

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

**MARIA AUGUSTTA SOBRAL DE FRANÇA MALHEIROS**

**AVALIAÇÃO DA MEMÓRIA SIMILAR À EPISÓDICA A PARTIR DE UMA  
PERSPECTIVA DE INTERAÇÃO SOCIAL EM RATOS WISTAR**

**JOÃO PESSOA**

**2022**

**MARIA AUGUSTTA SOBRAL DE FRANÇA MALHEIROS**

**AVALIAÇÃO DA MEMÓRIA SIMILAR À EPISÓDICA A PARTIR DE UMA  
PERSPECTIVA DE INTERAÇÃO SOCIAL EM RATOS WISTAR**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Neurociência Cognitiva e Comportamento da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de Doutor.

Linha de pesquisa: Psicobiologia: Processos Psicológicos Básicos e Neuropsicologia

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Flávio Freitas Barbosa

**JOÃO PESSOA**

**AGOSTO/2022**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

M249a Malheiros, Maria Augustta Sobral de França.

Avaliação da memória similar à episódica a partir de uma perspectiva de interação social em ratos wistar / Maria Augustta Sobral de França Malheiros. - João Pessoa, 2022.  
80 f. : il.

Orientação: Flávio Freitas Barbosa.  
Tese (Doutorado) - UFPB/CCHLA.

1. Memória episódica. 2. Memória - Ratos. 3. Contexto social. I. Barbosa, Flávio Freitas. II. Título.

UFPB/BC

CDU 159.953.2(043)

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

**TESE DE DOUTORADO**

**AVALIAÇÃO DA MEMÓRIA SIMILAR À EPISÓDICA A PARTIR DE UMA  
PERSPECTIVA DE INTERAÇÃO SOCIAL EM RATOS WISTAR**

Autora: Maria Augustta Sobral de França Malheiros  
Orientador: Dr, Flávio Freitas Barbosa

Data da defesa: 29 de agosto de 202

Assinatura da BANCA EXAMINADORA atestando que a presente tese foi defendida e aprovada com distinção:

*Flávio Freitas Barbosa*

---

**Dr. Flávio Freitas Barbosa**  
(Presidente/Orientador)

*Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori*

---

**Dra. Mirian Graciela da Silva Stiebbe Salvadori (Membro Interno)**

*Adriana Maria Fernandes de Oliveira Golzio*

---

**Dra. Adriana Maria Fernandes de Oliveira (Membro Externo ao Programa)**



---

**Dr. Diego Andrés Laplagne (Membro Externo à Instituição)**

*Regina H. da Silva*

---

**Dra. Regina Helena da Silva (Membro Externo à Instituição)**

JOÃO PESSOA  
AGOSTO/2022

Esta jornada seria impossível sem Deus. Os caminhos foram, muitas vezes, pedras, mas sempre à frente estava o meu maior exemplo, minha avó Maria das Neves (em memória), a quem dedico este trabalho. Com tanto amor e compaixão sempre me ensinou a enxergar que o amor é o meio pelo qual a vida se concretiza. Obrigada, mãe!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus** por ter me confiado esta missão, que muitas vezes pareceu impossível. No entanto, era impossível não sentir sua mão me sustentando. À **Nossa Senhora**, que nas horas mais apertadas, me colocou em seu colo, auxiliou e cuidou dos meus quando eu fui ausência.

Ao meu queridíssimo orientador, **Prof Dr. Flávio Freitas Barbosa**, que sempre me acolheu, entendeu e me educou. Sua educação é algo que inspira, o respeito ao próximo é sua excelência. Toda a minha admiração, professor!

Ao professor **Diego**, que sempre contribui tão generosamente com o meu crescimento; sua simplicidade é acolhedora.

À professora **Mirian**, muito obrigada por todas as vezes que me auxiliou. Você me inspira como ser humano!

À **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**, que sempre na racionalidade conduz, ensina e educa!

À minha tia **Euro**, meu anjo aqui na terra!

À **comunidade Consolação Misericordiosa**, minhas irmãs em Cristo e minha formadora Karla, que comigo enfrentou essa batalha!

Aos meus irmãos **Joanne, Marcelle, Camila, Thiago, Laís e Arthur**, sempre tão presentes, me sustentam no amor!

Ao meu esposo **Bruno de Araújo Malheiros**, meu apoio e meu descanso, juntos somos mais fortes. Ao meu filho, **Enzo Sobral Malheiros**, meu gerador de forças, te amo!

As minhas amigas de mestrado **Jeane e Kathlyn**, vocês são parte da minha vida, minhas amigas.

Ao **Laboratório de Estudos em Memória e Cognição (LEMCOG)**, que verdadeiramente me ensinou a pesquisa e a solidariedade, obrigada a todos os meus colegas!

À **Dona Solange**, minha grande amiga nesse processo, obrigada por sempre me escutar.

A **Pedro, Juliana, Júlio, Ana Paula, Ywilliane, Jeanderson, Rochelle Arthur**, sem vocês eu não teria conseguido, ao LTF e seus responsáveis, por acolhimento nessa jornada.

A **Ana Paula**, que sempre tão prática, racional e acelerada, transbordou amor em minha vida e me presenteou com sua amizade. Sou grande vibradora em suas conquistas, amo você!

**Jeanderson**, muito obrigada por segurar a minha mão na reta final, você foi fundamental. Serei eternamente grata!

Em especial à **UFPB**, que durante nove anos me acolheu em muitas trajetórias, espero sempre retornar! A todos os **professores**, cujas aulas eu tive o privilégio de assistir.

*Portanto, eu vos digo: pedi e recebereis; procurai e encontrareis; batei e vos será aberto. Pois quem pede, recebe; quem procura, encontra; e, para quem bate, se abrirá.*

***São Lucas, 11-9***

## RESUMO

A recordação de eventos passados, denominada memória episódica, está diretamente relacionada a eventos autobiográficos e, segundo (Tulving, 2002), remete a uma singularidade humana. Estudos têm demonstrado uma memória similar à episódica em alguns animais, baseada em critérios que podem ser mostrados por meio do comportamento, tais como eventos (“o quê”) que ocorreram em um devido local (“onde”) e em um determinado momento (“quando”). Para ser considerada uma memória similar à episódica, estes aspectos comportamentais devem ser evocados de forma integrada e associativa. 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 nos estudos da memória similar à episódica. Muitos estudos têm sido direcionados para o entendimento dos processos neurais do comportamento por meio de pesquisas com seres humanos ou animais avaliados isoladamente. No presente estudo, testamos os processos de codificação e evocação da memória similar à episódica em um contexto social, aplicando uma tarefa de memória similar à episódica. Os animais foram divididos em quatro grupos, a saber: grupo controle, em que os animais realizaram a tarefa em condição individual, grupo experimental díade amostra, em que os animais realizaram apenas as sessões de amostra da tarefa em díade, grupo experimental díade teste, em que os animais realizaram apenas a sessão de teste da tarefa em díade, e grupo experimental díade, no qual os animais realizaram todas as sessões da tarefa em díade. Os animais não conseguiram integrar os três critérios episódicos na sessão de teste da tarefa. No entanto, a realização da tarefa com os ratos em dupla parece ter importância para que acessem o índice de tempo e espaço da memória similar à episódica após um intervalo de 24h. Não foi encontrada diferença na expressão de c-Fos no Hipocampo dorsal e nas subregiões CA1, CA2, CA3 e GD. Nossos achados abrem caminho para investigações que explorem desenhos experimentais de comportamentos análogos ao comportamento natural das espécies utilizadas como modelos animais em tarefas de memória.

**Palavras chave:** Memória similar à episódica; Contexto Social, rato Wistar, reconhecimento de objetos.

## ABSTRACT

The recall of past events, called episodic memory, is directly related to autobiographical events and considered to be a human singularity, according to (Tulving, 2002). Studies have demonstrated an episodic-like memory in some animals based on behavioral criteria, such as events (“what”) that occurred at a certain place (“where”) and at a certain time (“when”). To be considered an episodic-like memory, these behavioral aspects must be recalled in an integrated and associative way. While the social context is known to influence cognitive and behavioral capacities in different species, few studies have investigated the episodic-like memory. Most studies have been directed towards understanding the neural processes of human or animal behavior evaluated individually, not in a social context. In this study, we tested the processes of encoding and recalling episodic-like memory in a social context by applying an episodic-like memory task. Animals were divided into four groups, namely: control group, in which the animals performed the task individually; experimental dyad sample group, in which the animals performed only the sampling sessions of the task in dyad; experimental dyad test group, in which the animals performed only the test session of the dyad task; and the experimental dyad group, in which the animals performed all sessions of the dyad task. The animals failed to integrate the three episodic criteria in the test session of the task. However, performing the task in pairs seems to be important for rats to access the time and space index of the episodic-like memory after an interval of 24 h. No difference was found in the expression of c-Fos in the dorsal hippocampus and CA1, CA2, CA3, and GD subregions. Our findings open the way for investigations that explore experimental designs of behaviors analogous to the natural behavior of species used as animal models in memory tasks.

**Keywords:** Episodic-like memory; Social Context, Wistar rats, Object recognition.

## Lista de Figuras

**Figura 1.** (A) Representação do cérebro mostrando as regiões frontal e dorsal do hipocampo. (B) Representação do cérebro mostrando as via perfurantes medial e lateral e as sub-regiões hipocámpais CA1, CA3 (ab), CA3 (c) e Giro Denteado (Adaptado de Bizon & Gallagher, 2015; Tzakis & Holahan, 2019).

**Figura 2.** Esquema simplificado de circuitos neurais relacionados com o comportamento social envolvendo o hipocampo no cérebro de roedores (Adaptado de Meera E. Modi *et al*, 2019).

**Figura 3.** (A) Campo aberto circular com pistas proximais. (B) Pistas distais dispostas nas paredes da sala de experimentos. (C) Descrição do delineamento experimental.

**Figura 4.** Cópias dos quatro objetos utilizados nas sessões de amostras e teste.

**Figura 5.** Esquema ilustrativo dos grupos e condições em que os animais realizaram a tarefa de memória similar à episódica.

**Figura 6.** Esquema ilustrativo da tarefa comportamental de memória similar à episódica.

**Figura 7.** Ilustração da construção do índice de discriminação.

**Figura 8.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 9.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no primeiro minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 10.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no segundo minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 11.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no terceiro minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 12.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no quarto minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 13.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** de cada minuto e total acumulado. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 14.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de amostra 1 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$ .

**Figura 15.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de amostra 2 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

**Figura 16.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

**Figura 17.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de Amostra 1, Amostra 2 e teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referente ao posto médio da sessão de amostra 1, amostra 2 e teste.

**Figura 18.** Comportamento social nas sessões de habituação para os grupos experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à duração.

**Figura 19.** Comportamento social nas sessões de habituação para os grupos experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à frequência.

**Figura 20.** Comportamento social para as sessões de teste, comparando os dois grupos, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Dados referentes à duração.

**Figura 21.** Comportamento social para as sessões de teste, comparando os dois grupos, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Dados referentes à frequência.

**Figura 22.** Comportamento de *sniffing* para as sessões de teste, comparando os dois grupos, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Dados referentes à duração do *sniffing*.

**Figura 23.** Tempo gasto pelos animais realizando o comportamento de *selfgrooming* durante a primeira sessão de habituação ao campo aberto para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#). Dados referentes à duração.

**Figura 24.** Frequência do comportamento de *selfgrooming* durante a primeira sessão de amostra ao campo aberto para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à frequência. Comparações considerando-se tendência (#).

**Figura 25.** Tempo gasto pelos animais realizando comportamento de *selfgrooming* durante a sessão de teste. Dados referentes à duração.

**Figura 26.** Tempo gasto pelos animais realizando comportamento de *selfgrooming* durante a sessão de teste. Dados referentes à frequência.

**Figura 27.** Imagens representativas da expressão de c-Fos no Hipocampo e regiões CA1, CA2, CA3 E GD.

**Figura 28.** Expressão de c-Fos no Hipocampo para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

**Figura 29.** Expressão de c-Fos no CA1 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

**Figura 30.** Expressão de c-Fos no CA2 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

**Figura 31.** Expressão de c-Fos no CA3 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

**Figura 32.** Expressão de c-Fos no Giro Denteado (GD) para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>23</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>24</b>
3.1 Objetivo Geral .....	24
3.2 Objetivos Específicos .....	24
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
4.1 Amostra .....	25
4.2 Delineamento experimental.....	25
4.3 Descrição dos grupos .....	27
4.4 Procedimentos estatísticos .....	31
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
5.1 Índices de Discriminação.....	34
5.2 Tempo Total de Exploração.....	42
5.3 Comportamento Social.....	45
5.4 Comportamento de autolimpeza ( <i>self-grooming</i> ).....	49
5.5 Expressão de C-Fos.....	54
5.6 Correlação entre a expressão C-Fos e os índices de discriminação.....	60
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>61</b>
6.1 Índices de Discriminação.....	61
6.2 Tempo Total de Exploração .....	65
6.3 Comportamento de autocuidado ( <i>Self-grooming</i> ) e social.....	67
6.4 Expressão de c-Fos.....	69

<b>6.5</b>	<b>Correlação entre a expressão de C-Fos e os Índices de discriminação.....</b>	<b>70</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>73</b>
<b>8.</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>74</b>
<b>9.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>81</b>

## 1. Introdução

A recordação de eventos passados, denominada memória episódica, permite ao ser humano revisitar experiências únicas e “viajar no tempo”. Este tipo de memória está diretamente relacionado a eventos autobiográficos e, segundo (Tulving, 2002), remete a uma singularidade humana pela aptidão de rememorar conscientemente os componentes “o quê, onde e quando” de uma determinada experiência. O autor retrata que para que ocorra a memória episódica são necessárias três condições, a saber: a capacidade de cognição relativa ao tempo subjetivo, a autoconsciência e a consciência auto-noética. O tempo subjetivo refere-se à condição de o indivíduo diferenciar e conceituar o passado, presente e futuro. A autoconsciência é a capacidade do indivíduo de se reconhecer como um ser único, diferente dos demais. A consciência auto-noética refere-se à capacidade de um indivíduo de se reconhecer como o mesmo, no passado ou no presente e, além disso, ser capaz de planejar um futuro próximo ou distante.

Pesquisadores envolvidos na temática começaram a investigar esse tipo de memória em animais ao longo do tempo. Vários estudos têm demonstrado que animais também são capazes de formar a memória episódica e, assim, contemplar e integrar os aspectos mnemônicos (“o quê, onde e quando”). Com base em critérios comportamentais, Clayton e Dickinson (1998) retrataram a primeira experiência de eventos de memória similar à episódica em pássaros.

Em estudos posteriores, demonstrou-se essa capacidade em roedores a partir da avaliação do comportamento de preferência à novidade, bem como em paradigmas que investigam de maneira não associativa e associativa os diferentes aspectos desse tipo de memória (Barbosa *et al.*, 2012; Ennaceur & Delacour, 1988; Dere *et al.*, 2005; Kart-Teke *et al.* 2006). Nas tarefas não associativas, os componentes são avaliados separadamente e, para cada componente, existe uma tarefa correspondente (Ennaceur & Delacour, 1988; Ennaceur *et al.*, 1997; Mitchell & Laiacona, 1998). No entanto, para formação da memória episódica, faz-se necessário que estes componentes estejam compostos e integrados em uma única tarefa. Desta forma, Kart-Teke *et al.* (2006) desenvolveram uma tarefa integrativa em ratos para avaliar os três componentes episódicos envolvendo a preferência à novidade, memória de localização, memória espacial e memória de ordem temporal. Os autores demonstraram que os ratos foram capazes de integrar os componentes episódicos e não dissociaram o aspecto temporal e espacial.

Os protocolos baseados em exploração espontânea de objetos utilizados para avaliar a memória episódica em roedores costumam ser aplicados em condição individual (Dere *et al.*, 2005; Drieskens *et al.*, 2017; Kart-Teke *et al.*, 2006). Os animais são colocados em campo aberto, de formato circular ou quadrangular, e posteriormente avaliados individualmente. De fato, a grande maioria dos estudos experimentais na área da memória similar à episódica testam os animais em uma condição individual. Esta abordagem poderia interferir diretamente no comportamento dos roedores e nos desfechos experimentais, uma vez que são indivíduos naturalmente sociáveis (Galef & Giraldeau, 2001).

Em geral, a abordagem do contexto social em roedores no âmbito da neurociência demonstra claramente que habilidades comportamentais são modificadas na presença de um co-específico. Animais em grupos (díade ou mais) podem apresentar maior exploração e atividade, bem como exibir menor neofobia e ainda envolver processos complexos como aprendizagem, cooperação e empatia (Rutte e Taborsky, 2007; Viana *et al.*, 2010; Bartal *et al.*, 2011; Wood *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2017; Stöwe *et al.*, 2006; Hughes, 1969; Menzel, 1971; Meaney & Stewart 1979; Beck & Chow, 1984; Griffiths & Foster, 1998; Schuett & Dall 2009; Ward, 2011).

Dados publicados em nosso laboratório de Estudo em Memória e Cognição (LEMCOG) demonstraram que os ratos só foram capazes de acessar a memória similar à episódica com um tempo de retenção de 24 h na presença de um co-específico (de França Malheiros *et al.*, 2021). Esses dados sugerem que o contexto social favorece o desempenho dos animais na tarefa de memória similar à episódica, e um dos mecanismos possíveis é os animais recuperarem informações socialmente relevantes de encontros anteriores. É importante destacar que não há estudos indicando que ratos testados individualmente tenham acessado este tipo de memória em um intervalo superior a 1 h. Considerando que o ambiente social tem um forte impacto nas funções cognitivas, é de suma importância entender a neurobiologia e os processos mnemônicos de codificação e evocação da memória similar à episódica dentro do contexto social. Para isto, um delineamento experimental bem definido e a investigação de áreas cerebrais tornam-se processos fundamentais.

Outro fator importante a ser levado em consideração é a interação social exibida pelos animais no contexto de experimentação. Estudos indicam que quando roedores são colocados em um contexto de experimentação em grupo, eles se engajam socialmente e exibem uma série de comportamentos sociais (de França Malheiros *et al.*, 2021; Schweinfurth, 2020). Durante a

interação, os animais detectam e respondem a estímulos sensoriais que se configuram em saídas comportamentais dentro de um feedback mútuo e dinâmico (Chen & Hong, 2018). Em contrapartida, estudos revelam um declínio cognitivo quando esses animais são submetidos ao isolamento social (Bianchi *et al.*, 2006). Esses achados refletem o fato de que o cérebro desenvolve especializações sofisticadas para o controle do comportamento social; portanto, as interações sociais podem ser vistas como interações entre dois cérebros que tomam decisões (Chen & Hong, 2018; Sanchez-Andrade & Kendrick, 2009).

Estudos também retratam que animais podem influenciar o comportamento exploratório uns dos outros de diferentes maneiras, e a interação social, por si só, é considerada um processo capaz de promover alterações comportamentais (Galef, 1996). Por exemplo, o comportamento exploratório dos ratos é modificado quando testados em grupos. Estudos mostraram que ratos em díades apresentaram maior atividade locomotora, viajaram em velocidades mais altas e em ângulos maiores quando em comparação com o desempenho individual, o que indica a presença de um componente social na exploração espacial do ambiente (Weiss, Segev & Eilam, 2015).

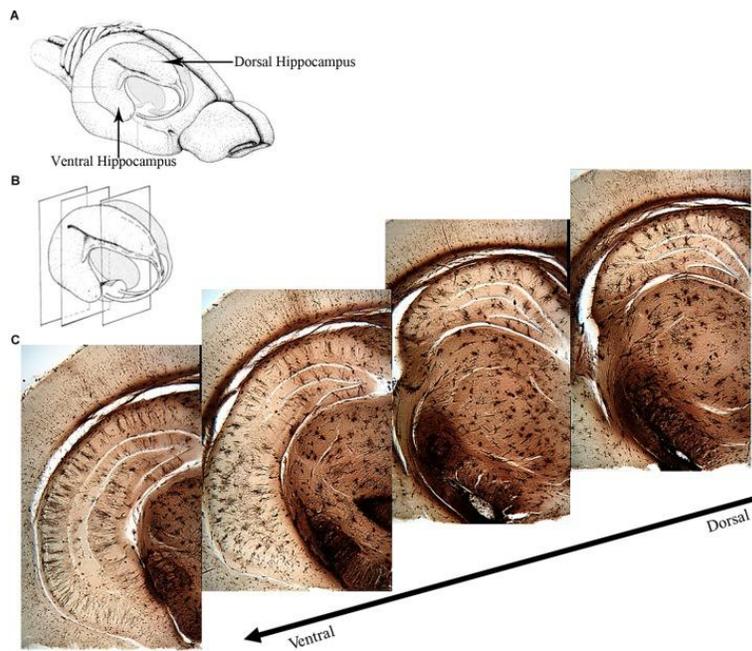
A avaliação comportamental abre um leque de possibilidades para análises de substratos neurais. Técnicas moleculares, celulares e genéticas, dentre outras, têm demonstrado a existência de regiões e circuitos relacionados aos processos mnemônicos e ao comportamento social. A literatura aponta uma alta conectividade entre os circuitos e compartilhamento de estruturas (Newman, 1999; Lerner *et al.*, 2016). O hipocampo, por exemplo, foi descrito na literatura como sendo uma região compartilhada na memória similar à episódica e no contexto social.

Estudos demonstram que algumas estruturas são essenciais para a aquisição e formação da memória similar à episódica, assim como na resolução de tarefas. Dentre as estruturas essenciais à memória episódica estão o hipocampo, o córtex entorrinal (CE) e o córtex perirrinal. O hipocampo pode ser dividido em ventral e dorsal e subdividido em CA1, CA2, CA3 e Giro Denteado (GD) e o córtex entorrinal em lateral e medial (**Figura 1**) (Kealy & Commins, 2011; Morrissey & Takehara-Nishiuchi, 2014; Wilson *et al.*, 2013; DeVito & Eichenbaum 2010; Barbosa, *et al.*, 2013; 2016; Drieskens *et al.*, 2017). De acordo com Van Strien, *et al.* (2009), a informação prossegue do córtex entorrinal (CE) ao giro denteado (DG) para CA3 e, em seguida, a CA1, a principal saída hipocampal. Estudos com camundongos demonstraram que uma lesão envolvendo o hipocampo dorsal e ventral, abrangendo as subáreas CA1, CA2, CA3, GD e subículo, prejudica a evocação dos três componentes (“o quê”, “onde” e “quando”) (DeVito e Eichenbaum 2010).

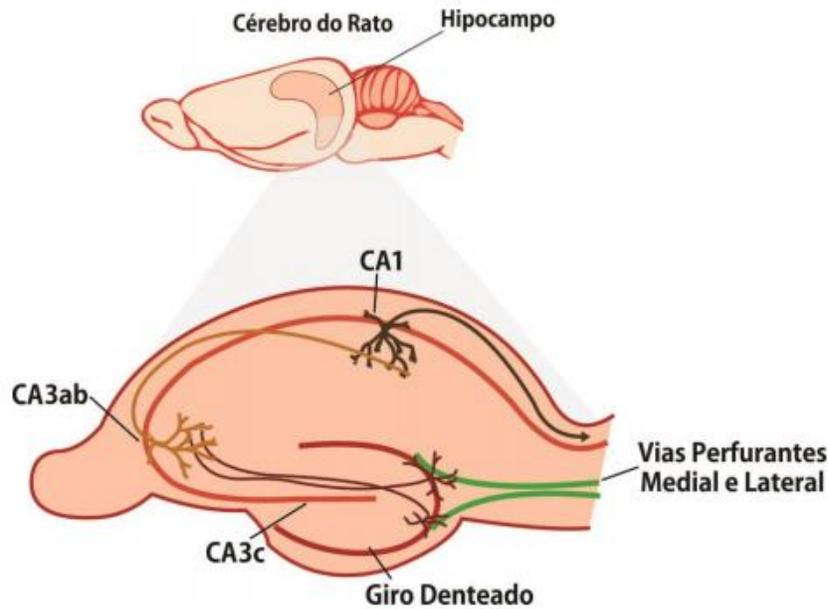
Além de estruturas, a representação ambiental, que tem sido denominada "mapa cognitivo" (Tolman, 1948) e sugerida de ser codificada no hipocampo (O'Keefe & Nadel, 1978), também é fundamental para codificar a memória similar à episódica envolvendo os componentes o quê, onde e quando (Squire, 2011).

Na literatura, o envolvimento do hipocampo na memória similar à episódica já foi bem documentado. No entanto, novos estudos têm apontado a importância do hipocampo como uma estrutura social (Montagrin, 2019 et., al).

(A)



(B)



**Figura 1.** (A) Representação do cérebro mostrando as regiões frontal e dorsal do hipocampo. (B) Representação do cérebro mostrando as via perforantes medial e lateral e as sub-regiões hipocâmpais CA1, CA3 (ab), CA3 (c) e Giro Denteado (Adaptado de Bizon & Gallagher, 2015; Tzakis & Holahan, 2019).

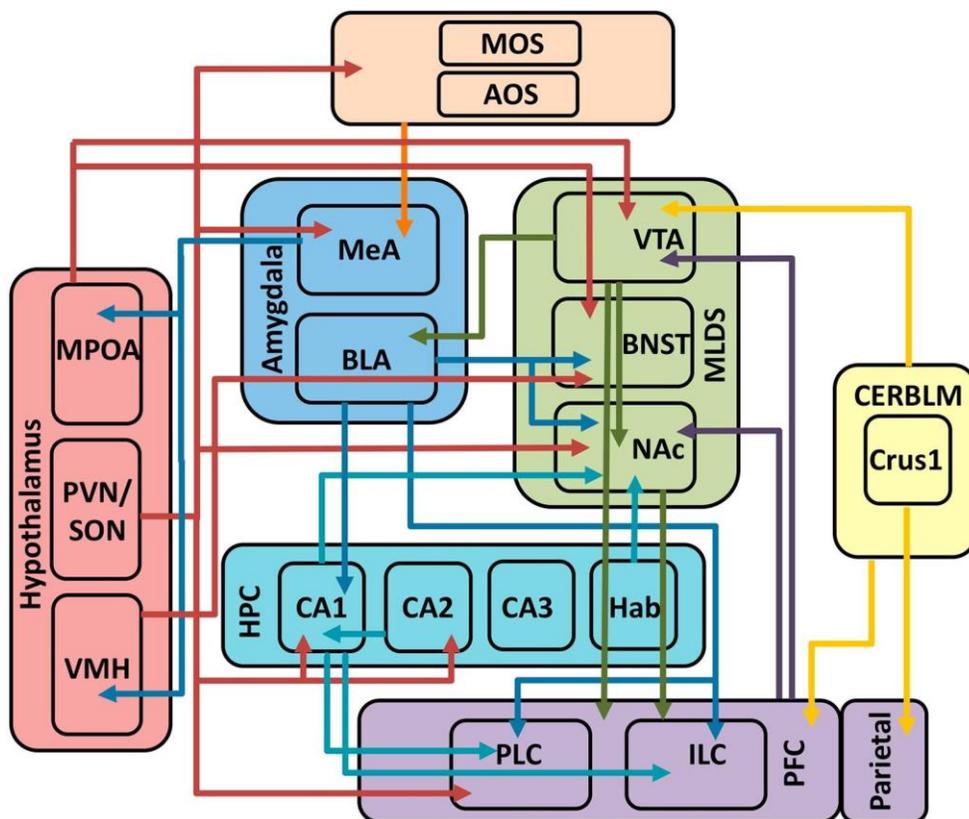
Montagrin, *et al.* (2019) retratam que a capacidade do hipocampo vai além de produzir os mapas cognitivos para navegar no espaço físico, sendo capaz de mapear outros tipos de espaços, como o espaço social. Os autores em sua revisão relatam evidências do envolvimento do hipocampo no mapeamento e contribuição para a navegação de interações sociais. Segundo os autores, algumas características envolvendo o hipocampo e o processamento social são importantes, tais como o envolvimento do hipocampo na memória social, expressão de atividades hipocâmpais em uma organização da informação ao longo das dimensões do espaço social e o envolvimento da atividade hipocâmpal refletindo o comportamento social dinâmico (movimento) através do mapa cognitivo.

O envolvimento do hipocampo no contexto social apresenta como foco o seu subcampo CA2, área não apontada no envolvimento da memória similar à episódica (Barbosa *et al.*, 2013; Drieskens *et al.*, 2017). O CA2 é uma área relativamente pequena interposta entre CA3 e CA1, cuja função ainda é pouco conhecida (Hitti *et al.*, 2014). Estudos confirmaram o envolvimento do

CA2 no reconhecimento social, particularmente quanto à capacidade de reconhecer co-específicos encontrados anteriormente e recuperar informações socialmente relevantes de encontros passados (Dudek et al., 2016; Piskorowski et al., 2016 Montagrin, 2019). Apesar de ser uma estrutura pouco investigada e seu foco ser o reconhecimento social, CA2 vêm ganhando espaço nas pesquisas por suas implicações além da memória social. Estudos apontam o envolvimento do subcampo hipocampal CA2 também na memória contextual, embora os mecanismos ainda sejam desconhecidos (Alexander et al., 2016). A literatura retrata que ratos machos adultos, quando em contato com o estímulo social (novo ou familiar) ou um novo objeto, apresentam um remapeamento global de campos de lugar em CA2, sugerindo que as células CA2 conectam informações contextuais sociais e novas informações para atualizar representações espaciais (Alexander et al., 2016). Os autores retratam que esse remapeamento não ocorre em CA1, sugerindo ser realmente o papel de CA2 e assim, a modificação das representações espaciais pode ser um mecanismo potencial pelo qual o CA2 codifica novas informações sociais e contextuais (Alexander et al., 2016). Outro subcampo que recentemente vêm sendo apontado no envolvimento do contexto social é o CA1. Estudos recentes sugerem que as interações CA2-CA1 através de ritmos gama lentos ocorrem durante a codificação da memória social, e o gama lento do CA1 está associado à recuperação da experiência social (Zhu et al., 2022). De fato, evidências sugerem que o hipocampo é necessário para o processamento adequado das memórias sociais, pois os dados mostraram que lesões hipocampais interrompem o reconhecimento social (Maaswinkel et al., 1996).

A presença de estruturas e redes neuronais envolvidos nos comportamentos sociais também foi identificada em roedores. Essas estruturas estão envolvidas em saídas comportamentais como agressão, domínio, comunicação e acasalamento, bem como na emoção, empatia e aprendizagem (Chen & Hong, 2018; Rutte & Taborsky, 2007; Viana *et al.*, 2010; Bartal *et al.*, 2011; Wood *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2017). Décadas de estudos já revelam os circuitos neurais básicos subjacentes a cada comportamento social inato. Mais recentemente, novos estudos têm esclarecido os mecanismos neurais que suportam a plasticidade comportamental (Wei, et al, 2021). Outra área em crescimento é a neurociência cognitiva social, que envolve a relação entre processos cognitivos e o comportamento dentro do contexto social, bem como áreas neuronais relacionadas (Tzakis, et al, 2019).

Diversos estudos também têm apontado a presença de um circuito unificado que é seletivamente ativado por estímulos sociais. Possivelmente, as áreas envolvidas neste circuito não apresentam um funcionamento específico, mas estão relacionadas ao recrutamento de informações de circuitos independentes para o processamento de informações sociais. Dentro de uma visão geral, o sistema olfativo (principal e acessório) dos roedores é responsável pela detecção de estímulos sociais a partir de informações sensoriais sociais. Além disto, também recebe prioridade em relação a informações sensoriais não sociais. As informações sensoriais recebidas a partir do sistema olfatório dos animais projetam-se para a amígdala, que apresenta uma posição central nos processamento de informações sociais e é responsável por aumentar a relevância dos estímulos e atribuir uma valência afetiva (positiva ou negativa). Em seguida, as informações são projetadas para os circuitos hipocampais que são responsáveis por codificar os estímulos envolvidos (social-relevância). A amígdala e o hipocampo se conectam com o sistema dopaminérgico mesolímbico, circuito de "recompensa" que promove o reforço dos estímulos sociais através da combinação dos estímulos com sinais de dopamina. O sistema dopaminérgico mesolímbico e amígdala são fortemente influenciados por conexões com o hipotálamo, tornando-se grandes mediadores da neuromodulação e das saídas comportamentais (Modi et al, 2019). Todos os segmentos do sistema límbico envolvido no circuito social estão em correspondência e conectados com áreas corticais mais elevadas no córtex pré-frontal medial (PFC) e com o (Modi et al, 2019).



**Figura 2.** Esquema simplificado de circuitos neurais relacionados com o comportamento social envolvendo o hipocampo no cérebro de roedores (Adaptado de Meera E. Modi *et al*, 2019).

A neurociência cognitiva que envolve o contexto social na exploração de objetos e resoluções de tarefas de memória é pouco estudada na literatura. Esse campo pode ser bastante promissor e parece apontar para o início de uma investigação necessária, uma vez que estruturas como hipocampo, envolvidas na memória similar à episódica e no contexto social, podem apresentar novas configurações em seu funcionamento quando envolvidas no contexto social. Em consequência dos experimentos apresentarem como foco indivíduos testados isoladamente, a compreensão cognitiva envolvendo esse tipo de memória na literatura encontra-se restrita a essa condição.

Técnicas como a imunohistoquímica podem elucidar a relação entre o contexto social e áreas hipocampais em tarefas associativas de memória similar à episódica, como também a acessar aspectos não explorados e aprofundar o conhecimento acerca da neurociência cognitiva.

Uma abordagem bastante eficaz para investigações envolvendo a cognição são os genes precoces imediatos (IEGs). Esses genes são rápida e transitoriamente expressos após uma estimulação, tornando-se uma poderosa ferramenta para detectar a atividade neuronal relacionada ao comportamento (Sommerlandt et al,2019). A proteína c-Fos é um tipo de IEG seletivamente e prontamente regulada em regiões associadas com a aprendizagem e memória, sendo rotineiramente utilizada como um indicador da ativação neuronal (Barbosa et al., 2013; Gallo et al, 2018).

Estudos de expressão gênica precoce imediata podem indicar uma relação entre a estrutura e conexões envolvidas na memória similar à episódica e o comportamento social. Um estudo reportou uma ativação aumentada de c-Fos no giro denteado dorsal, no córtex perirrinal e no córtex pré-frontal medial em ratos após a realização de uma tarefa de memória similar à episódica (Barbosa *et al*, 2013). Outros estudos também apontam evidência de que as entradas diretas do córtex entorrinal lateral-LEC para o CA2 são fundamentais tanto para a codificação quanto para a evocação da memória social pelo aumento de c-Fos nessa região (Lopez-Rojas *et al* 2022). Estudos baseados na expressão de c-Fos sugerem que a conectividade funcional de regiões cerebrais, como o hipocampo, córtex prefrontal medial, córtex cingulado anterior e amígdala é aumentada com o tempo gasto na investigação social para a geração de redes cerebrais e para consolidar a memória de reconhecimento social. Além disso, sugere-se que o hipocampo funciona como um elo para integrar redes cerebrais e gerar memória de reconhecimento social (Tanimuzu *et al*, 2017).

Incontestavelmente, o contexto social é um componente significativo no repertório de comportamento dos roedores. Neste sentido, o estudo da memória similar à episódica dentro de uma abordagem social e neurobiológica pode gerar evidência sobre as características subjacentes a partir do contato e engajamento com outros seres. O presente estudo objetiva avaliar a memória similar à episódica em ratos Wistar sob uma perspectiva de interação social.

## 2. Justificativa

O contexto social é capaz de modular e modificar habilidades cognitivas, comportamentais e neurobiológicas pela experiência de contato proporcionada com outro(s) ser(es), o que desencadeia uma série de respostas (Adolphs, 2009). Indubitavelmente, a memória é uma das habilidades cognitivas mais estudadas no campo da neurociência. Entretanto, apesar do número crescente de publicações nesta área, principalmente relacionadas à memória similar à episódica, os mecanismos pelos quais os processos neurais se concretizam geralmente são examinados individualmente e fora de um contexto social.

Achados do nosso laboratório indicam que a presença de um co-específico favoreceu ratos a acessarem a memória similar à episódica em um intervalo de 24h (de França Malheiros *et al.*, 2021). No entanto, esses estudos apresentaram algumas limitações concernentes ao desenho experimental, que não permitiram identificar a influência do contexto social nos processos mnemônicos de codificação e evocação, bem como a ausência de análises neurobiológicas, que não permitiram identificar a influência do contexto social em áreas hipocampais envolvidas nestes processos.

Assim, o presente estudo se justifica pela necessidade de se caracterizar os processos da memória similar à episódica em um contexto neurobiológico e social. A análise do contexto social e a imunohistoquímica hipocampal (de França Malheiros *et al.*, 2021; Barbosa *et al.*, 2013; ) são alternativas válidas e eficazes que podem elucidar os protocolos experimentais e propiciar maior entendimento acerca dos processos relacionados à memória similar à episódica.

### **3. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Avaliar a memória similar à episódica dentro de uma perspectiva de contexto social em ratos Wistar.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- a) Verificar se a presença de um indivíduo do grupo social exerce influência sobre a codificação e/ou evocação da memória similar à episódica;
- b) Quantificar IEG (c-Fos) nas regiões e sub-regiões do hipocampo dorsal (CA1, CA2, CA3 e DG);
- c) Analisar os comportamentos sociais afiliativos e agonísticos exibidos pelas díades na primeira sessão de habituação e no teste;
- d) Averiguar o comportamento de tipo ansioso na tarefa por meio do comportamento de autolimpeza na primeira sessão de habituação e no teste;

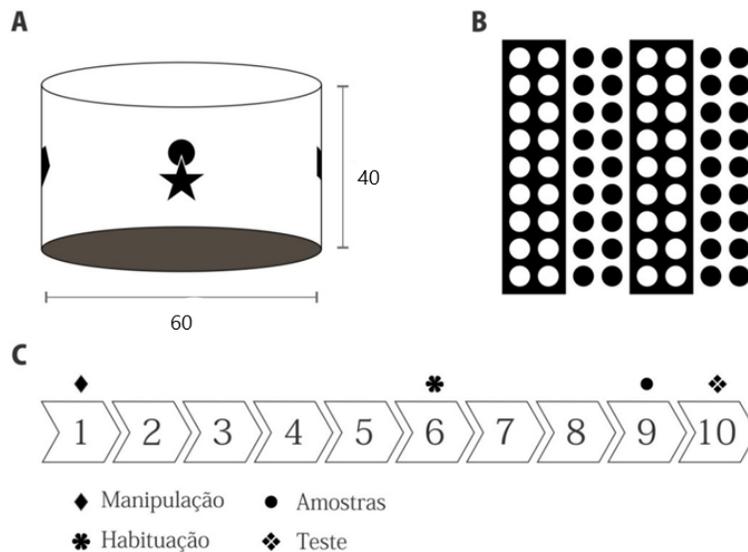
## 4. Materiais e Métodos

### 4.1 Amostra

Foram utilizados 54 ratos Wistar machos com idade entre três e quatro meses, pesando entre 270 e 360 g, mantidos em uma sala com temperatura controlada ( $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Os ratos foram alojados em gaiolas plásticas com 30 cm de comprimento x 37 cm de largura x 16 cm de altura, em grupos de quatro animais por gaiola. Esta condição é padrão do biotério, onde os animais geralmente são alojados em grupos de quatro. Os animais foram submetidos a um ciclo claro-escuro de 12:12 h (com luzes acesas às 06:00h) e todos os experimentos foram realizados na fase clara do ciclo, entre 11 h e 17 h. A luminosidade média durante a realização dos procedimentos experimentais foi de 7 lux. Água e comida foram fornecidas *ad libitum*. Os animais foram fornecidos pelos Biotérios Prof. Dr. Thomas George da Universidade Federal da Paraíba e Biotério Setorial de Roedores do Departamento de Fisiologia e Comportamento da Universidade Federal do Rio Grande do Norte 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) e que buscam, sobretudo, o não sofrimento. Todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba, sob o protocolo no. 3752130718.

### 4.2 Delineamento experimental

Os procedimentos experimentais tiveram uma duração de dez dias (**Figura 1C**). Após completar três meses de idade, todos os animais passaram pelo protocolo de manipulação, em que foram mantidos 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 3A**) e pistas distais localizadas na parede da sala, como representado na **Figura 3B**. Estas pistas foram mantidas durante todo o experimento. Todas as sessões foram gravadas por meio de uma webcam localizada acima do campo aberto (modelo C270 HD, Logitech) com o software Debut. Os vídeos foram analisados posteriormente pelo software de rastreamento Ethowatcher (UFSC, Brasil).



**Figura 3.** (A) Campo aberto circular com pistas proximais. (B) Pistas distais dispostas nas paredes da sala de experimento. (C) Descrição do delineamento experimental.

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 4**. Os objetos mediam de 5 a 15 cm de altura, 5 a 10 cm de largura, cor (vermelho, amarelo e rosa), textura (rugosa, lisa e áspera). Ao final de cada sessão, os objetos eram limpos com álcool (05%).

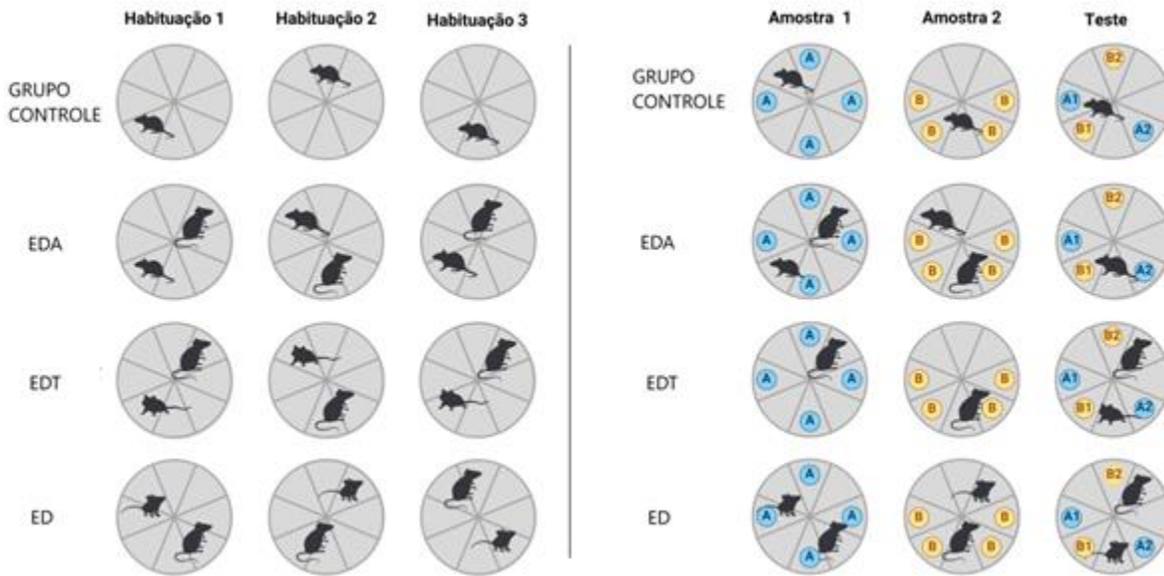


**Figura 4.** Cópias dos quatros objetos utilizados nas sessões de amostras e teste.

### **4.3 Descrição dos grupos**

Os animais foram divididos em quatro grupos, a saber: controle – **C** (n=13), experimental díade amostra - **EDA** (n=13), experimental díade teste - **EDT** (n=14) e experimental díade – **ED** (n=14). Cada grupo realizou a tarefa de maneira distinta (**Figura 5**). O grupo controle passou por todos os processos experimentais individualmente; o grupo díade amostra-**EDA** passou pelos processos de habituação e amostras em díade e teste individualmente; o grupo díade teste-**EDT** passou pelas sessões de amostras individualmente e habituação e teste em díade; o grupo experimental díade-**ED** passou por todos os processos experimentais em díade, como representado na **Figura 5**. Uma

hora após ao final do teste, foi realizada uma perfusão transcardíaca em todos os animais.

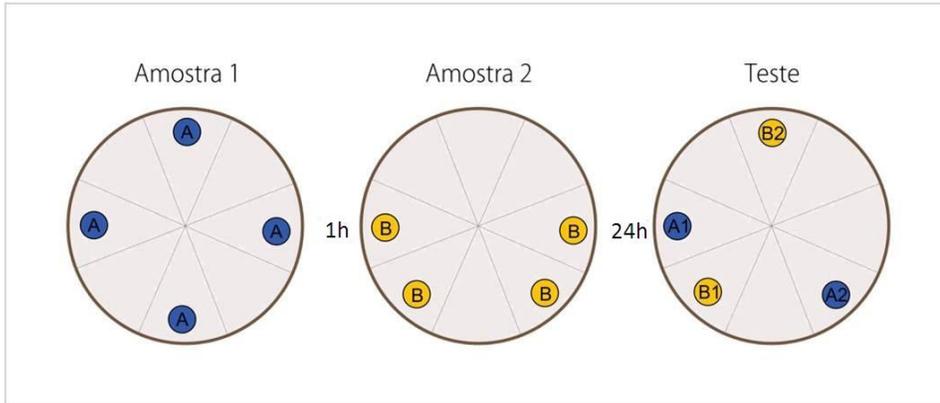


**Figura 5.** Esquema ilustrativo dos grupos e condições em que os animais realizaram a tarefa de memória similar à episódica.

### iii) Padronização da tarefa

Adaptamos a tarefa de memória similar à episódica desenvolvida por Kart-Teke *et al.* (2006). O intervalo de tempo utilizado entre os treinos e o teste foi modificado de 50 minutos para 24 horas. Os procedimentos experimentais foram realizados em um campo aberto de 60 cm de diâmetro e parede de 40 cm de altura. Vale ressaltar que este protocolo foi replicado em estudos anteriores do nosso laboratório (de França Malheiros *et al.*, 2021). Esta tarefa depende da exploração de objetos e do reconhecimento da novidade, um comportamento inerente aos roedores (Ennaceur & Delacour, 1988). Três padrões de exploração podem ser identificados, a saber: o padrão espacial (associação de “o quê” e “onde”), temporal (associação de “o quê” e “quando”) e integrativo (associação de todos os aspectos). A tarefa foi composta por duas amostras e um teste, com duração de cinco minutos cada. 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 foram mantidos em coordenadas espaciais já ocupadas por objetos (A) 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 6)**. Para todos os animais, a localização e os objetos foram aleatorizados.



**Figura 6.** Esquema ilustrativo da tarefa comportamental de memória similar à episódica.

Para cada objeto, foi calculado o índice de discriminação de objetos. A taxa de discriminação é uma medida que demonstra o quanto um objeto foi explorado em relação ao outro. A medida gera um valor entre -1 e 1, em que um valor negativo significa que a variável escolhida para a comparação foi menos explorada do que a variável subtraída. A figura ilustra como a medida foi construída **(Figura 7)**.

$$\text{Índice de discriminação} = \frac{X - Y}{X + Y}$$

Valor entre -1 e 1  
O valor do acaso é 0

**Figura 7.** Ilustração da construção do índice de discriminação.

### **iii) Comportamento social e de autolimpeza (*selfgrooming*)**

A fim de avaliar as respostas do tipo ansiedade, comparamos entre os grupos o comportamento de autolimpeza em campo aberto na primeira sessão de habituação, que se espera que seja a condição mais estressante devido à novidade ambiental (Choleris *et al.*, 2001). Além disso, também registramos as interações exibidas pelas díades durante esta sessão, a frequência de comportamentos afiliativos [ex.: farejando (*sniffing*) e catando (*allogrooming*), definido de acordo com Barnett, 1976, 2009a] e de comportamentos agonísticos [ex.: componentes de conflito (*figthing*) entre co-específicos, definidos de acordo com Barnett, 1976, 2009b]. Além das análises realizadas na primeira sessão de habituação, registramos os comportamentos sociais e autolimpeza na sessão de teste da tarefa de memória similar a episódica, a fim de verificar as respostas do tipo ansiedade e a interação entre co-específicos durante a avaliação da memória similar à episódica.

### **iv) Imunohistoquímica**

Para a análise imuno-histoquímica, após sessenta minutos do último procedimento comportamental, os ratos foram anestesiados com injeção intraperitoneal de tiopental sódico (40 mg /kg). Esse intervalo foi considerado eficaz em outros estudos, visando os picos de expressão de c-Fos (Bisler *et al.*, 2002; Barbosa *et al.*, 2013).

Os cérebros foram retirados do crânio, fixados em solução fixadora por 2 a 4 horas e transferidos para uma solução contendo sacarose a 30% em PBS 0,1 M, pH 7,4. Cada cérebro foi cortado em série no plano coronal em seções de 50 µm de espessura com criostato (Leica, Alemanha) a uma temperatura de -21 ° C. As seções foram colocadas em dois compartimentos (uma seção por compartimento). Todas as seções foram armazenadas em solução anticongelante. Para a detecção de c-Fos, seções com flutuação livre foram incubadas por 18–24 h com um anticorpo monoclonal primário criado em coelhos (c-Fos, Santa Cruz *Biotechnology*, INC., Texas, USA diluído 1:1.000), contendo soro normal de cabra a 2% (Sigma Chemical Company), diluído em Triton X-100 a 0,3% (ICN Biomedicals) e tampão de fosfato a 0,1 M, pH 7,4.

Posteriormente, as seções foram incubadas com o anticorpo anti-coelho secundário biotilado criado em cabra (1: 1000; Jackson), também diluído em 0,3% de Triton X-100 e 0,1 M de tampão fosfato, pH 7,4. Logo após, os cortes foram lavados e incubados em solução de avidina-biotina-peroxidase a 2% (kit ABC Elite, Vector Labs, Burlingame, CA, EUA) por 90 min. A reação foi desenvolvida pela adição de 2,5% de tetracloridrato de diaminobenzidina (Sigma, St. Louis, MO, EUA) e 0,01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4. As seções foram lavadas (quatro vezes, 5 min) com tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, entre cada passo e no final do procedimento. Depois disso, as seções foram secas, desidratadas em uma série graduada de álcool, clareadas em xileno e cobertas com Entellan (Merck). Para essa seção foram utilizados 32 animais, sendo oito animais por grupo.

#### **v) Análises de Imagem e Contagem de Células**

As seções foram examinadas sob iluminação de campo claro (Motic Série BA310). As fotomicrografias foram obtidas através de um sistema de imagem (Moticam) acoplado ao microscópio capturadas a partir do software Motic Images Plus. As imagens foram montadas no Adobe Photoshop CS3 e as localizações das áreas foram determinadas usando o atlas de Paxinos e Watson (2007). A contagem de células foi realizada manualmente em duas seções por animal por meio do software ImageJ (NIH) e a contagem média foi calculada e utilizada na análise. Células c-Fos positivas foram contadas em áreas das regiões e sub-regiões do hipocampo (CA1, CA2, CA3 e DG). O experimentador esteve cego no que concerne aos grupos experimentais durante a contagem. O número de células para cada área do cérebro foi normalizado pelos valores médios do grupo controle.

#### **4.4 Procedimentos estatísticos**

Por meio das saídas do software Ethowatcher (Crispin *et al.*, 2012), foram coletados dados das análises de vídeo para as três sessões de habituação – duas amostras e a sessão teste. Os procedimentos estatísticos e a plotagem gráfica foram realizados no programa SPSS para Windows, versão 26.0, considerando diferenças estatisticamente significativas com o valor de  $p < 0,05$ . A normalidade de distribuição dos dados e homogeneidade das variâncias foi verificada pelos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Considerando-se a violação da

esfericidade ( $p < 0,05$ ), foi realizada a correção dos graus de liberdade por meio de Greenhouse-Geisser.

A exploração foi computada quando o animal direcionou o focinho ao objeto, no mínimo 2 cm, e apresentou interesse em explorar o objeto. Para análise do padrão temporal, a relação foi calculada entre a diferença da taxa da exploração do objeto antigo não deslocado e do recente não deslocado dividido entre a soma entre eles ( $A1-B1/A1+B1$ ). A análise do padrão espacial foi calculada pela relação foi calculada entre a diferença da taxa da exploração do objeto recente deslocado e do recente não deslocado dividido pela soma entre eles ( $B2-B1/B2+B1$ ). A análise da interação entre os padrões se deu através da diferença da taxa de exploração do objeto antigo não deslocado, dividido pela soma entre eles ( $A1-A2/A1+A2$ ) (Chao et al., 2014). Para análise da hipótese dos três critérios comportamentais da memória do tipo episódica, foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de medidas repetidas, com teste *post-hoc* de *Bonferroni* e teste *t* de uma amostra, com o valor de acaso em 0. As análises foram realizadas para cada minuto e o total acumulado. Também foi calculado o tamanho do efeito (T.E) para as diferenças estatisticamente significativas e tendência com o valor de  $p < 0,07$  por meio do software G\*Power 3 (Erdfelder, Faul, Buchner, & Lang, 2009). O tamanho do efeito pode ser classificado em baixo ( $d_z = 0.2 - 0.3$ ); médio ( $d_z = 0.5 - 0.8$ ); grande ( $d_z =$  maior que 0.8) (Cohen, 1988; Lakens, 2013).

Para o tempo total de exploração não foi encontrada homogeneidade das variâncias; assim, foi realizada uma análise estatística não paramétrica por meio do teste de *Kruskall-Wallis*. Nas medidas de comportamento social e comportamento de autolimpeza foram utilizadas as saídas do Ethowatcher (Crispin et al., 2012). Também não foi encontrada homogeneidade das variâncias e os dados foram analisados pelo teste de *Kruskall-Wallis*. A fim de avaliar as respostas de interação social e do tipo ansiedade, medimos a duração e a frequência que cada rato teve em contato social e em autolimpeza em campo aberto.

Verificamos a expressão de c-Fos no hipocampo e regiões CA1, CA2, CA3 e GD. Não foi encontrada homogeneidade das variâncias e, portanto, realizou-se uma estatística não paramétrica por meio de *Kruskall-Wallis*, exceto para Giro Denteado, o qual apresentou homogeneidade e foi analisado por ANOVA unidirecional. Também realizamos uma correlação para as regiões CA1, CA2, CA3 e GD e para os índices de discriminação (resultados estatisticamente significativos). Para esta sessão, também não foi encontrada homogeneidade das variâncias e os dados foram analisados pela correlação de *Spearman*. O Coeficiente de *Spearman*

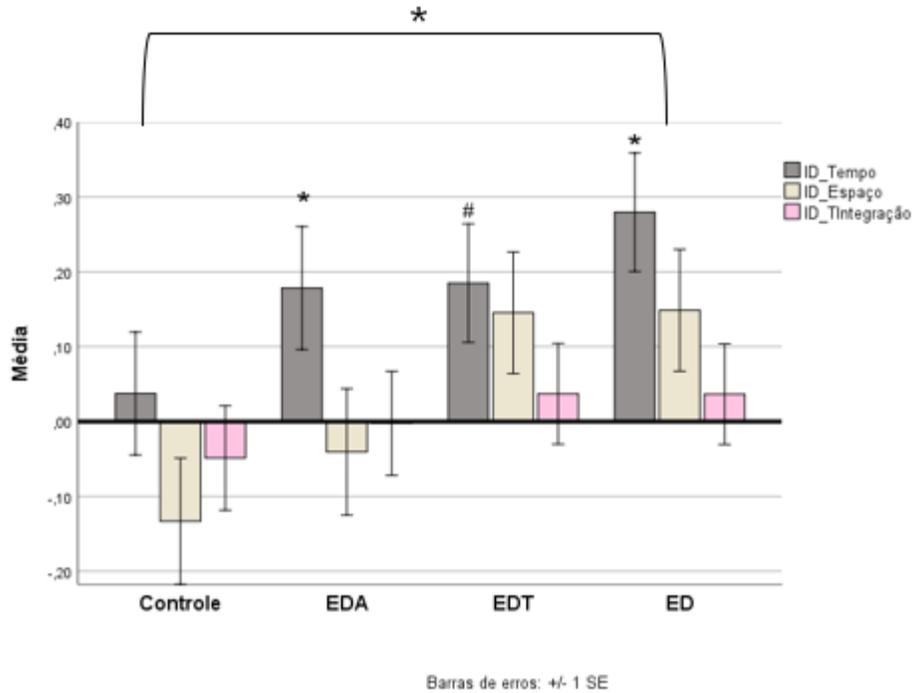
pode ter um valor entre +1 e -1 podendo ser positiva ou negativa. Os procedimentos estatísticos foram realizados no programa SPSS para Windows, versão 26.0, considerando diferenças estatisticamente significativas para o valor de  $p < 0,05$ .

## 5. Resultados

### 5.1 Índices de discriminação

Para os índices de discriminação, comparamos os resultados através de ANOVA [3x4] de medidas repetidas. Foi encontrado o efeito principal para os grupos [ $F(3) = 3,224$ ,  $p = 0,030$ ;  $\eta^2 = 0,162$ ] e para os índices [ $F(1) = 11,436$ ,  $p = 0,001$ ,  $\eta^2 = 0,186$ ], mas não para a interação entre ambos [ $F(3) = 0,494$ ,  $p = 0,688$ ,  $\eta^2 = 0,29$ ]. De acordo com o *post hoc* de *Bonferroni*, o grupo controle – **C** apresentou resultados estatisticamente significativos quando comparado à experimental díade - **ED**: [ $p=0,041$ ] ;(**C** < **ED**).

Também comparamos os resultados dos índices de discriminação em relação ao acaso com um teste *t* de uma amostra. O grupo controle – **C** não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos três aspectos: temporal [ $t(12) = 0,401$   $p = 0,696$ ], espacial [ $t(12) = -1,297$   $p = 0,212$ ] e integração [ $t(12) = -0,617$ ,  $p = 0,549$ ]. O grupo experimental díade amostra – **EDA** e o grupo experimental díade – **ED** apresentaram resultados estatisticamente significativos para o aspecto temporal [ $t(12) = -2,687$ ,  $p = 0,020$ ,  $dz = 0,74$ ]; [ $t(13) = 3,842$ ,  $p = 0,002$ ,  $dz = 1,02$ ], mas não para o aspecto espacial [ $t(12) = -0,811$ ,  $p = 0,433$ ]; [ $t(13) = -1,968$   $p = 0,071$ ] e integração [ $t(12) = -0,030$ ,  $p = 0,976$ ]; [ $t(13) = 0,561$ ,  $p = 0,585$ ]. O grupo experimental díade teste – **EDT** apresentou tendência para o aspecto temporal: [ $t(12) = 2,130$ ,  $p = 0,053$ ,  $dz = 0,56$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspecto espacial [ $t(12) = 1,573$ ,  $p = 0,140$ ] e integração [ $t(12) = 0,790$ ,  $p = 0,444$ ] (**Figura 8**). Nenhum grupo experimental apresentou memória similar à episódica integrando os três componentes (“o quê-quando-onde”).



**Figura 8.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

Para os índices de discriminação também foram realizadas análises referentes a cada minuto e o total acumulado, comparamos os resultados através de ANOVA [3x4] de medidas repetidas, como também, em relação ao acaso com um teste  $t$  de uma amostra. Quanto ao efeito principal dos índices, considerando-se a violação da esfericidade ( $p < 0,05$ ), foi realizada a correção dos graus de liberdade por meio de Greenhouse-Geisser, no primeiro, segundo e terceiro minuto.

### i) Primeiro minuto

No que refere ao primeiro minuto, foi encontrado o efeito principal para os índices [ $F(1,415) = 9,870$ ,  $p = 0,001$ ;  $\eta^2 = 0,165$ ], mas não para grupos [ $F(3) = 0,104$ ,  $p = 0,957$ ,  $\eta^2 = 0,006$ ] e para a interação entre ambos [ $F(6) = 0,330$ ,  $p = 0,920$ ,  $\eta^2 = 0,19$ ].

Quanto à discriminação em relação ao acaso com um teste  $t$  de uma amostra, o grupo controle – **C** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação ao aspecto: temporal

[ $t(12) = 3,144$   $p = 0,008$ ,  $d=0,87$ ] e não para os aspectos: espacial [ $t(12) = 1,080$   $p = 0,301$ ] e integração [ $t(12) = -0,140$ ,  $p = 0,891$ ]. O grupo experimental díade amostra – **EDA** apresentou tendência em relação ao aspecto: temporal [ $t(12) = 3,144$   $p = 0,066$   $d=0,56$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [ $t(12) = 1,301$   $p = 0,218$ ] e integração [ $t(12) = -0,213$ ,  $p = 0,835$ ]. O grupo experimental díade teste – **EDT** apresentou tendência em relação ao aspecto: espacial [ $t(13) = 2,094$ ,  $p = 0,056$ ,  $d= 0,55$ ] e **não** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: temporal [ $t(13) = 1,7111$   $p = 0,111$ ] e integração [ $t(13) = 0,251$   $p = 0,805$ ]. O grupo experimental díade – **ED** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos temporal: [ $t(13) = 3,763$ ,  $p = 0,002$ ,  $d=0,90$ ] e espacial [ $t(13) = 2,291$ ,  $p = 0,039$ ,  $d=0,61$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação ao aspecto de integração [ $t(13) = -0,407$ ,  $p = 0,691$ ].

## ii) Segundo minuto

No que refere ao segundo minuto, foi encontrado o efeito principal para os índices [ $F(1,483) = 9,592$ ,  $p = 0,001$ ;  $\eta^2 = 0,161$ ], mas não para grupos [ $F(3) = 0,119$ ,  $p = 0,350$ ,  $\eta^2 = 0,063$ ] e para a interação entre ambos [ $F(6) = 1,504$ ,  $p = 0,185$ ,  $\eta^2 = 0,83$ ].

Quanto à discriminação em relação ao acaso com um teste  $t$  de uma amostra, o grupo controle – **C** apresentou tendência em relação ao aspecto: temporal [ $t(12) = 2,007$   $p = 0,068$ ,  $d=0,55$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [ $t(12) = 0,667$   $p = 0,517$ ] e integração [ $t(12) = -0,276$ ,  $p = 0,788$ ]. O grupo experimental díade amostra – **EDA** não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos três aspectos: temporal [ $t(12) = 1,623$   $p = 0,131$ ], espacial [ $t(12) = -1,422$   $p = 0,180$ ] e integração [ $t(12) = 1,613$ ,  $p = 0,151$ ]. O grupo experimental díade teste – **EDT** apresentou tendência em relação ao aspecto: temporal [ $t(13) = 2,154$ ,  $p = 0,051$ ,  $d= 0,57$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [ $t(13) = 1,680$   $p = 0,117$ ] e integração [ $t(13) = 0,488$   $p = 0,634$ ]. O grupo experimental díade – **ED** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos temporal: [ $t(13) = 3,369$ ,  $p = 0,005$ ,  $d=1,00$ ] e espacial [ $t(13) = 2,259$ ,  $p = 0,042$ ,  $d=0,60$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação ao aspecto de integração [ $t(13) = -0,144$ ,  $p = 0,887$ ].

### iii) Terceiro minuto

No que refere ao terceiro minuto, foi encontrado o efeito principal para os índices [ $F(1,791) = 6,180, p = 0,004; \eta^2 = 0,110$ ], mas não para grupos [ $F(3) = 1,559, p = 0,211, \eta^2 = 0,086$ ] e para a interação entre ambos [ $F(6) = 0,522, p = 0,790, \eta^2 = 0,30$ ].

Quanto à discriminação em relação ao acaso com um teste  $t$  de uma amostra, o grupo controle – **C** e o grupo experimental díade amostra – **EDA** não apresentam resultados estatisticamente significativos em relação aos três aspectos: temporal [ $t(12) = 0,934 p = 0,369$ ]; [ $t(12) = 1,533 p = 0,151$ ], espacial [ $t(12) = 0,835 p = 0,420$ ]; [ $t(12) = 0,997 p = 0,339$ ] e integração [ $t(12) = -0,447, p = 0,663$ ]; [ $t(12) = -0,365, p = 0,722$ ]. O grupo experimental díade teste – **EDT** apresentou tendência em relação ao aspecto: temporal [ $t(13) = 2,133, p = 0,053, d = 0,57$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [ $t(13) = 1,855 p = 0,086$ ] e integração [ $t(13) = 0,943 p = 0,363$ ]. O grupo experimental díade – **ED** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos temporal: [ $t(13) = 3,504, p = 0,004, d = 1,06$ ], tendência para o aspecto: espacial [ $t(13) = 2,149, p = 0,051, d = 0,57$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação ao aspecto de integração [ $t(13) = -0,790, p = 0,444$ ].

### iv) Quarto minuto

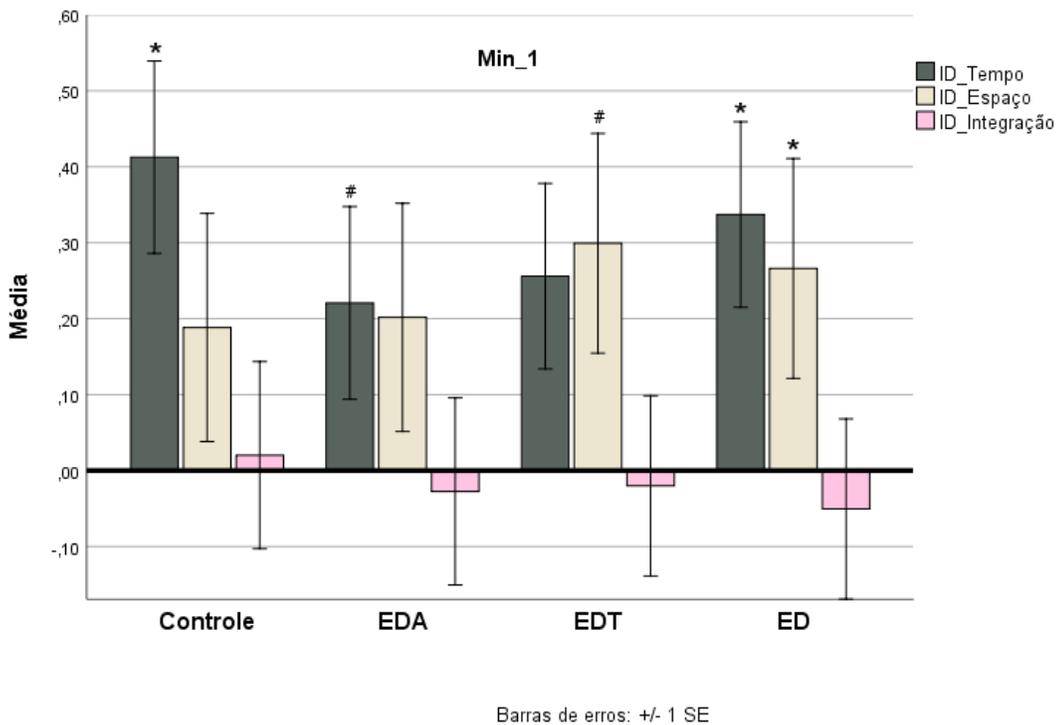
No que refere ao quarto minuto, foi encontrado o efeito principal para os índices [ $F(2) = 6,362, p = 0,003; \eta^2 = 0,113$ ], mas não para grupos [ $F(3) = 1,731, p = 0,173, \eta^2 = 0,094$ ] e para a interação entre ambos [ $F(6) = 0,736, p = 0,621, \eta^2 = 0,42$ ].

Quanto à discriminação em relação ao acaso com um teste  $t$  de uma amostra, o grupo controle – **C** não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos três aspectos: temporal [ $t(12) = 0,975 p = 0,349$ ], espacial [ $t(12) = 0,860 p = 0,407$ ] e integração [ $t(12) = -0,435, p = 0,671$ ]. O grupo experimental díade amostra – **EDA** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação ao aspectos: temporal [ $t(12) = 2,356 p = 0,36, d = 0,65$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [ $t(12) = -0,730 p = 0,479$ ] e integração [ $t(12) = 0,510, p = 0,619$ ]. O grupo experimental díade teste – **EDT** apresentou tendência em relação ao aspecto: temporal [ $t(13) = 2,041, p = 0,062, d = 0,54$ ] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [ $t(13) = 1,807 p$

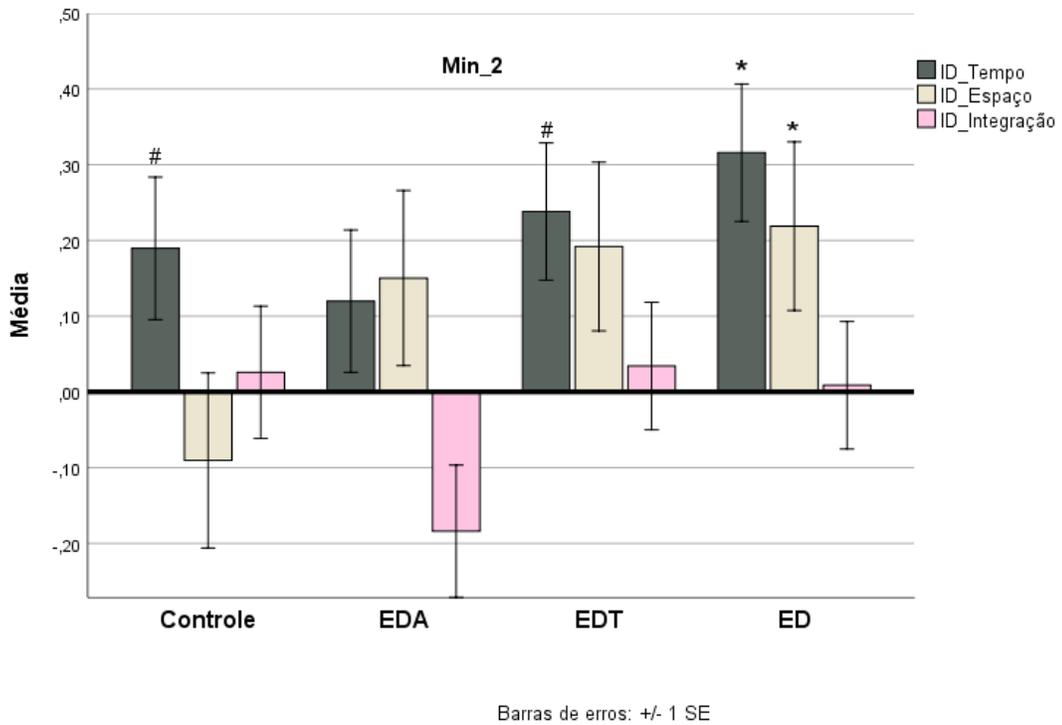
=0,094] e integração [t(13) = 0,599 p =0,592]. O grupo experimental díade – **ED** apresentou resultados estatisticamente significativos em relação ao aspectos temporal: [t(13) = 3,979, p = 0,002, d=1,06] e não apresentou resultados estatisticamente significativos em relação aos aspectos: espacial [t(13) = 1,813, p = 0,071] e integração [t(13) = 1,012, p = 0,584].

**v) Quinto minuto**

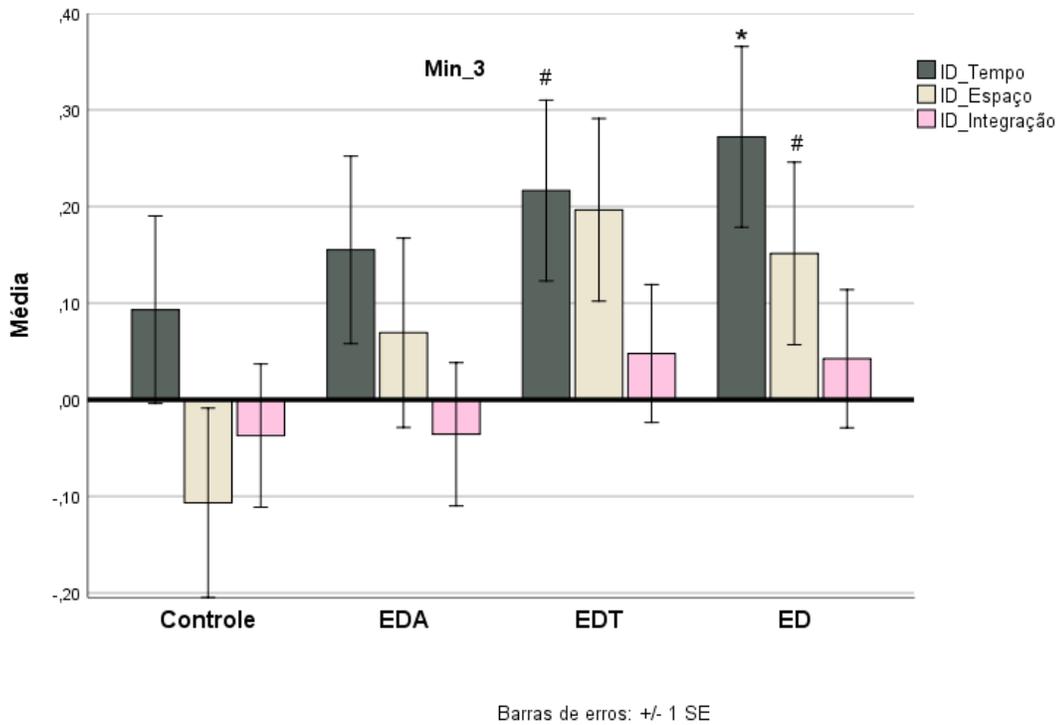
O quinto minuto refere-se ao total acumulado. Os resultados referentes ao quinto minuto já foram descritos acima. A figuras a seguir ilustram os resultados encontrados para os índices de discriminação e referem-se a cada minuto e o total acumulado.



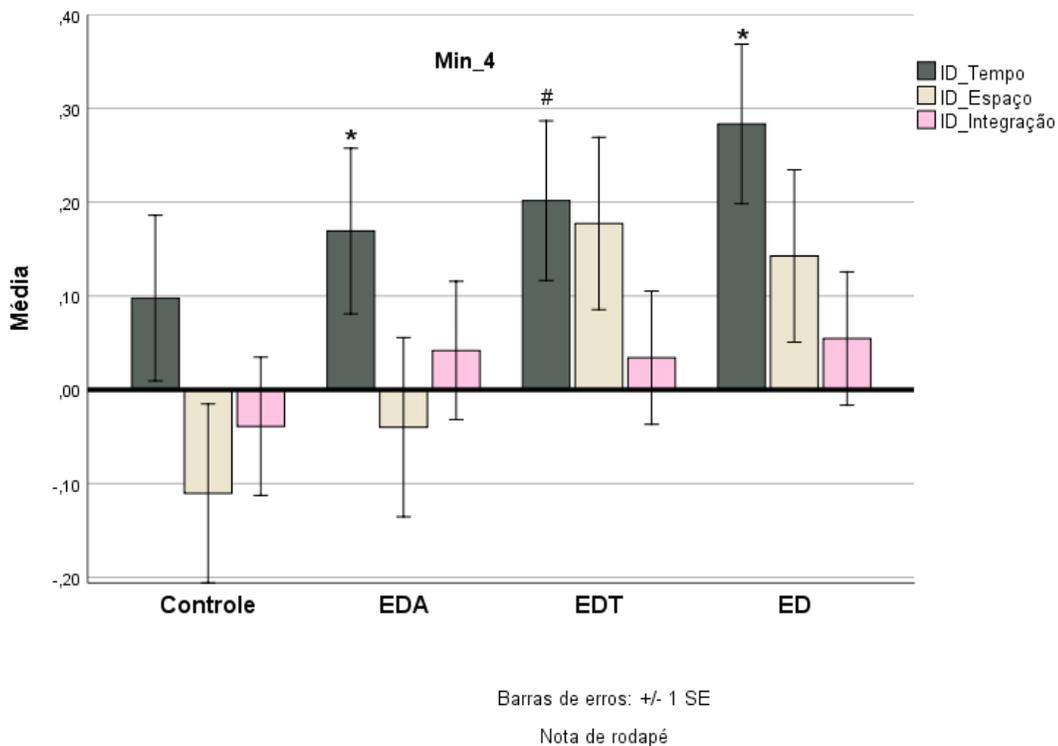
**Figura 9.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no primeiro minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações entre os índices significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).



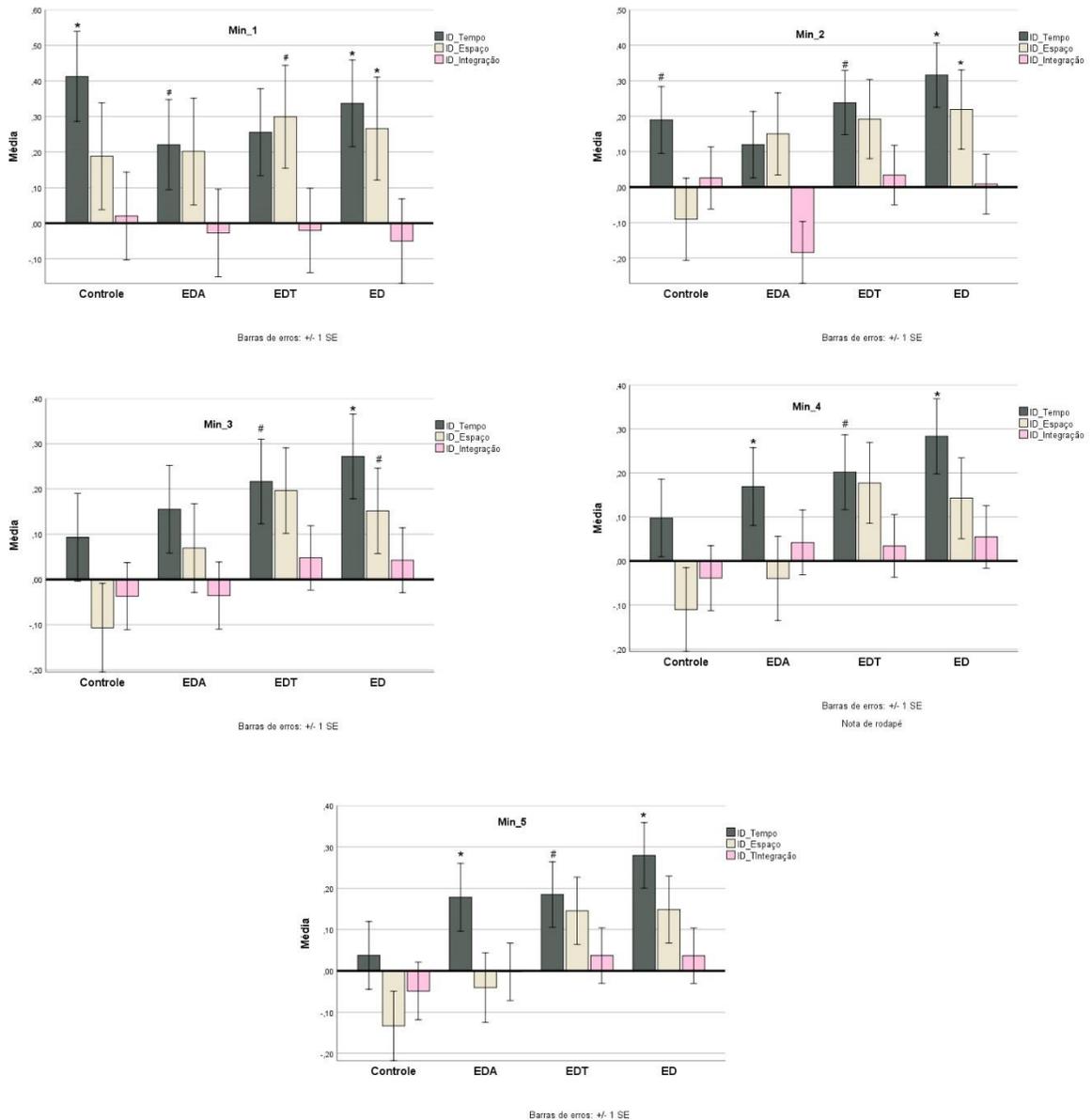
**Figura 10.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no segundo minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).



**Figura 11.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no terceiro minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).



**Figura 12.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED** no quarto minuto. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

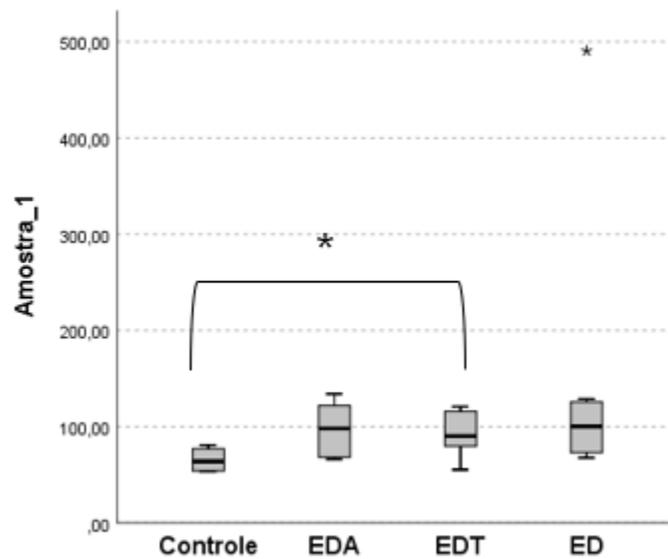


**Figura 13.** Índice de discriminação dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - EDA, experimental díade teste - EDT e experimental díade- ED de cada minuto e total acumulado. Os gráficos representam a média e o erro padrão. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Comparações considerando-se tendência (#).

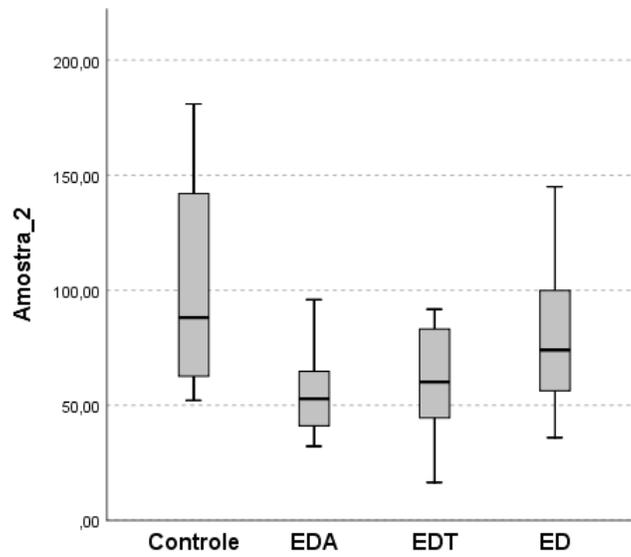
## 5.2 Tempo total de exploração

O tempo total de exploração dos objetos ao longo das sessões e entre os grupos foram analisados por meio do teste de *Kruskal-Wallis*. Foram encontrados resultados estatisticamente

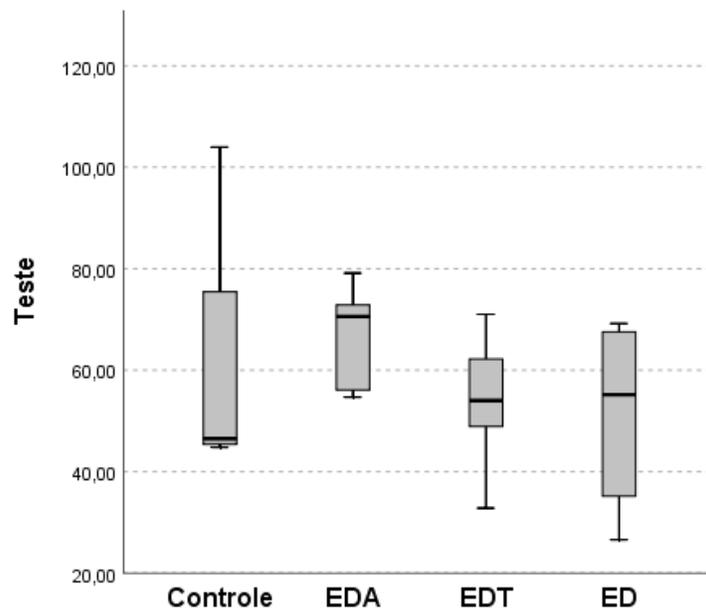
significativos para a Amostra 1 [ $H(3) = 8,501$ ;  $p = 0,037$ ]. De acordo com o *pairwise test*, na sessão da amostra 1 o grupo experimental controle - **C** teve um tempo total de exploração dos objetos menor quando comparado ao grupo - **EDT** [ $p=0,016$ ]. Contudo, não foram encontrados resultados estatisticamente significativos para a Amostra 2 [ $H(3) = 1,166$ ;  $p = 0,761$ ] e o Teste [ $H(3) = 5,453$ ;  $p = 0,141$ ]. Também foram encontrados resultados estatisticamente significativos quando comparado a amostra 1 com amostra 2 e teste [ $p=0,01$ ;  $p=0,001$  respectivamente]. Foi evidenciado um tempo maior de exploração dos objetos na sessão da amostra 1 quando comparado com a amostra 2 e o teste [posto médio = 2,57; posto médio = 1,85; posto médio = 1,57 respectivamente]. As figuras a seguir ilustram os resultados encontrados em relação ao tempo total de exploração.



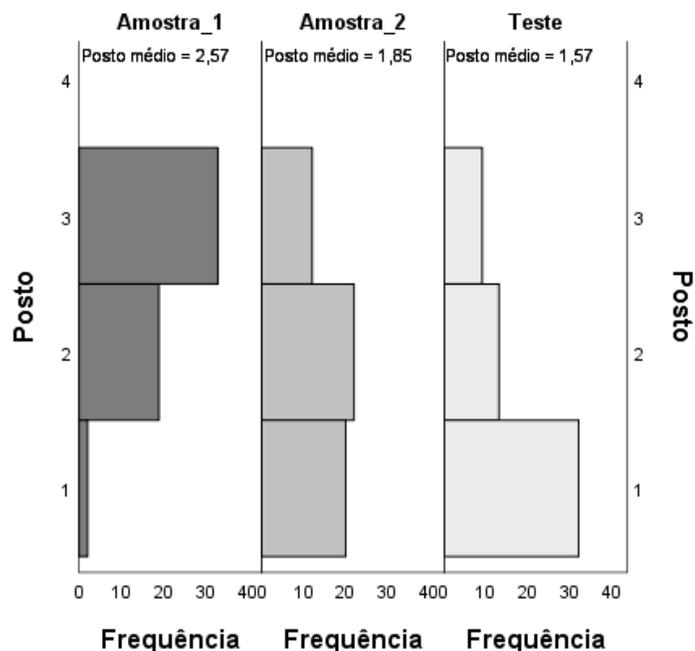
**Figura 14.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de amostra 1 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$ . \* refere-se ao resultado significativo quando comparado os grupos Controle e EDT.



**Figura 15.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de amostra 2 para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.



**Figura 16.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de teste para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.



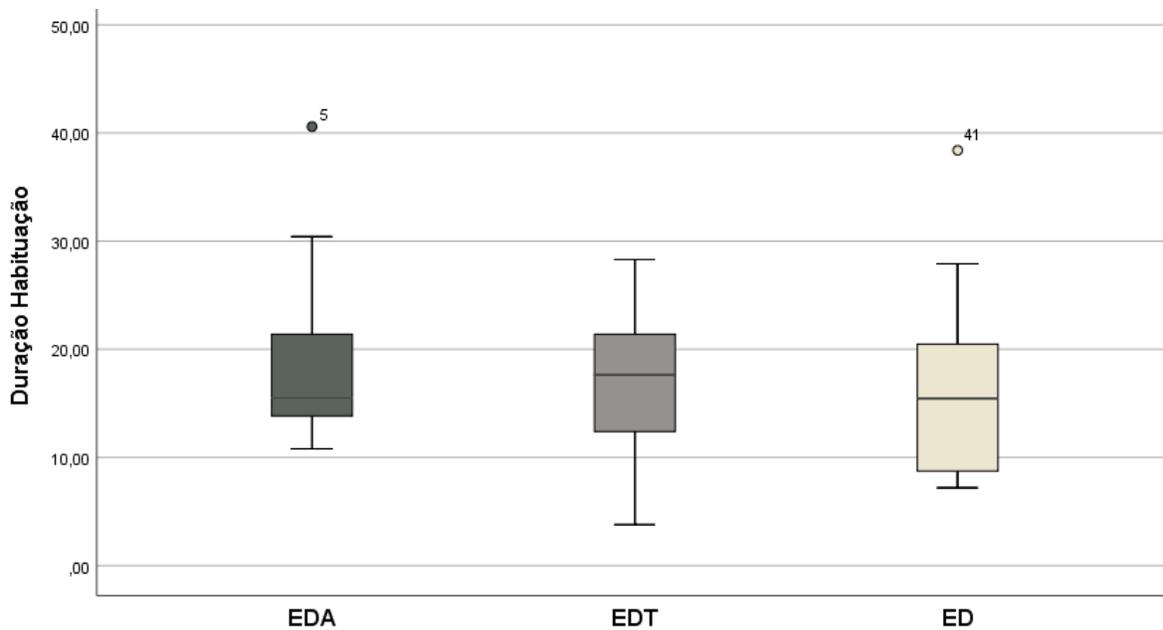
**Figura 17.** Tempo total de exploração dos objetos na sessão de Amostra 1, Amostra 2 e teste para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referente ao posto médio da sessão de amostra 1, amostra 2 e teste.

### 5.3 Comportamento Social

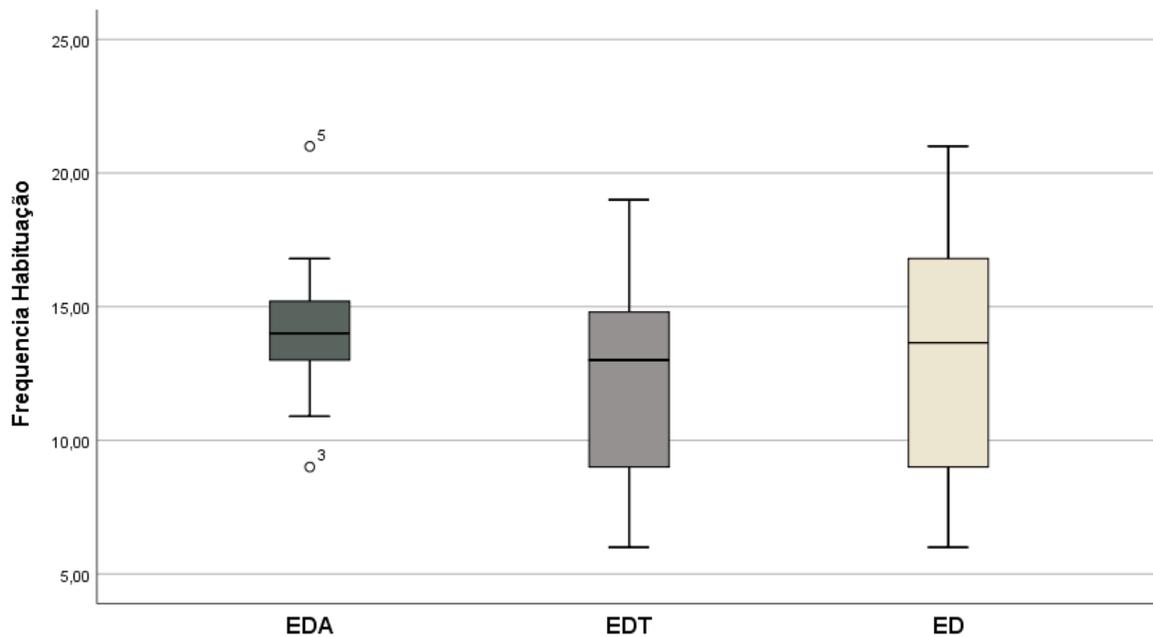
O comportamento social foi analisado nos grupos experimental díade amostra- **EDA**, experimental díade teste- **EDT** e experimental díade – **ED** a fim de averiguar comportamentos afiliativos e agonísticos. Houve registros de comportamentos sociais afiliativos nas sessões de habituação, amostras e teste. Apenas um episódio de comportamento agonístico foi observado em uma única sessão de teste. Durante as interações sociais, observou-se que os animais farejaram (*sniffing*), realizaram catação (*allogrooming*) e houve apenas um episódio de luta (*fighting*).

### i) Sessão de habituação

Para a sessão de habituação foram analisados os três grupos citados acima. Os comportamentos sociais expressos ao longo das sessões de habituação foram comportamentos afiliativos de *sniffing* e *allogrooming*. Os grupos foram analisados por meio do teste de *Kruskal-Wallis*. Não foram encontrados resultados estatisticamente significativos quanto à duração [ $H(2) = 0,884$ ;  $p = 0,643$ ] e frequência [ $H(2) = 2,008$ ;  $p = 0,366$ ] nas sessões de habituação. As figuras a seguir ilustram os resultados encontrados para o comportamento social nas sessões de habituação:



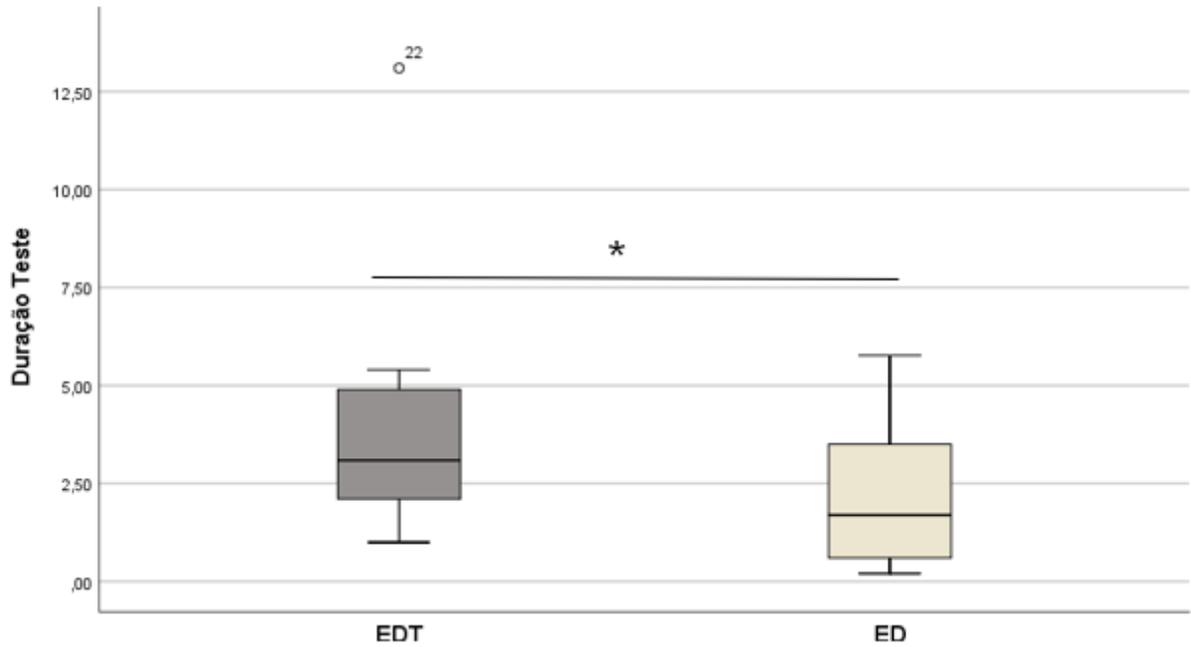
**Figura 18.** Comportamento social nas sessões de habituação para os grupos experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à duração.



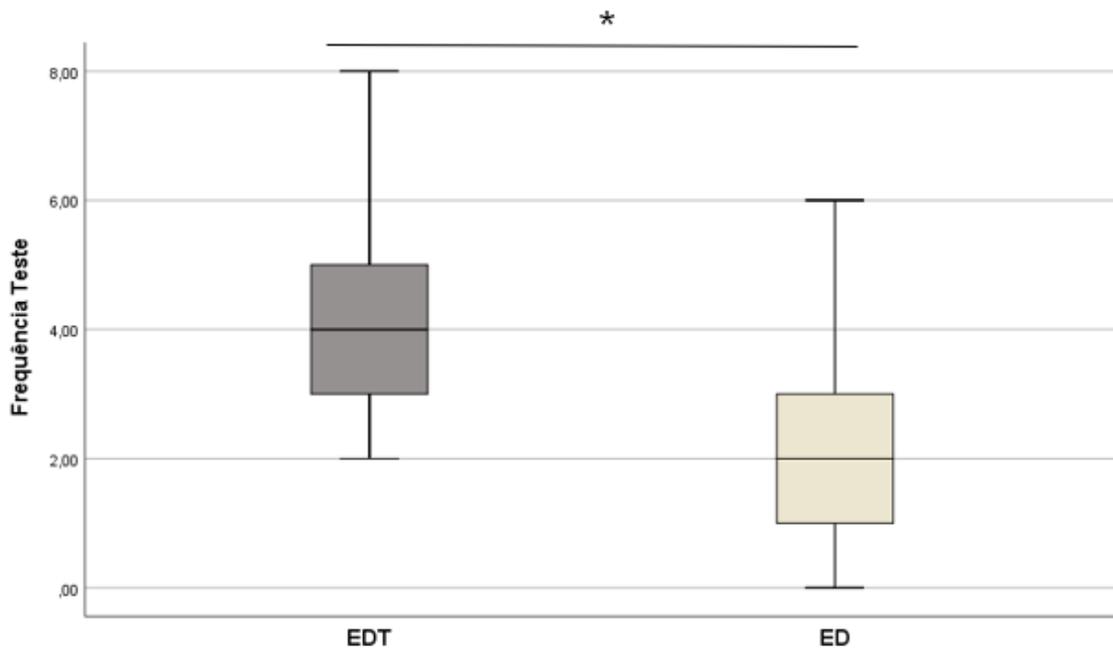
**Figura 19.** Comportamento social nas sessões de habituação para os grupos experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à frequência.

## ii) Sessão de teste

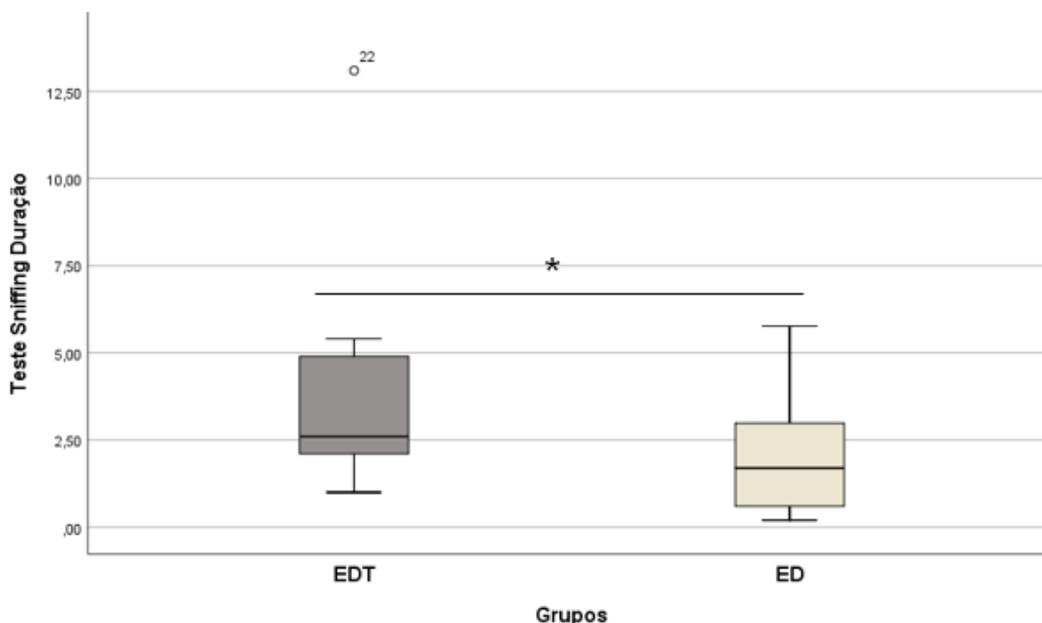
Para a sessão de testes foram analisados o grupo experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Os comportamentos sociais expressos ao longo das sessões de teste foram comportamentos afiliativos (*sniffing* e *allogrooming*) e agonístico (*fighting*). Os grupos também foram analisados por meio do teste de *Kruskal-Wallis*. Nas sessões de teste foram encontrados resultados estatisticamente significativos quanto à duração [ $H(1) = 4,279$ ;  $p = 0,039$ ] e frequência [ $H(1) = 7,689$ ;  $p = 0,006$ ]. Também foram encontrados resultados estatisticamente significativos para a duração do comportamento de *sniffing* [ $H(1) = 4,472$ ;  $p = 0,034$ ]. Não foram encontrados resultados estatisticamente significativos para a frequência dos comportamentos: *Sniffing* [ $H(1) = 0,666$ ;  $p = 0,414$ ] e *Allogrooming* [ $H(1) = 0,001$ ;  $p = 0,900$ ]. Também não foram encontrados resultados estatisticamente significativos para a duração: *Allogrooming* [ $H(1) = 0,003$ ;  $p = 0,959$ ]. As figuras a seguir ilustram os resultados encontrados para o comportamento social nas sessões de teste.



**Figura 20.** Comportamento social para as sessões de teste, comparando os dois grupos, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Dados referentes à duração.



**Figura 21.** Comportamento social para as sessões de teste, comparando os dois grupos, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Dados referentes à frequência.

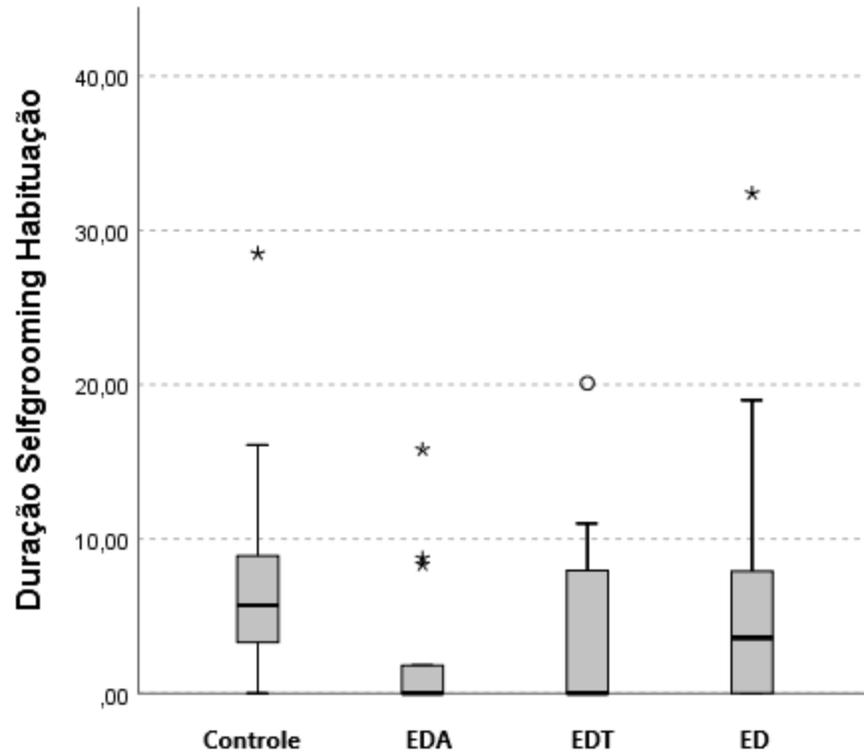


**Figura 22.** Comportamento de *sniffing* para as sessões de teste, comparando os dois grupos, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*). Dados referentes à duração do *sniffing*.

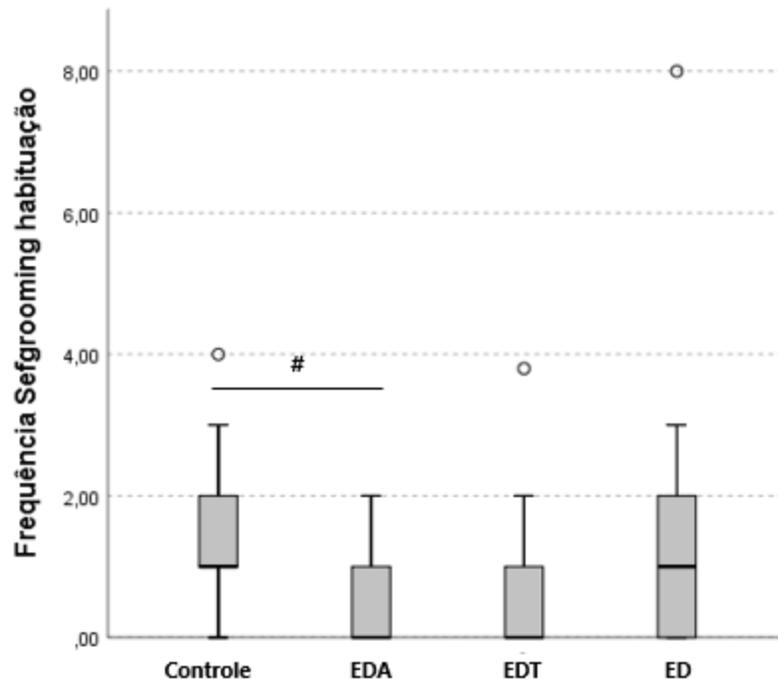
#### 5.4 Comportamento de autolimpeza (*Selfgrooming*)

##### i) Sessão de habituação

Comparamos o nível de ansiedade por meio do comportamento de *selfgrooming* entre os quatro grupos durante a primeira sessão de habituação ao campo aberto. Foram encontrados resultados estatisticamente significativos quanto à frequência [ $H(3) = 9,844$ ;  $p = 0,020$ ] e tendência: duração [ $H(3) = 7,225$ ;  $p = 0,065$ ] em que os ratos fizeram o autocuidado durante a primeira sessão de habituação. De acordo com o *post hoc* de *Bonferroni*, o grupo controle - **C** apresentou quanto a frequência tendência quando comparado à experimental díade amostra - **EDA**: [ $p=0,052$ ]; ( $C > EDA$ ). As figuras a seguir e a tabela ilustram os resultados encontrados.



**Figura 23.** Tempo gasto pelos animais realizando o comportamento de *selfgrooming* durante a primeira sessão de habituação ao campo aberto para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Comparações significativas considerando-se  $p < 0,05$  (\*).



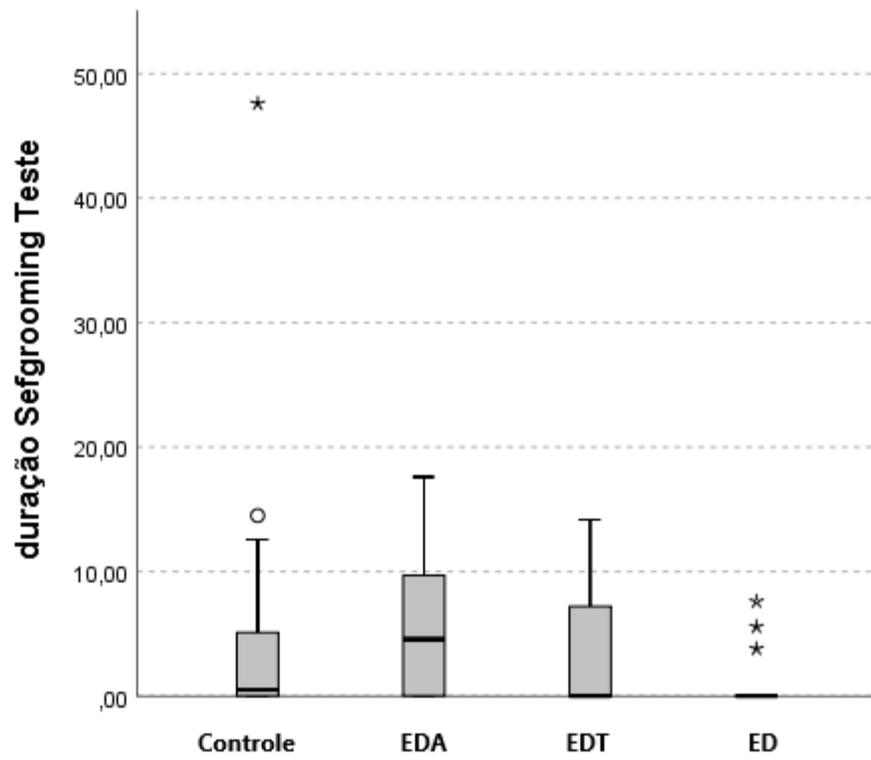
**Figura 24.** Frequência do comportamento de *selfgrooming* durante a primeira sessão de amostra ao campo aberto para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à frequência. Comparações considerando-se tendência (#).

**Tabela 1.** Posto médio do comportamento de *selfgrooming* durante a primeira sessão de amostra ao campo aberto para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**. Dados referentes à duração e a frequência.

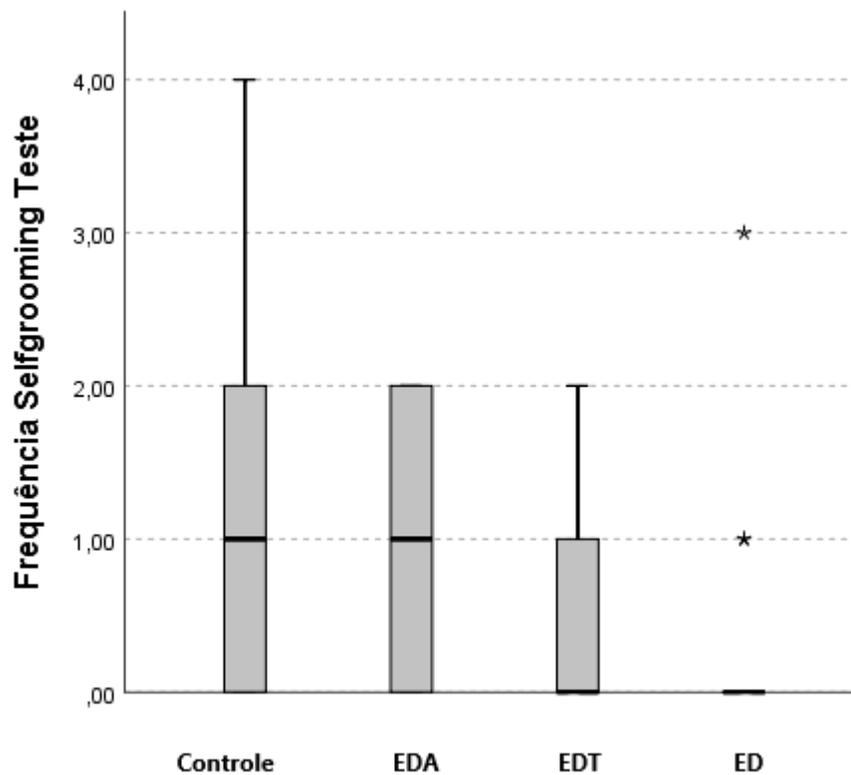
<b>Regiões</b>	<b>Grupo</b>	<b>N</b>	<b>Posto Médio</b>
<b>Duração Selfgrooming</b>	<b>Controle</b>	13	35,65
	<b>EDA</b>	13	20,62
	<b>EDT</b>	14	24,29
	<b>EDA</b>	14	29,52
	<b>Total</b>	54	
<b>Frequência Selfgrooming</b>	<b>Controle</b>	13	36,00
	<b>EDA</b>	13	20,69
	<b>EDT</b>	14	22,00
	<b>EDA</b>	14	31,43
	<b>Total</b>	54	

## ii) Sessão de teste

Também comparamos o nível de ansiedade por meio do comportamento de *selfgrooming* entre os quatro grupos durante a sessão de teste ao campo aberto. Não foram encontrados resultados estatisticamente significativos quanto à duração [ $H(3) = 0,000$ ;  $p = 0,900$ ] e frequência [ $H(3) = 5,040$ ;  $p = 0,169$ ] em que os ratos realizaram este comportamento durante a primeira sessão de teste. A figura a seguir ilustra os resultados encontrados.



**Figura 25.** Tempo gasto pelos animais realizando comportamento de *selfgrooming* durante a sessão de teste. Dados referentes à duração.

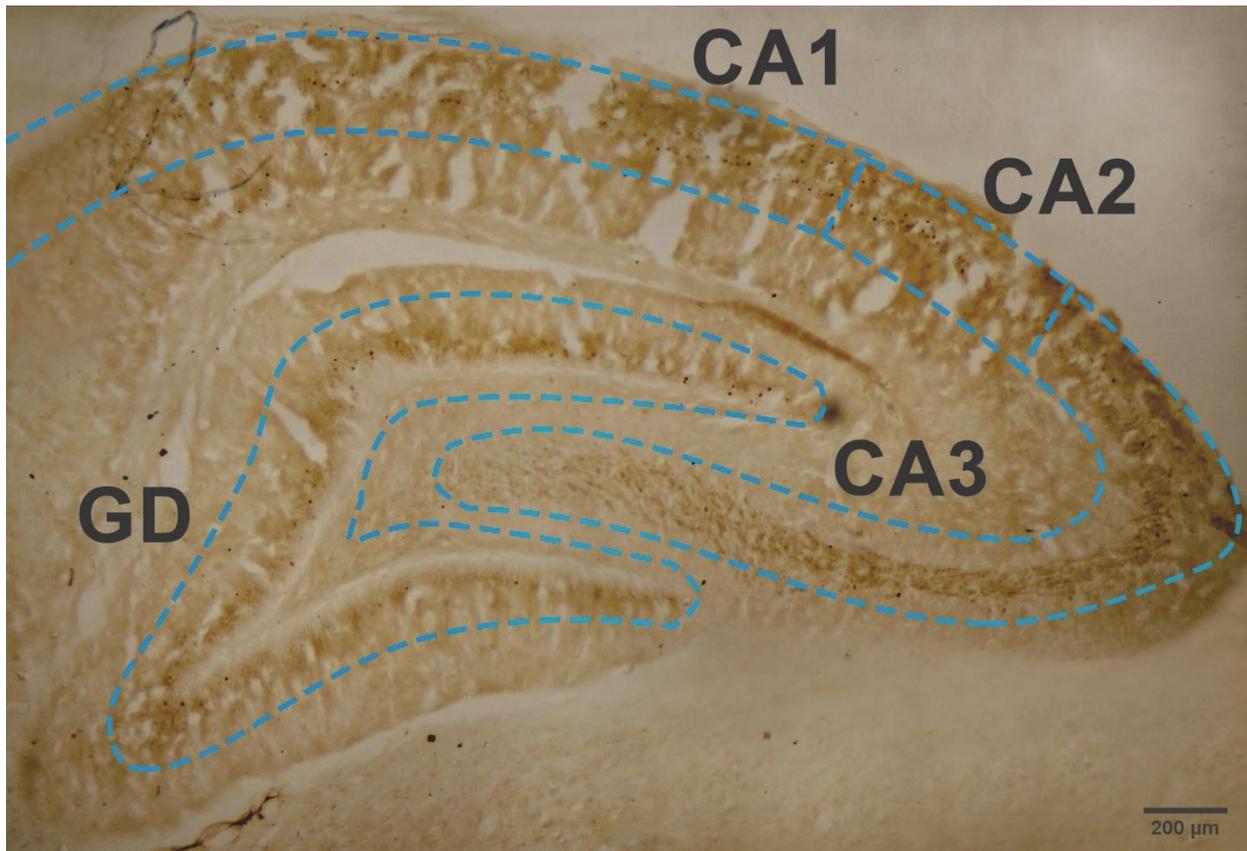


**Figura 26.** Tempo gasto pelos animais realizando comportamento de *selfgrooming* durante a sessão de teste. Dados referentes à frequência.

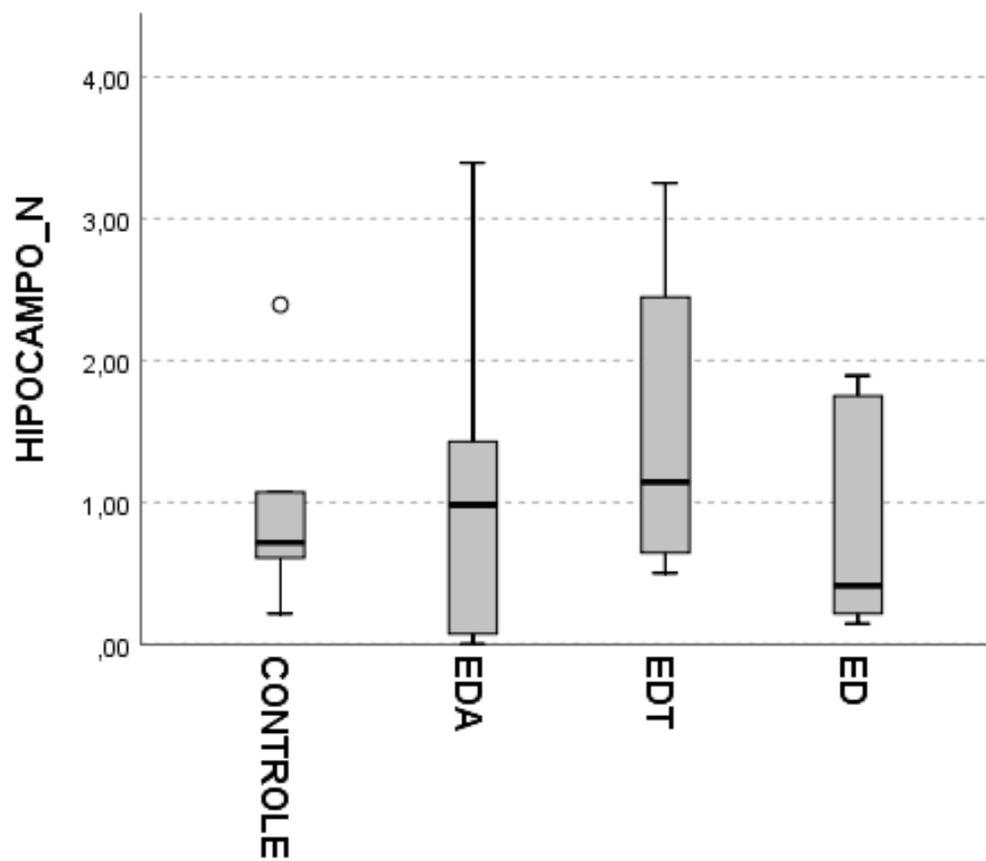
### 5.5 Expressão de C-Fos

Para o número de células c-Fos-positivas, foi utilizada uma análise por meio do teste de *Kruskal-Wallis* para o Hipocampo total, CA1, CA2 e CA3. Não foram encontrados resultados estatisticamente significativos entre os grupos para Hipocampo [ $H(3) = 2,881$ ;  $p = 0,516$ ], CA1 [ $H(3) = 4,9593$ ,  $p = 0,204$ ], CA2 [ $H(3) = 1,077$ ;  $p = 0,783$ ] e CA3 [ $H(3) = 0,778$ ;  $p = 0,855$ ].

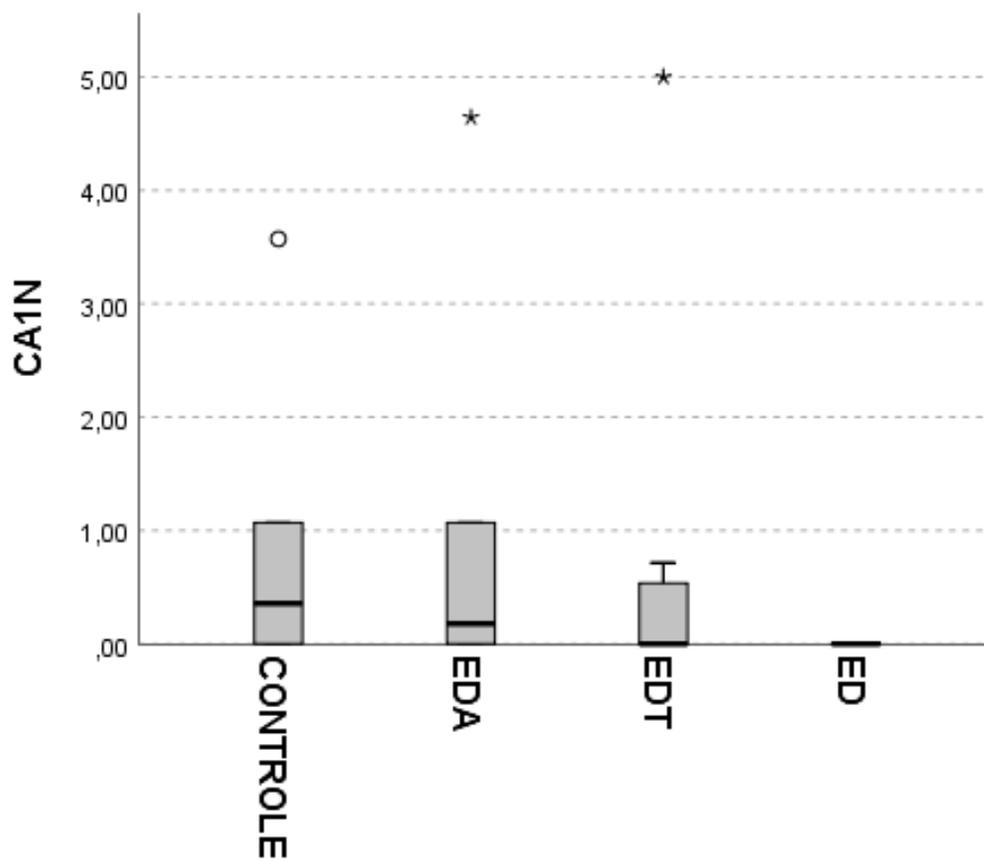
Quanto ao Giro Denteado, comparamos os resultados através de ANOVA unidirecional, não foi encontrado o efeito principal para os grupos [ $F(3) = 2,136$ ,  $p = 591$ ;  $\eta^2 = 0,651$ ]. As figuras a seguir representam os resultados médios para contagem em todos os grupos e as representações das áreas referentes ao CA1, CA2, CA3 e Giro Denteado (GD). A tabela refere-se ao posto médio da expressão de C-Fos no hipocampo e sub-regiões CA1, CA2, CA3 e Giro Denteado (GD).



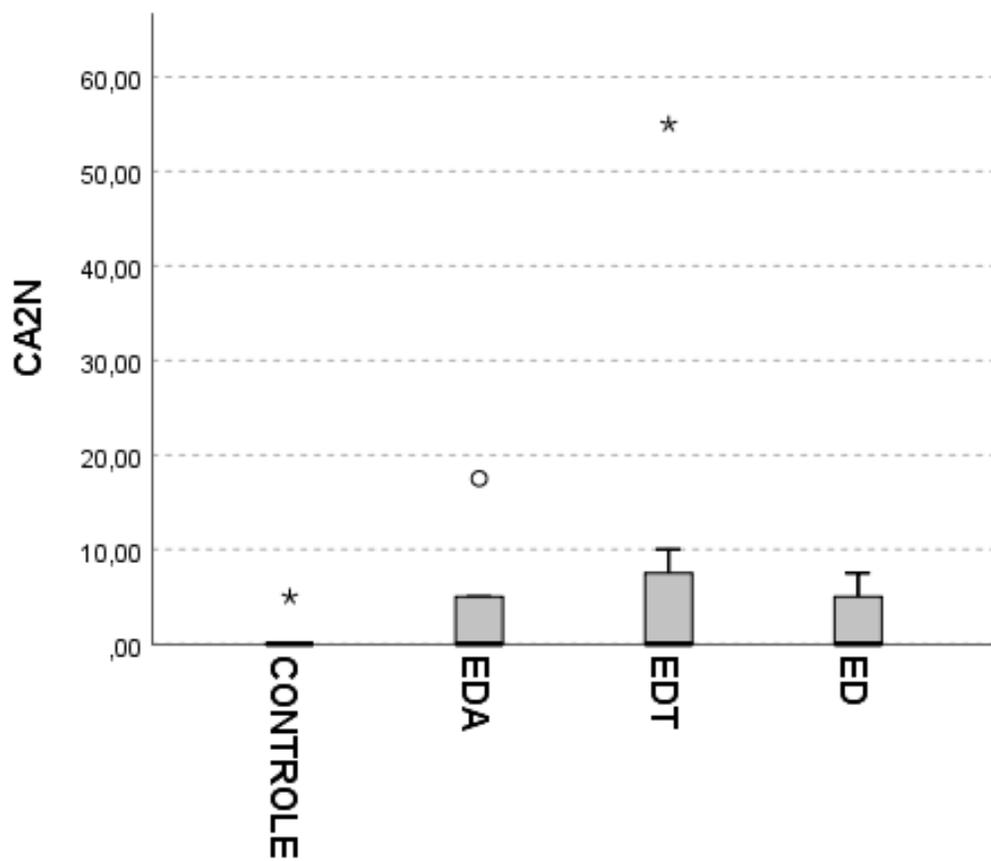
**Figura 27.** Imagens representativas da expressão c-Fos no Hipocampo e regiões CA1, CA2, CA3 E GD.



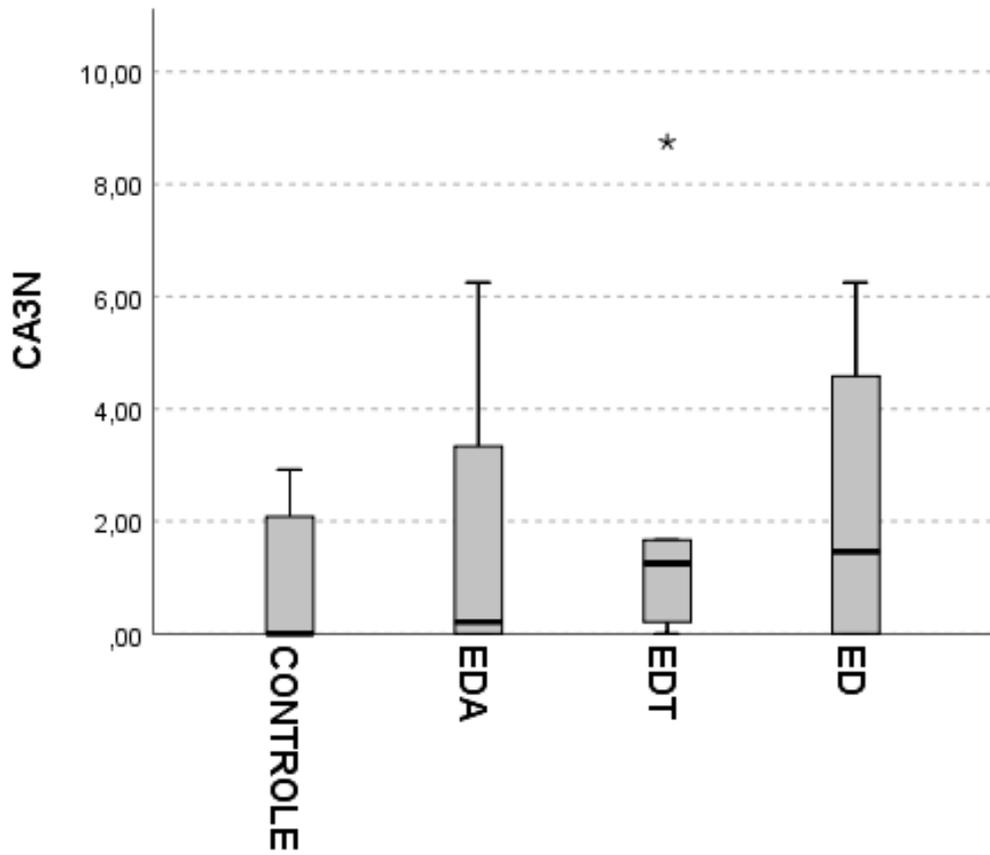
**Figura 28.** Expressão de c-Fos no Hipocampo para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.



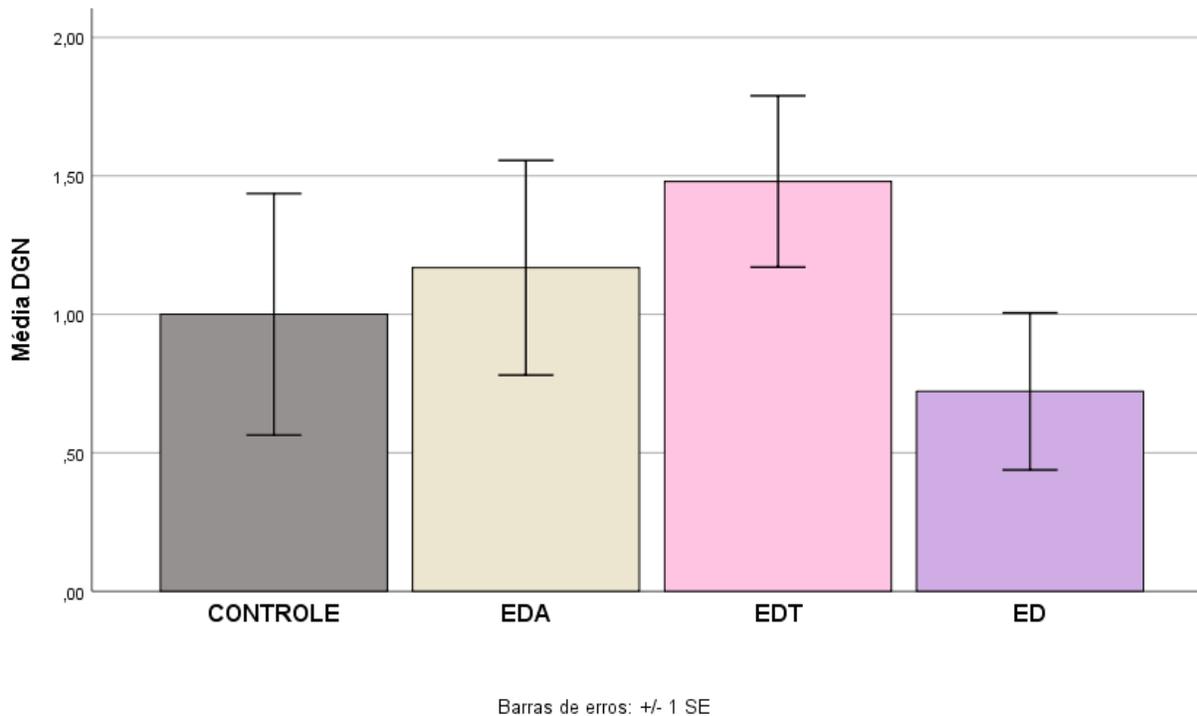
**Figura 29.** Expressão de c-Fos no CA1 para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.



**Figura 30.** Expressão de c-Fos no CA2 para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.



**Figura 31.** Expressão de c-Fos no CA3 para os grupos controle-C, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.



**Figura 32.** Expressão de c-Fos no Giro Denteado (GD) para os grupos controle-**C**, experimental díade amostra - **EDA**, experimental díade teste - **EDT** e experimental díade- **ED**.

### 5.6 Correlação entre a expressão C-Fos e os índices de discriminação

Também foram realizadas análises referentes a correlação da c- Fos nas regiões CA1, CA2, CA3 e GD e os índices de discriminação. Para essas análises foi realizada uma estatística não paramétrica através da correlação de *Spearman*. A correlação foi realizada entre os resultados estatisticamente significativos dos índices de discriminação da memória similar a episódica e as regiões do hipocampo CA1, CA2, CA3 e GD. Foi encontrada uma correlação negativa no grupo controle - **C** para o índice de tempo no primeiro minuto e Giro Denteado [ $\rho=0,990$ ;  $p < 0,001$ ]. Para o grupo experimental díade - **ED** foi encontrada uma correlação positiva para o índice de espaço e GD no primeiro minuto [ $\rho=0,943$ ;  $p=0,005$ ]. Também foi encontrada uma correlação positiva para o índice de tempo e CA3 no segundo minuto [ $\rho=0,928$ ;  $p=0,008$ ], terceiro minuto [ $\rho=0,928$ ;  $p=0,008$ ] e quinto minuto [ $\rho=0,812$ ;  $p=0,050$ ].

## 6. Discussão

O presente estudo verificou se o contexto social contribui para os processos mnemônicos de aquisição e evocação da memória similar à episódica em ratos Wistar. Foi realizada 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, um comportamento inerente aos roedores (Ennaceur & Delacour, 1988), e possibilita a análise de três padrões de exploração, a saber: padrão espacial (associação de “o quê” e “onde”), temporal (associação de “o quê” e “quando”) e integrativo (associação de todos os aspectos). Os nossos resultados indicaram que os animais não acessaram os três componentes episódicos de forma integrada. No entanto, observaram-se resultados importantes para o índice de tempo e índice de espaço no protocolo adaptado da tarefa de Kart-Teke *et al.* (2006) em um intervalo de retenção de 24 h e em um campo aberto de 60 cm de diâmetro. Para a análise comportamental, avaliamos o desempenho dos animais em relação ao índice de discriminação, tempo total de exploração e comportamento de autolimpeza na primeira sessão de habituação ao campo aberto e sessão de teste. Além disto, verificamos os comportamentos afiliativos e agonísticos nas díades nestas sessões.

### 6.1 Índices de discriminação

O desempenho dos animais em relação ao índice de discriminação foi determinado pela comparação entre um objeto e outro com base em um padrão de exploração específico, a saber: (i) o objeto antigo não deslocado deveria ser mais explorado que o objeto recente não deslocado (padrão temporal,  $A1 > B1$ ); (ii) o objeto recente deslocado deveria ser mais explorado que o recente não deslocado (padrão espacial,  $B2 > B1$ ); e (iii) o objeto antigo não deslocado deveria 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 o teste foi modificado de 50 minutos para 24 h. Até então, os estudos do nosso laboratório obtiveram sucesso com intervalo entre as sessões e o teste maior que 1 hora, com animais apenas dentro de um contexto social utilizando um intervalo de 24h entre a sessão e o teste em um campo aberto de 60 cm (de França Malheiros *et al.*, 2021).

Como citado anteriormente, os nossos achados indicaram que os ratos Wistar não acessaram os três componentes episódicos de forma integrada. Para os três componentes episódicos, analisamos os resultados para cada minuto e minuto acumulado e confirmamos a importância do contexto social na memória similar à episódica, uma vez que os ratos do grupo experimental díade - **ED** discriminaram o índice de tempo e índice de espaço da memória similar à episódica, no primeiro e segundo minuto, como também continuaram discriminando o índice de tempo no terceiro, quarto e no minuto acumulado. O índice de tempo também foi importante para os demais grupos experimentais sociais, com a discriminação desse índice para o grupo experimental díade amostra – **EDA**, no quarto minuto e minuto acumulado e o grupo experimental díade teste - **EDT** apresentou uma tendência em discriminar o índice de tempo, no segundo minuto, terceiro minuto, quarto minuto e minuto acumulado. Já para o grupo controle – **C**, encontramos apenas discriminação do índice de tempo no primeiro minuto, não discriminando nenhum índice da memória similar à episódica nos demais minutos.

Apesar de nossos resultados corroborarem parcialmente os dados publicados previamente pelo nosso laboratório (de França Malheiros *et al.*, 2021), visto que ratos acessaram a memória similar à episódica em um intervalo de 24 h quando testados dentro um contexto social, o estudo de França Malheiros *et al.* (2021) apresentou algumas limitações concernentes ao desenho experimental que não permitiram identificar a influência do contexto social nos processos mnemônicos de codificação e evocação. O delineamento experimental do estudo anterior continha dois grupos sociais, sendo que um grupo realizou todas as sessões da tarefa de memória similar à episódica dentro do contexto social e o outro grupo passou apenas pelas sessões de habituação em díade e realizou a tarefa individualmente. Diferindo desta abordagem metodológica, a configuração do presente estudo incluiu um grupo em díade que realizou as sessões de amostras, um grupo em díade que realizou a sessão de teste e um grupo em díade que realizou todas as sessões da tarefa (amostras e teste). Essa nova configuração nos permitiria entender a influência do contexto social nos processos mnemônicos envolvidos na memória similar à episódica. Para todos os grupos experimentais sociais, os resultados indicam possivelmente que o contexto social foi importante na tarefa, tanto na codificação como na evocação, com resultados importantes para o índice de tempo. Ressaltamos que o padrão temporal acontece quando o objeto antigo não deslocado (A1) é mais explorado do que o objeto recente não deslocado (B1). Esses achados confirmam que animais dos grupos sociais reconheceram objetos explorados durante os ensaios e

lembraram de sua ordem de apresentação, associando (“o quê” e “quando”) mostrando serem capazes de recuperar informações sobre suas experiências passadas e confirmando a importância do contexto social na tarefa de memória similar a episódica. No entanto, manter os animais em díades durante todas as fases experimentais não foi suficiente para que pudessem acessar a memória similar à episódica, conforme observado em nosso estudo anterior (de França Malheiros *et al.*, 2021).

Assim sendo, manter os animais em díade foi essencial para acessar processos envolvidos na memória similar à episódica, uma vez que o grupo controle – **C** não acessou nenhum índice correspondente a memória similar à episódica no minuto acumulado e apresentou diferenças significativas quando comparado ao grupo experimental díade - **ED** - grupo submetido a todos os procedimentos experimentais dentro de um contexto social. Nossos achados corroboram com alguns estudos que demonstraram que o contexto social foi importante para camundongos envolvidos em uma tarefa de reconhecimento de objetos espaciais (Lipina e Roder, 2013). Esse mesmo estudo sugeriu questões pertinentes envolvidas no processo de aprendizagem social, como a facilitação social, que é capacidade de o animal realizar determinadas ações mais facilmente na presença de um co-específico, o que não aconteceria individualmente (Lipina e Roder, 2013; Wills *et al.*, 1983). Outros estudos apontam para vertentes mais complexas do que a facilitação social, como o aprendizado observacional, cooperação e empatia (Rutte e Taborsky, 2007; Viana *et al.*, 2010; Bartal *et al.*, 2011; Wood *et al.*, 2016; Weiss *et al.*, 2017).

Além do ambiente social potencialmente influenciar a motivação e a neofobia, outros fatores podem estar relacionados ao desempenho observado nos animais, como, por exemplo, processos de aprendizagem social nos grupos. Estes aspectos precisam de uma investigação mais aprofundada para avaliar, por exemplo, a possibilidade de que alguns animais (como ratos subordinados ou seguidores) estavam simplesmente seguindo outros ou rastreando seu odor (como ratos dominantes ou líderes).

Além disso, levantamos algumas hipóteses e supomos que os animais se empenharam mais na exploração do próprio campo e/ou gastaram mais tempo socializando do que explorando os objetos expostos ao campo aberto. Estudos relatam que animais podem influenciar o comportamento uns dos outros de diferentes maneiras, e a interação social, por si só, é considerada um processo capaz de promover alterações comportamentais (Galef, 1996). Estudos também apontam que ratos quando viajam em díades aumenta sua locomoção e expressam vocalizações,

como também encontram-se em contínua interação e, ao se movimentar, movem-se como se estivessem conectados, (Weiss et al., 2015; Laplagne et al., 2016). Desta forma, os ratos testados em díades passam aproximadamente 40% de seu tempo em comportamento social (Beck & Chow, 1984). Ressaltamos que a falta de medidas relacionadas à atividade locomotora em nossos estudos limita o nosso entendimento, neste momento, acerca da complexidade do contexto social, o qual envolve uma organização do animal - não apenas do ambiente físico, mas também do ambiente social (Dorfman *et al.*, 2016).

Outro fator importante é o intervalo de retenção para que animais acessem este tipo de memória. Como já citado anteriormente, observaram-se resultados importantes para os componentes episódicos da memória similar à episódica para um intervalo de retenção de 24 h. Este intervalo foi favorável para os ratos dentro do contexto social acessarem o índice de tempo e o índice de espaço para o grupo experimental díade - **ED**. O componente social também demonstrou ser importante para o índice de tempo, tanto na evocação quanto na codificação da memória similar à episódica, uma vez que o grupo experimental díade amostra – **EDA** e experimental díade teste – **EDT** também apresentaram resultados importantes quanto ao índice de tempo.

Sendo a ELM/WWhen uma tarefa de considerável demanda cognitiva, ao se comparar com outras tarefas associativas de reconhecimento de objetos, e tendo sido aplicada em um longo intervalo de retenção, pode-se hipotetizar que o contexto social exerceu um efeito promnástico e permitiu ao grupo que realizou todo o experimento em díades acessar mais elementos contextuais (i.e.: índice de tempo e de espaço no grupo ED) do que os grupos que tiveram interrupção do contexto social ao longo do experimento e realizaram apenas parte do procedimento em grupo (i.e.: índice de tempo nos grupos EDA e EDT). Em relação aos resultados dos índices *per se*, estudos que exploram a concorrência entre diferentes elementos mnemônicos não são comuns. Chao e colaboradores (2016) construíram uma tarefa para acessar de forma simultânea a memória para item e para local e identificaram que o traço para o objeto é mais forte do que para a localização. No estudo de Farias (2021), que consistiu de uma série de experimentos para investigar se a referência espacial prejudica o desempenho dos animais com relação à discriminação de recência, foi sugerido que o traço de memória para o espaço é mais robusto do que para o tempo. Embora a investigação entre uma possível hierarquia entre elementos contextuais ainda seja inexplorada, o presente estudo corrobora o dado de Mitchell & Laiacona

(1998) quanto à capacidade de discriminação temporal de objetos em intervalo de 24h, contudo, em nossa pesquisa essa capacidade seja dependente do contexto social.

Os resultados supracitados corroboram em parte com os nossos achados já publicados (de França Malheiros *et al.*, 2021), que indicaram que os ratos dentro do contexto social acessaram os três componentes episódicos da memória similar à episódica em um intervalo de 24 h. Isto não foi observado no grupo controle, tanto para os dados já publicados (de França Malheiros *et al.*, 2021) como também para o presente estudo. No entanto, para o grupo controle - **C**, o tempo de retenção já é bem consolidado. Dados não publicados e publicados por nosso laboratório (de França Malheiros *et al.*, 2021; Drieskens *et al.*, 2017) demonstram que ratos individualmente testados não acessam este tipo memória em um intervalo superior a 1h, condição que também foi confirmada no presente estudo. Esses achados nos levar a sugerir que aprofundar-se em questões como modular os experimentos em diferentes tempos de retenção, como por exemplo 1h, 6h, 12h e replicar os estudos seriam condições necessárias para ampliar o entendimento dos processos envolvidos.

Embora as pesquisas sobre a cognição socioespacial tenham recentemente se expandido (Weiss *et al.*, 2015, Weiss *et al.*, 2018), dentro da literatura referente à memória similar à episódica pouco se sabe sobre a influência do contexto social em processos mnemônicos. No entanto, de fato, a condição do animal a ser testado dentro de um contexto social parece ser relevante para a memória similar à episódica. Os nossos achados são relevantes, uma vez que demonstram a importância do contexto social na discriminação dos componentes episódicos da memória similar à episódica para cada minuto e, assim, abrem caminhos e apontam para um potencial ligação entre o contexto social e a memória similar à episódica.

## **6.2 Tempo Total de Exploração**

Em nosso estudo, os resultados indicaram que o grupo controle - **C** apresentou um tempo total de exploração reduzido quando comparado ao grupo experimental díade teste - **EDT** na sessão da amostra 1. Esses resultados são relevantes quanto ao desempenho dos animais em explorar os objetos, uma vez que os grupos se submeteram à mesma condição experimental na sessão amostra 1, ou seja, em um contexto individual. Os achados sugerem que a experiência social vivenciada anteriormente nas sessões de habituações ao campo aberto pelo grupo experimental díade teste - **EDT** parece ser transferida para a sessão de amostra 1, tornando os animais mais engajados na

exploração, como também, mais encorajados quando inseridos em um cenário de novidade, podendo também ter influenciado em uma redução a respostas neofóbicas. Resultados similares também foram relatados na literatura mostrando que ratos em contexto individual no campo aberto, após ter sido inseridos em um contexto em díade, expandiram a exploração para seções de campo aberto, em comparação com os controles, que não haviam sido testados em díades (Weiss et al, 2015). De fato, esses resultados parecem indicar o contexto social como um modulador do comportamento exploratório. Esses dados corroboram resultados anteriores publicados por nosso laboratório mostrando que ratos aumentaram o tempo total de exploração quando testados em díade (de França Malheiros *et al.*, 2021). Esta questão também é discutida na literatura, que aponta que animais dentro de um contexto social aumentam seu comportamento exploratório (Hughes 1969; Meaney & Stewart 1979; Beck & Chow, 1984; Griffiths & Foster, 1998). Outros estudos retratam que o *rearing*, comportamento de parâmetro de exploração em roedores, foi significativamente aumentado em camundongos habituados a um parceiro familiar (Lipina & Roder, 2013).

Quanto ao tempo total de exploração, nossos resultados também demonstraram que o comportamento exploratório dos animais teve um tempo aumentado na sessão de amostra 1 quando comparado a sessão de amostra 2 e teste.

A experiência é outro fator que pode alterar a exploração dos objetos. A exposição repetida aos mesmos objetos pode reduzir o tempo de aproximação, visto que o indivíduo se torna mais familiarizado com o objeto. Estudos relatam que ratos em uma segunda exposição ao mesmo objeto, após intervalos diferentes, apresentaram uma diminuição da exploração indicando a habituação entre as sessões (Heinrich, Marzluff & Adams, 1995; Lukaszewska, 1993). Essa diminuição também foi vista quanto à duração da exploração após o objeto ser totalmente explorado (Mettke, 2006). Estes achados estão de acordo com os nossos resultados que apresentaram um tempo total de exploração reduzido para amostra 2 e teste quando comparado com a amostra 1. Além disso, também corroboram os nossos achados já publicados (De França Malheiros *et al.*, 2021) que mostraram que os animais apresentaram uma redução da exploração na sessão de teste, a última sessão na qual os animais foram inseridos.

### 6.3 Comportamento de autocuidado (*Self-grooming*) e social

A fim de avaliar as respostas do tipo ansiedade, medimos o tempo que cada rato passou em *selfgrooming* em campo aberto na primeira sessão de habituação - que se espera ser a condição mais estressante devido à novidade ambiental. Além disso, também registramos as interações exibidas pelas díades durante esta sessão, identificando comportamentos afiliativos e agonísticos.

Para o comportamento de autocuidado, encontramos uma tendência entre o grupo controle - **C** e o grupo experimental díade amostra - **EDA**. Esses resultados retratam que o comportamento de *selfgrooming* nos ratos do grupo controle apresentou uma tendência em ser mais frequente quando comparado ao grupo experimental díade amostra. Apesar de o grupo controle não apresentar diferenças significativas em relação aos demais grupos sociais (experimental díade teste e experimental díade), esses resultados parecem indicar que animais em uma condição individual podem se apresentar mais ansiosos quando comparados àqueles dentro do contexto social. É interessante retratar que todos os grupos apresentaram o comportamento de *selfgrooming*, uma vez que a primeira sessão de habituação é o primeiro contato dos animais ao campo aberto, confirmando ser uma condição estressante devido à novidade ambiental (Choleris *et al.*, 2001). No entanto, a tendência a diferença entre os grupos sugere que animais em díades se adaptam mais facilmente quando colocados na presença de co-específico e em condições mais próximas da sua natureza, como também nas condições de manutenção da gaiola. Esses achados também são um importante indicativo do contexto social como modulador do comportamento. Essa tendência encontrada também está de acordo com um estudo realizado em nosso laboratório, o qual demonstrou que ratos na condição individual apresentaram um maior nível de ansiedade (de França Malheiros *et al.*, 2021). A literatura aponta que a habituação conjunta ao campo aberto reduziu o autocuidado em camundongos BTBR do tipo autista (Lipina & Roder, 2013). Para a sessão de teste, não encontramos diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. Esses achados sugerem que os animais já estavam adaptados e familiarizados ao campo aberto, uma vez que a sessão de teste representa a sexta vez em que o animal é inserido no campo aberto, de acordo com delineamento da tarefa de Kart-Teke *et al.* (2006). Estudos relatam que, em múltiplas apresentações, os animais codificam eventos externos, armazenam informações e as utilizam para detectar mudanças espaciais e contextuais e assim gerar previsões sobre esse ambiente específico (Xavier, *et al.*, 1991). Estudos mais recentes mostram que embora o *self-grooming* seja frequentemente conceituado como um comportamento realizado pelos animais em uma situação

individual e fora do contexto social, foi verificado em camundongos que esse comportamento também está envolvido na comunicação social entre os co-específicos (Zhang, et al., 2021). Diante disto, novas investigações são necessárias para identificar os tipos de respostas (ansiedade ou comunicação) expressadas pelos animais a partir do comportamento de *self-grooming* dentro das díades.

Durante as interações sociais, encontramos comportamentos afiliativos [ex.: catando (*allogrooming*), e farejando (*sniffing*)] e agonístico (*Fighting*). Comparamos os grupos sociais na sessão de habituação e na sessão de teste.

Na primeira sessão de habituação, compararam-se os grupos experimental díade amostra, experimental díade teste e experimental díade. Durante esta sessão, os animais socializaram e expressaram apenas comportamentos sociais afiliativos. Esta condição era esperada, uma vez que os animais eram mantidos em grupo de quatro por gaiola, inclusive junto a sua díade experimental, ou seja, eram parceiros de gaiola. Esses resultados também foram observados em um estudo anterior do nosso laboratório (de França Malheiros *et al.*, 2021), indicando que animais dentro da primeira sessão de habituação socializaram e expressaram apenas comportamentos sociais afiliativos.

Para sessão de teste, comparamos os grupos experimental díade teste - **EDT** e experimental díade - **ED**. Esses grupos realizaram a sessão de teste dentro do contexto social. Os comportamentos sociais expressos ao longo das sessões de teste foram comportamentos afiliativos (*sniffing* e *allogrooming*) e agonístico (*fighting*), com resultados estatisticamente significativos quanto à duração e frequência dos comportamentos. Também foram encontrados resultados estatisticamente significativos para a duração do comportamento de *sniffing*. O grupo que interagiu mais socialmente foi o grupo experimental díade - **EDT**. Reiteramos que esses animais foram expostos ao contexto social nas sessões de habituação ao campo aberto e, em seguida, passaram pelas sessões de amostras em uma condição individual e retornaram ao contexto social na sessão de teste diferentemente do grupo experimental díade - **ED**, que passou por todos os processos experimentais inserido no contexto social. Esses resultados indicam a preferência que ratos exibem em explorar alguma novidade no ambiente inserido (Ennaceur & Delacour, 1988; Dere et al., 2005a; Kart-Teke et al., 2006), ou seja, o contexto social torna-se a novidade do ambiente e os animais parecem mais engajados em interagir do que os do grupo experimental díade - **ED**, que já estavam adaptados a essa condição durante todo o procedimento experimental. Os animais desse

grupo exibiram comportamentos sociais afiliativos e agonísticos. Os comportamentos afiliativos, como já citado na sessão de amostra 1, eram esperados, uma vez que esses animais eram mantidos na gaiola e já haviam passado pelo campo aberto na primeira sessão de habituação em díade. Quanto ao comportamento agonístico, uma única díade entrou em situação de luta, diferindo dos achados anteriores (de França Malheiros *et al.*, 2021), que mostraram que ratos na sessão de teste só exibiram comportamentos sociais afiliativos. No entanto, vale a pena destacar que as configurações experimentais foram distintas. No experimento anterior, nenhum grupo passou pela mesma configuração do grupo experimental díade teste - habituação experimental em díade, amostras em condição individual e retorno para o contexto social na sessão de teste. O intervalo com ausência de interação social dentro dos procedimentos experimentais pode ter modificado a configuração da díade quanto à hierarquia social. Segundo a literatura, este é um processo que pode ser estável e dinâmico, podendo ser modificado pelo ambiente físico ou pelo comportamento dos membros do grupo (Barnard & Burk, 1979). Por exemplo, a presença de objetos pode desestabilizar a hierarquia social por serem vistos como um recurso que precisa ser defendido (Fei Wang *et al.*, 2014). Portanto, não avaliamos a hierarquia social e ressaltamos novamente a falta de medidas relacionadas à organização das díades no ambiente social.

O comportamento que apresentou maior duração foi *sniffing*, mostrando que animais na sessão de teste gastaram mais tempo engajados em comportamentos afiliativos. Em suma, o ambiente físico algumas vezes pode se tornar menos importante que ambiente social, que é o principal fator na formação da estrutura do comportamento expresso pelo animal inserido no contexto social, conforme sugerido por Weiss *et al.*, 2015.

#### **6.4 Expressão de c-Fos**

Não foram encontradas diferenças significativas quanto à expressão de c-Fos no hipocampo e regiões CA1, CA2, CA3 e GD. Nossos achados não corroboram estudos que demonstram um aumento da expressão de C-Fos no GD, indicando o envolvimento dessa região na tarefa de memória similar à episódica em um intervalo de retenção de 24h (Barbosa *et al.*, 2013). No entanto, destacamos que esses estudos também não reportaram diferenças na expressão de c-Fos nas regiões de CA1 e CA3, corroborando nossos dados (Barbosa *et al.*, 2013). Esses autores também relataram que a inativação temporária do GD pode prejudicar os aspectos de consolidação

e /ou evocação (Barbosa *et al*, 2012). Por outro lado, estudos relataram que a expressão de c-Fos no GD não difere em roedores em uma tarefa de aprendizagem espacial e confirmam que não ocorre diferença na expressão de c-Fos em CA1 e CA3 (Farina *et al*, 2016). Vale ressaltar que os estudos relacionados acima avaliaram os animais dentro de um contexto individual e, apesar de o nosso protocolo experimental também conter um grupo (grupo controle), avaliado sob a mesma perspectiva, os delineamentos experimentais são distintos do nosso, principalmente no que concerne ao envolvimento do componente social.

No presente estudo, também investigamos como as áreas hipocâmpais envolvidas no processamento de informações sociais expressam c-Fos na tarefa de memória similar à episódica, mais especificamente quanto à interação de estímulos sociais familiares e a expressão c-Fos no CA2. Os resultados revelam que não houve diferença no número de neurônios expressando c-Fos na região do CA2, nos grupos sociais, grupo experimental díade amostra - **EDA**, grupo experimental díade teste - **EDT** e experimental díade – **ED**, como também não foi encontrada diferença quando comparados ao Controle – **C**. Estudos indicam que a região CA2 do hipocampo dorsal é um elemento crítico de uma rede cerebral que apoia a memória de reconhecimento social (Middleton e McHugh, 2020; Watarai *et al.*, 2021). Também é vista na literatura a importância de CA2 na codificação tanto para estímulos sociais novos quanto familiares. No entanto, apesar do envolvimento do CA2 na memória de reconhecimento social já ser bem consolidado na literatura os circuitos neuronais envolvendo o CA2 e o reconhecimento social ainda não são bem compreendidos (Lopez-Rojas *et al* 2022). Estudos apontam um maior envolvimento do CA2 dorsal no estímulo social não familiar do que familiar, ocorrendo maior taxa de disparo de neurônios nessa região (Donegan *et al*, 2020). Esses achados podem justificar os nossos resultados, uma vez que os animais foram inseridos ao campo aberto para experimentação na condição social com co-específicos familiares, inclusive seu companheiro de gaiola e a porção que analisamos expressão de c-Fos no hipocampo como todo, inclusive CA2 foi a dorsal, retratada na literatura como responsável para estímulos não familiares.

### **6.5 Correlação entre a expressão de C-Fos e os Índices de discriminação**

Averiguamos a correlação entre a expressão de c-Fos nas regiões do hipocampo CA1, CA2, CA3 e GD e os índices de discriminação da memória similar à episódica (para os resultados

estatisticamente significativos). Verificamos que o grupo controle - **C** apresentou uma correlação negativa entre o Giro Denteado e o índice de tempo no primeiro minuto. Esses achados parecem mostrar que a expressão dessa região não foi importante para o índice de tempo na memória similar à episódica, no entanto vale ressaltar que uma única vez o grupo controle apresentou discriminação de um único componente episódico (temporal) em um único minuto (primeiro minuto) durante a realização da tarefa. Encontramos uma correlação positiva para o grupo experimental díade - **ED** entre o Giro Denteado e o índice de espaço no primeiro minuto, demonstrando uma possível expressão dessa região na memória similar à episódica. Esses achados parecem demonstrar a importância dessa região na resolução da tarefa de memória similar à episódica quanto ao índice de espaço no primeiro minuto da tarefa. Esta condição foi vista para animais testados dentro de um contexto social. Vale a pena ressaltar que não foi possível verificar esses achados para o índice de integração, uma vez que nenhum dos animais dos grupos discriminou este índice. Esses resultados também estão de acordo com estudos que demonstraram um aumento da expressão de C-Fos no GD, indicando o envolvimento dessa região na tarefa de memória similar à episódica em um intervalo de retenção de 24h (Barbosa *et al*, 2013).

Também foi encontrada uma correlação positiva no grupo experimental díade – **ED** entre o CA3 e o índice de tempo para o segundo, terceiro e quinto minuto. Esses resultados também parecem demonstrar a expressão do CA3 na memória similar à episódica, podendo essa região ser importante para a resolução da tarefa envolvendo a discriminação do índice de tempo para animais que estiveram com co-específicos durante toda a tarefa. Nossos resultados não estão de acordo com estudos envolvendo a tarefa de memória similar à episódica em um intervalo de 24h, que não demonstraram diferenças na expressão de c-Fos na região do CA3 (Barbosa *et al*, 2013). Já outros estudos demonstram que a expressão de c-Fos aumentou na região do CA3 do hipocampo dorsal, demonstrando ser essencial para codificar a memória espacial (He et al., 2002). No entanto, vale ressaltar que os estudos supracitados não investigaram os animais na mesma condição do presente estudo, ou seja, dentro do contexto social.

Embora os nossos achados não indiquem um aumento da expressão de c-Fos nas regiões hipocámpais CA1, CA2, CA3 e GD, eles apontam para uma correlação envolvendo regiões hipocámpais e os componentes episódicos. Estes achados abrem caminho para novas investigações, uma vez que, até onde sabemos, não há na literatura estudos que envolvam a tarefa

de memória similar à episódica dentro do contexto social descrevendo a expressão de c-Fos no hipocampo. Novos estudos são necessários para validar a evidência científica sobre a memória episódica dentro de uma perspectiva social.

## 7. Conclusão

De acordo com os resultados apresentados, ratos Wistar em um contexto social não foram capazes de acessar todos os aspectos da memória similar à episódica em um intervalo de retenção de 24h. No entanto, a realização da tarefa com os ratos em dupla parece ter importância para que eles acessem o índice de tempo e índice de espaço da memória similar à episódica após um intervalo de 24h. Relatos encontrados em nosso laboratório com dados publicados demonstram que ratos que realizaram essa tarefa na mesma perspectiva, ou seja, dentro de um contexto social com intervalo de 24h, conseguiram realizar a integração dos aspectos “o quê”, “quando” e “onde” (de França Malheiros *et al*, 2021). Portanto, são necessárias investigações mais aprofundadas para melhor compreensão dos aspectos envolvidos na memória similar à episódica dentro de uma perspectiva social. O presente estudo traz como novidade investigar o envolvimento de redes neuronais envolvendo a expressão de c-Fos no hipocampo e regiões CA1, CA2, CA3 e GD na memória similar à episódica e no contexto social. Nossos achados abrem caminhos para novas investigações e um maior entendimento desses aspectos, contribuindo para o campo da neurociência. Esses achados também podem ser úteis para o campo da cognição social, a partir da condução de desenhos experimentais de comportamentos análogos ao comportamento natural das espécies utilizadas como modelos animais em tarefas de memória por meio de reconhecimento de objetos.

## 8. Referências

- Adolphs, R. (2009). The social brain: neural basis of social knowledge. *Annual Review of Psychology* 60, 693–716
- Alexander, G. M., Farris, S., Pirone, J. R., Zheng, C., Colgin, L. L., & Dudek, S. M. (2016). Social and novel contexts modify hippocampal CA2 representations of space. *Nature communications*, 7(1), 1-14.
- Atsak, P., Orre, M., Bakker, P., Cerliani, L., Roozendaal, B., Gazzola, V., ... & Keysers, C. (2011). Experience modulates vicarious freezing in rats: a model for empathy. *PLoS one*, 6(7), e21855.
- Barbosa, F. F., de Oliveira Pontes, I. M., Ribeiro, S., Ribeiro, A. M., & Silva, R. H. (2012). Differential roles of the dorsal hippocampal regions in the acquisition of spatial and temporal aspects of episodic-like memory. *Behavioural brain research*, 232(1), 269-277.
- Barbosa, F. F., Santos, J. R., Meurer, Y. S. R., Macêdo, P. T., Ferreira, L. M. S., Pontes, I. M. O., ... & Silva, R. H. (2013). Differential cortical c-Fos and Zif-268 expression after object and spatial memory processing in a standard or episodic-like object recognition task. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 7, 112.
- Barbosa, F. F., de Oliveira Pontes, I. M., Ribeiro, S., Ribeiro, A. M., & Silva, R. H. (2012). Differential roles of the dorsal hippocampal regions in the acquisition of spatial and temporal aspects of episodic-like memory. *Behavioural brain research*, 232(1), 269-277.
- Barnett S. A. (1976). *The Rat. A Study in Behavior*. Canberra: Australian National University Press.
- Barnett S. A. (2009a). An analysis of social behaviour in wild rats. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 130 107–152.
- Bartal, I. B. A., Decety, J., and Mason, P. (2011). Empathy and pro-social behavior in rats. *Science* 334, 1427–1430. doi: 10.1126/science.1210789
- 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.
- Bianchi, M., Fone, K. F. C., Azmi, N., Heidbreder, C. A., Hagan, J. J., and Marsden, C. A. (2006). Isolation rearing induces recognition memory deficits accompanied by cytoskeletal alterations in rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 24, 2894–2902. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.05170.x
- 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.
- Bisler, S., Schleicher, A., Gass, P., Stehle, J. H., Zilles, K., & Staiger, J. F. (2002). Expression of c-Fos, ICER, Krox-24 and JunB in the whisker-to-barrel pathway of rats: time course of induction

upon whisker stimulation by tactile exploration of an enriched environment. *Journal of chemical neuroanatomy*, 23(3), 187-198.

Bozon, B., Davis, S., & Laroche, S. (2002). Regulated transcription of the immediate-early gene *Zif268*: Mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus*, 12(5), 570-577.

Chen, P., & Hong, W. (2018). Neural circuit mechanisms of social behavior. *Neuron*, 98(1), 16-30.

Choleris, E., Thomas, A. W., Kavaliers, M., and Prato, F. S. (2001). A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 25, 235–260. doi: 10.1016/s0149-7634(01)00011-2

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

Crispin-Júnior, CF, Pederiva, CN, Bose, RC, Garcia, VA, Lino-de-Oliveira, C., & Marino-Neto, J. (2012). ETHOWATCHER: validação de ferramenta para análise comportamental e de rastreamento de vídeos em animais de laboratório. *Computadores em biologia e medicina*, 42 (2), 257-264.

Croxson, P. L., Kyriazis, D. A., & Baxter, M. G. (2011). Cholinergic modulation of a specific memory function of prefrontal cortex. *Nature neuroscience*, 14(12), 1510.

de França Malheiros, M. A. S., Castelo-Branco, R., de Medeiros, P. H. S., de Lima Marinho, P. E., Meurer, Y. D. S. R., & Barbosa, F. F. (2020). Conspecific presence improves episodic-like memory in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14.

de Souza, I. B. M. B., Meurer, Y. D. S. R., Tavares, P. M., Pugliane, K. C., Lima, R. H., Silva, R. H., & Barbosa, F. F. (2019). Episodic-like memory impairment induced by sub-anaesthetic doses of ketamine. *Behavioural brain research*, 359, 165-171.

de Souza Silva, M. A., Huston, J. P., Wang, A. L., Petri, D., & Chao, O. Y. H. (2015). Evidence for a specific integrative mechanism for episodic memory mediated by AMPA/kainate receptors in a circuit involving medial prefrontal cortex and hippocampal CA3 region. *Cerebral Cortex*, 26(7), 3000-3009.

Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA (2005) Integrated memory for objects, places, and temporal order: Evidence for episodic-like memory in mice. *Neurobiol Learn Mem* 84(3):214–221.

DeVito, L. M., & Eichenbaum, H. (2010). Distinct contributions of the hippocampus and medial prefrontal cortex to the “what–where–when” components of episodic-like memory in mice. *Behavioural brain research*, 215(2), 318-325.

- Donegan, M. L., Stefanini, F., Meira, T., Gordon, J. A., Fusi, S., & Siegelbaum, S. A. (2020). Coding of social novelty in the hippocampal CA2 region and its disruption and rescue in a 22q11.2 microdeletion mouse model. *Nature neuroscience*, 23(11), 1365-1375.
- Dorfman, A., Nielbo, K. L., & Eilam, D. (2016). Traveling companions add complexity and hinder performance in the spatial behavior of rats. *PLoS One*, 11(1), e0146137.
- Drieskens, D. C., Neves, L. R., Pugliane, K. C., de Souza, I. B. M. B., da Costa Lima, Á., Salvadori, M. G. D. S. S., ... & Barbosa, F. F. (2017). CA1 inactivation impairs episodic-like memory in rats. *Neurobiology of learning and memory*, 145, 28-33.
- Eilam, D. (2003). Open-field behavior withstands drastic changes in arena size. *Behavioural brain research*, 142(1-2), 53-62.
- Ennaceur, A., & Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, 31(1), 47-59.
- Ennaceur, A., Neave, N., & Aggleton, J. P. (1997). Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. *Experimental brain research*, 113(3), 509-519
- Fanselow, M. S., & Dong, H. W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures?. *Neuron*, 65(1), 7-19.
- Farina, F. R., & Commins, S. (2016). Differential expression of immediate early genes Zif268 and c-Fos in the hippocampus and prefrontal cortex following spatial learning and glutamate receptor antagonism. *Behavioural Brain Research*, 307, 194-198.
- Finlay, J. M., Dunham, G. A., Isherwood, A. M., Newton, C. J., Nguyen, T. V., Reppar, P. C., ... & Greene, R. W. (2015). Effects of prefrontal cortex and hippocampal NMDA NR1-subunit deletion on complex cognitive and social behaviors. *Brain research*, 1600, 70-83.
- 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.
- Gallo, F. T., Katche, C., Morici, J. F., Medina, J. H., & Weisstaub, N. V. (2018). Immediate early genes, memory and psychiatric disorders: focus on c-Fos, Egr1 and Arc. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 12, 79.
- 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.
- Grossmann, T. (2013). The role of medial prefrontal cortex in early social cognition. *Frontiers in human neuroscience*, 7, 340.
- He, J., Yamada, K., & Nabeshima, T. (2002). A role of Fos expression in the CA3 region of the hippocampus in spatial memory formation in rats. *Neuropsychopharmacology*, 26(2), 259-268.

- Heinrich, B.; Marzluff, J.; & Adams, W. (1995). Fear and food recognition in naive common ravens. *The Auk*, *112* (2), 499-503
- Hitti, F. L., & Siegelbaum, S. A. (2014). The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, *508*(7494), 88-92.
- Hodges, T. E., Green, M. R., Simone, J. J., & McCormick, C. M. (2014). Effects of social context on endocrine function and Zif268 expression in response to an acute stressor in adolescent and adult rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, *35*, 25-34.
- Hughes, R.N. (1969). Social facilitation of locomotion and exploration in rats. *British Journal of Psychology*, *60* (3), 385-388.
- Jeon, D., Kim, S., Chetana, M., Jo, D., Ruley, H. E., Lin, S. Y., ... & Shin, H. S. (2010). Observational fear learning involves affective pain system and Ca v 1.2 Ca 2+ channels in ACC. *Nature neuroscience*, *13*(4), 482.
- Kart-Teke E, De Souza Silva MA, Huston JP, Dere E (2006) Wistar rats show episodic like memory for unique experiences. *Neurobiol Learn Mem* *85*(2):173–182.
- Kealy, J., & Commins, S. (2011). The rat perirhinal cortex: a review of anatomy, physiology, plasticity, and function. *Progress in neurobiology*, *93*(4), 522-548.
- Knapaska, E., & Kaczmarek, L. (2004). A gene for neuronal plasticity in the mammalian brain: Zif268/Egr-1/NGFI-A/Krox-24/TIS8/ZENK?. *Progress in neurobiology*, *74*(4), 183-211.
- Ko, J. (2017). Neuroanatomical substrates of rodent social behavior: the medial prefrontal cortex and its projection patterns. *Frontiers in neural circuits*, *11*, 41.
- Laplagne, D. A., & Elías Costa, M. (2016). Rats synchronize locomotion with ultrasonic vocalizations at the subsecond time scale. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *10*, 184.
- Lebedev, I. V., Pleskacheva, M. G., & Anokhin, K. V. (2012). C57BL/6 mice open field behaviour qualitatively depends on arena size. *Zhurnal vysshei nervnoi deiatelnosti imeni IP Pavlova*, *62*(4), 485-496.
- Lerner, T. N., Ye, L., & Deisseroth, K. (2016). Communication in neural circuits: tools, opportunities, and challenges. *Cell*, *164*(6), 1136-1150.
- Li, J. S., & Chao, Y. S. (2008). Electrolytic lesions of dorsal CA3 impair episodic-like memory in rats. *Neurobiology of learning and memory*, *89*(2), 192-198.
- Lipina, T. V., and 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
- Lopez-Rojas, J., de Solis, C. A., Leroy, F., Kandel, E. R., & Siegelbaum, S. A. (2022). A direct lateral entorhinal cortex to hippocampal CA2 circuit conveys social information required for social memory. *Neuron*, *110*(9), 1559-1572.
- Lukaszewska I. Scopolamina prejudica a exploração de objetos, mas não a habitação em ratos. *Acta Neurobiol Exp (Guerras)*. 1993;*53*(1):243-50. 8317253.

- 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.
- 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.
- Middleton, S.J., & McHugh, T. J. (2020). CA2: Um relé intrahipocampo altamente conectado. *Revisão Anual da Neurociência*, 43, 55-72.
- Mitchell, J. B., & Laiacona, J. (1998). The medial frontal cortex and temporal memory: tests using spontaneous exploratory behaviour in the rat. *Behavioural brain research*, 97(1-2), 107-113.
- Modi, M. E., & Sahin, M. (2019). A unified circuit for social behavior. *Neurobiology of learning and memory*, 165, 106920.
- Montagrin, A., Saiote, C., & Schiller, D. (2018). The social hippocampus. *Hippocampus*, 28(9), 672-679.
- Morrissey, M. D., & Takehara-Nishiuchi, K. (2014). Diversity of mnemonic function within the entorhinal cortex: a meta-analysis of rodent behavioral studies. *Neurobiology of learning and memory*, 115, 95-107.
- Newman, S. W. (1999). The medial extended amygdala in male reproductive behavior a node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877(1), 242-257.
- Rutte, C., and Taborsky, M. (2007). Generalized reciprocity in rats. *PLoS Biol.* 5:e196. doi: 10.1371/journal.pbio.0050196.
- Sanchez-Andrade, G., & Kendrick, K. M. (2009). The main olfactory system and social learning in mammals. *Behavioural brain research*, 200(2), 323-335.
- Schweinfurth, M. K. (2020). The social life of Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Elife*, 9, e54020.
- Spencer S. J., Buller K. M., Day T. A. (2005). Medial prefrontal cortex control of the paraventricular hypothalamic nucleus response to psychological stress: possible role of the bed nucleus of the stria terminalis. *J. Comp. Neurol.* 481, 363–376.
- Squire, L. R., & Zola-Morgan, J. T. (2011). The cognitive neuroscience of human memory since HM. *Annual review of neuroscience*, 34, 259.
- Stevenson, E. L., & Caldwell, H. K. (2014). Lesions to the CA 2 region of the hippocampus impair social memory in mice. *European Journal of Neuroscience*, 40(9), 3294-3301.
- Sommerlandt, F. M., Brockmann, A., Rössler, W., & Spaethe, J. (2019). Immediate early genes in social insects: a tool to identify brain regions involved in complex behaviors and molecular processes underlying neuroplasticity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76(4), 637-651.

- Tanimizu, T., Kenney, J. W., Okano, E., Kadoma, K., Frankland, P. W., & Kida, S. (2017). Functional connectivity of multiple brain regions required for the consolidation of social recognition memory. *Journal of Neuroscience*, *37*(15), 4103-4116.
- Tzakis, N., & Holahan, M. R. (2019). Social memory and the role of the hippocampal CA2 region. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *13*, 233.
- Tulving, E. (2002). Episodic memory: from mind to brain. *Annual Review of Psychology*, *53*, 1–25.
- Viana, D. S., Gordo, I., Sucena, É., and Moita, M. A. P. (2010). Cognitive and motivational requirements for the emergence of cooperation in a rat social game. *PLoS One* *5*:e8483. doi: 10.1371/journal.pone.0008483
- Van Strien, N. M., Cappaert, N. L. M., & Witter, M. P. (2009). The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. *Nature reviews neuroscience*, *10*(4), 272-282.
- Xavier, G. F., Porto Saito, M. I., & Stein, C. (1991). Habituation of exploratory activity to new stimuli, to the absence of a previously presented stimulus and to new contexts, in rats. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, *43*(2b), 157-175.
- Zhang, Y. F., Janke, E., Bhattarai, J. P., Wesson, D. W., & Ma, M. (2021). Self-grooming promotes social interaction in mice via chemosensory communication. *bioRxiv*.
- Zhu, N., Zhang, Y., Xiao, X., Wang, Y., Yang, J., Colgin, L. L., & Zheng, C. (2022). Hippocampal oscillatory dynamics in freely behaving rats during exploration of social and non-social stimuli. *Cognitive Neurodynamics*, 1-19.
- Wang, F., Kessels, H. W., & Hu, H. (2014). The mouse that roared: neural mechanisms of social hierarchy. *Trends in neurosciences*, *37*(11), 674-682.
- Wei, D., Talwar, V., & Lin, D. (2021). Neural circuits of social behaviors: innate yet flexible. *Neuron*, *109*(10), 1600-1620.
- Weiss et al. (2015) Shall two walk together except they be agreed?. Spatial behavior in rat dyads.
- Weiss, O., Dorfman, A., Ram, T., Zadicario, P., and Eilam, D. (2017). Rats do not eat alone in public: food-deprived rats socialize rather than competing for baits. *PLoS One* *12*:e0173302. doi: 10.1371/journal.pone.0173302
- Weiss, O., Levi, A., Segev, E., Simbirsky, M., & Eilam, D. (2018). Spatio-temporal organization during group formation in rats. *Animal cognition*, *21*(4), 513-529.
- 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 rodent conspecifics: a review of experimental paradigms. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *7*(3), 315-323.

Wilson, D. I., Langston, R. F., Schlesiger, M. I., Wagner, M., Watanabe, S., & Ainge, J. A. (2013). Lateral entorhinal cortex is critical for novel object-context recognition. *Hippocampus*, 23(5), 352-366.

Wood, R. I., Kim, J. Y., & Li, G. R. (2016). Cooperation in rats playing the iterated Prisoner's Dilemma game. *Animal behaviour*, 114, 27-35.

## 9. Anexos

### 9.1 Certificado de Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais



Universidade  
Federal da  
Paraíba

Comissão de Ética no  
Uso de Animais



#### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Possíveis influências do contexto social na memória similar a episódica em ratos wistar", protocolada sob o CEUA nº 3752130718 (ID 000499), sob a responsabilidade de **Flávio Freitas Barbosa e equipe; Maria Augustta Sobral de França Malheiros** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 22/02/2019.

We certify that the proposal "Possible influences of social context on episodic memory similar to wistar rats", utilizing 82 Heterogenics rats (82 males), protocol number CEUA 3752130718 (ID 000499), under the responsibility of **Flávio Freitas Barbosa and team; Maria Augustta Sobral de França Malheiros** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 02/22/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **02/2019** a **09/2021** Área: **Psicologia**

Origem: **Unidade de Produção Animal IPeFarM**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

sexo: **Machos**

idade: **3 a 4 meses**

N: **82**

Linhagem: **Rattus Norvegicus - Wistar**

Peso: **250 a 450 g**

Local do experimento: **Laboratório de Psicofarmacologia (IPeFarM); e Laboratório de Estudos em Memória e Cognição (CCHLA)**

João Pessoa, 26 de julho de 2022

Profa. Dra. Adriana Maria Fernandes de Oliveira Golzio  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ivã Carmem Talieri  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Paraíba