso de 8 segundos (DNMS) utilizando como estímulos as fotografias com valência emocional (agradáveis ou aversivas), quando comparado ao desempenho com estímulos neutros. Entretanto, os sujeitos obtiveram desempenho acima do limite superior de confiança para todos os tipos de estímulo, indicando que eles foram capazes de aprender um teste de memória utilizando faces emocionais.

Os macacos-prego apresentaram desempenho muito superior no teste DNMS com estímulos geométricos comparado a todos os estímulos fotográficos de faces co-específicas, com ou sem valor emocional. Aparentemente, os macacos encontraram maior facilidade em responder aos estímulos geométricos, que pode ser explicada por pelo menos três razões: 1° - figuras geométricas são estímulos mais fáceis de diferenciar; 2° - os sujeitos têm familiaridade com esse tipo de estímulo e 3° - as fotografias de faces co-específicas desviam a atenção dos sujeitos.

Para as fêmeas que participaram do tratamento, não houve diferença estatística no desempenho do teste DNMS entre os tratamentos (estradiol x placebo) para nenhum dos estímulos (geométrico, positivo, negativo e neutro). Os resultados do presente estudo não confirmam nossa hipótese inicial de que as fêmeas de macaco-prego poderiam apresentar um melhor desempenho nas tarefas de DNMS quando os níveis de estrogênio estivessem altos, mesmo para estímulos com valor emocional, mas corroboram os estudos realizados com macacas rhesus jovens (Lacreuse *et al.*, 2001; Lacreuse & Herndon, 2003; Voytko, 2000). É importante destacar que houve aumento significativo nos níveis fecais de estradiol na semana de tratamento com valerato de estradiol.

Não foi encontrada correlação significativa entre os níveis de hormônios e o desempenho nos testes para nenhum dos tipos de estímulo, reforçando a idéia de que o desempenho das macacas *Cebus* no teste de memória operacional utilizado não foi sensível às alterações nos níveis hormonais. Novos estudos investigando a influência das concentrações de hormônios ovarianos na cognição de *Cebus* spp., tanto durante o ciclo menstrual, quanto através de manipulação controlada das concentrações hormonais, devem ser realizados para confirmar estes resultados.

Quanto à progesterona, não se observou diferença significativa na sua concentração fecal entre os tratamentos (placebo x estradiol). Além disso, não houve correlação entre as concentrações de progesterona e desempenho total e nem entre progesterona e desempenho para cada estímulo (geométrico, positivo, negativo e neutro).

Foi observado um aumento significativo dos comportamentos sexuais da fêmea durante a semana com administração exógena de valerato de estradiol. Além disso, foi encontrada correlação positiva entre os níveis de estradiol e a duração e a frequência de ocorrência dos comportamentos sexuais. Ressalta-se ainda que todos os comportamentos sexuais observados tiveram aumento durante a semana de tratamento com os hormônios, entretanto, apenas o contato físico apresentou aumento significativo. O aumento dos comportamentos sexuais ocorreu principalmente nos dias de pico de estradiol (fase pré-ovulatória), sendo confirmado pela correlação entre comportamento e níveis de estradiol.

Quanto à comparação entre sexos, não foi encontrada diferença estatística no desempenho do teste DNMS entre machos e fêmeas, para nenhum tipo de estímulo (geométrico, positivo, negativo e neutro). Também não houve diferença significativa nos tempos de resposta entre os sexos.

6.1. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi o primeiro a investigar a memória operacional utilizando expressões faciais de emoção em primatas não-humanos. Para isso, foi desenvolvido um novo teste, viável, que permite investigar a ação das expressões faciais (estímulos com valor emocional) na memória operacional de macacos-prego.

Futuros estudos deverão considerar as respostas comportamentais e fisiológicas dos macacos durante a exposição das fotografias de faces co-específicas, na tentativa de verificar se a valência emocional julgada pelos pesquisadores tem a mesma ativação das mesmas valências para os macacos.

Além disso, seria importante a realização de novos experimentos com administração controlada de estrógenos, para confirmar os resultados encontrados com primatas não-humanos, além da realização de tratamentos controlados também com progesterona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrisqueta-Gomez, J; Bueno, OFA; Oliveira, MGM & Bertolucci, PHF. 2002. Recognition memory for emotional pictures in Alzheimer's patients. *Acta Neurologica Scandinavica* **105**:51-54.
- Adams, MM & Morrison, JH. 2003. Estrogen and the aging hippocampal synapse. *Cerebral Cortex* **13**: 1271-1275.
- Adolphs, R; Cahill, L; Schul, R & Babinsky, R. 1997. Impaired declarative memory for emotional material following bilateral amygdala damage in humans. *Learning and Memory* **4**: 291-300.
- Adolphs, R & Tranel, D. 2003. Amygdala damage impairs emotion recognition from scenes only when they contain facial expressions. *Neuropsychologia* **41**: 1281-1289.
- Adolphs, R & Tranel, D. 2004. Impaired judgments of sadness but not happiness following bilateral amygdala damage. *Journal of Cognitive Neuroscience* **16**(3): 453-462.
- Adolphs, R; Tranel, D; Hamann, S; Young, AW; Calder, AJ; Phelps, EA; Anderson, A; Lee; GP & Damasio, AR. 1999. Recognition of facial emotion in nine individuals with bilateral amygdala damage. *Neuropsychologia* **37**: 1111-1117.
- Albuquerque, ACSR. 2003. Estratégias reprodutivas de fêmeas de *Callithrix jacchus* em grupos poligínicos e monogâmicos no ambiente natural. *Tese de Doutorado* pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- Antinucci, F. 1990. The comparative study of cognitive ontogeny in four primates species. In: Parker, ST & Gibson, KR (eds.) *"Language" and Intelligence in Monkeys and Apes*. Cambridge University Press, Cambridge. pp: 157-151.
- Armony, JL & Dolan, RJ. 2002. Modulation of spatial attention by fear-conditioned stimuli: an event-related fMRI study. *Neuropsychologia* **40**(7): 817-826.
- Arnold, A & Gorski, RA. 1984. Gonadal steroid induction of structural Sex differences in the central nervous system. *Annual Review of Neuroscience* **7**: 413-442.
- Baddeley, AD. 1992. Working memory. *Science* **255**(5044): 556-559.
- Baddeley, AD. 1999. *Memória Humana. Teoría e Práctica*. Mc Graw Hill Ed. Madrid.
- Blurton-Jones, MM; Roberts, JA & Tuszyński, MH. 1999. Estrogen receptor immunoreactivity in the adult primate brain: neuronal distribution and association with p75, trkA, and choline acetyltransferase. *Journal of Comparative Neurology* **405**: 529-542.

- Brinton, RD; Chen, S; Montoya, M; Hsieh, D; Minaya, J; Kim, J & Chu, HP. 2000. The women's health initiative estrogen replacement therapy is neurotrophic and neuroprotective. *Neurobiology of Aging* **21**: 475-496.
- Broverman, DM; Vogel, W; Klaibel, EL; Majcher, D; Shea, D & Paul, V. 1981. Changes in cognitive task performance across the menstrual cycle. *The Journal of Comparative Physiology and Psychology* **95**: 646-654.
- Brown, RG & Marsden, CD. 1988. Internal versus external cues and the control of attention in Parkinson's disease. *Brain* **111**: 323-345.
- Buckwalker, JG; Stanczyk, FZ; McCleary, CA; Bluestein, BW; Buckwalker, DK; Rankin, KP; Chang, L & Goodwin, TM. 1999. Pregnancy, the postpartum, and steroids hormones: effects on cognition and mood. *Psychoneuroendocrinology* **24**: 69-84.
- Cahill, L; Haier, RJ; White, NS; Fallon, J; Kilpatrick, L; Lawrence, C; Potkin, SG & Alkire, MT. 2001. Sex-related difference in amygdala activity during emotionally influenced memory storage. *Neurobiology of Learning and Memory* **75**:1-9.
- Cahill, L & McGaugh, JL. 1995. A novel demonstration of enhanced memory associated with emotional arousal. *Consciousness and Cognition* **4**: 410-421.
- Calvo, MG & Esteves, F. 2005. Detection of emotional faces: low perceptual threshold and wide attentional span. *Visual Cognition* **12**(1): 13-27.
- Carlson, NR. 2001. Emotion. In: Carlson, NR (ed). *Physiology of behavior*. Allyn and Bacon, Massachusetts. 339-370.
- Carosi, M; Heistermann, M & Visalberghi, E. 1999. Display of propective behaviors in relation to urinary and fecal progesterin levels over the ovarian cycle in female tufted capuchin monkeys. *Hormones and Behavior* **36**: 252-265.
- Carosi, M & Visalberghi, E. 2002. Analysis of tufted capuchin monkeys (*Cebus apella*) courtship and sexual behavior repertoire: changes throughout the female cycles and female interindividual differences. *American Journal of Physical Anthropology* **118**: 11-24.
- Cholerton, B; Gleason, CE; Baker, LD & Asthana, S. 2002. Estrogen and Alzheimer's disease – The story so far. *Drugs aging* **19**(6): 405-427.
- Comblain, C; D'Argembeau, A; Linden, MV & Aldenhoff, L. 2004. The effect of ageing on the recollection of emotional and neutral pictures. *Memory* **12**(6): 673-684.
- Cordoba-Montoya, MD & Carrer, HF. 1997. Estrogen facilitates induction of long term potentiation in the hippocampus of awake rats. *Brain Research* **778**: 430-438.

- Daniel, JM & Dohanich, GP. (2001). Acetylcholine modulates the estrogen-induced increase in NMDA receptor binding in CA1 of the hippocampus and the associated improvement in working memory. *Journal of Neuroscience* **21**: 6949-6956.
- Darwin, C. 1872. A expressão das emoções no homem e nos animais. Companhia das letras (Ed.), São Paulo. Tradução publicada em 2000.
- Díaz-Véliz, GN; Alarcón, NT; Espinoza, C; Dussaubat, N & Mora, S. 1997. Ketansein and anxiety levels: influence of gender, estrus cycle, ovariectomy and ovarian hormones in female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **58**(3): 637-642.
- Díaz-Véliz, GN; Urresta, F; Dussaubat, N & Mora, S. 1989. Influence of the estrus cycle, ovariectomy and estradiol replacement upon the acquisition of conditioned avoidance responses in rats. *Physiological Behavior* **46**: 397-401.
- Díaz-Véliz, GN; Urresta, F; Dussaubat, N & Mora, S. 1991. Effects of estradiol replacement in ovariectomized rats on conditioned avoidance responses and other behaviors. *Physiological Behavior* **50**: 61-65.
- Dimberg, U; Thunberg, M & Elmehed, K. 2000. Unconscious facial reactions to emotional facial expressions. *Psychological Science* **11**(1): 86-89.
- Dohanich, G. 2003. Ovarian steroids and the cognitive function. *Current Directions in Psychological Science* **12**(2): 57-61.
- Dolan, RJ. 2002. Emotion, cognition, and behavior. *Science* **298**: 1191-1194.
- Dolcos, F; LaBar, KS & Cabeza, R. 2005. Remembering one year later: Role of the amygdala and the medial temporal lobe memory system in retrieving emotional memories. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**(7): 2626-2631.
- Epting, LK & Overman, WH. 1998. Sex-sensitive tasks in men and women: a search for performance fluctuations across the menstrual cycle. *Behavioural Neuroscience* **112**: 1304-1317.
- Foy, MR; Henderson, VW; Berger, TW & Thompson, RF. 2000. Estrogen and neural plasticity. *Current Directions in Psychological science* **9**(5): 148-152.
- Fragaszy, DM. 1990. Sensorimotor development in hand-reared and modern reared tufted capuchin: a system prospective on the contrasts. In: Parker, ST & Gibson, KR (eds.) *"Language" and Intelligence in Monkeys and Apes*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 172-204.
- Fragaszy, DM; Visalberghi, E & Fedigan, LM. 2004. *The Complete Capuchin: The Biology of the genus Cebus*. Cambridge University Press, Cambridge.

- Frank, JE & Tomaz, C. 2003a. Lateralized impairment of the emotional enhancement of verbal memory in patients with amygdala-hippocampus lesion. *Brain Cognition* **52**: 223-230.
- Frank, JE & Tomaz, C. 2003b. Sistema límbico e a modulação emocional da memória. *Neurobiologia* **66**(1):13-20.
- Fuster, JM. 1995. Basic concepts and taxonomy of memory. In: Fuster, JM (ed). *Memory in the cerebral cortex: an empirical approach to neural networks in the human and nonhuman primates*. MIT Press, Cambridge.
- Georgiou, GA; Bleakley, C; Hayward, J; Russo, R; Dutton, K; Eltiti, S & Fox, E. 2005. Focusing on fear: attentional disengagement from emotional faces. *Visual cognition* **12**(1): 145-158.
- Gibbs, RB. 1998. Impairment of basal forebrain cholinergic neurons associated with aging and long-term loss of ovarian function. *Experimental Neurology* **151**: 289-302.
- Good, M; Day, M & Muir, JL. 1999. Cyclical changes in endogenous levels of oestrogen modulate the induction of LTD and LTP in the hippocampal CA1 region. *European Journal of Neuroscience* **11**: 4476-4480.
- Goodman, MR; Garman, EE; Arnold, LL; Sengelaub, DR & Garraghty, PE. 2004. The effects of estradiol on avoidance learning in ovariectomized adult rats. *Integrative Physiological & Behavioral Science* **39**(3): 192-206.
- Gotham, AM, Brown, RG & Marsden, CP. 1988. "Frontal" cognitive function in patients with Parkinson's disease "on" and "off" levodopa. *Brain* **111**: 299-321.
- Goy RW & McEwen BS. 1980. *Sexual differentiation of the Brain*. MIT Press, Cambridge.
- Gray, JR; Braver, TS & Raichle, ME. 2002. Integration of emotion and cognition in the lateral prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **99**(6): 4115-4120.
- Green, PS & Simpkins, JW. 2000. Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action. *International Journal of Developmental Neuroscience* **18**: 347-358.
- Gundlah, C; Kohama, SG; Mirkes, SJ; Garyfallou, VT; Urbanski, HF & Bethea, LC. 2000. Distribution of estrogen receptor beta (Erbeta) mRNA in hypothalamus, midbrain and temporal lobe of spayed macaque: continued expression with hormone replacement. *Molecular Brain Research* **76**: 191-204.
- Guyton, AC. 1992. Tratado de fisiologia médica. Guanabara Koogan Ed, Rio de Janeiro.

- Halari, R; Hines, M; Kumari, V; Mehrotra, R; Wheeler, M; Ng, V & Sharma, T. 2005. Sex differences and individual differences in cognitive performance and their relationship to endogenous gonadal hormones and gonadotropins. *Behavioral Neuroscience* **119**(1): 104-117.
- Halbreich, U; Lumley, LA; Palter, S; Manning, C; Gengo, F & Joe, SH. 1995. Possible acceleration of age effects on cognition following menopause. *Journal of Psychiatric Research* **29**: 153-163.
- Halpern, DF. 1992. *Sex differences in cognitive abilities*. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale.
- Hamann, S. 2003. Nosing in on the emotional brain. *Nature Neuroscience* **6**(2): 106-108.
- Hamann, SB; Ely, TD; Grafton, ST & Kilts, CD. 1999. Amygdala activity related to enhanced memory for pleasant and aversive stimuli. *Nature Neuroscience* **2**: 289-293.
- Hamann, SB; Stefanacci, L; Squire, LR; Adolphs, R; Tranel, D; Damasio, H & Damasio, A. 1996. Recognizing facial emotion. *Nature* **379**: 497.
- Hampson, E. 1990. Variations in Sex-related cognitive abilities across the menstrual cycle. *Brain Cognition* **14**: 26-43.
- Hauser, MD & Akre, K. 2001. Asymmetries in the timing of facial and vocal expressions by rhesus monkeys: implications for hemispheric specialization. *Animal Behavior* **61**: 391-400.
- Hausmann, M; Slabbekoorn, D; van Goozen, SHM & Güntürkün, O. 2000. Sex hormones affect spatial abilities during the menstrual cycle. *Behavioural Neuroscience* **114**: 1245-1250.
- Henderson, VW. 1997. Estrogen, cognitions and a woman's risk of Alzheimer's Disease. *American Journal of Medicine* **103**(3A): 11S-18S.
- Herndon, JG; Umpierre, DM & Turner, JJ. 1989. Effects of two different patterns of estradiol replacement on the sexual behavior of rhesus monkeys. *Physiology & Behavior* **43**: 853-856.
- Jerison, H. 1973. *Evolution of the brain and intelligence*. Oxford University Press, Oxford.
- Johansson, M; Mecklinger, A & Treese, A-C. 2004. Recognition memory for emotional and neutral faces: an event-related potential study. *Journal of Cognitive Neuroscience* **16**(10):1840-1853.
- Keefer, DA & Stumpf, WE. 1975. Atlas of estrogen-concentrating cells in the central nervous system of the squirrel monkey. *Journal of Comp Neurology* **160**(4):419-441.

- Keenan, PA; Ezzat, WH; Ginsburg, K & Moore, GJ. 2001. Prefrontal cortex as the site of estrogen effect on cognition. *Psychoneuroendocrinology* **26**: 577-590.
- King, FA; Yarbrough, CJ; Anderson, DC; Gordon, TP & Gould, KG. 1988. Primates. *Science* **240**: 1475-1478.
- Komnenich, P; Laine, DM; Dickey, RP & Stone, SC. 1978. Gonadal hormones and cognitive performance. *Physiological Psychology* **6**: 115-120.
- Korol, DL. 2004. Role of estrogen in balancing contributions from multiple memory systems. *Neurobiology of Learning and Memory* **82**(3): 309-323.
- Kritzer, MF & Kohama, SG. 1998. Ovarian hormones influence the morphology, distribution, and density of tyrosine hydroxylase immunoreactive axons in the dorsolateral prefrontal cortex of adult rhesus monkeys. *Journal of Comparative Neurology* **395**(1): 1-17.
- Kritzer, MF & Kohama, SG. 1999. Ovarian hormones differentially influence immunoreactivity for dopamine beta-hydroxylase, choline acetyltransferase, and serotonin in the dorsolateral prefrontal cortex of adult rhesus monkeys. *Journal of Comparative Neurology* **409**(3): 438-451.
- Lacreuse, A. 2006. Effects of ovarian hormones on cognitive function in nonhuman primates. *Neuroscience* **138**(3): 859-867.
- Lacreuse, A & Herndon, JG. 2003. Estradiol selectively affects processing of conspecifics' faces in female rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology* **28**(7): 885-905.
- Lacreuse, A; Herndon, JG; Killiany, RJ; Rosene, DL & Moss, MB. 1999. Spatial cognition in rhesus monkeys: male superiority declines with age. *Hormones and Behavior* **36**: 70-76.
- Lacreuse, A; Herndon, JG & Moss, MB. 2000. Cognitive function in aged ovariectomized female rhesus monkeys. *Behavioural neuroscience* **114**: 506-513.
- Lacreuse, A; Verreault, M & Herndon, JG. 2001. Fluctuations in spatial recognition memory across the menstrual cycle in female rhesus monkeys. *Psychoneuroendocrinology* **26**(6): 623-639.
- Liberzon, I; Taylor, SF; Fig, LM; Decker, LR; Koeppe, RA & Minoshima, S. 2000. Limbic activations and psychophysiologic responses to aversive visual stimuli: Interaction with cognitive task. *Neuropsychopharmacology* **23**(5): 508-516.
- MacLusky, NJ; Lieberburg, I; Krey, LC & McEwen, BS. 1980. Progesterin receptors in the brain and pituitary of the bonnet monkey (*Macaca radiata*): differences between the monkey and the rat in the distribution of progesterin receptors. *Endocrinology* **106**(1): 185-191.

- Maggi, A & Perez, J. 1985. Role of female gonadal hormones in the CNS: clinical and experimental aspects. *Life Sciences* **37**: 893-906.
- Maki, PM; Rich, JB & Rosenbaum, RS. 2002. Implicit memory varies across the menstrual cycle: estrogen effects in young women. *Neuropsychologia* **40**: 518-529.
- Marriot, LK & Wenk, GL. 2004. Neurobiological consequences of long-term estrogen therapy. *Current Directions in Psychological Science* **13**(5): 173-176.
- McEwen, BS. 2001. Estrogen effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *Journal of Applied Physiology* **91**: 2785-2801.
- McGaugh, JL. 2000. Memory – a century of consolidation. *Science* **287**: 248-251.
- McGaugh, JL. 2004. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Reviews Neuroscience* **27**: 1-28.
- Miller, KJ; Conney, JC; Rasgon, NL; Fairbanks, LA & Small, GW. 2002. Mood symptoms and cognitive performance in women estrogen users and nonusers and men. *Journal of American Geriatrics Society* **50**(11): 1826-1830
- Mishkin, M. 1990. Vision, memory, and the temporal lobe: summary and prospective. *In: Vision, memory, and the temporal lobe: summary and prospective*. Elsevier: New York. pp: 427-436.
- Moguilewsky, M & Raynaud, JP. 1979. Estrogen-sensitive progestin-binding sites in the female rat brain and pituitary. *Brain Research* **164**: 165-175.
- Monk, CS; Zhuang, J; Curtis, WJ; Ofenloch, I-T, Tottenham, N; Nelson, CA & Hu, X. 2002. Human hippocampal activation in the delayed matching- and non-matching-to-sample memory tasks: An event-related functional MRI approach. *Behavioral Neuroscience* **116**(4): 716-721.
- Mulnard, RA; Cotman, CW; Kawas, C; van Dyck, CH; Sano M; Doody, R; Koss, E; Pfeiffer, E; Jin, S; Gamst, A; Grundman, M; Thomas, R & Thal, LJ. 2000. Estrogen replacement therapy for treatment of mild to moderate Alzheimer Disease: a randomized controlled trial. Alzheimer's Disease Cooperative Study. *Journal of American Medical Association* **283**: 1007-1015.
- Nagle, CA & Denari, JH. 1983. The *Cebus* monkey (*Cebus apella*). *In: Hearn, J. (ed.), Reproduction in the new world primates: New model in medical science*. MTP Press. Lancaster. Boston. pp: 39-67.
- Nagle, CA; Denari, JH; Quiroga, S; Riarte, A; Merlo, A; Germino, NI; Gomez-Argana, F & Rosner, JN. 1979. The plasma pattern of ovarian steroids during the menstrual cycle in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Biological Reproduction* **21**: 979-983.

- Nakayama, K; Goto, S; Kuraoka, k & Nakamura, K. 2005. Decrease in nasal temperature of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) in negative emotional state. *Physiology and Behavior* **84**(5): 783-790.
- Napier, JR & Napier, PH. 1985. Object manipulation tool use and sensorimotor intelligence as feeding adaptations in *Cebus* monkeys and great apes. *Journal of Human Evolution* **6**: 623-641.
- Nishijo, H; Hori, E; Tazumi, T; Eifuku, S; Umeno, K; Tabushi, E & Ono, T. 2003. Role of the monkey amygdala in social cognition. *In*: Ono, T; Matsumoto, G; Llinás, RR; Berthoz, A; Norgren, R; Nishijo, H & Tamura, R (eds.) *Cognition and Emotion in the Brain: Selected Topics of the International Symposium on Limbic and Association Cortical Systems*. Elsevier. Amsterdã. pp: 295-310.
- Ohman, A; Flykt, A & Esteves, F. 2001. Emotion drives attention: detecting the snake in the grass. *Journal of Experimental Psychology and Genetics* **130**(3): 466-478.
- Oppenheimer, JR. 1968. Behavior and ecology of the white-faced monkey, *Cebus capucinus*, on Barro Colorado Island, Canal Zone. *Tese de Doutorado da University of Illinois, Michigan*.
- Ó Scalaidhe, SP; Wilson, FAW & Goldman-Rakic, PS. 1999. Face-selective neurons during passive viewing and working memory performance of rhesus monkeys: evidence for intrinsic specialization of neuronal coding. *Cerebral Cortex* **9**: 459-475.
- Perlstein, WM; Elbert, T & Stenger, VA. 2002. Dissociation in human prefrontal cortex of affective influences on working memory-related activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**(3): 1736-1741.
- Preuschoft, S. 2000. Primate faces and facial expressions. *Social Research* **67**(1): 245-271.
- Rapp, PR; Morrison, JH & Roberts, JA. 2003. Cyclic estrogen replacement improves cognitive function in aged ovariectomized rhesus monkeys. *The Journal of Neuroscience* **23**(13): 5708-5714.
- Resende, MC; Tavares, MCH & Tomaz, C. 2003. Ontogenetic dissociation between habit learning and recognition memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Neurobiology of Learning and Memory* **79**:19-24.
- Resnick, SM; Metter, EJ & Zonderman, AB. 1997. Estrogen replacement therapy and longitudinal decline in visual memory. A possible protective effect? *Neurology* **49**: 1491-1497.

- Resnick, SM; Maki, PM; Golski, S; Kraut, MA & Zonderman, AB. 1998. Effects of Estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and neuropsychological performance. *Hormones and Behavior* **34**: 171-182.
- Sergerie, K; Lepage, M & Armony, JL. 2005. A face to remember: emotional expression modulates prefrontal activity during memory formation. *NeuroImage* **24**(2): 580-585.
- Shaywitz, SE; Shaywitz, BA; Pugh, KR; Fulbright, RK; Skudlarski, P; Mencl, WE; Constable, RT; Naftolin, F; Palter, SF; Marchione, KE; Katz, L; Shankweiler, DP; Fletcher, JM; Lacadie, C; Keltz, M & Gore, JC. 1999. Effect of estrogen on brain activation patterns in postmenopausal women during working memory tasks. *Journal of American Medical Association* **281**(13): 1197-1202.
- Sherwin, BB. 1988. Estrogen and/or androgen replacement therapy and cognitive functioning in surgically menopausal women. *Psychoneuroendocrinology* **13**: 345-357.
- Sherwin, BB. 1997. Estrogen effects on cognition in menopausal women. *Neurology* **48**: S21-S26.
- Sherwin, BB. 2006. Estrogen and cognitive aging in women. *Neuroscience* **138**(3): 1021-1026.
- Sherwin, BB & Tulandi, T. 1996. "Add-back" estrogen reverses cognitive deficits induced by gonadotropin releasing-hormone agonist in women with leiomyomata uteri. *Clinical Endocrinology and Metabolism* **81**: 2545-2549.
- Shettleworth, SJ. 2001. Animal cognition and animal behaviour. *Animal Behaviour* **61**: 277-286.
- Silverman, I & Phillips, K. 1993. Effects of estrogen changes during the menstrual cycle. *Ethology Sociobiology* **14**: 257-270.
- Squire, LR & Zola-Morgan, S. 1991. The medial temporal lobe memory system. *Science* **253**(5026): 1380-1386.
- Squire, LR & Zola-Morgan, S. 1996. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **93**: 13515-13522.
- Sousa, MBC & Ziegler, TE. 1998. Diurnal variation on the excretion patterns of fecal steroids in common marmoset (*Callithrix jacchus*) females. *American Journal of Primatology* **46**(2):105-117.
- Suganuma, E. 2006. Percepção da ilusão de Müller-Lyer em macaco-prego (*Cebus* spp.). *Dissertação de mestrado* pela Universidade de Brasília, Brasília.

- Tavares, MCH. 2002. Ritmicidade biológica e desempenho cognitivo em primates humanos e não-humanos. *Tese de Doutorado* pela Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Tavares, MCH & Tomaz, C. 2002. Working memory in capuchin monkeys (*Cebus apella*). *Behavioural Brain Research* **131**(1-2): 131-137.
- Tanapat, P; Hastings, NB; Reeves, AJ & Gould, E. 1999. Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *Journal of Neuroscience* **19**: 5792-5801.
- Tinkler, GP & Voytko, ML. 2005. Estrogen modulates cognitive and cholinergic processes in surgically menopausal monkeys. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* **29**(3): 423-431.
- Tomasello, M & Call, J. 1997. *Primate Cognition*. Oxford University Press. Nova Iorque. 517p.
- Tomaz, C. 1993. Amnésia. In: Graeff, FG & Brandão, ML (eds.) *Neurobiologia das doenças mentais*. Lemos Editora. pp: 175-184.
- Tomaz, C & Costa, JC. 2001. Neurociência e Memória. *Humanidades* **48**:146-160.
- Tomaz, C; Frank, JE & Conde, C. 2003. Integrative function of the amygdala in emotional storage. In: Ono, T; Matsumoto, G; Llinás, RR; Berthoz, A; Norgren, R; Nishijo, H & Tamura, R (eds.) *Cognition and Emotion in the Brain: Selected Topics of the International Symposium on Limbic and Association Cortical Systems*. Elsevier. Amsterdã. pp: 335-346.
- Tomaz, C; Tavares, MCH & Caldas, ALR. 2000. In: C Alonso, A Langguth Eds. *A Primatologia no Brasil - 7*. SBPr e Editora Universitária, João Pessoa. 333-347.
- Tulving, E. 1987. Multiple memory-systems and consciousness. *Human Neurobiology* **6**(2): 67-80.
- Umberkoman-Wiita, B & Kumar, TC. 1979. Association of tritiated ovarian steroids with the rhesus monkey brain. *Journal of Steroid Biochemistry* **11**(1C): 809-818.
- Visalberghi, E. 1993. Capuchin monkeys: a window into tool use in apes and humans. In: P Gibson, G Ingold Eds. *Tools, language, and cognition in human evolution*. Cambridge: Cambridge University Press. 138-150.
- Voyer, D; Voyer, S & Bryden, MP. 1995. Magnitude of sex differences in spatial abilities: a meta-analysis and consideration of critical variables. *Psychological Bulletin* **117**: 250-270.

- Voytko, ML. 2000. The effects of long-term ovariectomy and estrogen replacement therapy on learning and memory in monkeys (*Macaca fascicularis*). *Behavioural Neuroscience* **114**: 1078-1087.
- Weigel, RM. 1978. The facial expressions of the brown capuchin monkey (*Cebus apella*). *Behaviour* **68**: 250-276.
- Williams CL & Meck WH. 1991. The organizational effects of gonadal steroids on sexually dimorphic spatial ability. *Psychoneuroendocrinology* **16**: 155-176.
- Woolley, CS. 1998. Estrogen-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Hormones and Behavior* **34**: 140-148.
- Woolley, CS & McEwen, BS. 1992. Estradiol mediates fluctuations in hippocampal synapse density during the estrus cycle in the adult rat. *Journal of Neuroscience* **12**: 549-554.
- Woolley, CS; Weiland, NG; McEwen, BS & Schwartzkroin, PA. 1997. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor-mediated synaptic input: Correlation with dendritic spine density. *Journal of Neuroscience* **17**: 1848-1859.
- Xavier, GF. 1993. A modularidade da memória. *Psicologia USP* **4**(1-2), 61-115.
- Ziegler, TE; Scheffer, G; Wittwer, DJ; Schultz-Darken, N; Snowdon, CT & Abbott, DH. 1996. Metabolism of reproductive steroids during the ovarian cycle in two species of callitrichids, *Saguinus oedipus* and *Callithrix jacchus*, and estimation of the ovulatory period from fecal steroids. *Biological Reproduction* **54**(1): 91-99.

ANEXOS

Anexo I



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICA - IBDB
COMITÊ DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA**

29 de Agosto de 2003.

A QUEM POSSA INTERESSAR

Declaramos que o projeto intitulado “**AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COGNITIVO EM MACACA (CEBUS APPELLA) AO LONGO DO CICLO MENSTRUAL: RELAÇÃO ENTRE HORMÔNIOS SEXUAIS E OS MECANISMOS DE MEMÓRIA EMOCIONAL**”. Foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

A handwritten signature in blue ink, reading 'Cesar Koppe Grisoia'.

Cesar Koppe Grisoia
Comitê de Ética do Uso Animal
Presidente

Anexo II

Animal:

Data:

Sessão:

Tent	Pt1	Pt2	Act	Observação
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				
31				
32				
33				
34				
35				
36				
37				
38				
39				
40				
41				
42				
43				
44				
45				
46				
47				
48				
49				
50				

Anexo IV

From: <ultra@ultramarinebr.net>
To: "Carlos Tomaz" <ctomaz@unb.br>
Sent: Tuesday, June 27, 2006 5:11 PM
Subject: Re: Submissão de artigo para a revista Neurobiologia

Ref.: A novel working memory test using capuchin monkey (*Cebus apella*)
emotional faces

Carina Tostes Abreu, Maria Clotilde H. Tavares, Arianna Marchetti, Armida d'Onofrio,
Antonella Gasbarri, Carlos Tomaz.

Olá Dr Carlos Tomaz,
É com satisfação que informamos a aceitação do artigo acima mencionado para
publicação na revista Neurobiologia..
Estamos sim muito satisfeitos com a evolução contínua da Revista, graças
também aos ótimos artigos que temos recebido, com destaque aos do seu
grupo.
O seu artigo será publicado no último número deste ano de 2006.
Gostei muito das fotos dos macacos. Você teria alguma deles, sem mostrar
as barras, para aproveitarmos para uma possível capa?
Abraços,
João Ricardo Oliveira
Editor, Neurobiologia

8/22/2006