

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS LETRAS E ARTES
DEPARTAMENTO DE PSICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIA
COGNITIVA E COMPORTAMENTO**

**Avaliação da Contribuição do Contexto Social na Memória Similar à
Episódica em Ratos Wistar**

Maria Augustta Sobral de França Malheiros

**João Pessoa, PB
Março de 2017**

Maria Augustta Sobral de França Malheiros

**Avaliação da Contribuição do Contexto Social na Memória Similar à
Episódica em Ratos Wistar**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento na Universidade Federal da Paraíba, em defesa do grau de Mestre em Neurociência Cognitiva e Comportamento, na linha de pesquisa “Psicobiologia: Processos Psicológicos Básicos e Neuropsicologia”, sob orientação do Prof. Dr. Flávio Freitas Barbosa.

**João Pessoa
Março de 2017**

M249a Malheiros, Maria Augustta Sobral de França.
Avaliação da contribuição do contexto social na memória
similar à episódica em ratos Wistar / Maria Augustta Sobral de
França Malheiros. - João Pessoa, 2017.
61 f.: il. -

Orientador: Flávio Freitas Barbosa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/ CCHLA

1. Neurociência. 2. Memória similar à episódica.
3. Contexto social - neurociência. I. Título.

UFPB/BC

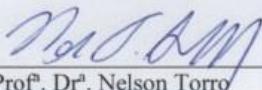
CDU: 159.9:612.8(043)

Título: Avaliação da Contribuição do Contexto Social na Memória Similar à Episódica
em Ratos Wistar

Autor: Maria Augustta Sobral de França Malheiros

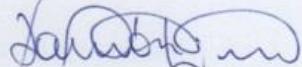
Data da defesa: 30 de Março de 2017.

Banca Examinadora:



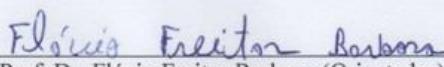
Prof. Dr^a. Nelson Torro

Universidade Federal da Paraíba (Membro Interno)



Prof. Dr. Ramon Hypólito Lima

Universidade Federal do Rio Grande do Norte (Membro Externo)



Prof. Dr. Flávio Freitas Barbosa (Orientador)

Universidade Federal da Paraíba

João Pessoa, PB
Março de 2017

*“Quando Deus quer, o homem sonha,
a obra se realiza”*

Fernando Pessoa

Esta jornada seria impossível sem algumas renúncias. Os caminhos foram, muitas vezes, árduos, mas sempre à frente estava o maior exemplo a ser seguido, e é ao senhor, Professor Flávio Freitas Barbosa, que dedico este trabalho. Com tanta dedicação e ética sempre me ensinou a enxergar que o esforço é o meio pelo qual a conquista se concretiza. Obrigada pelos ensinamentos!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a **Deus**, por ter me presenteado com essa caminha e, junto a ela, ter aberto meu coração para viver mais em sua presença. A **Nossa Senhora**, que sempre esteve ao meu lado, cuidando de mim para que eu pudesse cuidar de tantas outras coisas em minha vida.

Ao meu queridíssimo orientador, **Prof Dr. Flávio Freitas Barbosa**, que desde os meus primeiros passos na expectativa de ingressar no mestrado, não apenas me estendeu as mãos, mas abriu o seu coração para dividir comigo momentos leves e difíceis. Posso dizer que, durante minha jornada de vida, conheci um dos corações mais puros e humanos. Muito obrigada, professor, seus ensinamentos vão além das teorias, são realmente de vida e para a vida toda.

Ao professor **Carlos** que, tão pacientemente, me ensinou a engatinhar no mundo da bioacústica. Apesar de não estar inserida no contexto do presente trabalho, esta encontra-se intrinsecamente inserida do ponto de vista afetivo. Muito obrigada por suas contribuições.

A **minha Mãe**, que é o meu maior exemplo de determinação e garra, muitas vezes tão dura, sempre foi minha maior torcida! Eu te amo incondicionalmente. Ao meu pai, Marcos Veloso de França (em memória), apesar de ter saído fisicamente tão cedo da minha vida, me deixou o maior ensinamento: respeito ao próximo.

Ao meu padrasto **Pedro Cordeiro de Sá filho**, sempre tão racional e muitas vezes radical, me inspira e me ensina a ser ética em todos os meus planos de vida. Você foi essencial para a minha formação, amo você!

Aos meus irmãos **Joanne, Marcelle, Camila, Thiago, Laís e Arthur**, sempre tão presentes, me ensinam e me fazem sentir todos os dias o que é o amor!

Ao meu grande amor, meu esposo **Bruno de Araújo Malheiros**, que sempre me apoia nos planos e sonhos e, junto comigo, constroi a minha história. Ao meu filho, **Enzo Sobral Malheiros**, minha grande força para seguir em frente.

As minhas amigas de mestrado **Jeane e Kathlyn**, sinônimo de companheirismo e solidariedade. Vocês fazem parte da minha vida. **Jeane**, você foi essencial nesta caminhada.

Ao **Laboratório de estudos em Memória e Cognição (LEMCOG)**, que transformou o meu olhar e me trouxe os melhores ensinamentos sobre pesquisa. Aos

amigos do LEMCOG, Paulo, Karen, Crhistiane, Lívia, Jeane e Kathlyn, que me estenderam as mãos e dividiram comigo a conquista de mais um degrau.

À **Dona Solange**, que durante as minhas idas e vindas ao Bióterio, tornou-se minha amiga e dividiu comigo os seus conhecimentos. Aos animais, com os quais aprendi a conviver, cuidar, e respeitá-los com ética.

Ao **Pedro e ao Paulo**, sem vocês minha pesquisa não teria acontecido, ao LTF e seus responsáveis, por todo o apoio durante esta caminhada.

À querida **Rochele**, que com muita paciência e sabedoria me ensinou e contribuiu na formação deste estudo. Muito obrigada, Rochele! Ainda tenho muito o que aprender com você.

Em especial à **UFPB**, que durante esses dois anos me cedeu seus espaços físicos e acadêmicos para que eu pudesse cumprir esta missão. A todos os **professores**, cujas aulas eu tive o privilegio de assistir.

À **Neurociência**, que intrinsecamente faz parte da minha vida hoje e à **memória**, por tudo o que aprendi sobre a temática e que ficará guardado em minha memória.

RESUMO

A memória episódica é um tipo de memória declarativa rica em contexto espacial e temporal. Estudos têm demonstrado uma memória similar à episódica em alguns animais, baseada em critérios que podem ser mostrados por meio do comportamento, e tais como os eventos (“o quê”) que ocorreram em um devido local (“onde”) e num determinado espaço de tempo (“quando”). Para ser considerada uma memória similar à episódica, estes aspectos comportamentais devem ser evocados de forma integrada e associativa, não havendo a possibilidade de se recordar cada aspecto separadamente. Sabe-se que o contexto social exerce influência sobre as capacidades cognitivas e comportamentais em diferentes espécies, mas apesar de sua importância, o contexto social tem recebido pouca atenção da neurociência e muitos estudos têm sido direcionados para o entendimento dos processos neurais do comportamento por meio de pesquisas com seres humanos ou animais isolados. Neste trabalho, nós procuramos avaliar o impacto do ambiente social no desempenho da memória similar à episódica em ratos Wistar em uma tarefa adaptada de memória similar à episódica integrativa dos três aspectos comportamentais. Para tal, utilizamos 26 ratos Wistar machos, mantidos em condições controladas e divididos em três grupos: controle, experimental unitário e experimental díade. Esta tarefa é realizada em uma arena circular e é baseada no paradigma da novidade. Foram realizadas três sessões na tarefa: a sessão de amostra 1, amostra 2 e teste. Os animais do grupo experimental díade conseguiram integrar os três critérios episódicos na sessão de teste da tarefa, enquanto que os animais do grupo controle e experimental unitário não foram capazes. A perspectiva do presente trabalho foi a de se desenvolver um desenho experimental que venha a encorajar a emergência de comportamentos análogos ao comportamento natural do rato, que é uma espécie explorada como modelo animal.

Palavras chave: Memória similar à episódica; Contexto Social; ratos

ABSTRACT

Episodic memory is a type of declarative memory rich in spatial and temporal context. Studies have shown episode-like memory in some animals, criteria that can be shown through behavior, such as events ("what") that occurred in a proper location ("where") and in a certain space of time ("when"). To be considered an episodic-like memory, these behavioral aspects should be evoked in an integrated and associative way, not having the possibility to remember each aspect separately. It is known that the social context influences cognitive and behavioral capacities in different species, but despite its importance, the social context has received little attention from neuroscience and many studies have been directed towards the understanding of the neural processes of behavior, for research with humans or isolated animals. In this study, we sought to evaluate the impact of the social environment on episodic-like memory in Wistar rats. For this, we used 26 male Wistar rats, kept under controlled conditions and divided into three groups: control, experimental unit and experimental dyad. This task is performed in a circular arena and is based on the novelty paradigm. Three sessions were performed in the task: the session of sample 1, sample 2 and test each. The animals of the experimental dyad group were able to integrate the three episodic criteria in the task test session, whereas the animals of the experimental unit and control group did not succeed. The present work is in line with the current trend in the field of neuroscience to conduct experimental designs that will encourage the emergence of behaviors analogous to the natural behavior of exploited species as animal models.

Keywords: Episodic-like memory; Social context; rats

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Comportamento Social	15
1.3 Aprendizagem Social	17
1.4 Contextos Social x Emoção	18
1.5.1 Memória Episódica.....	20
1.6 Tarefas de Reconhecimento de Objetos	21
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS	23
3.1 Objetivo Geral	23
3.2 Objetivos Específicos	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1 Animais	24
4.2 Delineamento experimental.....	24
4.2.1 Descrição dos Grupos	26
4.2.2 Teste de dominância	27
4.2.3 Tarefa de memória similar à episódica.....	27
5. RESULTADOS	29
5.1 Índices de Discriminação	29
5.2 Tempo Total de Exploração	30
5.3 Hierarquia Social.....	31
5.3.1 Hierarquia Social x Taxa Total de Exploração	31
5.3.2 Hierarquia Social x Índices de Discriminação.....	
6. DISCUSSÃO	34
6.1 Índices de Discriminação	34

6.2 Tempo Total de Exploração	35
6.3 Hierarquia Social.....	37
7. CONCLUSÃO.....	38
8. REFERÊNCIAS	39
9. ANEXO	45
ANEXO A	45
ANEXO B.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema ilustrativo do campo aberto com pistas proximais e distais.....	25
Figura 2. Fotos dos objetos utilizados nos experimentos.....	26
Figura 3. Esquema ilustrativo da tarefa comportamental de memória similar à episódica.....	28
Figura 4. Ilustração da construção das medidas de taxa de exploração e índice de discriminação.....	29
Figura 5. Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle, experimental unitário e experimental díade.....	30
Figura 6. Tempo total de exploração para as sessões de amostra 1, amostra 2 e teste comparado entre os três grupos.....	31
Figura 7. Hireraquia social comparada entre o grupo experintal unitário e experimental díade durante as sessões de amostra 1, amostra 2 e teste.....	32
Figura 8. Hireraquia social comparada entre o grupo experintal unitário e experimental díade e os índices de discriminação.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A1, objeto antigo não deslocado

A2, objeto antigo deslocado

ANOVA, análise de variância, do inglês “analysis of variance”

B1, objeto recente não deslocado

B2, objeto recente deslocado

UFPB, Universidade Federal da Paraíba

1. INTRODUÇÃO

A capacidade de navegar no espaço é fundamental para a sobrevivência da maioria dos animais e, por isso, recebeu muita atenção na biologia e psicologia. Os meios pelos quais os animais navegam e representam as propriedades espaciais do mundo foram investigados a partir de várias perspectivas (Brown, 2011), incluindo a neurociência (Thinus-Blanc, 1996; Jeffery, 2003).

Dentre as áreas da neurociência, a memória é inegavelmente uma das habilidades cognitivas mais investigadas. Squire & Kandel (2003) descrevem a memória como um sistema que se subdivide em explícita e implícita. A memória explícita refere-se àquela que é evocada conscientemente pelo sujeito, já a memória implícita não necessita de um processo consciente para acontecer (Squire & Zola, 1996). A memória explícita ainda pode ser subdividida em memória semântica, e memória episódica, a primeira identifica um evento antigo sendo possível saber do quê se trata, e a segunda, permite identificar o evento e saber onde e quando ocorreu (Tulving, 2002).

De acordo com Tulving (2002), a memória episódica é um tipo de memória explícita rica em contextos temporais e espaciais que representam onde e quando um determinado evento aconteceu.

Estudar a cognição espacial em animais tem sido realizado quase que exclusivamente com memórias correspondentes a estímulos físicos, como localizações de objetos e pistas espaciais por meio da exploração (Gallisteu, 1990). A exploração é um processo pelo qual os animais se orientam no tempo e no espaço. Este processo cognitivo é específico à espécie e baseia-se na coleta de informações sobre o meio ambiente (Weiss, Segev & Eilam, 2015). Esta informação é então usada para estabelecer uma espécie de representação ambiental do meio ambiente, que tem sido denominada "mapa cognitivo" (Tolman, 1948), e sugerido ser codificada no hipocampo (O'Keefe & Nadel, 1978).

A presença de um companheiro frequentemente facilita a exploração e aprendizagem (Stöwe *et al.*, 2006). Animais em grupos (díades ou mais) mostraram-se mais ativos em um ambiente novo, exibiram menor neofobia, e exploraram mais objetos completamente novos quando comparados a animais sozinhos (Hughes, 1969; Menzel, 1971; Meaney & Stewart 1979; Beck & Chow, 1984; Griffiths & Foster, 1998; Schuett & Dall 2009; Ward, 2011).

O contexto social exerce influência sobre as capacidades cognitivas em diferentes espécies. Apesar de sua importância, o contexto social tem recebido pouca atenção da neurociência, principalmente devido ao maior enfoque dos estudos em modelos animais em isolamento (Hasson *et al.*, 2012).

1.1 Comportamento Social

Diversos animais, incluindo-se os ratos Wistar, são naturalmente sociáveis, de modo que as interações sociais afetam o comportamento destas espécies, influenciando também os processos cognitivos (Galef & Giraldeau, 2001).

Um dos comportamentos que o contexto social exerce influência é o comportamento de forrageio. Comportamento de forrageio é um comportamento específico da espécie que envolve a busca de alimentos, bem como o transporte (Sherry, 1990).

Muitos estudos sugerem que o comportamento de forrageio envolve funções cognitivas mais elevadas, como a tomada de decisão baseada no esforço. Os organismos que tomam a decisão ideal requerem a avaliação dos custos e benefícios das potenciais escolhas (Day *et al.*, 2010). Para os animais que se alimentamativamente, encontrar e ingerir o alimento exige um processo complexo que requer uma sequência de escolhas: (1) quando realizar o forrageamento; (2) para onde ir procurar o alimento, e (3) quais alimentos ingerir e o que evitar comer (Valone, 1989).

Muitas espécies de animais forrageiam em grupos. Indivíduos nesses grupos podem obter informações sobre a localização espacial dos alimentos a partir dos seus companheiros de grupo (Gariépy *et al.*, 2014). A vantagem que um animal obtém ao estar em grupo é que múltiplos membros analisam o ambiente, aumentando, assim, as chances de encontrar alimento (Krebs *et al.*, 1972, Beauchamp, 1998).

O forrageio cooperativo pode beneficiar a eficiência da busca, e o ambiente social pode facilitar a abordagem de novos alimentos, o número de alimentos que um indivíduo pode explorar, aumentar sua taxa de forrageamento e, ao mesmo tempo, as possibilidades de encontrar alimento (Valone, 1989).

Dependendo da espécie e da motivação do animal, os indivíduos se aproximam e investigam o ambiente com diferentes latências e por períodos variáveis por meio da exploração (Day *et al.*, 2003; Mettke-Hofmann *et al.*, 2002; Stöwe *et al.*, 2006).

O comportamento exploratório é a coleta de informações sobre alimentos, objetos e aspectos do ambiente que não satisfazem necessidades imediatas (Renner, 1990). A exploração é importante para que os animais possam adquirir informações sobre as características do ambiente, as quais influenciam direta ou indiretamente a sobrevivência e a reprodução. No ato de explorar, os animais adquirem informações sobre os locais de alimentação, distribuição dos alimentos, esconderijos, rotas de fuga ou companheiros potenciais (Barnett, 1958; Barnett, 1981; Renner, 1988; Heinrich, 1995; Schwagmeyer, 1995). A espécie *Rattus norvegicus*, da qual deriva a linhagem Wistar, quando em vida livre, ocupa ambientes complexos que requerem que os indivíduos naveguem por obstáculos, manipulem objetos, evitem predadores e lidem com circunstâncias para maximizar o acesso ao alimento e parceiros sexuais (Schallert & Woodlee, 2005).

A exploração está intimamente relacionada ao conceito de neofobia, que pode reduzir a exposição ao perigo, mas também restringir o comportamento exploratório, uma vez que a novidade ou as mudanças no ambiente podem desencadear comportamentos exploratórios, bem como as reações neofóbicas (Barnett, 1958; Menzel *et al.*, 1961; Wolfe, 1969; Cowan, 1977).

A relação da neofobia com a exploração se dá pelo fato de que os indivíduos só exploram se estiverem interessados em um objeto, sendo o mesmo verdadeiro para a evitação. Assim, os objetos não podem ser explorados nem evitados por puro desinteresse ou falta de relevância percebida. Consequentemente, a neofobia foi definida como "a evitação de um objeto ou outro aspecto do ambiente apenas porque nunca foi experimentado e é diferente do que foi experimentado no passado do indivíduo" (Stöwe *et al.*, 2006).

A presença ou ausência de membros do grupo também pode influenciar a resposta de um indivíduo a novos estímulos. A presença ou ausência de congêneres pode modular as respostas fisiológicas e comportamentais à novidade, por exemplo, o confronto com um novo ambiente ou um objeto anteriormente desconhecido em um ambiente familiar (Apfelbeck & Raess, 2008). Um estudo demonstrou que embora não há diferença nos níveis basais de corticosterona entre ratos machos alojados em grupos ou individualmente, os machos alojados individualmente expressam concentrações mais elevadas de corticosterona após o confronto com um ambiente novo em relação aos alojados em grupo (Bartolomucci *et al.*, 2003). Foi visto que algumas espécies de pássaros quando são confrontados com um objeto novo ao lado de seu prato familiar de

alimentação, eles geralmente mostram uma reação neofóbica que pode ser medida como a latência para se aproximar e se alimentar (Greenberg & Mettke-Hofmann, 2001). Em tal situação, os periquitos (*Melopsittacus undulates*) ou tentilhões zebra (*Taeniopygia guttata*) se alimentam mais facilmente na presença de seus companheiros do grupo do que quando sozinhos (Coleman & Mellgren, 1994; Soma & Hasegawa, 2004).

Os animais podem influenciar o comportamento uns dos outros de diferentes maneiras, e a interação social, por si só, é considerado um processo capaz de promover alterações comportamentais de grande valor adaptativo (Galef, 1996). A aprendizagem social é um fator que afeta a eficiência da exploração. Os indivíduos em grupo podem aprender novas habilidades, aumentar a qualidade dos recursos, obtendo informações provenientes de suas próprias atividades e ou de outros indivíduos por meio da aprendizagem social. Indivíduos em grupo podem adquirir informações mais rapidamente e a um custo mais baixo (Clark & Mangel, 1984; Clark & Mangel, 1986; Giraldeau *et al.*, 1994; Giraldeau, 1997)

1.3 Aprendizagem Social

A capacidade do animal em guardar informações relacionadas às interações para com os demais recebe o termo de aprendizagem social (Wills *et al.*, 1983). Esta pode ser classificada em dois eixos experimentais, sendo eles o efeito de audiência e o efeito de coação (Zajonc, 1965). O primeiro é a experiência vivenciada a partir da observação do comportamento espectadores passivos, enquanto que o segundo refere-se ao comportamento na presença de outros indivíduos que realizam atividade semelhante (Lipina & Roder, 2013).

O efeito de audiência abrange uma gama de comportamentos, como a facilitação social – capacidade de realizar determinada ações específicas apenas na presença de outras pessoas – até os mais complexos, como instruir. A facilitação social, pois, define um comportamento particular com maior facilidade de resposta na presença de membros da mesma espécie, e não em isolamento (Lipina & Roder, 2013).

A aprendizagem social, ou aprender com os outros, fornece um meio pelo qual os animais podem adquirir informações adaptativas sobre seu ambiente de forma rápida e eficiente. A aprendizagem social está subjacente à rápida difusão de novas variantes comportamentais, à variação interpopulacional do comportamento e às tradições culturais, em animais (Kendal *et al.*, 2009).

Um estudo recente demonstrou que o nível de atividade de ratos em diádes foi maior que quando testados isoladamente. Ratos em duplas viajaram em velocidades mais altas e em ângulos maiores quando em comparação com seu comportamento sozinhos, o que indica a presença de um componente social na exploração espacial do ambiente (Weiss, Segev & Eilam, 2015). Também foi demonstrado que pares de ratos consanguíneos com o mesmo genótipo ou com genótipo diferente obtiveram memória reforçada no teste de reconhecimento de objetos, enquanto animais treinados individualmente apresentaram menor desempenho na tarefa (Lipina & Roder, 2013).

A familiaridade é um modulador importante no aprendizado social, visto que seres humanos e outros animais são mais prováveis de aprender com indivíduos familiares do que com estranhos (Horn, Range & Huber, 2013). Este fenômeno pode ser observado em outras espécies (Horn, Range & Huber, 2013). Por exemplo, Guppi aprendeu uma rota de natação para alimentos significativamente mais rápido quando o demonstrador era familiar (Swaney *et al.*, 2001).

A dominância é outro aspecto que também influencia no aprendizado. Por exemplo, galinhas aprenderam com maior eficiência com galinhas dominantes do que com galinhas desconhecidas ou subordinadas (Nicole & Pope, 1999). Os recursos disponíveis para um indivíduo são bastante dependentes do seu status. Indivíduos dominantes frequentemente exploram as descobertas de subordinados (Baker *et al.*, 1981; Caraco *et al.*, 1989; Stahlet *et al.*, 2001). Consequentemente, a exploração pode ser desvantajosa para os membros subordinados e, certamente, rentável para os dominantes (Rohwer & Ewald, 1981).

1.4 Contexto Social x Emoção

O ambiente social também tem sido reconhecido como um grande modulador emocional. No entanto, tem sido negligenciado que o contexto social apresenta importância dentro dos aspectos emocionais (Lipina & Roder, 2013).

O impacto do ambiente social foi ilustrado no comportamento de ratos que foram colocados junto a um rato robótico, e que reagiram de forma diferente de acordo com o "estado emocional" do robô, que poderia ser agressivo, amigável ou neutro (Shi *et al.*, 2013).

A expressão "aspecto social da emoção" significa o fato de que quando um animal encontra-se em um determinado estado emocional, isto pode ser percebido por outros indivíduos (principalmente da mesma espécie) e o seu comportamento pode

mudar em resposta a esta percepção (Špinka, 2012). Para Reddy & Trevarthen (2004), não existem emoções trancadas dentro de um indivíduo, e as emoções provocam respostas no sistema nervoso simpático dos demais indivíduos. No entanto, o aspecto social das emoções tem sido pouco abordado em estudos com animais não-humanos, em que a abordagem é direcionada para como as emoções acontecem dentro do animal e como eles as preparam para a sua ação individual (Špinka, 2012).

A maior parte das pesquisas estão focadas nos estados afetivos de valência negativa, tais como dor, medo, ansiedade, tristeza, desamparo, frustração, raiva ou tédio, e sua relação com o sofrimento dos animais (Dawkins, 1990; Janczak, Pedersen & Bakken, 2003; Greiveldinger, Veissier & Boissy, 2011).

Há a hipótese de que as atividades dentro de um grupo formam laços em seu interior, acarretando em uma partilha de emoção e em um estado afetivo que pode, de fato, contribuir para relações sociais positivas, resultando em efeitos benéficos para o bem estar físico e mental dos animais (Galindo, Newberry & Mendl, 2011; Hennessy, Kaiser & Sachser, 2009).

As respostas comportamentais estão sendo estudadas em roedores em alguns contextos, tais como: exploração, aprendizagem, busca de novidade e memória (Blaser & Rayser, 2015).

1.5.1 Memória Episódica

O conceito de memória episódica foi apresentado na década de 1970 pelo cientista Endel Tulving (1972, 1985, 2002) e, ao longo das últimas décadas, vem evoluindo com as descobertas baseadas nos estudos de neurociências (Castro & Gudwin, 2009).

A memória episódica é a capacidade de o ser humano recordar fatos passados, podendo realizar uma “viagem no tempo”, ou seja, a sua capacidade de lembrar os componentes “o quê”, “onde” e “quando” em um único episódio. Para que isto ocorra, faz-se necessário que três condições sejam realizadas: percepção de tempo subjetivo, autoconsciência e consciência autonoética (Tulving, 2002).

O tempo subjetivo refere-se à condição de um indivíduo capaz de diferenciar e conceituar passado, presente e futuro. A autoconsciência (*self*) é relativa à capacidade do indivíduo de se reconhecer como um ser único, diferente do restante do mundo. Por sua vez, a consciência autonoética traduz a capacidade de um indivíduo em se

reconhecer como o mesmo, seja no passado ou no presente e, além disto, ser capaz de planejar o que fará em um futuro próximo ou distante (Tulving, 2002).

Para Tulving (2002), a memória episódica é uma exceção singular fornecida pela capacidade humana de relembrar acontecimentos passados, sendo animais não-humanos incapazes de utilizar esses três critérios fenomenológicos.

Alguns pesquisadores focados em evidências comportamentais para a memória episódica em animais definiram um conjunto de critérios que são considerados importantes para a concepção de paradigmas válidos de memória episódica em animais (Karte-Teke *et al.*, 2006; Griffiths & Clayton, 2001; Pause *et al.*, 2013).

A primeira tarefa utilizada em animais com o objetivo de avaliar a integração desses elementos foi aplicada por Clayton & Dickinson (1998) em pássaros *scrub jays* (corvídeos) submetidos a uma tarefa com intervalo de tempo. O propósito deste estudo foi avaliar se os pássaros eram capazes de recordar onde as sementes ou larvas foram escondidas. Clayton & Dickinson (1998) propuseram que esses animais possuem uma memória similar à episódica, tendo, portanto, habilidades para integrar e lembrar os elementos “o quê, quando e onde” de eventos pessoais, o que pode ser inferido de seu comportamento. Sendo assim, modelos animais de memória episódica têm sido utilizados com sucesso em uma gama de investigações.

1.6 Tarefas de reconhecimento de objetos

Os ratos e camundongos apresentam um comportamento de forrageio por alimento, fazendo com que sempre explorem alguma novidade no ambiente em que se encontram. Os roedores são os animais mais utilizados em pesquisas de memória episódica, principalmente ratos e camundongos, por serem de fácil manutenção, reprodução e manuseio (Ennaceur & Delacour, 1988; Dere *et al.*, 2005; Kart-Teke *et al.*, 2006).

Este comportamento natural de exploração dos roedores levou ao surgimento de vários estudos com o propósito de estudar a memória episódica por meio de tarefas comportamentais de forma associativa e não associativa. Nas tarefas associativas ocorre integração de pelo menos dois dos elementos “o quê” “quando” e “onde”. Nas não-associativas, entretanto, a ênfase da exploração do animal é dada em apenas um desses elementos. Para que seja explorada e concretizada a memória episódica em modelos animais faz-se necessária a integração dos três elementos na mesma tarefa, o que foi

estabelecido em ratos por Kart-Teke *et al.* (2006). Neste trabalho, avaliamos o impacto do ambiente social no desempenho da memória similar à episódica em ratos Wistar.

2. JUSTIFICATIVA

A história evolutiva das espécies sociais, como é o caso do rato Wistar (*Rattus norvergicus*), envolve pressões decorrentes não apenas da dimensão física, mas também da dimensão social. Assim, o comportamento do rato é adaptado para lidar com um ambiente complexo e dinâmico, que inclui os desafios do mundo físico e os indivíduos do grupo como problemas ecologicamente relevantes (Koolhas, Boer & Buwalda, 2005). Entretanto, a maioria dos estudos em neurociência encontra-se focada no comportamento de forma isolada, negligenciando o contexto social e suas contribuições, ou seja, ignorando a própria natureza da espécie. Sabe-se que o contexto social tem sua relevância e é capaz de modular e modificar habilidades cognitivas e emocionais. Isto ocorre, muitas vezes, simplesmente na experiência do contato com o outro ser, gerando diversas respostas (Adolphs, 2009). Uma das habilidades cognitivas que recebe atenção da neurociência é, indubitavelmente, a memória. Segundo a perspectiva da neurociência comportamental, o estudo da cognição e sua maquinaria neural subjacente é a base para o entendimento de patologias oriundas do sistema nervoso (Szechtman & Eilam, 2005).

Neste trabalho, pretendemos demonstrar a contribuição do contexto social como facilitador no desempenho de tarefas de memória episódica. Por meio desta confirmação, pretendemos fornecer mais informações ao estudo da memória episódica dentro de uma perspectiva social, contribuindo para medidas terapêuticas sociais, de baixo custo e fácil aplicação. Ademais, não há na literatura registros de estudos com a formação da memória similar à episódica utilizando-se o intervalo de 24 horas, sendo este protocolo também inédito para o nosso laboratório. Assim, o presente estudo pretende demonstrar a facilitação social na aquisição e retenção de informações utilizadas pelos animais no âmbito da tarefa de memória similar à episódica.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a contribuição do contexto social na memória similar à episódica em ratos Wistar.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Verificar se a presença de um indivíduo do grupo social afeta o desempenho dos ratos Wistar em uma tarefa de memória similar à episódica, por meio da utilização de um intervalo maior do que o comumente aplicado entre a codificação e a evocação;
- b) Verificar se a presença de um indivíduo do grupo social influencia no padrão de exploração apresentado pelos ratos Wistar em uma tarefa de memória similar à episódica;
- c) Verificar o efeito da hierarquia social no desempenho dos ratos Wistar em uma tarefa de memória similar à episódica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 26 ratos Wistar machos (divididos em 3 grupos), com idade entre três e quatro meses, pesando entre 240 e 365g, e mantidos em uma sala com temperatura controlada ($24 \pm 1^\circ\text{C}$). Os ratos foram alojados em gaiolas plásticas que medem 30 cm de comprimento x 37 cm de largura e 16 cm de altura, em grupos de três ou quatro por gaiola. Os animais foram submetidos a um ciclo claro-escuro de 12:12 h (com luzes acesas às 06:00h) e todas as tarefas foram realizadas na fase clara do ciclo, entre 11 h e 17 h. A luminosidade média durante a realização dos procedimentos experimentais foi de 11lux. Água e comida foram fornecidas *ad libitum*. Os animais foram fornecidos pelo o Biotério Prof. Dr. Thomas George da Universidade Federal da Paraíba, e todos os protocolos foram tratados de acordo com os princípios éticos e regidos pela Lei Arouca do uso de animais em pesquisa (nº 11.794/08), que buscam, sobretudo, o não sofrimento. A presente pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA – da Universidade Federal da Paraíba (CEUA Nº 092/2015).

4.2 Delineamento experimental

Os procedimentos experimentais tiveram duração de dez dias (**Figura 1C**). Após completar os três meses de idade, todos os animais passaram pelo protocolo de manipulação, que os mantinha em contato com o experimentador por 15 minutos, durante cinco dias. Nos três dias seguintes, passaram por habituações ao campo aberto, em sessões diárias de 10 minutos. Nas sessões de habituação, os ratos foram expostos a uma arena circular, medindo 60 cm de diâmetro e 40 cm de altura, com pistas proximais localizadas em quatro pontos das paredes da arena (**Figura 1A**) e pistas distais localizadas na parede da sala, como representado na **Figura 1B**. Essas pistas foram mantidas durante todo o experimento. Todas as sessões foram gravadas por meio de uma webcam (modelo C270 HD, Logitech) com o software Debut. Os vídeos foram posteriormente analisados pelo software de rastreamento, o Ethowatcher (UFSC, Brasil).

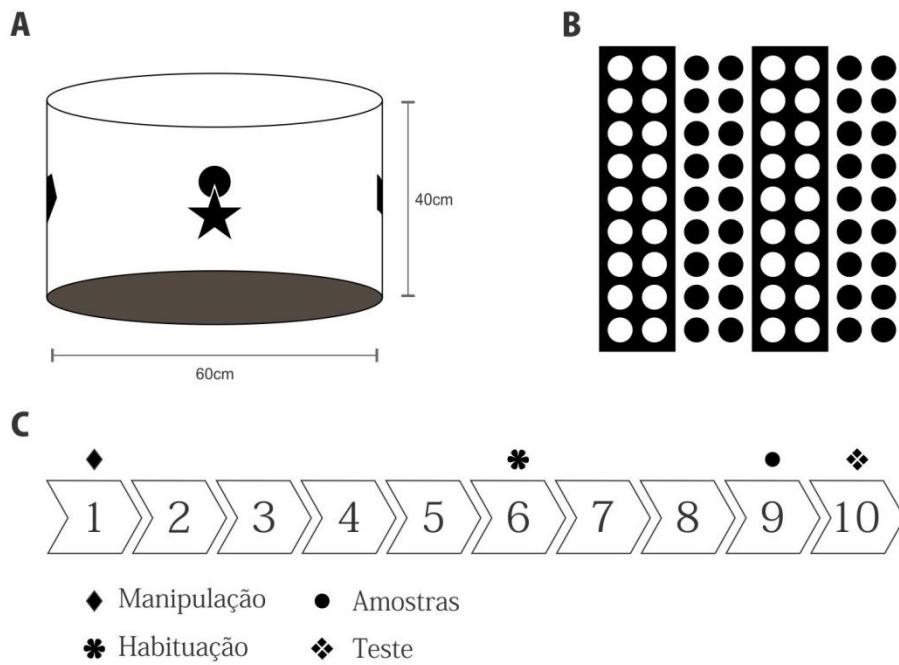


Figura 1. (A) Campo aberto circular com pistas proximais. (B) Uma das pistas distais dispostas nas paredes da sala de experimentos. (C) Esquema ilustrativo da tarefa comportamental de memória similar à episódica.

Foram utilizados quatro modelos de objetos no experimento, com quatro cópias cada, sendo todos os modelos do mesmo material (plástico), com textura, cores e formas diferentes, como mostrado na **Figura 2**. Os objetos mediam de (5 a 15 cm) de altura, largura de (5 a 10 cm), cor (vermelho, amarelo e rosa), textura (rugosa, lisa e áspera) e forma. Ao final de cada sessão, os objetos eram limpos com álcool (05%).



Figura 2. Cópias dos quatros objetos utilizados nas sessões de amostras e teste.

4.2.1 Descrição dos grupos

Os animais foram divididos em três grupos: controle ($n=9$), experimental unitário ($n=8$) e experimental díade ($n=8$). Esses animais não apresentavam grau de parentesco entre eles. Os mesmos foram alojados 15 dias antes do experimento para uma adaptação social e de forma a garantir a interação das duplas dos grupos experimental unitário e experimental díade.

Cada grupo realizou a tarefa de maneira distinta. O grupo controle passou pelos processos de habituação, treinos e teste, sempre individualmente; o grupo experimental unitário passou pelos processos de habituação em díade e amostras e teste individualmente; o grupo experimental díade passou pelos processos de habituação, amostras e teste, sempre em díade.

4.2.2 Teste de dominância

Antes de iniciar a habituação, as duplas formadas pelos grupos experimental unitário e experimental díade passaram pelo teste de dominância de tubo, a fim de averiguar o animal dominante e o submisso. Durante o teste, cada dupla foi colocada nas extremidades opostas do tubo; devido à largura do tubo, os ratos não puderam passar um ao lado do outro. O rato dominante fez o rato submisso sair do tubo; quando um animal apresentou as quatro patas fora do tubo, foi declarado o submisso, e o animal que permaneceu dentro do tubo foi declarado o dominate, determinando a hierarquia social (Fei Wan *et al.*, 2014).

4.2.3 Tarefa de memória similar à episódica

A tarefa foi adaptada da tarefa de memória do tipo episódica desenvolvida por Kart-Teke *et al.* (2006). É importante destacar que o nosso protocolo replicou a tarefa episódica de Kart-Teke *et al.* (2006), com modificações. O intervalo de tempo utilizado entre os treinos e teste foi modificado de 50 minutos para 24 horas. A tarefa é composta por duas amostras e um teste, sendo desenvolvida em um campo aberto circular, com duração de cinco minutos. Na primeira amostra, foram dispostos quatro objetos iguais (A) e após 1 hora de intervalo foi feita a segunda amostra com quatro objetos diferentes (B). Destes, dois se mantiveram em coordenadas espaciais já ocupadas por objetos As e dois foram localizados em coordenadas espaciais diferentes. Na sessão de teste, 24 horas após a segunda amostra, o animal foi colocado no campo aberto com quatro objetos, todos já apresentados, sendo dois recentes (B) e dois antigos (A) e, entre eles, dois foram deslocados (A2 e B2) e dois mantidos em posições estacionárias (A1 e B1), conforme apresentado na (Figura 3). A tarefa avalia os critérios comportamentais “o quê”, “quando” e “onde” por meio da característica natural dos roedores de detectar novidade em protocolos associativos que excluem a possibilidade da exploração dissociada entre os três aspectos (Gilbert, Kesner & Lee, 2001; Kart-Teke *et al.*, 2006).

O padrão de exploração apresentado pelos animais é de explorar mais o objeto “A1” do que o “B1” e, mais o objeto “B2” do que o “B1” (Kart-Teke *et al.*, 2006; Inostroza *et al.*, 2013), demonstrando padrões das tarefas não associativas para “quando” e “onde” respectivamente. Pode-se demonstrar uma memória similar à episódica somando estes dois padrões ao padrão de “A1>A2”, onde ocorre integração da memória para “o quê”, “onde” (“B2>B1”) e “quando” (“A1>B1”). Foi considerada exploração quando o animal direcionou o focinho ao objeto, no mínimo 02 cm e, o

animal apresentou interesse em explorar o objeto. Não se considerou exploração a aproximação do animal ao objeto sem um foco visual ou seu apoio no objeto para explorar o ambiente.

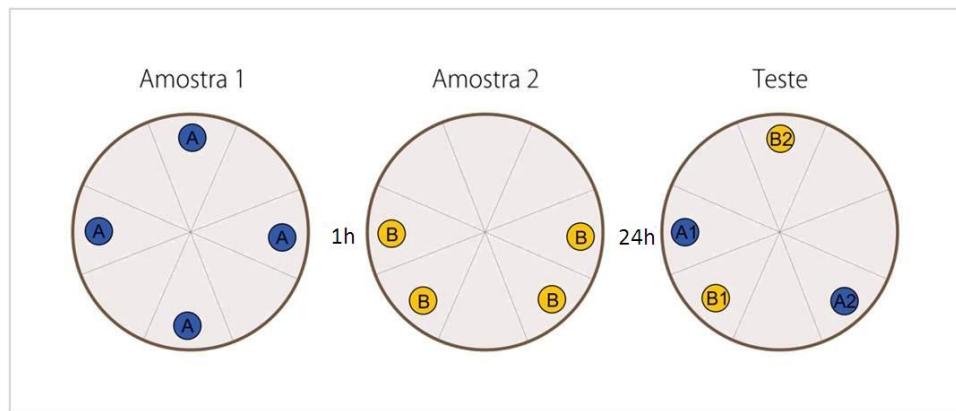


Figura 3. Esquema ilustrativo da tarefa comportamental de memória similar à episódica.

Para cada objeto foram calculadas uma taxa de exploração e um índice de discriminação de objetos. A taxa de exploração é uma medida que mostra a exploração de um objeto em relação à exploração de todos os objetos somados, enquanto a discriminação é uma medida que demonstra quanto um objeto foi explorado em relação ao outro. A primeira gera um valor entre 0 e 1 e a segunda um valor entre -1 e 1, onde um valor negativo significa que a variável escolhida para a comparação foi menos explorada do que a variável subtraída. A figura ilustra como as duas medidas são construídas:

Taxa de exploração	Índice de discriminação
$\frac{X}{X + Y + Z + W}$	$\frac{X - Y}{X + Y}$
Valor entre 0 e 1	Valor entre -1 e 1 O valor do acaso é 0

Figura 4. Ilustração da construção das medidas de taxa de exploração e índice de discriminação.

5. RESULTADOS

5.1 Índices de discriminação

Para os índices de discriminação comparamos os resultados através de uma ANOVA [3x3] de medidas repetidas e os dados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*, uma vez que não foi evidenciada esfericidade. Foi encontrado efeito principal para os grupos [$F(2) = 4,361, p = 0,025; \eta^2 = 0,284$] e para os índices [$F(2,44) = 7,922, p = 0,003, \eta^2 = 0,20$], sendo encontrada uma tendência para interação entre ambos [$F(2,44) = 0,608, p = 0,068, \eta^2 = 0,192$].

Também comparamos os resultados dos índices de discriminação em relação ao acaso com um teste *t* de uma amostra. O grupo experimental díade apresentou resultados estatisticamente significativos para os três aspectos: temporal [$t(7) = 2,798, p = 0,043; dz = 0.87$]; espacial [$t(7) = 2,498, p = 0,041; dz = 0.87$] e integração [$t(7) = 2,697, p = 0,031; dz = 0.76$]. O grupo experimental unitário apresentou resultados estatisticamente apenas para dois aspectos: o espacial [$t(7) = -3,703, p = 0,008; dz = 1.33$] ; integração [$t(7) = -3,900, p = 0,006; dz = 1.39$]; e não para o temporal [$t(7) = -0,569, p = 0,587; dz = 0.19$]. O grupo controle apresentou apenas para o aspecto de integração; [$t(8) = -0,743, p = 0,048; dz = 0.77$] e não para o espacial e temporal [$t(8) = -0,743, p = 0,478; dz = 0.87$]; t [$t(8) = -0,656, p = 0,530; dz = 0.21$]. Apenas o grupo experimental apresentou memória similar à episódica integrando os três componentes (“o quê-quando-onde”). A figura a seguir ilustra os resultados:

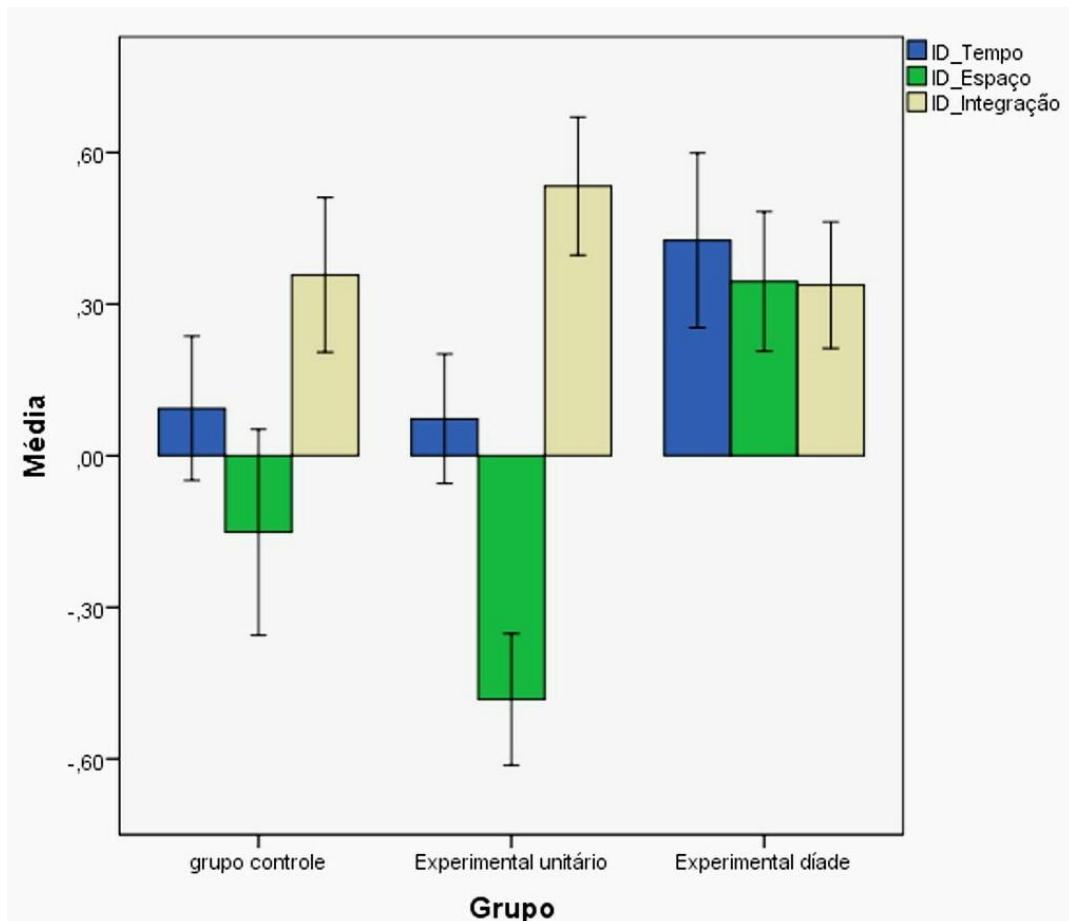


Figura 5. Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle, experimental unitário e experimental díade. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

5.2 Tempo total de exploração

O tempo total de exploração dos objetos ao longo das sessões e os grupos foram analisados utilizando-se ANOVA [3x3], e os resultados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*. Foram encontrados resultados estatisticamente significativos para o efeito principal de grupo [$F(2, 44) = 4,710$; $p = 0,020$; $\eta^2 = 0,300$] e para as sessões [$F(2, 44) = 14,276$; $p = 0,00$; $\eta^2 = 0,394$], mas não para interação entre “sessão x grupo” [$F(4, 44) = 1,124$; $p = 0,357$; $\eta^2 = 0,093$]. De acordo com o *post hoc* de Sidak, o grupo experimental díade teve um tempo total maior de exploração dos objetos quando comparado ao grupo controle [$p = 0,024$]. Também foi evidenciado um tempo menor de exploração dos objetos na sessão de teste quando comparado com a amostra 1 e amostra 2 [$p = 0,00$; $p = 0,006$; respectivamente]. A figura a seguir ilustra os resultados encontrados para o tempo total de exploração:

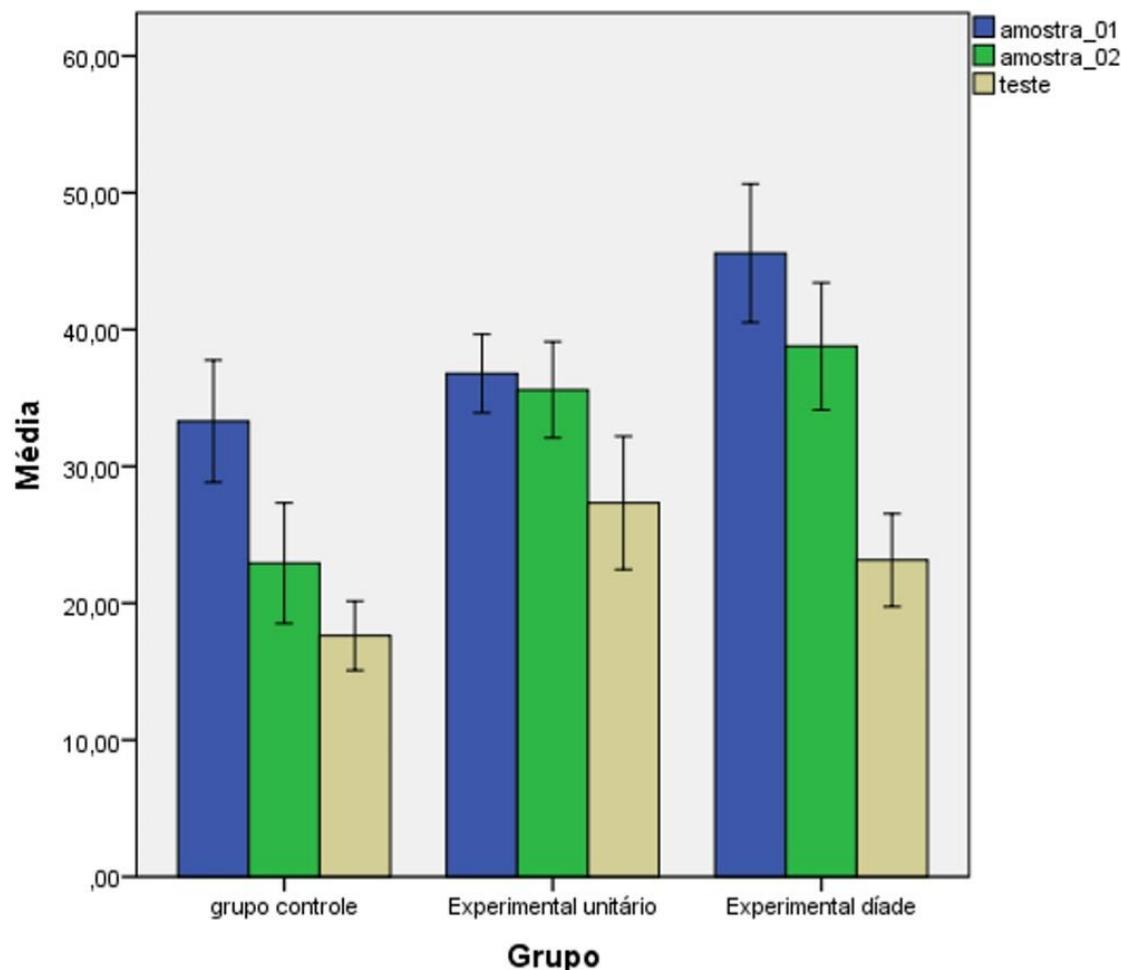


Figura 6. Tempo total de exploração para as sessões de amostra 1, amostra 2 e teste comparado entre os dois grupos. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

5.3 Hierarquia Social

A hierarquia social foi analisada nos grupos experimental unitário e diáde, a fim de averiguar o comportamento de dominância e submissão comparados ao tempo total de exploração (sessões de amostras e teste) e índices de discriminação (teste).

5.3.1 Hierarquia Social x Tempo Total de Exploração

Para análise utilizou-se ANOVA [3x2] e os resultados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*. Foi encontrado resultado estatisticamente significativo para sessão [$F(2,28): 7,923; p=0,002; \eta^2p= 0,361$], mas não para efeito principal de grupo [$F(1): 0,809; p = 0,384; \eta^2p= 0,005$], assim como para a interação “sessões x hierarquia [$F(2,28): 0,069 p = 0,927; \eta^2p= 0,055$]. De acordo com o *post hoc* de Sidak, *foi* encontrada diferença estatisticamente significante quando comparado a sessão de teste

comparado com a amostra 1 e amostra 2 [$p=0,011$; $p=0,024$; respectivamente]. A síntese dos dados pode ser vista na **Figura 7**.

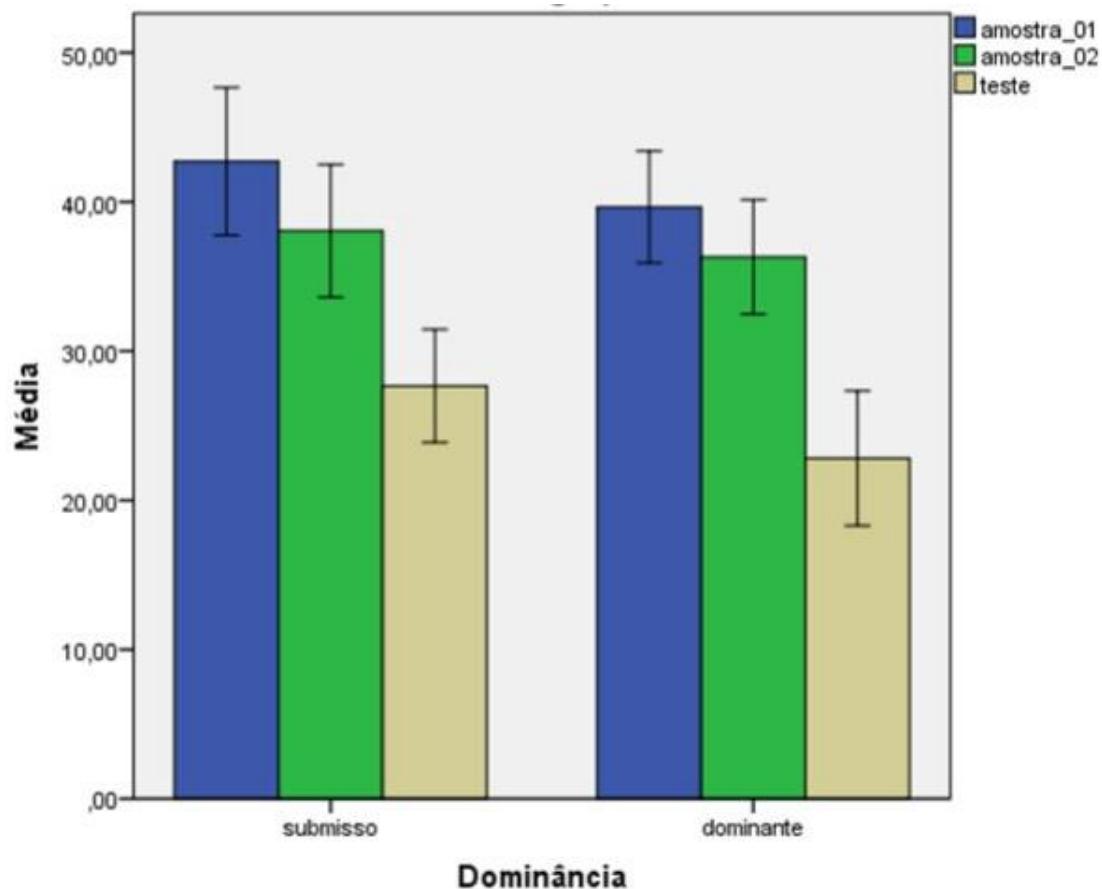


Figura 7. Sessão de amostra 1, amostra 2 e teste para os grupos experimental unitário e experimental díade. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

5.3.2 Hierarquia Social x Índices de Discriminação

Para análise utilizou-se ANOVA [3x2] e os resultados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*. Foi encontrado resultado estatisticamente significativo para índices [$F(2,28): 4,727$; $p=0,029$; ; $\eta^2 = 0,252$], mas não para efeito principal de grupo [$F(2,28): 0,179$; $p = 0,772$; ; $\eta^2 = 0,092$], assim como para a interação “sessões x hierarquia [$F(1,14): 1,423$; $p = 0,253$; ; $\eta^2 = 0,013$]. Para hierarquia de dominância foi encontrado resultado estatisticamente significativo apenas para o índice de integração [$t(7) = 2,561$; $p = 0,038$; $dz = 0,918$] e não para os índices de espaço e tempo: [$t(7) = -0,528$; $p = 0,614$; $dz = 0,169$]; [$t(7) = -0,830$; $p = 0,434$; $dz = 0,292$]. Nos resultados encontrados para a hierarquia de submissão, também foi encontrado um resultado

significativo para o índice de integração: $[t(7) = 4,083; p = 0,005; dz = 1.444]$, uma tendência para o índice de tempo: $[t(7) = 2,213; p = 0,063; dz = 0.770]$ e não foi encontrado um resultado significativo para o índice de espaço: $[t(7) = -0,172; p = 0,868; dz = 0.048]$. A síntese dos dados pode ser vista na **Figura 8**.

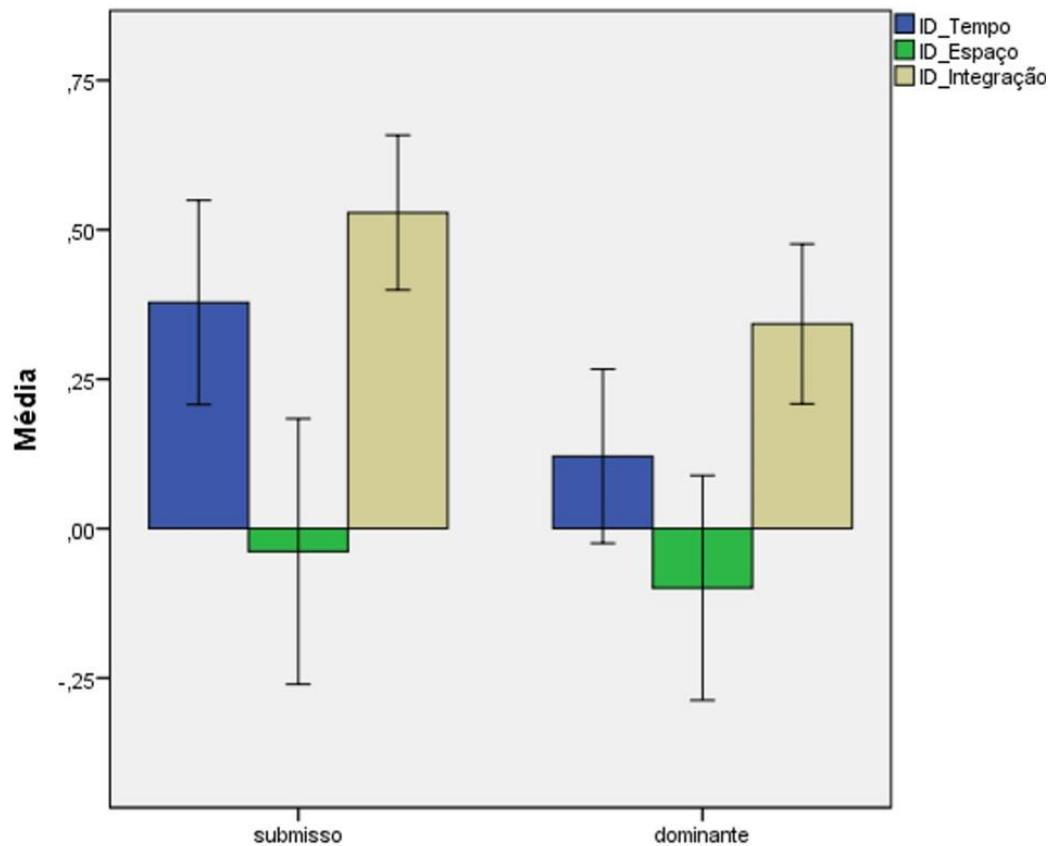


Figura 8. Hierarquia social para os índices de discriminação na sessão de teste para os grupos experimental unitário e experimental díade. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo verificou a contribuição do contexto social na memória similar à episódica em ratos Wistar, em uma tarefa adaptada de memória similar à episódica integrativa criada por Kart-Teke e colaboradores (Kart-teke *et al.*, 2006; Binder *et al.*, 2015). Esta tarefa depende da exploração de objetos e do reconhecimento da novidade, comportamento inerente a roedores (Ennaceur & Delacour, 1988), ela possibilita a análise de três padrões de exploração: o padrão espacial (associação de “o quê” e “onde”), o temporal (associação de “o quê” e “quando”) e o integrativo (associação de todos os aspectos). Nos nossos resultados verificou-se que os animais do grupo experimental díade que realizaram a tarefa em dupla integraram os três componentes episódicos. Para a análise comportamental, avaliamos o desempenho dos animais em relação ao índice de discriminação, tempo total de exploração dos objetos e a hierarquia social.

6.1 Índices de discriminação

O desempenho dos animais em relação ao índice de discriminação é realizado com uma comparação entre um objeto e outro e, pode ser utilizada devido à expectativa de um padrão de exploração específico atribuído aos objetos, onde o objeto antigo não deslocado deve ser mais explorado que o recente não deslocado (padrão temporal, A1>B1), o objeto recente deslocado deve ser mais explorado que o recente não deslocado (padrão espacial, B2>B1) e o objeto antigo não deslocado deve ser mais explorado que o objeto antigo deslocado (padrão integrativo, A1>A2). É importante destacar que o nosso protocolo replicou a tarefa episódica de Kart-Teke *et al.* (2006), com modificações. O intervalo de tempo utilizado entre os treinos e teste foi modificado de 50 minutos para 24 horas. Até então, não foram encontrados estudos que se utilizaram da tarefa e obtiveram sucesso com intervalo entre sessões e teste maior que uma hora, incluindo estudos do nosso laboratório, que foram realizados com intervalo de 24h entre a sessão e o teste (dados não publicados).

Os animais do grupo experimental díade integraram no intervalo de 24h os critérios comportamentais episódicos com diferenças estatisticamente significativas para o índice de discriminação, quando comparados ao grupo controle e ao grupo experimental unitário, em todas as medidas.

Um estudo anterior demonstrou que a interação social durante a exploração de objetos deslocados facilitou a exploração desses objetos em camundongos, quando treinados em duplas em relação aos treinados individualmente, resultando em uma melhora no componente espacial da memória similar à episódica. Esse mesmo estudo supõe que a aprendizagem social pode reduzir o nível de corticosterona e melhorar a memória similar à episódica (Lipina & Roder, 2013). Também foi descrita uma facilitação social de exploração em corvos (*Corvus corax*), os quais mostraram maior interesse em um novo objeto quando testado em diádes no que se refere ao comportamento em relação aos testados individualmente, independente se estavam com um familiar ou não (Stöwe *et al.*, 2006).

De fato, existe uma mudança na atividade e na exploração quando ratos são introduzidos em um ambiente dentro de um contexto social, em comparação com animais individuais, visto claramente que o resultado encontrado em nosso estudo trata-se de um achado do contexto social e não de um produto de repetições, uma vez que o grupo controle e o grupo experimental unitário que realizaram o teste individualmente não fizeram integração dos critérios comportamentais episódicos. Destarte, podemos deduzir uma importância do ambiente social na formação da memória similar à episódica.

6.2 Tempo total de exploração

Para o tempo total de exploração foram encontrados resultados estatisticamente significativos para grupos e sessões, com diferenças nas comparações entre o grupo experimental diáde e o grupo controle e entre o teste e as amostras. O grupo experimental diáde apresentou maior tempo de exploração em comparação ao grupo controle; e os três grupos, controle, experimental unitário e experimental diáde apresentaram um maior tempo de exploração nas sessões das amostras e um menor tempo de exploração na sessão do teste.

Alguns estudos corroboram com o nosso resultado encontrado para o grupo experimental diáde como Lipina & Roder (2013) relataram que camundongos foram mais ativos e viajaram mais rápido quando comparados ao seu comportamento individual e que o *rearing*, comportamento de parâmetro de exploração em roedores, foi significativamente aumentado em camundongos habituados a um parceiro familiar. Um estudo também demonstrou que as atividades dos ratos em diádes foram maiores do que

a dos mesmos ratos quando testado sozinhos, mudanças incluíram maior nível de atividade, maior velocidade e maiores ângulos de viagem. Quando testado individualmente, os ratos tendiam a viajar em apenas uma direção (Weiss, Segev & Eilam, 2015).

Um aumento na atividade de exploração foi verificado em girinos do sapo comum (*Bufo bufo*), que apresentaram maior atividade quando comparados aos indivíduos isolados (Griffiths & Foster, 1998). Esse aumento também foi encontrado em ratos, na presença de um congênito (Hughes, 1969; Meaney & Stewart 1979; Beck & Chow, 1984). O impacto do ambiente social também foi revelado em camundongos (*Mus musculus domesticus*), visto que influências ambientais e sociais foram tão importantes quanto a genética na determinação do comportamento de locomoção (Lathe, 2004). Desse modo, todos esses estudos juntamente com os nossos achados indicam que o comportamento social apresenta um fator importante no comportamento exploratório. Um fator que pode estar implicado com a melhor performance na memória similar à episódica dos animais do grupo experimental díade é que a facilitação social foi capaz de alterar o [estado motivacional](#), refletindo nas [habilidades cognitivas dos indivíduos e possivelmente uma diminuição da neofobia](#), indicando que a [presença de um co-específico em uma situação de novidade teve alguns efeitos de facilitação](#). Estes achados também foram verificados em outros estudos (Galef, 1996; Galef & Whiskin, 2001). As fortes tendências cooperativas na partilha de riscos numa situação incerta pode ser uma forma de cooperação, podendo facilitar a exploração de novos objetos (Moretti, 2015), visto que foram encontrados efeitos de facilitação significativos para a manipulação dos objetos nas condições de díade. Alguns estudos demonstraram que ratos são capazes de exibir vários tipos de reciprocidade (Rutte *et al.*, 2007; Dolivo, *et al.*, 2015) até mesmo empatia (Ben-Ami Bartal, Decety, 2011; Sato, Tan & Tate, 2015) o que supõe que esse achado é um indicativo importante de cooperação em ratos.

Além do contexto social, outro aspecto que pode alterar a exploração é a experiência, a exposição repetida ao mesmo objeto, pode reduzir as latências de aproximação, visto que o indivíduo se torna mais familiarizado com o objeto (Heinrich, Marzluff & Adams, 1995). Essa redução também acontece para a duração da exploração após o objeto ser totalmente explorado (Mettke, 2006). Estes achados estão de acordo

com o nosso estudo que apresentou uma diminuição no tempo total de exploração para os três grupos testados, o que pode ser um indicativo de familiaridade.

6.3 Hierarquia Social

A hierarquia é um fenômeno universal entre animais sociais (Fei Wang *et al.*, 2014). O teste do tubo foi desenvolvido como um paradigma para avaliar a dominância em roedores de laboratório. O animal que força consistentemente o adversário a retirar-se é marcado como o dominante do par (Lindzey *et al.*, 1961; Fei Wang *et al.*, 2014).

A hierarquia social foi analisada nos grupos experimental unitário e díade, a fim de averiguar o comportamento de dominância e submissão durante as sessões de amostra e teste. Foi encontrado resultado estatisticamente significativo para a sessão, mas não para o efeito principal de hierarquia, assim como para a interação “sessões x hierarquia”. Supõe-se que o resultado encontrado para o efeito de sessão no nosso estudo justifica-se pelo fato de o teste de dominância ter sido realizado antes da primeira sessão de habituação. Sabe-se que a dominância é um processo que pode ser estável ou não, dependendo de alterações no plano físico ou comportamental dos membros do grupo (Barnard & Burk, 1979), como a presença de objetos que pode desestabilizar a hierarquia social, por serem visto como um recurso que precisa ser defendido (Fei Wang *et al.*, 2014). Outro fator que pode ter influenciado este resultado é o mesmo encontrado para a tempo total de exploração, isto é, um indicativo de familiaridade e por isso uma diferença durante as sessões de amostra e o teste.

Desta maneira, nossos dados indicam uma possível contribuição do contexto social na formação da memória similar à episódica em ratos Wistar, dentro de um intervalo de 24h, verificada por meio da adaptação de uma tarefa depende da exploração de objetos e do reconhecimento da novidade (Kart-teke *et al.*, 2006; Binder *et al.*, 2015). Logo, nosso estudo pode contribuir para pesquisas da memória similar à episódica, que parece ter o contexto social como um fator importante nos processos mnemônicos.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados, podemos considerar que ratos Wistar em um contexto social são capazes de acessar a memória similar à episódica com caráter temporal. A realização da tarefa com os ratos em dupla parece ter importância para que os mesmos acessem a memória similar à episódica após um intervalo de 24h. Relatos encontrados em nosso laboratório com dados não publicados já haviam demonstrado que ratos que realizaram essa tarefa individualmente com esse intervalo de 24h não conseguiram realizar a integração dos aspectos “o quê”, “quando” e “onde”. O presente trabalho está em consonância com a tendência atual no campo da neurociência de se conduzir desenhos experimentais que venham a encorajar a emergência de comportamentos análogos ao comportamento natural das espécies utilizadas como modelos animais.

8. REFERÊNCIAS

- Adolphs, R. (2009). The Social Brain: Neural Basis of Social Knowledge. *Annual Review of Psychology*, 60, 693-716.
- Apfelbeck, B.; & Raess, M. (2008). Behavioural and hormonal effects of social isolation and neophobia in a gregarious bird species, the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Hormones and Behavior*, 54 (3), 435-441
- Baker, M.C.; Belcher, C.S.; Deutsch, L.C.; Sherman, G.L.; & Thompson, D.B. (1981). Foraging success in junco flocks and the effects of social hierarchy. *Animal Behaviour*, 29, 137-142.
- Barnard, C. J.; & Burk, T. (1979). Dominance hierarchies and the evolution of individual recognition. *Journal of Theoretical Biology*, 81 (1), 65-73.
- Barnett, S.A. (1958). Experiments on neophobia in wild and laboratory rats. *British Journal of Psychology*, 49 (3), 195-201.
- Bartolomucci A., Palanza P., Sacerdote P., Ceresini G., Chirieleison A., Panerai A. et al. (2003). Individual housing induces altered immunoendocrine responses to psychological stress in male mice. *Psychoneuroendocrinology*, 28 (4), 540-558.
- Beauchamp, G. (1998). The effect of group size on mean food intake rate in birds. *Biological Reviews*, 73 (4), 449-472.
- Beck, C.H.M; & Chow. H.L. (1984). Solitary and social behavior of male rats in the open-field. *Physiology & Behavior*, 32 (6), 941-944.
- Ben-Ami Bartal, I.; Decety, J.; Mason, P. (2011). Empathy and pro-social behaviour in rats. *Science*, 334, 1427-30.
- Binder, S.; Dere, E.; & Zlomuzica, A. (2015). A critical appraisal of the what-where-when episodic-like memory test in rodents: Achievements, caveats and future directions. *Progress in Neurobiology*, 130, 71-85.
- Blaser R; Heyser, C. (2015). Spontaneous object recognition: a promising approach to the comparative study of memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 183.
- Brown, M.F. (2011). Social influences on rat spatial choice. *Comparative Cognition & Behavior Reviews*, 6, 5-23.
- Caraco, T.; Barkan, C.; Beacham, J.L.; Brisbin, L.; Lima, S.; Mohan, A., et al. (1989). Dominance and social foraging: a laboratory study. *Animal Behaviour*, 38, 41-58.
- Castro, E.C., & Gudwin, R.B. (2009). Memória Episódica em Sistemas Cognitivos. In: II EADCA - Segundo Encontro dos Alunos e Docentes do Departamento de Engenharia de Computação e Automação Industrial. Disponível em: http://www.dca.unicamp.br/portugues/pesquisa/seminarios/2009/artigos/castro_gudwin.pdf
- Clark, C. W.; & Mangel, M. (1984). Foraging and flocking strategies: information in an uncertain environment. *The American Naturalist*, 123 (5), 626-641.

- Clark, C.W.; & Mangel, M. (1984). Foraging and flocking strategies: information in an uncertain environment. *The American Naturalist*, 123 (5), 626-641.
- Coleman, S.L.; & Mellgren, R.L. (1994). Neophobia when feeding alone or in flocks in zebra finches, *Taeniopygia guttata*. *Animal Behaviour*, 48 (4), 903-907.
- Cowan, P.E. (1977). Neophobia and neophilia: new-object and new-place reactions of three *Rattus* species. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 91 (1), 63-71.
- Dawkins, M.S. (1990). From an animal's point of view—motivation, fitness, and animal welfare. *Behavioral and Brain Sciences*, 13(1), 1-9.
- Day, J.J.; Jones, J.L.; Wightman, R.M.; & Carelli, R.M. (2010). Phasic Nucleus Accumbens Dopamine Release Encodes Effort- and Delay-Related Costs. *Biological Psychiatry*, 68 (3), 306-309.
- Dere, E., Huston, J. P., & Silva M.A.S. (2005). Episodic-like memory in mice: Simultaneous assessment of object, place and temporal order memory. *Brain Research Protocols*, 16(1-3), 10-19.
- Dolivo, V.; Taborsky, M. (2015). Norway rats reciprocate help according to the quality of help they received. *Biology Letters*, 11 (2), 20140959.
- Eichenbaum, H. (2000). A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews. Neuroscience*, 1 (1), 41-50.
- Eichenbaum, H. (2004). Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. *Neuron*, 44 (1), 109-120.
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. *Behavioural Brain Research*, 31(1), 47-59.
- Fei Wang, Kessels, H.W., & Hailan. The mouse that roared: neural mechanisms of social hierarchy. *Trends in Neurosciences*, 37 (11), 674-682.
- Galef Jr, B. G. (1996). Social Learning. In: Social Learning in Animals, pp. 3-15.
- Galindo F., Newberry R.C., & Mendl, M. (2011). Social conditions. In Appleby, M.C., Mench, J.A., Olsson, I.A.S., Hughes, B.O. 2. ed.. *Animal welfare*, pp. 228-245, Cambridge: CABI.
- Gallistel, C. R. (1990). The Organization of Learning. Cambridge, MA. MIT Press.
- Gariépy J.-F., Watson K. K., Du E., Xie D. L., Erb J., Amasino D., et al. . (2014). Social learning in humans and other animals. *Frontiers in Neuroscience*, 8, 58. Doi: 10.3389/fnins.2014.00058
- Gilbert, P.E., Kesner, R.P., & Lee, I. (2001). Dissociating hippocampal subregions: double dissociation between dentate gyrus and CA1. *Hippocampus*, 11(6), 626-636.
- Giraldeau, L.A. (1997). The ecology of information use. In: Krebs JR, Davis NB, editors. *Behavioural ecology: an evolutionary approach*. Oxford. Blackwell Scientific Publications.

- Giraldeau, L.A.; Caraco, T.; & Valone, T. (1994). Social foraging: individual learning and cultural transmission of innovations. *Behavioral Ecology*, 5 (1), 35-43.
- Greenberg, R.; & Mettke-Hofmann, C. (2001). Ecological aspects of neophobia and neophilia in birds. *Current ornithology*, 16, 119-178.
- Greiveldinger, L., Veissier, I., & Boissy, A. (2011). The ability of lambs to form expectations and the emotional consequences of a discrepancy from their expectations. *Psychoneuroendocrinology*, 36(6), 806-815.
- Griffiths, D.P., & Clayton, N.S. (2001). Testing episodic memory in animals: A new approach. *Physiology and Behavior*, 73(5), 755-762.
- Griffiths, R.A.; & Foster, J.P. (1998). The effect of social interactions on tadpole activity and growth in the British anuran amphibians (*Bufo bufo*, *B. calamita*, and *Rana temporaria*). *Journal of Zoology*, 245 (4), 431-437.
- Hasson, U., Ghazanfar, A.A., Galantucci, B., Garrod, S., & Keysers, C. (2012). Brain-to-brain coupling: a mechanism for creating and sharing a social world. *Trends in Cognitive Sciences*, 16(2), 114-121.
- Heinrich, B. (1995). Neophilia and exploration in juvenile common ravens, *Corvus corax*. *Animal Behavior*, 50 (3), 695-704.
- Heinrich, B.; Marzluff, J.; & Adams, W. (1995). Fear and food recognition in naive common ravens. *The Auk*, 112 (2), 499-503.
- Hennessy, M.B., Kaiser, S., & Sachser, N. (2009). Social buffering of the stress response: diversity, mechanisms, and functions. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30(4), 470-482.
- Horn, L.; Range, F.; Huber, L. (2013). Dogs' attention towards humans depends on their relationship, not only on social familiarity. *Animal Cognition*, 16 (3), 435-443.
- Hughes, R.N. (1969). Social facilitation of locomotion and exploration in rats. *British Journal of Psychology*, 60 (3), 385-388.
- Inostroza, M.; Brotons-Mas, J. R.; Laurent, F.; Cid, E.; & de la Prida, L. M. (2013). Specific impairment of "what-where-when" episodic-like memory in experimental models of temporal lobe epilepsy. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33 (45), 17749-17762.
- Izquierdo, I. (2011). Memória. Porto Alegre, Brasil: Artmed.
- Janczak, A.M., Pedersen, L.J., & Bakken, M. (2003). Aggression, fearfulness and coping styles in female pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, 81(1), 13-28.
- Jeffery, K. J. (2003). *The Neurobiology of Spatial Behavior*. Oxford. Oxford University Press.
- Kart-Teke, E., De Souza Silva, M.A., Huston, J.P., & Dere, E. (2006). Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences. *Neurobiology of Learning and Memory*, 859(2), 173-182.

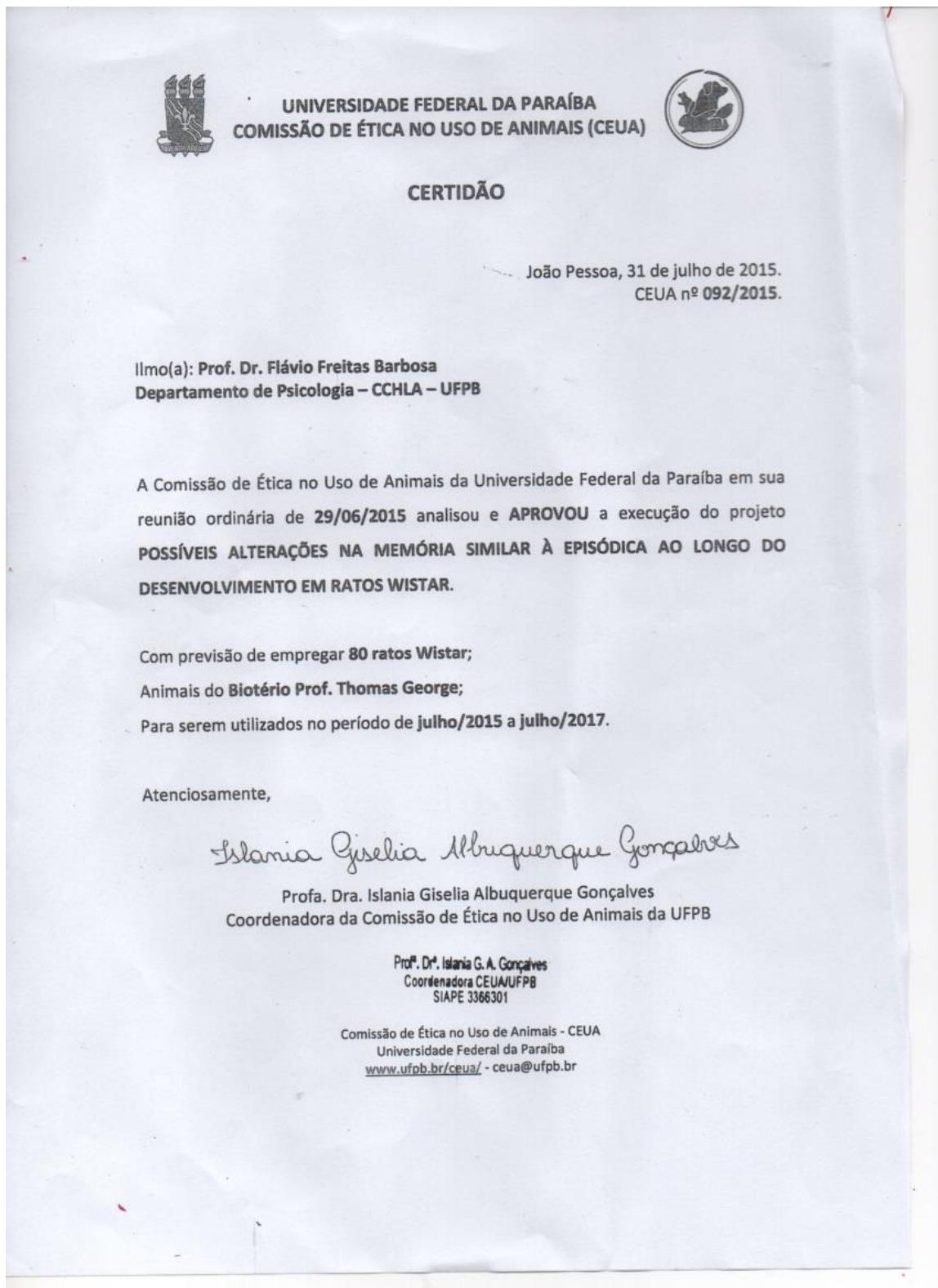
- Kendal, R.L.; Kendal, J.R.; Hoppitt, W.; & Laland, K.N. (2009). Identifying social learning in animal populations: a new 'option-bias' method. *PLoS One*, 4 (8), e6541. doi: 10.1371/journal.pone.0006541.
- Koolhaas, J.M.; Boer, S.F.; & Buwalda, B. (2005). *Stress*. In: The behavior of the laboratory rats. A handbook with tests. Oxford University Press. doi: 10.1093/acprof:oso/9780195162851.001.0001.
- Krebs, J. R.; MacRoberts, M. H.; & Cullen, J. M. (1972). Flocking and feeding in the great tit *parus major* – an experimental study. *Ibis*, 114 (4), 507-530.
- Lathe, R. (2004). The individuality of mice. *Genes, Brain and Behavior*, 3 (6), 317-327.
- Lindzey, G.; Winston, H.; & Manosevitz, M. (1961). Social dominance in inbred mouse strains. *Nature*, 191, 474–476.
- Lipina, T.V., & Roder, J.C. (2013). Co-learning facilitates memory in mice: a new avenue in social neuroscience. *Neuropharmacology*, 64, 283-293. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2012.06.054.
- Meaney, M.J., & Stewart, J. (1979). Environmental factors influencing the affiliative behavior of male and female rats (*Rattus norvegicus*). *Animal Learning & Behavior*, 7 (3), 397-405.
- Menzel, E.W. (1971). Communication about the environment in a group of young chimpanzees. *Folia Primatologica*, 15 (3), 220-232.
- Menzel, E.W. Jr; Davenport, R.K. Jr; & Rogers, C.M. (1961). Some aspects of behavior toward novelty in young chimpanzees. *Journal of Comparative Physiology A.*, 54, 16.
- Mettke-Hofmann, C., Winkler, H., & Leisler, B. (2002). The significance of ecological factors for exploration and neophobia in parrots. *Ethology*, 108 (3), 249-272.
- Mettke-Hofmann, C.; Rowe, K.C.; Hayden, T.J.; & Canoine, V. (2006). *Effects of experience and object complexity on exploration in garden warblers*. *Journal of Zoology*. *Journal of Zoology*, 268 (4), 405-413.
- Nicole, C. J.; & Pope, S. J. (1999). The effects of demonstrator social status and prior foraging success on social learning in laying hens. *Animal Behavior*, 57 (1), 163-171.
- O'Keefe, J.; & Nadel, L. (1978). The hippocampus as a cognitive map. Oxford University Press, pp. 483-484.
- O'Reilly, R. C.; & Norman, K. A. (2002). Hippocampal and neocortical contributions to memory: advances in the complementary learning systems framework. *Trends in Cognitive Sciences*, 6 (12), 505–510.
- Pause, B.M., Zlomuzica, A., Kinugawa, K., Mariani, J., Pietrowsky, R., & Dere, E. (2013). Perspectives on episodic-like and episodic memory. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7, 33. DOI: 10.3389/fnbeh.2013.00033.

- Reddy, V.; & Trevarthen, C. (2004). What we learnt about babies from engaging with their emotions. *Zero to Three*, 24(3), 9-15.
- Renner, M. J. (1990). Neglected aspects of exploratory and investigatory behavior. *Psychobiology* 18 (1), 16-22.
- Rohwer, S.; Ewald, P.W.; & Rohwer, F.C. (1981). Variation in size, dominance and appearance within and between the sex and age classes of Harris' sparrows. *Journal of Field Ornithology*, 52 (4), 291-303.
- Rutte, C.; & Taborsky, M. (2007). Generalized reciprocity in rats. *PLoS Biology*, 5, e196. doi: 10.1371/journal. pbio.0050196 PMID: 17608566
- Sato, N.; Tan, L.; Tate, K.; & Okada, M. (2015). Rats demonstrate helping behavior toward a soaked conspecific. *Animal Cognition*, 18 (5), 1039-47.
- Schuett, W.; & Dall, S.R.X. (2009). Sex differences, social context and personality in zebra finches, (*Taeniopygia guttata*). *Animal Behavior*, 77 (5), 1041-1050.
- Schwagmeyer, P. L. (1995). Searching today for tomorrow's mates. *Animal Behaviour*, 50, 759-767.
- Sherry, D.F. (1990). Food hoarding in animals. *Science*, 250, 1602-1603.
- Shi, Q., Ishii, H., Kinoshita, S., Konno, S., Takanishi, A., & Okabayashi, S., *et al.* (2013). A rat-like robot for interacting with real rats. *Robotica*, 31 (8), 1337-1350.
- Soma, M.; & Hasegawa, T. (2004). The effect of social facilitation and social dominance on foraging success of budgerigars in an unfamiliar environment. *Behaviour*, 141 (9), 1121-1134.
- Špinka, M. (2012). Social dimension of emotions and its implication for animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 138 (3-4), 170-181.
- Squire, L.R., & Kandel, E.R. (2003). *Memória: da mente às moléculas*. Porto Alegre: Artmed.
- Squire, L.R., & Zola, S.M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93 (24), 13515-13522.
- Stahl, J.; Tolsma, P.; Loonen, M.J.J.; & Drent, R.H. (2001). Subordinates explore but dominants profit: resource competition in high Arctic barnacle goose flocks. *Animal Behavior*, 61 (1), 257-264.
- Stöwe, M.; Bugnyar, T.; Loretto, M.C. *et al.* (2006). Novel object exploration in ravens (*Corvus corax*): effects of social relationships. *Behavioural Processes*, 73 (1), 68-75.
- Swaney, W.; Kendal, J.; Capon, H.; Brown, C.; & Laland, K.N. (2001). Familiarity facilitates social learning of foraging behaviour in the guppy. *Animal Behaviour*, 62 (3), 591-598.

- Tarawneh, R; & Holtzman, D.M. (2012). The clinical problem of symptomatic Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2 (5), a006148. doi: 10.1101/cshperspect.a006148.
- Thinus-Blanc, C. (1996). Animal Spatial Cognition. Behavioral and Neural Approaches. Singapore: World Scientific.
- Tolman, E.C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, 55 (4), 189-208
- Tulving E. (1972).Episodic and semantic memory. In: Tulving E, Donaldson W, editors. Organization of memory. Academic Press; New York ;381–403
- Tulving E (1985).Memory and consciousness. *Canadian Psychology*. ;26:1–12
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: From mind to brain. *Annual Review of Psychology*, 53, 1-25. DOI: 10.1146/annurev.psych.53.100901.135114.
- Valone, T. J. (1989). Group foraging, public information, and patch estimation. *Oikos*, 56 (3), 357-363.
- Ward, A. J. W. (2011). Social facilitation of exploration in mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66 (2), 223-230.
- Weiss, O., Segev, E., & Eilam, D. (2015). "Shall two walk together except they be agreed?" Spatial behavior in rat dyads. *Animal Cognition*, 18 (1), 39-51.
- Wills, G.D., Wesley, A.L., Moore, F.R., & Sisemore, D.A. (1983). Social interactions among rodents conspecifics: a review of experimental paradigms. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 7(3), 315-323.
- Wolfe, J. L. (1969). Exploratory activity and new object response of wild and laboratory house mice. *Communications in Behavioral Biology*, 4, 13-16.
- Zajonc, R.B. (1965). Social facilitation. *Science*, 149 (3681), 269-274.

9 ANEXO

ANEXO A



ANEXO B

Artigo a ser submetido na forma à revista *Behavioural Brain Research*.

Qualis: A1

Fator de Impacto: 3.028

Título: Avaliação da Contribuição do Contexto Social na Memória Similar à Episódica em Ratos Wistar

Autores: Maria Augustta Sobral de França Malheiros; Rochele Vasconcelos Castelo Branco;; Paulo Henrique Santos de Medeiros; Pedro Emmílio de Lima Marinho; Flávio Freitas Barbosa

A capacidade de navegar no espaço é fundamental para a sobrevivência da maioria dos animais e, por isso, recebeu muita atenção na biologia e psicologia. Os meios pelos quais os animais navegam e representam as propriedades espaciais do mundo, foram investigadas a partir de várias perspectivas (Brown, 2011), incluindo a neurociência (Thinus-Blanc, 1996, Jeffery, 2003).

Dentre as áreas da neurociencia, a memória é inegavelmente uma das habilidades cognitivas mais investigadas. Squire & Kandel (2003) descrevem a memória como um sistema que se subdivide em explícita e implícita. A memória explícita refere-se àquela que é evocada conscientemente pelo sujeito, já a memória implícita não necessita de um processo consciente para acontecer (Squire & Zola, 1996). A memória explícita ainda pode ser subdividida em memória semântica, e memória episódica, a primeira identifica um evento antigo sendo possível saber do quê se trata, e a segunda, permite identificar o evento e saber onde e quando ocorreu (Tulving, 2002)

De acordo com Tulving (2002) a memória episódica é um tipo de memória explícita rica em contextos temporais e espaciais, que representa onde e quando um determinado evento aconteceu.

Estudar a cognição espacial em animais tem sido realizado quase que exclusivamente com memórias correspondentes a estímulos físicos, como localizações de objetos e pistas espaciais através da exploração (Gallistel, 1990). A exploração é um processo pelo qual os animais se orientam no tempo e no espaço. Este processo cognitivo é específico à espécie e se baseia na coleta de informações sobre o meio ambiente (Weiss, Segev & Eilam, 2015). Esta informação é então usada para

estabelecer uma espécie de representação ambiental do meio ambiente, que tem sido denominado "mapa cognitivo" (Tolman, 1948), e sugerido ser codificado no hipocampo (O'Keefe & Nadel, 1978).

A presença de um companheiro, frequentemente facilita a exploração e aprendizagem (Stöwe *et al.*, 2006). Animais em Grupos (díades ou mais) mostraram-se mais ativos em um ambiente novo, exibiram menor neofobia, e exploraram mais objetos completamente novos quando comparados a animais sozinhos. (Hughes, 1969; Menzel, 1971; Meaney & Stewart, 1979; Beck & Chow, 1984; Griffiths & Foster 1998; Schuett & Dall 2009; Ward, 2011). O contexto social exerce influência sobre as capacidades cognitivas em diferentes espécies. Apesar de sua importância, o contexto social tem recebido pouca atenção da neurociência, principalmente devido ao maior enfoque dos estudos em modelos animais em isolamento (Hasson *et al.*, 2012). Assim, o presente estudo pretende demonstrar a força da facilitação social na aquisição e retenção de informações utilizadas pelos animais no âmbito da tarefa de memória similar à episódica.

1. MATERIAIS E MÉTODOS

1.1 Animais

Foram utilizados 26 ratos Wistar machos (divididos em 3 grupos), com idade entre três e quatro meses, pesando entre 240 e 365g, e mantidos em uma sala com temperatura controlada ($24 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Os ratos foram alojados em gaiolas plásticas que medem 30 cm de comprimento x 37 cm de largura e 16 cm de altura, em grupos de três ou quatro por gaiola. Os animais foram submetidos a um ciclo claro-escuro de 12:12 h (com luzes acesas às 06:00h) e todas as tarefas foram realizadas na fase clara do ciclo, entre 11 h e 17 h. A luminosidade média durante a realização dos procedimentos experimentais foi de 11lux. Água e comida foram fornecidas *ad libitum*.

1.2 Delineamento experimental

Os procedimentos experimentais tiveram duração de dez dias. Após completar os três meses de idade, todos os animais passaram pelo protocolo de manipulação, que os mantinha em contato com o experimentador por 15 minutos, durante cinco dias. Nos três dias seguintes, passaram por habituações ao campo aberto, em sessões diárias de 10 minutos. Nas sessões de habituação, os ratos foram expostos a uma arena circular,

medindo 60 cm de diâmetro e 40 cm de altura, com pistas proximais localizadas em quatro pontos das paredes da arena e pistas distais localizadas na parede da sala, como representado. Essas pistas foram mantidas durante todo o experimento. Todas as sessões foram gravadas por meio de uma webcam (modelo C270 HD, Logitech) com o software Debut. Os vídeos foram posteriormente analisados pelo software de rastreamento, o Ethowatcher (UFSC, Brasil). Foram utilizados quatro modelos de objetos no experimento, com quatro cópias cada, sendo todos os modelos do mesmo material (plástico), com textura, cores e formas diferentes. Ao final de cada sessão, os objetos eram limpos com álcool (5%).

1.3 Descrição dos grupos

Os animais foram divididos em três grupos: controle (n=9), experimental unitário (n=8) e experimental díade (n=8). Esses animais não apresentavam grau de parentesco entre eles. Os mesmos foram alojados 15 dias antes do experimento para uma adaptação social e de forma a garantir a interação das duplas dos grupos experimental unitário e experimental díade.

Cada grupo realizou a tarefa de maneira distinta. O grupo controle passou pelos processos de habituação, treinos e teste, sempre individualmente; o grupo experimental unitário passou pelos processos de habituação em díade e amostras e teste individualmente; o grupo experimental díade passou pelos processos de habituação, amostras e teste, sempre em díade

1.4 Teste de dominância

Antes de iniciar a habituação, as duplas formadas pelos grupos experimental unitário e experimental díade passaram pelo teste de dominância de tubo, a fim de averiguar o animal dominante e o submisso. Durante o teste, cada dupla foi colocada nas extremidades opostas do tubo; devido à largura do tubo, os ratos não puderam passar um ao lado do outro. O rato dominante fez o rato submisso sair do tubo; quando um animal apresentou as quatro patas fora do tubo, foi declarado o submisso, e o animal que permaneceu dentro do tubo foi declarado o dominate, afirmando a hierarquia social (Fei Wan, *et al*, 2014).

1.5 Tarefa de memória similar à episódica

A tarefa foi adaptada da tarefa de memória do tipo episódica desenvolvida por Kart-Teke *et al.* (2006). É importante destacar que o nosso protocolo replicou a tarefa episódica de Kart-Teke e colaboradores (2006), com modificações. O intervalo de tempo utilizado entre os treinos e teste foi modificado de 50 minutos para 24 horas. A tarefa é composta por duas amostras e um teste, sendo desenvolvida em um campo aberto circular, com duração de cinco minutos. Na primeira amostra, foram dispostos quatro objetos iguais (A) e após 1 hora de intervalo foi feita a segunda amostra com quatro objetos diferentes (B). Destes, dois se mantiveram em coordenadas espaciais já ocupadas por objetos As e dois foram localizados em coordenadas espaciais diferentes. Na sessão de teste, 24 horas após a segunda amostra, o animal foi colocado no campo aberto com quatro objetos, todos já apresentados, sendo dois recentes (B) e dois antigos (A) e, entre eles, dois foram deslocados (A2 e B2) e dois mantidos em posições estacionárias (A1 e B1), conforme apresentado na (**figura 1**). A tarefa avalia os critérios comportamentais “o quê”, “quando” e “onde” por meio da característica natural dos roedores de detectar novidade em protocolos associativos que excluem a possibilidade da exploração dissociada entre os três aspectos (Gilbert, Kesner& Lee, 2001; Kart-Teke *et al.*, 2006).

O padrão de exploração apresentado pelos animais é de explorar mais o objeto “A1” do que o “B1” e, mais o objeto “B2” do que o “B1” (Kart-Teke et al., 2006; Inostroza et al., 2013), demonstrando padrões das tarefas não associativas para “quando” e “onde” respectivamente. Pode-se demonstrar uma memória similar à episódica somando estes dois padrões ao padrão de “A1>A2”, onde ocorre integração da memória para “o quê”, “onde” (“B2>B1”) e “quando” (“A1>B1”).

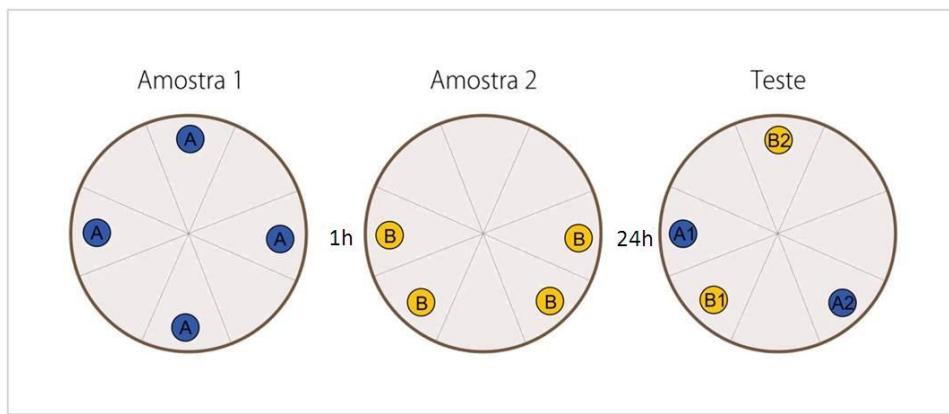


Figura 1. Esquema ilustrativo da tarefa comportamental de memória similar à episódica.

2. Resultados

2.1 Índices de discriminação

Para os índices de discriminação comparamos os resultados através de uma ANOVA [3x3] de medidas repetidas e os dados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*, uma vez que não foi evidenciada esfericidade. Foi encontrado efeito principal para os grupos [$F(2) = 4,361$, $p = 0,025$; $\eta^2 = 0,284$] e para os índices [$F(2,44) = 7,922$, $p = 0,003$, $\eta^2 = 0,20$], sendo encontrada uma tendência para interação entre ambos [$F(2,44) = 0,608$, $p = 0,068$, $\eta^2 = 0,192$].

Também comparamos os resultados dos índices de discriminação em relação ao acaso com um teste *t* de uma amostra. O grupo experimental díade apresentou resultados estatisticamente significativos para os três aspectos: temporal [$t(7) = 2,798$, $p = 0,043$; $dz = 0.87$]; espacial [$t(7) = 2,498$, $p = 0,041$; $dz = 0.87$] e integração [$t(7) = 2,697$, $p = 0,031$; $dz = 0.76$]. O grupo experimental unitário apresentou resultados estatisticamente apenas para dois aspectos: o espacial [$t(7) = -3,703$ $p = 0,008$; $dz = 1.33$] ; integração [$t(7) = -3,900$, $p = 0,006$; $dz = 1.39$]; e não para o temporal [$t(7) = -0,569$, $p = 0,587$; $dz = 0.19$]. O grupo controle apresentou apenas para o aspecto de integração; [$t(8) = -0,743$ $p = 0,048$; $dz = 0.77$] e não para o espacial e temporal [$t(8) = -0,743$, $p = 0,478$; $dz = 0.87$]; t [$t(8) = -0,656$, $p = 0,530$; $dz = 0.21$]. Apenas o grupo experimental apresentou memória similar à episódica integrando os três componentes (“o quê-quando-onde”).

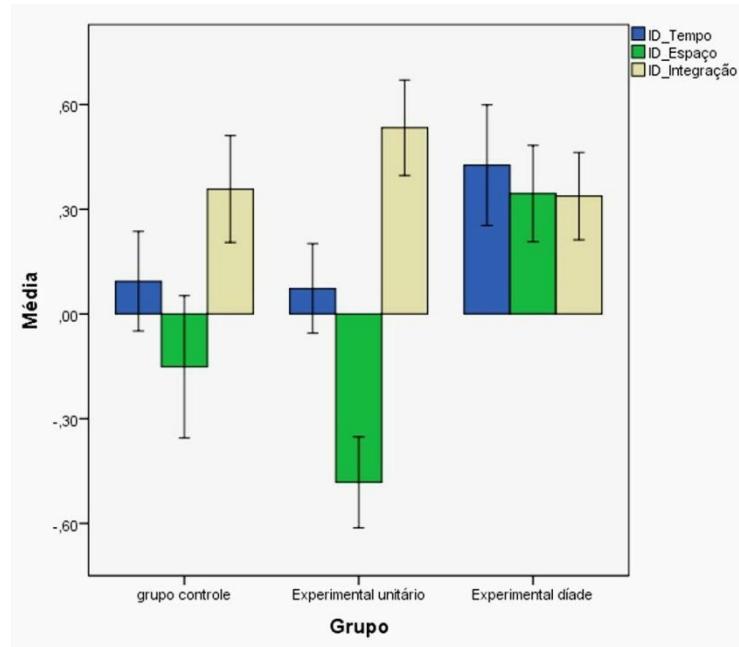


Figura 2. Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle, experimental unitário e experimental diade. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

2.2 Tempo total de exploração

O tempo total de exploração dos objetos ao longo das sessões e os grupos foram analisados utilizando-se ANOVA [3x3], e os resultados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*. Foram encontrados resultados estatisticamente significativos para o efeito principal de grupo [$F(2) = 4,710$; $p = 0,020$; $\eta^2 = 0,300$] e para as sessões [$F(2,44) = 14,276$ $p = 0,000$ $\eta^2 = 0,394$], mas não para interação entre “sessão x grupo” [$F(4,44) = 1,124$; $p = 0,357$ $\eta^2 = 0,093$]. De acordo com o *post hoc* de Sidak, o grupo experimental diade teve um tempo total maior de exploração dos objetos quando comparado ao grupo controle [$p = 0,024$]. Também foi evidenciado um tempo menor de exploração dos objetos na sessão de teste quando comparado com a amostra 1 e amostra 2 [$p = 0,000$; $p = 0,006$; respectivamente].

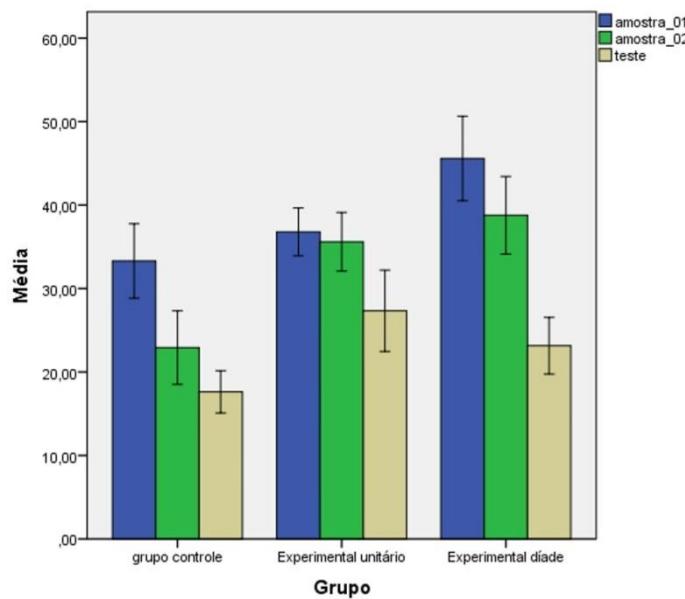


Figura 3. Tempo total de exploração nas sessões de treino e teste para os grupos controle, experimental unitário e experimenta díade. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

2.3 Hierarquia Social x Tempo Total de Exploração

A hierarquia social foi analisada nos grupos experimental unitário e díade, a fim de averiguar o comportamento de dominância e submissão durante as sessões de amostra e teste. Para esta análise utilizou-se ANOVA [3x2] e os resultados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*. Foi encontrado resultado estatisticamente significativo para sessão [$F(2,28): 7,923; p=0,002$], mas não para efeito principal de grupo [$F(1): 0,809; p = 0,384$], assim como para a interação “sessões x hierarquia [$F(2,28): 0,069 p = 0,927$]. De acordo com o *post hoc* de Sidak, *foi* encontrada diferença estatisticamente significante quando comparado a sessão de teste comparado com a amostra 1 e amostra 2 [$p=0,011; p=0,024$; respectivamente]. A síntese dos dados pode ser vista na **Figura 4**

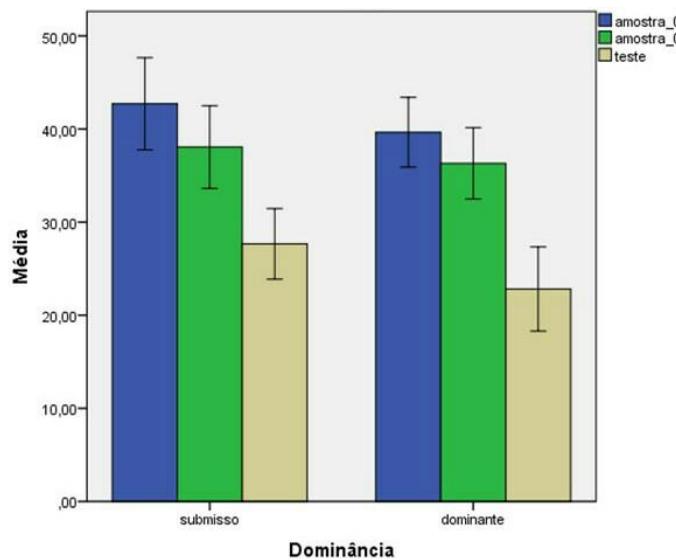


Figura 4. Sessão de amostra 1, amostra 2 e teste para os grupos experimental unitário e experimental diáde. Os gráficos representam a média e o erro padrão

2.4 Hierarquia Social x Índices de Discriminação

Para análise utilizou-se ANOVA [3x2] e os resultados foram extraídos da fonte *Grennhouse-Geisser*. Foi encontrado resultado estatisticamente significativo para índices [$F(2,28): 4,727; p=0,029; ; \eta^2 =0, 252$], mas não para efeito principal de grupo [$F(2,28): 0,179; p = 0,772; ; \eta^2 =0, 092$], assim como para a interação “sessões x hierarquia [$F(1,14): 1,423; p = 0,253; ; \eta^2 =0, 013$]. Para hierarquia de dominância foi encontrado resultado estatisticamente significativo apenas para o índice de integração [$t(7) = 2,561; p = 0,038; dz = 0.918$] e não para os índices de espaço e tempo: [$t(7) = -0,528; p = 0,614; dz = 0.169$]; [$t(7) = -0,830; p = 0,434; dz = 0.292$]. Nos resultados encontrados para a hierarquia e submissão, também foi encontrado um resultado significativo para o índice de integração: [$t(7) = 4, 083; p = 0,005; dz = 1.444$], uma tendência para o índice de tempo: [$t(7) = 2,213; p = 0,063; dz = 0.770$] e não foi encontrado um resultado significativo para o índice de espaço: [$t(7) = -0,172; p = 0,868; dz = 0.048$]. A síntese dos dados pode ser vista na **Figura 5**.

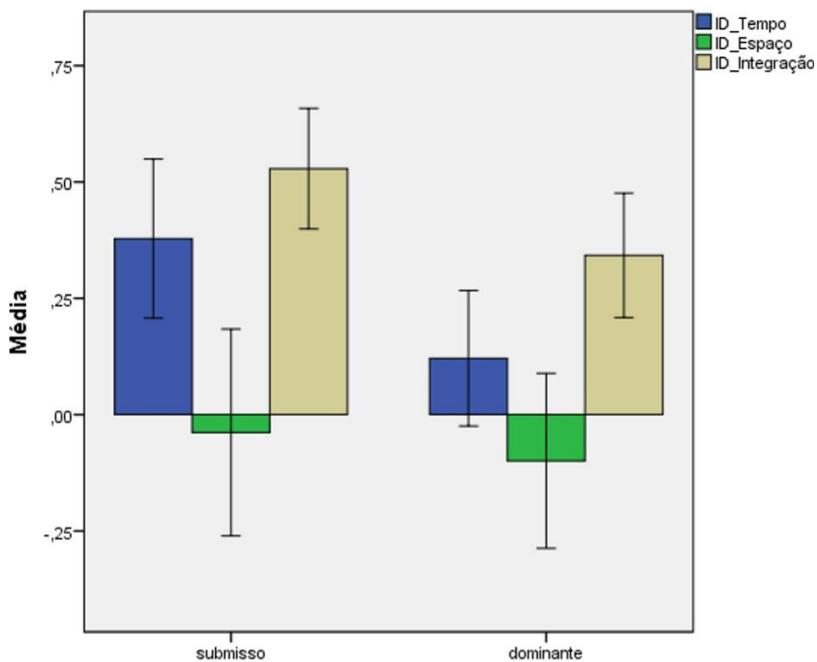


Figura 5. Hierarquia social para os índices de discriminação na sessão de teste para os grupos experimental unitário e experimental díade. Os gráficos representam a média e o erro padrão.

3. Discussão

O presente estudo verificou a contribuição do contexto social na memória similar à episódica em ratos Wistar, em uma tarefa adaptada de memória similar à episódica integrativa criada por Kart-teke e colaboradores (Kart-teke *et al.*, 2006; Binder *et al.*, 2015). Esta tarefa depende da exploração de objetos e do reconhecimento da novidade, comportamento inerente a roedores (Ennaceur & Delacour, 1988), ela possibilita a análise de três padrões de exploração: o padrão espacial (associação de “o quê” e “onde”), o temporal (associação de “o quê” e “quando”) e o integrativo (associação de todos os aspectos). Nos nossos resultados verificou-se que os animais do grupo experimental díade que realizaram a tarefa em dupla integraram os três componentes episódicos. Para a análise comportamental, avaliamos o desempenho dos animais em relação ao índice de discriminação, tempo total de exploração dos objetos e a hierarquia social.

3.1 Índices de discriminação

O desempenho dos animais em relação ao índice de discriminação é realizado com uma comparação entre um objeto e outro e, pode ser utilizada devido à expectativa

de um padrão de exploração específico atribuído aos objetos, onde o objeto antigo não deslocado deve ser mais explorado que o recente não deslocado (padrão temporal, A1>B1), o objeto recente deslocado deve ser mais explorado que o recente não deslocado (padrão espacial, B2>B1) e o objeto antigo não deslocado deve ser mais explorado que o objeto antigo deslocado (padrão integrativo, A1>A2). É importante destacar que o nosso protocolo replicou a tarefa episódica de Kart-Teke e colaboradores (2006), com modificações. O intervalo de tempo utilizado entre os treinos e teste foi modificado de 50 min para 24 h. Até então, não foram encontrados estudos que se utilizaram da tarefa e obtiveram sucesso com intervalo entre sessões e teste maior que uma hora, incluindo estudos do nosso laboratório, que foram realizados com intervalo de 24 h entre a sessão e o teste (dados não publicados).

Os animais do grupo experimental díade integraram no intervalo de 24h os critérios comportamentais episódicos com diferenças estatisticamente significativas para o índice de discriminação, quando comparados ao grupo controle e ao grupo experimental unitário, em todas as medidas.

Um estudo anterior demonstrou que a interação social durante a exploração de objetos deslocados facilitou a exploração desses objetos em camundongos, quando treinados em duplas em relação aos treinados individualmente, resultando em uma melhora na memória similar à episódica. Esse mesmo estudo supõe que a aprendizagem social pode reduzir o nível corticosterona e melhorar a memória similar à episódica (Lipina & Roder, 2013). Também foi descrita uma facilitação social de exploração em corvos (*Corvus corax*), os quais mostraram maior interesse em um novo objeto quando testado em díades no que se refere ao comportamento em relação aos testados individualmente, independente se estavam com um familiar ou não (Stöwe *et al.*, 2006).

De fato, existe uma mudança na atividade e na exploração quando ratos são introduzidos em um ambiente dentro de um contexto social, em comparação com animais individuais, visto claramente que o resultado encontrado em nosso estudo trata-se de um achado do contexto social e não de um produto de repetições, uma vez que o grupo controle e o grupo experimental unitário que realizaram o teste individualmente não fizeram integração dos critérios comportamentais episódicos. Destarte, podemos deduzir uma importância do ambiente social na formação da memória similar à episódica.

3.2 Tempo total de exploração

Para o tempo total de exploração foram encontrados resultados estatisticamente significativos para grupos e sessões, com diferenças estatísticas nas comparações entre o grupo experimental díade e o grupo controle e entre o teste e as amostras. O grupo experimental díade apresentou maior tempo de exploração em comparação ao grupo controle e os três grupos, controle, experimental unitário e experimental díade apresentaram um maior tempo de exploração nas sessões das amostras e um menor tempo de exploração na sessão do teste.

Alguns estudos corroboram com o nosso resultado encontrado para o grupo experimental díade como Lipina & Roder (2013) relataram que camundongos foram mais ativos e viajaram mais rápido quando comparados ao seu comportamento individual e que o *rearing*, comportamento de parâmetro de exploração em roedores, foi significativamente aumentado em camundongos habituados a um parceiro familiar. Um estudo também demonstrou que as atividades dos ratos em diádes foram maiores do que a dos mesmos ratos quando testado sozinhos, mudanças incluíram maior nível de atividade, maior velocidade e maiores ângulos de viagem. Quando testado individualmente, os ratos tendiam a viajar em apenas uma direção (Weiss, Segev & Eilam, 2015).

Um aumento na atividade de exploração foi verificado em girinos do sapo comum (*Bufo bufo*), que apresentaram maior atividade quando comparados aos indivíduos isolados (Griffiths & Foster, 1998). Esse aumento também foi encontrado em ratos, na presença de um congênito (Hughes 1969; Meaney & Stewart 1979; Beck & Chow, 1984). O impacto do ambiente social também foi revelado em camundongos (*Mus musculus domesticus*), visto que influências ambientais e sociais foram tão importantes quanto a genética na determinação do comportamento de locomoção (Lathe 2004). Desse modo, todos esses estudos juntamente com os nossos achados indicam que o comportamento social apresenta um fator importante no comportamento exploratório.

Um fator que pode estar implicado com a melhor performance na memória similar à episódica dos animais do grupo experimental díade é que a facilitação social foi capaz de alterar o estado motivacional, refletindo nas habilidades cognitivas dos indivíduos, possivelmente por meio de uma diminuição da neofobia, indicando que a presença de um co-específico em uma situação de novidade teve alguns efeitos de

facilitação. Estes achados também foram verificados em outros estudos (Galef, 1996; Galef & Whiskin, 2001). As fortes tendências cooperativas na partilha de riscos numa situação incerta pode ser uma forma de cooperação, podendo facilitar a exploração de novos objetos (Moretti, 2015), visto que foram encontrados efeitos de facilitação significativos para a manipulação dos objetos nas condições de diáde. Alguns estudos demonstraram que ratos são capazes de exibir vários tipos de reciprocidade [Rutte *et al.*, 2007; Dolivo, *et al.*, 2015] até mesmo empatia (Ben-Ami Bartal, Decety, 2011; Sato, Tate, 2015) o que supõe que esse achado é um indicativo importante de cooperação em ratos. Além do contexto social, outro aspecto que pode alterar a exploração é a experiência, a exploração de exposição repetida ao mesmo objeto, pode reduzir as latências de aproximação, visto que o indivíduo se torna mais familiarizado com o objeto (Heinrich, Marzluff & Adams, 1995). Essa redução também acontece para a duração da exploração após o objeto ser totalmente explorado, diminuindo assim a exploração (Todt, Hammerschmidt & Hultsch, 1992; Mettke, 2006). Estes achados estão de acordo com o nosso estudo que apresentou uma diminuição no tempo total de exploração para os três grupos testados, o que pode ser um indicativo de familiaridade.

3.3 Hierarquia Social

A hierarquia é um fenômeno universal entre animais sociais (Fei Wang, *et al* 2014). O teste do tubo foi desenvolvido como um paradigma para avaliar a dominância em roedores de laboratório. O animal que força consistentemente o adversário a retirar-se é marcado como o mais dominante do par (Lindzey *et al.*, 1961; Fei Wang, *et al* 2014).

A hierarquia social foi analisada nos grupos experimental unitário e diáde, a fim de averiguar o comportamento de dominância e submissão durante as sessões de amostra e teste. Foi encontrado resultado estatisticamente significativo para a sessão, mas não para o efeito principal de hierarquia, assim como para a interação “sessões x hierarquia”. Supõe-se que o resultado encontrado para o efeito de sessão no nosso estudo justifica-se pelo fato de o teste de dominância ter sido realizado antes da primeira sessão de habituação. Sabe-se que a dominância é um processo que pode ser estável ou não, dependendo de alterações no plano físico ou comportamental dos membros do grupo (Barnard & Burk, 1979), como a presença de objetos que pode desestabilizar a hierarquia social, por serem visto como um recurso que precisa ser defendido (Fei Wang, *et al* 2014). Outro fator que pode ter influenciado este resultado é o mesmo

encontrado para a tempo total de exploração, isto é, um indicativo de familiaridade e por isso uma diferença durante as sessões de amostra e o teste.

Desta maneira, nossos dados indicam uma possível contribuição do contexto social na formação da memória similar à episódica em ratos Wistar, dentro de um intervalo de 24h, verificada por meio da adaptação de uma tarefa depende da exploração de objetos e do reconhecimento da novidade (Kart-teke *et al.*, 2006; Binder *et al.*, 2015). Logo, nosso estudo pode contribuir para pesquisas da memória similar à episódica, que parece ter o contexto social como um fator importante nos processos mnemônicos.

4. Conclusão

De acordo com os resultados apresentados, podemos considerar que ratos Wistar em um contexto social são capazes de acessar a memória similar à episódica com caráter temporal. A realização da tarefa com os ratos em dupla parece ter importância para que os mesmos acessem a memória similar à episódica após um intervalo de 24h. Relatos encontrados em nosso laboratório com dados não publicados já haviam demonstrado que ratos que realizaram essa tarefa individualmente com esse intervalo de 24h não conseguiram realizar a integração dos aspectos (“o quê”), (“quando”) e (“onde”). O presente trabalho está em consonância com a tendência atual no campo da neurociência de se conduzir desenhos experimentais que venham aencorajar a emergência de comportamentos análogos ao comportamento natural das espécies exploradas como modelos animais.

5. Referências

- Barnard, C. J.; & Burk, T. (1979). Dominance hierarchies and the evolution of individual recognition. *Journal of Theoretical Biology*, 81 (1), 65-73.
- Beck, C.H.M; & Chow. H.L. (1984). Solitary and social behavior of male rats in the open-field. *Physiology & Behavior*, 32 (6), 941-944.
- Ben-Ami, B.I.; Decety, J.; Mason, P. (2011). Empathy and pro-social behaviour in rats. *Science*, 334 (6061), 1427-30.
- Binder, S., Dere, E., & Zlomuzica, A. (2015). A critical appraisal of the what-where-when episodic-like memory test in rodents: Achievements, caveats and future directions. *Progress in Neurobiology*, 130, 71-85.
- Brown, M.F. (2011). Social influences on rat spatial choice. *Comparative Cognition & Behavior Reviews*, 6, 5-23.
- Dolivo, V.; Taborsky, M. (2015). Norway rats reciprocate help according to the quality of help they received. *Biology Letters*, 11 (2), 20140959.
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. *Behavioural Brain Research*, 31 (1), 47-59.
- Fei Wang, Kessels, H.W., & Hailan. The mouse that roared: neural mechanisms of social hierarchy. *Trends in Neurosciences*, 37 (11), 674-682.
- Galef Jr, B.G. (1996). *Social Learning*. In: Social Learning in Animals, pp. 3-15.
- Galef Jr, B.G., & Giraldeau, L. (2001). Social influences on foraging in vertebrates: causal mechanisms and adaptive functions. *Animal Behaviour*, 61, 3-15.
- Gallistel, C.R. (1990). *The Organization of Learning*. Cambridge, MA. MIT Press.
- Griffiths, R.A.; & Foster, J.P. (1998). The effect of social interactions on tadpole activity and growth in the British anuran amphibians (*Bufo bufo*, *B. calamita*, and *Rana temporaria*). *Journal of Zoology*, 245 (4), 431-437.
- Hasson, U., Ghazanfar, A.A., Galantucci, B., Garrod, S., & Keysers, C. (2012). Brain-to-brain coupling: a mechanism for creating and sharing a social world. *Trends in Cognitive Sciences*, 16 (2), 114-121.
- Heinrich, B. (1995). Neophilia and exploration in juvenile common ravens, *Corvus corax*. *Animal Behavior*, 50 (3), 695-704.
- Hughes, R.N. (1969). Social facilitation of locomotion and exploration in rats. *British Journal of Psychology*, 60 (3), 385-388.
- Jeffery, K. J. (2003). *The Neurobiology of Spatial Behavior*. Oxford. Oxford University Press.

- Kart-Teke, E., De Souza Silva, M.A., Huston, J.P., & Dere, E. (2006). Wistar rats show episodic-like memory for unique experiences. *Neurobiology of Learning and Memory*, 859 (2), 173-182.
- Koolhaas, J.M.; Boer, S.F.; & Buwalda, B. (2005). *Stress*. In: The behavior of the laboratory rats. A handbook with tests. Oxford University Press. doi: 10.1093/acprof:oso/9780195162851.001.0001.
- Lathe, R. (2004). The individuality of mice. *Genes, Brain and Behavior*, 3 (6), 317-327.
- Lindzey, G.; Winston, H.; & Manosevitz, M. (1961). Social dominance in inbred mouse strains. *Nature*, 191, 474-476.
- Lipina, T.V., & Roder, J.C. (2013). Co-learning facilitates memory in mice: a new avenue in social neuroscience. *Neuropharmacology*, 64, 283-293.
- Meaney, M.J., & Stewart, J. (1979). Environmental factors influencing the affiliative behavior of male and female rats (*Rattus norvegicus*). *Animal Learning & Behavior*, 7 (3), 397-405.
- Menzel, E.W. Jr; Davenport, R.K. Jr; & Rogers, C.M. (1961). Some aspects of behavior toward novelty in young chimpanzees. *Journal of Comparative Physiology*, 54, 16-19.
- Mettke-Hofmann, C., Winkler, H., & Leisler, B. (2002). The significance of ecological factors for exploration and neophobia in parrots. *Ethology*, 108 (3), 249-272.
- Moretti, L.; Hentrup, M.; Kotrschal, K.; & Range F. (2015). The influence of relationships on neophobia and exploration in wolves and dogs. *Animal Behavior*, 107, 159-173.
- O'Keefe, J.; & Nadel, L. (1978). The hippocampus as a cognitive map. Oxford University Press, pp. 483-484.
- Rutte C, Taborsky M. Generalized reciprocity in rats (2007). *PLoS Biology*. 5, 196. doi: 10.1371/journal.
- Sato N, Tan L, Tate K, Okada M (2015.) Rats demonstrate helping behavior toward a soaked conspecific. *Animal Cognition*, 18, 1039-47. doi: 10.1007/s10071-015-0872-2
- Schuett, W.; & Dall, S.R.X. (2009). Sex differences, social context and personality in zebra finches, (*Taeniopygia guttata*). *Animal Behavior*, 77 (5), 1041-1050.
- Squire, L.R., & Kandel, E.R. (2003). *Memória: da mente às moléculas*. Porto Alegre: Artmed.
- Squire, L.R., & Zola, S.M. (1996). Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93 (24), 13515-13522.

- Stöwe, M.; Bugnyar, T.; Loretto, M.C. et al. (2006). Novel object exploration in ravens (*Corvus corax*): effects of social relationships. *Behavioural Processes*, 73 (1), 68-75.
- Thinus-Blanc, C. (1996). Animal Spatial Cognition. Behavioral and Neural Approaches. Singapore: World Scientific.
- Tolman, E.C. (1948). Cognitive maps in rats and men. *Psych. Rev.* 55, 189-208
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: From mind to brain. *Annual Review of Psychology*, 53, 1-25. DOI: 10.1146/annurev.psych.53.100901.135114.
- Ward, A. J. W. (2011). Social facilitation of exploration in mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 66 (2), 223-230.
- Weiss, O., Segev, E., & Eilam, D. (2015). "Shall two walk together except they be agreed?" Spatial behavior in rat dyads. *Animal Cognition*, 18 (1), 39-51.