

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**ADRENALINA E NORADRENALINA PROMOVEM A  
GENERALIZAÇÃO DA RESPOSTA DE MEDO POR  
ATIVAREM RECEPTORES ALFA-1 E BETA ADRENÉRGICOS  
DO CÓRTEX PRÉ-LÍMBICO DURANTE A CONSOLIDAÇÃO  
DE UMA MEMÓRIA AVERSIVA**

MARINA APARECIDA MAGNINI PORTES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Co-orientador: Dr. Lucas Gazarini

Orientador: Prof. Dr. Leandro José Bertoglio

Florianópolis

2016



Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Magnini Portes, Marina

Adrenalina e noradrenalina promovem a generalização da resposta de medo por ativarem receptores alfa-1 e beta adrenérgicos do córtex pré-límbico durante a consolidação de uma memória aversiva / Marina Magnini Portes ; orientador, Leandro Bertoglio ; coorientador, Lucas Gazarini. - Florianópolis, SC, 2016.

139 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós Graduação em Farmacologia.

Inclui referências

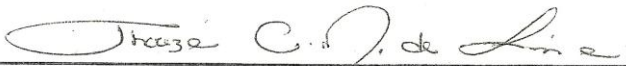
1. Farmacologia. 2. Farmacologia. 3. Memória. 4. Córtex pré-frontal. 5. Modulação noradrenérgica. I. Bertoglio, Leandro. II. Gazarini, Lucas. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. IV. Título.

**Adrenalina e noradrenalina promovem a generalização da resposta de medo por  
ativarem receptores alfa-1 e beta adrenérgicos do córtex pré-límbico durante a  
consolidação de uma memória aversiva**

Por

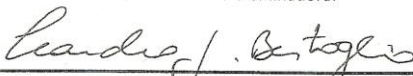
**Marina Aparecida Magnini Portes**

Dissertação julgada e aprovada em sua forma final pelos membros titulares da  
Banca Examinadora (01/PPGFMC/2016) do Programa de Pós-Graduação em  
Farmacologia - UFSC.



Prof(a). Dr(a). Thereza Cristina Monteiro de Lima  
Coordenador(a) do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia

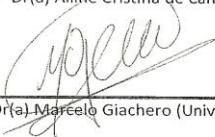
Banca examinadora:



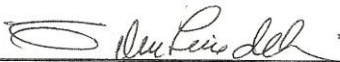
Dr(a) Leandro José Bertoglio (Universidade Federal de Santa Catarina)  
Orientador(a)



Dr(a) Alline Cristina de Campos (Universidade de São Paulo)



Dr(a) Marcelo Giachero (Universidade Federal de Santa Catarina)



Dr(a) Cilene Lino de Oliveira (Universidade Federal de Santa Catarina)

Florianópolis, 19 de fevereiro de 2016.



## AGRADECIMENTOS

À minha família, pelo apoio e esforços constantes que permitiram o avanço da minha formação acadêmica, bem como pelo amor incondicional. Espero hoje e sempre ser para vocês motivo de orgulho e felicidade.

Ao professor Leandro Bertoglio, agradeço pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório e pelo empenho dedicado à orientação e elaboração deste trabalho, além da amizade oferecida.

Ao meu co-orientador, Dr. Lucas Gazarini, pelos ensinamentos e discussões que contribuíram para o planejamento dos experimentos, discussão dos resultados e elaboração desta dissertação. Agradeço pela amizade durante estes dois anos de convívio e por ter contribuído para o meu crescimento científico.

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, pela contribuição para a minha formação acadêmica e científica.

Aos colegas do Laboratório de Neuropsicofarmacologia, Ana Carolina, Fernanda Marin, Fernanda Troyner e Rafael, pela amizade, paciência e disponibilidade, que tornaram a rotina laboratorial mais produtiva e agradável. Agradeço também aos alunos de iniciação científica Karoline, Rebecca e Hugo, que contribuíram de alguma maneira para a realização deste trabalho.

Em especial, à doutoranda Ana Carolina, por sua dedicação em contribuir para o meu aperfeiçoamento técnico e científico ao longo dos dois últimos anos. O trabalho conjunto durante a realização dos experimentos e discussão de resultados tornou possível a realização deste trabalho. Desejo que você seja muito feliz na nova fase de sua vida que virá a seguir e tenho certeza que, seja onde for, fará grandes realizações, como resultado de sua competência e de seu esforço.

À Fernanda Marin, pela amizade e carinho ao longo do último ano. Sua bondade, humildade e alegria me ensinaram a agradecer mais e contemplar a vida com outros olhos.

À Marissa, pois além de dividirmos as despesas de moradia, dividimos nossos medos, inseguranças, dúvidas e sonhos. Você é a irmã que Florianópolis me permitiu conhecer.

Aos demais colegas e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, pela cordialidade e pela oportunidade de conviver com pessoas de opiniões diversas, o que certamente contribuiu para o meu crescimento pessoal e profissional.

Aos amigos externos ao Departamento que, apesar de distantes, sempre me apoiaram e me proporcionaram momentos de muita felicidade.

Ao CNPq e à CAPES pelo apoio financeiro, essencial para a realização deste trabalho.

*“O que é que se encontra no início? O jardim ou o jardineiro? É o jardineiro. Havendo um jardineiro, mais cedo ou mais tarde um jardim aparecerá. Mas, havendo um jardim sem jardineiro, mais cedo ou mais tarde ele desaparecerá. O que é um jardineiro? Uma pessoa cujos sonhos estão cheios de jardins. O que faz um jardim são os sonhos do jardineiro. O que faz um povo são os pensamentos daqueles que o compõem.”*

(Rubem Alves)





## RESUMO

Aprender e lembrar são processos essenciais para a sobrevivência. Em experiências de caráter aversivo, já está bem estabelecido o papel da transmissão noradrenérgica no processamento de memórias de medo, que são armazenadas de maneira mais intensa e persistente. Disfunções noradrenérgicas também têm sido relacionadas com alguns transtornos psiquiátricos, como o transtorno do estresse pós-traumático. Uma das principais características deste transtorno é a incapacidade de limitar a expressão de respostas de medo apenas a pistas diretamente associadas ao aprendizado inicial, ou seja, a expressão generalizada de comportamentos de medo. Apesar de diversas evidências sustentarem a importância da porção pré-límbica do córtex pré-frontal medial na manutenção de memórias de medo, bem como o seu possível envolvimento na manifestação do transtorno do estresse pós-traumático, nenhum trabalho investigou se a modulação noradrenérgica nesta região cerebral estaria relacionada à formação de uma memória de medo intensa e que promove a generalização da resposta de medo. A proposta deste trabalho foi investigar se a hiperatividade noradrenérgica promove a generalização da resposta de medo e torna a memória traumática menos susceptível a intervenções farmacológicas ou comportamentais que permitam atenuar sua valência negativa, bem como se os receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex pré-límbico seriam recrutados nestes processos. A administração sistêmica de adrenalina potencializou a consolidação da memória aversiva, promovendo a generalização da resposta de medo e uma maior resistência ao processo de extinção. O antagonismo dos receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos no córtex pré-límbico impediu a generalização da resposta de medo induzida pela injeção sistêmica de adrenalina. A infusão de noradrenalina no córtex PL foi suficiente para potencializar a consolidação da memória aversiva, promovendo a generalização da resposta de medo e tornando a memória traumática resistente ao prejuízo de reconsolidação induzido pelo canabidiol. Esses resultados sugerem a participação da modulação adrenérgica do córtex pré-límbico na indução da generalização da resposta de medo, contribuindo para a compreensão da neurobiologia envolvida no processamento de memórias aversivas e buscando aperfeiçoar o arsenal terapêutico em patologias correlatas.

**Palavras-chave:** hiperatividade noradrenérgica; consolidação; córtex pré-límbico; generalização da resposta de medo.



## ABSTRACT

Learning and remembering are essential processes for survival. In aversive experiences, the role of noradrenergic transmission in the processing of fear memories is well established, allowing its storage in a more intense and persistent way. Noradrenergic dysfunctions have been related to the development of some psychiatric disorders such as the post-traumatic stress disorder. A key feature of this disorder is the inability to limit the expression of fear responses to cues strictly related to the initial learning, showing generalized fear expression. Despite several evidences supporting the importance of prelimbic subregion of the medial prefrontal cortex in maintaining fear memories, as well as its possible involvement in the post-traumatic stress disorder, there are no studies investigating if the noradrenergic modulation in this brain area is related to the formation of an intense fear memory and the generalization of a fear response. The purpose of this study was to investigate whether noradrenergic hyperactivity promotes generalization of fear response and turns the traumatic memory less susceptible to pharmacological or behavioral interventions for alleviating its negative valence, as well as if  $\alpha_1$ - and  $\beta$ -adrenergic receptors in the prelimbic cortex would be recruited in these processes. Systemic epinephrine administration enhanced the consolidation of aversive memory, induced the generalization of fear response and rendered the aversive memory more resistant to extinction process. Antagonism of  $\alpha_1$ - and  $\beta$ -adrenergic receptors in the prelimbic cortex prevented the generalization of fear response induced by systemic administration of epinephrine. The infusion of norepinephrine directly into the prelimbic cortex was sufficient to enhance the consolidation of the aversive memory, promoting the generalization of fear response and making the traumatic memory resistant to impairment of reconsolidation induced by cannabidiol. These results suggest the involvement of noradrenergic modulation of the pre-limbic cortex in inducing fear memory generalization, contributing to the understanding of the neurobiology involved in the processing of aversive memories and, potentially, to improve therapeutic strategies in related pathologies.

**Keywords:** noradrenergic hyperactivity; consolidation; pre-limbic cortex; generalized fear response.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Reconsolidação da memória.....	<b>24</b>
<b>Figura 2.</b> Controle da liberação de noradrenalina no sistema nervoso central pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.....	<b>38</b>
<b>Figura 3.</b> Divisão anatômica do córtex pré-frontal medial de roedo.....	<b>44</b>
<b>Figura 4.</b> Principais conexões entre o córtex pré-frontal medial e outras regiões cerebrais.....	<b>46</b>
<b>Figura 5.</b> Conectividade dos córtices pré-límbico e infralímbico com os núcleos da amígdala e seu papel na modulação de respostas de medo..	<b>47</b>
<b>Figura 6.</b> Projeções dos neurônios noradrenérgicos do <i>locus coeruleus</i> para regiões do córtex pré-frontal.....	<b>51</b>
<b>Figura 7.</b> Recrutamento de receptores noradrenérgicos do córtex pré-frontal medial para a modulação da memória de trabalho.....	<b>52</b>
<b>Figura 8.</b> Desenho esquemático de um corte coronal do córtex pré-frontal medial de ratos e do sítio de infusão das drogas no córtex pré-límbico.....	<b>60</b>
<b>Figura 9.</b> Protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....	<b>62</b>
<b>Figura 10.</b> A injeção sistêmica de adrenalina induz a generalização da resposta de medo no protocolo de treino forte do condicionamento de medo ao contexto.....	<b>66</b>
<b>Figura 11.</b> A injeção sistêmica de adrenalina potencializa a consolidação de uma memória aversiva em um protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....	<b>67</b>
<b>Figura 12.</b> A injeção sistêmica de adrenalina durante a consolidação prejudica a extinção da memória de medo ao contexto.....	<b>70</b>
<b>Figura 13.</b> Os receptores $\alpha_1$ - e $\beta$ -adrenérgicos do córtex pré-límbico são necessários para a generalização da resposta de medo promovida pela injeção sistêmica de adrenalina no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....	<b>72</b>

- Figura 14.** A infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico durante a consolidação de uma memória aversiva promove a generalização da resposta de medo em um protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....73
- Figura 15.** A infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico potencializa a consolidação da memória aversiva em um treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....74
- Figura 16.** Os receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex pré-límbico são necessários para a generalização da resposta de medo induzida pela infusão local de noradrenalina durante a consolidação da memória aversiva no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....76
- Figura 17.** O aumento da atividade noradrenérgica no córtex pré-límbico durante a consolidação da memória aversiva previne o efeito do canabidiol sobre a reconsolidação da memória de medo ao contexto.....78
- Figura 18.** A administração sistêmica de D-cicloserina não elimina a resistência ao efeito farmacológico do canabidiol induzida pelo aumento da atividade noradrenérgica no córtex pré-límbico durante a consolidação da memória aversiva em um protocolo de condicionamento de medo ao contexto.....79

## LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

<b>ADR</b>	Adrenalina
<b>AMPA</b>	alfa-amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico
<b>AMPC</b>	Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>Arc</b>	Arg3.1 ou proteína associada ao citoesqueleto regulada por ativação, do inglês " <i>activity-regulated cytoskeleton-associated albumin</i> "
<b>B9</b>	Células serotoninérgicas B9
<b>CA</b>	Córtex cingulado anterior
<b>CAF</b>	Córtex associativo frontal
<b>CBD</b>	Canabidiol
<b>CeL</b>	Divisão lateral da amígdala central
<b>CREB</b>	Proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc, do inglês " <i>cAMP response element-binding protein</i> "
<b>CPFm</b>	Córtex pré-frontal medial
<b>CRH</b>	Hormônio liberador de corticotrofina, do inglês " <i>corticotropin-releasing hormone</i> "
<b>DCS</b>	D-cilcoserina
<b>DR</b>	Núcleo dorsal da Rafe, do inglês " <i>dorsal raphe nucleus</i> "
<b>EI</b>	Estímulo incondicionado
<b>EPM</b>	Erro padrão da média
<b>GABA</b>	Ácido $\gamma$ -aminobutírico
<b>GDP</b>	Guanina-difosfato
<b>GR</b>	Receptores glicocorticoides
<b>GTP</b>	Guanina-trifosfato
<b>HDB</b>	Núcleo horizontal da banda diagonal de Broca
<b>HPA</b>	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
<b>IL</b>	Córtex infralímbico
<b>ITC</b>	Células intercalares, do inglês " <i>intercalated cells</i> "
<b>LC</b>	<i>Locus coeruleus</i>
<b>LTD</b>	Depressão de longa duração, do inglês " <i>long</i> "



*term depression*”

<b>LTP</b>	Potencialização de longa duração, do inglês “ <i>long term potentiation</i> ”
<b>MR</b>	Receptores mineralocorticoides
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartato
<b>NR</b>	Núcleo reuniens do tálamo
<b>NST</b>	Núcleo subtalâmico
<b>NTS</b>	Núcleo do trato solitário
<b>PAG</b>	Substância cinzenta periaquedutal, do inglês “ <i>periaqueductal gray</i> ”
<b>PCm</b>	Córtex pré-central medial
<b>PL</b>	Córtex pré-límbico
<b>PRAZ</b>	Prazosina
<b>PTSD</b>	Transtorno do estresse pós-traumático, do inglês “ <i>posttraumatic stress disorder</i> ”
<b>SN</b>	Substância negra
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SNc</b>	Substância negra pars compacta
<b>S-PROP</b>	S-propranolol
<b>VE</b>	Veículo
<b>VIPAG</b>	Substância cinzenta periaquedutal ventrolateral, do inglês “ <i>ventrolateral periaqueductal gray</i> ”
<b>VTA</b>	Área tegmental ventral, do inglês “ventral tegmental area”

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
1.1 Memória .....	21
1.1.1 Definindo aprendizado e memória: aspectos históricos e a descoberta da consolidação .....	21
1.1.2 Bases moleculares da consolidação das memórias .....	22
1.1.3 Modificando uma memória: reconsolidação, esquecimento e extinção .....	23
1.1.4 Substratos neurais para o processamento de diferentes tipos de memórias .....	27
1.2 Influência das emoções sobre as memórias .....	29
1.2.1 O papel adaptativo das memórias emocionais .....	30
1.2.2 Quando uma memória emocional aversiva se torna disfuncional .....	32
1.2.3 Ferramentas experimentais para estudo das memórias aversivas: condicionamento de medo.....	33
1.3 O sistema adrenérgico .....	35
1.3.1 A modulação noradrenérgica no sistema nervoso central.....	37
1.3.2 Experiências aversivas, noradrenalina e memórias de medo ...	39
1.3.3 O sistema noradrenérgico, e o desenvolvimento e tratamento de transtornos psiquiátricos relacionados às memórias traumáticas .....	41
1.4 O córtex pré-frontal medial .....	43
1.4.1 O córtex pré-frontal medial e as memórias de medo .....	46
1.4.2 O córtex pré-frontal medial e a generalização do medo .....	49
1.4.3 A influência da modulação noradrenérgica no córtex pré-frontal medial sobre as memórias .....	50

<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>55</b>
2.1 Objetivos gerais .....	<b>55</b>
2.2 Objetivos específicos .....	<b>55</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>57</b>
3.1 Animais .....	<b>57</b>
3.2 Drogas .....	<b>57</b>
3.3 Procedimentos para infusão intracerebral .....	<b>58</b>
3.3.1 Cirurgia estereotáxica .....	<b>58</b>
3.3.2 Infusão intracerebral .....	<b>59</b>
3.3.3 Análise histológica .....	<b>59</b>
3.4 Condicionamento de medo ao contexto e protocolo experimental .....	<b>61</b>
3.5 Análises estatísticas .....	<b>63</b>
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>65</b>
4.1 Experimento 1: A administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação da memória aversiva promove a generalização da resposta de medo condicionada ao contexto .....	<b>65</b>
4.2 Experimento 2: O efeito da administração sistêmica de adrenalina resulta da potencialização da consolidação da memória de medo condicionado ao contexto .....	<b>66</b>
4.3 Experimento 3: A memória de medo potencializada pela injeção sistêmica de adrenalina durante a consolidação é mais resistente à extinção .....	<b>68</b>
4.4 Experimento 4: O antagonismo farmacológico de receptores $\alpha_1$ - e $\beta$ -adrenérgicos no córtex PL previne a generalização da resposta de medo promovida pela administração sistêmica de adrenalina .....	<b>71</b>

4.5 Experimento 5: A infusão de noradrenalina no córtex PL durante a consolidação da memória aversiva promove a generalização da resposta de medo condicionada ao contexto .....	72
4.6 Experimento 6: O efeito da noradrenalina infundida no córtex PL resulta da potencialização da consolidação da memória de medo condicionado ao contexto .....	74
4.7 Experimento 7: Os receptores $\alpha_1$ - e $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL contribuem para a generalização da resposta de medo promovida pela infusão local de noradrenalina .....	75
4.8 Experimento 8: O aumento da atividade noradrenérgica no córtex PL durante a consolidação da memória de medo a torna resistente à interferência farmacológica durante sua reconsolidação .....	76
4.9 Experimento 9: A administração sistêmica de D-cicloserina não torna a memória aversiva potencializada pelo aumento da atividade noradrenérgica no córtex PL mais sensível à interferência farmacológica durante a sua reconsolidação .....	78
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>81</b>
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>97</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>99</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Memória

A individualidade do ser humano resulta intimamente da sua capacidade de reter informações de acontecimentos passados e convertê-las em representações internas, as memórias. Assim, a somatória de experiências prévias com as quais uma pessoa se depara durante sua vida confere a ela um acervo de memórias único, capaz de moldar sua personalidade, seu comportamento e sua percepção sobre o mundo. O indivíduo torna-se, portanto, singular, diferente de qualquer outro semelhante.

Em contrapartida, tão importante quanto lembrar, é esquecer. O armazenamento prioritário de algumas informações (em especial aquelas com conteúdo emocional associado) impede que o indivíduo se perca em suas próprias memórias e esteja melhor preparado para projetar e enfrentar o futuro com base em suas experiências. Como consequência, a vida de um indivíduo tende a ser afetada por quaisquer fatores capazes de modificar, potencializar ou prejudicar os processos de aprendizado e memória, sejam eles externos ou inerentes à neurobiologia do ser humano (como em alguns transtornos emocionais ou cognitivos). Através dessa perspectiva, o entendimento dos mecanismos envolvidos na formação e manutenção de uma memória, além de muito instigante, possibilitaria o desenvolvimento de estratégias (inclusive farmacológicas) capazes de re-estabelecer a funcionalidade dos processos mnemônicos em condições em que este se apresente prejudicada.

### 1.1.1 Definindo aprendizado e memória: aspectos históricos e a descoberta da consolidação

O aprendizado, ou aquisição de uma memória, é caracterizado como a capacidade de adquirir informações referentes a uma nova experiência (DUDAI, 2002). Embora uma versão temporária dessa memória já esteja imediatamente disponível para acesso, um processo independente chamado de memória de curta duração (IZQUIERDO et al., 2000; VIANNA et al., 2000), alterações no funcionamento de circuitos neuronais e vias de sinalização específicos em determinadas regiões cerebrais possibilitam que a memória referente à essa nova

experiência seja, de fato, formada e armazenada como uma memória de longa duração (DUDAI, 2004; MCGAUGH, 2000), que pode ser acessada após longos períodos de tempo.

Mesmo que possam parecer tão simples, para que um consenso acerca dos conceitos de aprendizado e memória fosse alcançado, já há muito tempo pesquisadores e estudiosos dedicam seus esforços para elucidar de que maneira uma memória é processada. Durante o final do século 19, um marco nas investigações científicas sobre a memória foi o trabalho publicado pelos psicólogos alemães Müller e Pilzecker (traduzindo-se para o português, “Contribuições Experimentais para a Teoria da Lembrança”). Neste trabalho, surgiram os primeiros indícios empíricos de que uma memória não seria formada instantaneamente, mas estabilizada gradualmente ao longo de uma janela temporal após a aquisição, sendo que durante este período a memória ainda seria susceptível à ação de interferentes (MÜLLER; PILZECKER, 1900; SARA, 2008). Após esse estudo, o termo “consolidação da memória” (do latim “*consolidare*”, tornar concreto) foi introduzido na literatura científica.

Décadas mais tarde, buscando explicações sobre quais processos ocorreriam a nível celular para permitir a consolidação de uma memória, o neurocientista canadense Donald Hebb propôs em 1949, no seu livro “A Organização do Comportamento”, que a propagação de impulsos promovia alterações estruturais em uma rede neuronal (e não apenas em uma área cerebral específica) que permitiam o armazenamento permanente da memória. O trabalho de Hebb baseou-se, principalmente, nos achados pioneiros do médico e histologista espanhol Santiago Ramón y Cajal (ganhador do Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina de 1906 e considerado o pai da neurociência moderna) com marcação de estruturas neuronais, em que sugeria que a memória poderia decorrer de modificações no funcionamento das conexões sinápticas (CAJAL, 1894; KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014; YUSTE, 2015).

### **1.1.2 Bases moleculares da consolidação das memórias**

A teoria de Hebb, aceita até os dias atuais e conhecida como “plasticidade sináptica Hebbiana”, propunha que uma conexão sináptica poderia ser reforçada quando a atividade de um neurônio pré-sináptico fosse capaz de promover alterações (como despolarização intensa e/ou prolongada da membrana celular) no neurônio pós-sináptico (JOHANSEN et al., 2011; MILNER; SQUIRE; KANDEL, 1998; SEJNOWSKI, 1999). Um dos trabalhos que deu força à teoria de Hebb foi o dos pesquisadores noruegueses Terje Lømo e Tim Bliss em 1973,

no qual foi demonstrado que a estimulação repetida de fibras nervosas de vias hipocâmpais de coelhos anestesiados promovia um aumento dos potenciais excitatórios induzidos por estas fibras nos neurônios pós-sinápticos, que eram capazes de sustentar a modificação da eficiência sináptica por algumas horas após a apresentação do estímulo (BLISS; LØMO, 1973; LØMO, 2003). Esse processo foi denominado de potencialização de longa duração (do inglês, "*long term potentiation*" - LTP), como é conhecido até hoje. Desde então, vem sendo proposto que o recrutamento de diversas vias intracelulares na LTP promove alterações sinápticas necessárias para a consolidação e manutenção de uma memória de longo prazo formação (ABRAHAM et al., 2002; ABRAHAN; WILLIAMS, 2008; BLISS; COLLINGRIDGE, 1993; DAVIS et al., 1997; LING et al., 2002; LÜSCHER; MALENKA, 2012; SACKTOR, 2008).

Embora a LTP seja frequentemente estudada no hipocampo, neurônios de outras estruturas encefálicas importantes para a consolidação de memórias como o córtex pré-frontal medial (HUANG; LIN; HSU, 2007; LAROCHE; JAY; THIERRY, 1990) e amígdala (ROGAN; STÄUBLI; LEDOUX, 1997), também parecem apresentar alterações que se assemelham ao fenômeno eletrofisiológico que a caracteriza a ocorrência da LTP após a apresentação de um estímulo.

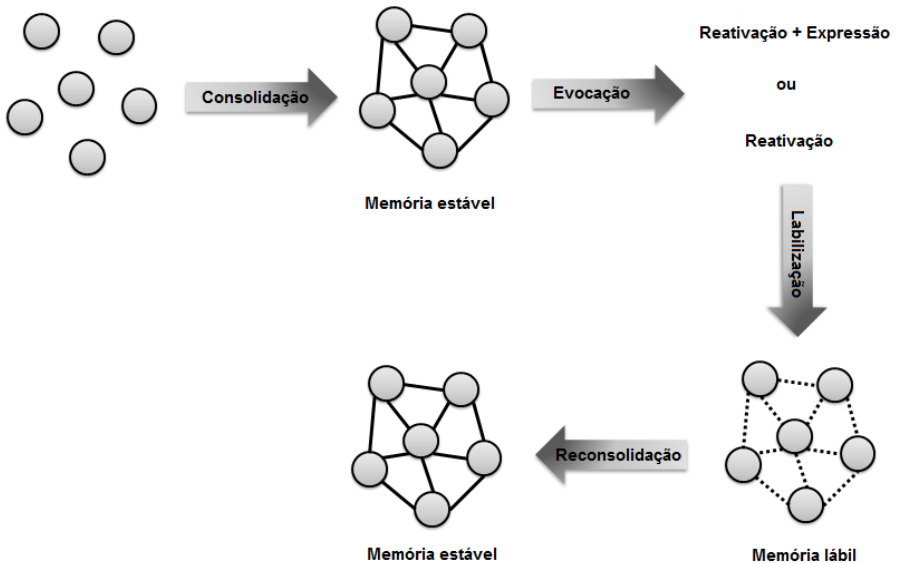
### **1.1.3 Modificando uma memória: reconsolidação, esquecimento e extinção**

Durante muitos anos acreditou-se que, uma vez encerrada a janela temporal de poucas horas necessária para à sua consolidação, a memória estaria estabilizada e não retornaria para um estado lábil. Contudo, dois trabalhos publicados em 1968 abriram margem para a discussão a respeito da veracidade dessa premissa. Misanin e colaboradores demonstraram que a eletroconvulsoterapia prejudicava uma memória mesmo se aplicada após a janela de consolidação, quando a memória era evocada um dia após a aquisição (MISANIN; MILLER; LEWIS, 1968). Neste mesmo ano, resultados muito semelhantes foram demonstrados em uma tarefa de esquiva passiva (SCHNEIDER; SHERMAN, 1968).

Diversos trabalhos, utilizando outras tarefas e agentes amnésicos, reforçaram esses achados da década de 60 (BUCHERELLI; TASSONI, 1992; JUDGE; QUARTERMAIN, 1982; LEWIS; BERGMAN, 1973). Em 1999, Przybylowski e colaboradores demonstraram que o propranolol, um antagonista de receptores  $\beta$ -adrenérgicos, era capaz de



atenuar uma memória aversiva quando administrado após uma sessão de evocação (PRZYBYSLAWSKI; ROULLET; SARA, 1999), mas somente no ano de 2000 Susan Sara e Karim Nader propuseram que, de fato, uma memória previamente estabilizada poderia se tornar novamente susceptível a interferentes após sua evocação (NADER et al., 2000; SARA, 2000), necessitando de um período de re-estabilização, ou *reconsolidação* da memória (Figura 1), termo já sugerido décadas antes (SPEAR, 1973).



**Figura 1. Reconsolidação da memória.** O fortalecimento de conexões sinápticas ativas durante um evento permite a consolidação e armazenamento das informações como memórias de longo prazo. A posterior evocação desta memória reativa o circuito neural que a representa (acompanhada ou não pela expressão de uma resposta comportamental) e pode acarretar na desestabilização ou labilização da memória. Uma nova fase é requerida para a reestabilização deste circuito, a reconsolidação, e permite que informações sejam mantidas, retiradas ou acrescentadas a esta memória. (Adaptado de JOSSELYN; KÖHLER; FRANKLAND, 2015).

Após a evocação, que consiste na reativação do traço da memória e que independe da expressão de uma resposta comportamental, a

memória pode ou não ser desestabilizada (LEE; FLAVELL, 2014). Trabalhos vêm demonstrando que, quando desestabilizada, a memória entraria novamente em um estado transitório de labilidade no qual poderia ser prejudicada, potencializada ou atualizada durante a reconsolidação. Com isso, do ponto de vista adaptativo, a reconsolidação reflete a capacidade de fortalecer uma memória relevante (e que é frequentemente evocada), bem como incorporar novas informações (LEE, 2009; 2010) visando sua atualização, o que permitiria uma melhor adaptação para o enfrentamento de situações similares futuras (HARDT; EINARSSON; NADER, 2010; LEE, 2009). Ainda, muito vem sendo discutido sobre a possibilidade de utilizar a interferência da reconsolidação de uma memória como estratégia para intervenção terapêutica, sobretudo em memórias que impactam negativamente a qualidade de vida de um indivíduo, como aquelas relacionadas a traumas ou a drogas de abuso (BESNARD; CABOCHE; LAROCHE, 2012). Para isso, os principais interesses em relação à reconsolidação de uma memória tem se voltado para o entendimento de quando e como ela acontece.

A investigação de alvos celulares específicos em modelos animais tem permitido demonstrar que muitos mecanismos envolvidos na consolidação de uma memória também são requeridos para sua reconsolidação, ao passo que alguns outros são exclusivos para cada um deles (DUDAI; EISENBERG, 2004; TRONSON; TAYLOR, 2007). Por exemplo, Lee e colaboradores demonstraram diferenças no padrão de expressão de fatores de transcrição no hipocampo durante esses dois processos, onde o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) era requerido preferencialmente para a consolidação enquanto o Zif268 era expresso preferencialmente para reconsolidação de uma memória (LEE; EVERITT; THOMAS, 2004).

Para que a reconsolidação de uma memória evocada se inicie, é necessário que ocorra a desestabilização da rede neuronal responsável pela sua representação, um processo conhecido como labilização da memória (LEE; FLAVEL, 2014). O tráfego de receptores glutamatérgicos do tipo AMPA (HONG et al., 2013), bem como a ativação de receptores glutamatérgicos do tipo NMDA contendo a subunidade NR2B (MILTON et al., 2013) são alguns dos processos-chave para a labilização da memória, que acarretam na sua desestabilização através do recrutamento de vias intracelulares relacionadas com a degradação de proteínas (EHLERS, 2003; KAANG; CHOI, 2011; JAROME; HELMSTETTER, 2013; SOL FUSTIÑANA et al., 2014). Uma nova etapa de síntese de proteínas e o remodelamento

estrutural das sinapses através de alterações plásticas permitem, então, que a memória seja re-estabilizada e mantida ao longo do tempo (NADER, SCHAFE, LEDOUX, 2000; DUDAI, 2002). Ainda, quanto mais remota ou intensa for uma memória, menos susceptível ela se torna à labilização e, conseqüentemente, à reconsolidação (BOCCIA et al., 2006; BUSTOS; MALDONADO; MOLINA, 2009; EISENBERG; DUDAI, 2004; FRANKLAND et al., 2006; MILEKIC; ALBERINI, 2002).

Porém, uma vez consolidada e/ou reconsolidada, uma memória se manterá armazenada e sempre poderá ser acessada e recordada com a mesma intensidade e precisão? Como proposto por Hermann Ebbinghaus em 1885, uma nova memória pode seguir por dois caminhos: pode persistir ou ser esquecida (NADER; HARDT; LANIUS, 2013). Apesar de muitas vezes a ideia de esquecimento remeter a processos disfuncionais, seu acontecimento como um processo constitutivo também é levado em conta, visto que a maioria das memórias formadas durante acontecimentos diários apresentam pouca relevância do ponto de visto adaptativo. Nesse sentido, o esquecimento dessas memórias propiciaria a remoção de informações irrelevantes e desnecessárias (NADER; HARDT; LANIUS, 2013). Em um conto escrito por Jorge Luis Borges que reflete a importância do esquecimento para a existência humana, o personagem Funes, o Memorioso, era capaz de se lembrar com tamanha precisão de detalhes sem importância de cada acontecimento de sua vida que era incapaz de seguir uma vida normal (BORGES, 1998).

Duas explicações para o esquecimento fisiológico de memórias de longa duração são propostas atualmente: a memória estaria fisicamente indisponível (ou seja, sua representação neural estaria perdida), ou temporariamente inacessível (HARDT NADER, NADEL, 2013). Assim, outro processo capaz de modificar uma memória consolidada é a extinção onde, apesar da terminologia sugestiva, a memória original não é realmente esquecida ou apagada, e sim, tem sua expressão temporariamente suprimida pela formação de uma nova memória, podendo inclusive retornar espontaneamente depois de certo tempo (QUIRK et al., 2010). O perfil qualitativo de síntese de proteínas e de fatores de transcrição expressos durante a reativação da memória define se a mesma será reconsolidada ou extinta (LIN et al., 2003; VIANNA et al., 2003; MAMIYA et al. 2009; DE LA FUENTE; FREUDENTHAL; ROMANO, 2011), havendo características moleculares distintas que direcionam cada um destes processos de

acordo com os acontecimentos associados à sua evocação (MERLO et al., 2014).

Nos últimos anos, entretanto, a premissa de que a extinção de uma memória não altera a memória original vem sendo questionada. Trabalhos demonstraram que apesar do retorno espontâneo da memória, a extinção também promove alterações moleculares em algumas estruturas cerebrais, como na amígdala (KIN et al., 2007; LIN; LEE; GEAN, 2003; LIN et al., 2003), que são capazes de apagar definitivamente alguns aspectos de uma memória de medo (QUIRK et al., 2010). Além disso, a indução da extinção de uma memória durante sua janela temporal de reconsolidação pode ser capaz de induzir a inibição persistente das respostas comportamentais defensivas em protocolos de medo condicionado em animais de laboratório e humanos (MONFILS et al., 2009; SCHILLER; RAIIO; PHELPS, 2012), impedindo o retorno da memória original. Esses resultados reforçam o papel adaptativo da reconsolidação, considerando-a como uma oportunidade de modificar memórias emocionais e sugerindo a possibilidade de utilização de uma técnica não invasiva para prevenir o retorno de memórias de medo em humanos (SCHILLER et al., 2009).

#### **1.1.4 Substratos neurais para o processamento de diferentes tipos de memórias**

Desde os achados pioneiros de Müller e Pilzecker acerca da consolidação de memórias, a comunidade científica da área tem buscado conhecer as bases neurais deste processo. Entre as décadas de 1920 a 1950, os trabalhos do psicologista Karl Lashley ganharam grande destaque. Baseado nas ideias do médico alemão Franz Joseph Gall (início do século XIX) de que o córtex cerebral não é homogêneo e contém centros distintos que controlam as funções mentais específicas (teoria que passou a ser conhecida pelo termo “frenologia”), Lashley utilizou ratos de laboratório para proceder à remoção de áreas corticais específicas em busca da identificação da região cerebral responsável pelo armazenamento das memórias. Falhando repetidas vezes na identificação de uma única área responsável por tal função, Lashley formulou a “Lei das Massas”, em que afirmava que era o tamanho da área cortical removida, e não sua localização, que influenciava nos efeitos observados (MILNER; SQUIRE; KANDEL, 1998).

Atualmente já se sabe que, para uma memória ser adquirida, armazenada e posteriormente lembrada, reconsolidada ou extinta, são

necessárias interações complexas que envolvem atividade bioquímica e elétrica em/entre várias estruturas cerebrais, como hipocampo, amígdala, estriado, cerebelo e áreas corticais (SQUIRE; DEDE, 2015), refletindo a participação dinâmica do cérebro, como um todo, no processamento de memórias. O ápice para o advento do conhecimento de como as memórias são armazenadas no cérebro foi o caso do paciente H. M., provavelmente o caso clínico mais conhecido na história da neurociência (SQUIRE; WIXTED, 2011).

Na década de 50, a neurofisiologista canadense Brenda Milner conduzia suas pesquisas sob orientação de Donald Hebb quando foi convidada pelos neurocirurgiões Wilder Penfield e William Scoville para estudar um paciente que passara a sofrer de amnésia severa após remoção de estruturas cerebrais localizadas no lobo temporal do cérebro. O paciente era H. M., atualmente revelado e conhecido como Henry Molaison, que após um acidente de bicicleta durante sua infância, passou a apresentar epilepsia grave e refratária à medicação, que o incapacitava de desenvolver suas atividades diárias. Em 1953, com 27 anos de idade, a última alternativa de H. M. foi submeter-se a um procedimento experimental ofertado por Scoville, que consistia na remoção de estruturas cerebrais localizadas no lobo temporal, onde se acreditava estar o foco epilético. Embora as crises epiléticas tivessem cessado, o paciente passou a se esquecer de eventos diários logo após seu acontecimento, ou seja, apresentava um prejuízo na formação de novas memórias, sem quaisquer perdas em sua capacidade intelectual, perceptiva e motora (SQUIRE, 2009). Estudando o caso do paciente H. M., Scoville e Milner concluíram que as estruturas removidas, como o complexo hipocampal e a amígdala, pareciam ser críticas para a manutenção de uma memória (SCOVILLE; MILNER, 1957).

O estudo do paciente H. M. e de outros em condições clínicas semelhantes também forneceram indícios de que deveriam existir circuitos neuronais distintos controlando aspectos do processamento de memórias, uma vez que nem todos os tipos de memória eram afetados nesses pacientes. Eles eram capazes, por exemplo, de aprender e posteriormente executar tarefas que envolviam habilidades motoras, mesmo sem nenhuma lembrança de as terem praticado antes. Apesar de diversos estudiosos já proporem, antes mesmo do caso do paciente H. M., que em humanos as memórias poderiam ser classificadas de acordo com algumas características específicas (havendo a contribuição diferencial de circuitos neuronais específicos), foi efetivamente após a década de 60 que se deu início ao extenso trabalho experimental que permitiu classificar as memórias temporal e funcionalmente.

Quanto à classificação temporal, a memória de trabalho reflete a manutenção de uma quantidade limitada de informações apenas durante o tempo em que são requeridas para desempenhar uma tarefa (BADDELEY; HITCH, 1974), sendo o córtex pré-frontal essencial para este processo (DASH et al., 2007). Apesar de ser uma memória de curto prazo, evita-se a utilização desta terminologia, uma vez que memória de curto prazo tem uma conotação distinta, sendo atribuída àquela que perdura enquanto a memória de longo prazo é consolidada. As memórias de longo prazo, por sua vez, são divididas funcionalmente em duas categorias principais: memórias “declarativas” (explícitas), disponíveis como lembranças conscientes sobre fatos e acontecimentos, sendo o hipocampo e estruturas corticais adjacentes essenciais para sua manutenção, e memórias “não declarativas” (implícitas) ou “procedurais”, onde informações referentes a uma habilidade que foi aprendida são armazenadas e requisitadas de maneira inconsciente, processadas principalmente no estriado e no cerebelo (SQUIRE; DEDE, 2015). Vale ressaltar que essa classificação é meramente didática e que, embora estudos tenham atribuído a regiões encefálicas específicas o processamento e armazenamento de diferentes tipos de informações, já se sabe que interações complexas entre diversas estruturas encefálicas são requeridas para que tais processos de fato ocorram.

## 1.2 Influência das emoções sobre as memórias

*“A corrente de pensamentos flui; mas a maioria de seus segmentos cai no abismo sem fundo do esquecimento. De alguns, nenhuma memória sobrevive após o instante de sua passagem. De outros, se limita a alguns momentos, horas ou dias. Outros, ainda, deixam vestígios que são indestrutíveis, e por meio dos quais eles podem ser lembrados por toda a vida. Podemos explicar essas diferenças?” (JAMES, W., p. 643, 1898).*

Já que aprender e lembrar são requisitos essenciais à sobrevivência, findando por moldar os comportamentos de maneira adequada a cada situação (MCGAUGH, 2013), como justificar a duração breve ou duradoura de algumas memórias? Por que algumas experiências são facilmente esquecidas enquanto outras são lembradas ao longo de toda a vida? Embora os circuitos e mecanismos neurais envolvidos no processamento destas informações ainda não estejam bem

estabelecidos, sabe-se que os substratos neurais que modulam memória e emoção estão intimamente relacionados (ROZESKE et al., 2014) e influenciam como e por quanto tempo uma informação será armazenada. Nas últimas décadas, diversos trabalhos demonstraram que, de fato, a emoção é capaz de afetar o processamento das memórias, permitindo que as experiências mais relevantes sejam armazenadas de maneira intensa e duradoura (BURKE, HEUER, REISBERG, 1992; HAMANN, 2001; MCGAUGH, 2013).

### **1.2.1 O papel adaptativo das memórias emocionais aversivas**

Rotineiramente indivíduos são expostos a muitas situações que podem representar uma ameaça física ou psicológica potencial, sendo lógico supor que eventos de caráter emocional aversivo representem interesse imediato e futuro devido à sua importância para a sobrevivência do indivíduo (MCGAUGH, 2013). Assim, a capacidade de lembrar aspectos destes eventos para utilização em situações futuras representa uma das principais características do processo adaptativo (JOËLS; FERNANDEZ; ROOZENDAAL, 2011).

As consequências das emoções sobre as memórias envolvem interações complexas entre estruturas cerebrais corticais e subcorticais, bem como o recrutamento dos sistemas neuro-hormonais centrais e periféricos (LABAR; CABEZA, 2006). Um processo crucial desencadeado pela exposição a eventos estressantes e/ou potencialmente danosos é a liberação de glicocorticoides e adrenalina pela glândula adrenal. Embora afetem a função cerebral atuando através de vias e mecanismos diferentes, ambos os hormônios parecem convergir na regulação da formação da memória por modularem vias noradrenérgicas no sistema nervoso central (SNC) (MCGAUGH; ROOZENDAAL, 2002). Os hormônios glicocorticoides, ao ativarem receptores glicocorticóides expressos em grande quantidade nos núcleos noradrenérgicos do SNC, promovem um aumento da liberação de noradrenalina em outras regiões encefálicas, como a amígdala (JOËLS; FERNANDEZ; ROOZENDAAL, 2011), e o antagonismo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos nesta mesma região previne a potencialização da memória induzida por glicocorticoides (ROOZENDAAL; QUIRARTE; MCGAUGH, 2002).

A amígdala é uma região encefálica que vem sendo fortemente associada com o processamento de estímulos de valência emocional (para revisão ver JANAK; TYE, 2015; MCGAUGH, 2013; PAPE;

PARE, 2010), principalmente por integrar circuitos neuronais responsáveis pela formação e modulação de memórias de caráter aversivo, uma vez que recebe informações sobre o ambiente externo através de projeções aferentes talâmicas e do córtex sensorial, e envia projeções para regiões corticais (sobretudo para o córtex pré-frontal medial) e para o hipocampo, regiões de grande importância para processos mnemônicos (JANAK; TYE, 2015; TOVOTE; FADOK; LÜTHI, 2015).

Nos últimos anos diversos estudos vêm corroborando a influência do estresse (por exemplo, através da modulação noradrenérgica e glicocorticoide na amígdala) para a formação de memórias aversivas (ROOZENDAAL; BARSEGYAN; LEE, 2008), bem como de que maneira a formação de memórias de caráter emocional aversivo são capazes de influenciar o comportamento de um indivíduo frente a situações de que representem ou não perigo iminente. Ao longo da evolução, os animais desenvolveram, aprimoraram e conservaram mecanismos específicos para detectar e evitar o perigo, mecanismos estes diretamente modulados pela emoção. Após a detecção de um perigo, uma resposta fisiológica é desencadeada visando preparar o indivíduo para enfrentar o problema. Dentre os fatores que influenciam a natureza da resposta comportamental em consequência de uma situação estressante ou aversiva estão a cronicidade, severidade, previsibilidade e controlabilidade do agente estressor (SURI; VAIDYA, 2015).

As respostas adaptativas de medo e ansiedade são geradas pela presença direta de uma ameaça e pistas correlatas ou pela antecipação das mesmas, respectivamente (PAPE; PARÉ, 2010). A função biológica protetora dessas respostas é clara, evidenciada por dados epidemiológicos relacionando baixos níveis de ansiedade com maior propensão a acidentes e menor sobrevivência após a vida adulta (LEE; WADSWORTH; HOTOPF, 2006; MYKLETUN et al., 2009). Em contraste, respostas exacerbadas e inapropriadas (mal-adaptativas) de medo e ansiedade (frente a estímulos potencialmente danosos ou, em determinadas situações, até mesmo estímulos neutros) alteram o repertório comportamental do indivíduo e são a base para o desenvolvimento de alguns transtornos psiquiátricos (GILMARTIN; BALDERSTON; HELMSTETTER; 2014).



### 1.2.2 Quando uma memória emocional aversiva se torna disfuncional

A ansiedade exacerbada apresenta-se como o principal sintoma de diversos transtornos psiquiátricos, estimando-se que aproximadamente 16% da população sofrerá de algum transtorno de ansiedade ao longo da vida (SOMERS et al., 2006). Dentre eles está o transtorno do estresse pós-traumático (PTSD, do inglês “*posttraumatic stress disorder*”), que se caracteriza pela formação de uma memória intensa após a exposição a um acontecimento traumático de grande severidade. A evocação dessa memória aversiva torna-se tão vívida, frequente e incontrolável que desencadeia alterações comportamentais de medo e ansiedade observadas através dos sintomas primários desse transtorno: evocações espontâneas relacionadas ao trauma (memórias intrusivas ou “*flashbacks*”), pesadelos, esquiva de pessoas e lugares que remetam ao trauma e alterações negativas no humor e na cognição (HENDRIKSEN; OLIVIER; OOSTING, 2014; WHITAKER; GILPIN; EDWARDS, 2014). Embora inicialmente classificado de acordo com os sintomas como um transtorno de ansiedade no Manual de Diagnóstico e Estatística dos Transtornos Mentais (DSM, do inglês “*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*”), atualmente o PTSD foi reclassificado como um transtorno relacionado ao estresse e ao trauma, principalmente levando em conta o agente etiológico evidente (um evento traumático de alta severidade) nessa patologia (PITMAN et al., 2012; SANTIAGO et al., 2013; SAREEN, 2014).

Outra característica bastante marcante desse transtorno é a expressão generalizada de comportamentos de medo. A sintonia fina entre generalização e especificidade de características de uma memória garante a sobrevivência em um ambiente em constante mudança. É de grande importância adaptativa, portanto, a capacidade de discriminar entre estímulos, o que limita a generalização e possibilita a aplicação do aprendizado somente quando apropriado (DUNSMOOR; PAZ, 2015). Entretanto, em determinadas situações, como no PTSD, a generalização excessiva de estímulos que não estão associados ao aprendizado inicial é capaz de promover respostas defensivas exacerbadas que prejudicam a vida diária do indivíduo, indicando uma falha na discriminação ou supergeneralização (DUNSMOOR; PAZ, 2015). Estudos clínicos e pré-clínicos vêm demonstrando, ainda, que estas memórias de medo intensas e generalizadas são menos susceptíveis a interferentes que permitam atenuar sua valência negativa, tais como manipulações farmacológicas e comportamentais durante a extinção ou reconsolidação (BOS;

BECKERS; KINDT, 2014; CAIN; MAYNARD; KEHNE, 2012; DEBIEC; BUSH; LEDOUX, 2011; GAZARINI et al., 2014; SOETER; KINDT, 2013).

O córtex pré-frontal medial, o hipocampo e a amígdala parecem ser estruturas-chave para a regulação da expressão de respostas defensivas e a discriminação de estímulos aversivos (CAIN; MAYNARD; KEHNE, 2012; MAREN; PHAN; LIBERZON, 2013; PAPE; PARÉ, 2010; QUIRK; MUELLER, 2008). Embora o circuito neuronal envolvido no processamento de memórias traumáticas relacionadas ao PTSD não esteja bem elucidado, têm-se considerado que talvez os mecanismos neurobiológicos subjacentes não sejam análogos ao de uma memória de medo “normal”, uma vez que apenas 20 a 30% dos indivíduos expostos a eventos traumáticos de grande severidade desenvolvem o transtorno e que, segundo dados estatísticos da população norte-americana, tem uma prevalência de cerca de 6 a 8% da população em geral (DESMEDT; MARIGHETTO; PIAZZA, 2015).

### **1.2.3 Ferramentas experimentais para estudo das memórias aversivas: condicionamento de medo**

Procedimentos utilizando animais continuam sendo as ferramentas experimentais mais utilizadas para pesquisas pré-clínicas nas áreas das ciências biomédicas, onde se enquadram os estudos de memória e aprendizado e dos transtornos psiquiátricos relacionados. Embora a fisiologia e/ou a patologia humana seja complexa e inexistam modelos animais capazes de mimetizar com excelência todas as faces de uma determinada condição, muitos aspectos neurobiológicos e comportamentais foram evolutivamente conservados, permitindo com que a experimentação animal seja útil para o entendimento das bases neurais de processos mnemônicos, bem como para a avaliação pré-clínica de estratégias terapêuticas capazes de modular esses processos (BERARDI; TREZZA; CAMPOLONGO, 2012).

Quanto à pesquisa pré-clínica dos mecanismos envolvidos na modulação de memórias aversivas, protocolos experimentais de aprendizagem associativa através do condicionamento aversivo vêm sendo amplamente utilizados, uma vez que permitem a exploração de como o cérebro aprende e posteriormente detecta e responde a uma ameaça (BERARDI; TREZZA; CAMPOLONGO, 2012; LEDOUX, 2014). O condicionamento para memórias aversivas caracteriza-se pela associação entre um estímulo neutro (como um som ou um contexto

especial) com um estímulo aversivo incondicionado (que gera uma resposta inata de defesa, sendo o choque nas patas o estímulo aversivo mais utilizado). Após essa associação, o estímulo neutro se torna um estímulo condicionado, uma vez que passa a suscitar respostas defensivas comportamentais (como comportamentos de congelamento ou de fuga), autonômicas (como alterações na pressão arterial e respiração) e endócrinas (como liberação de hormônios relacionados ao estresse) mesmo na ausência do estímulo incondicionado (GILMARTIN; BALDERSTON; HELMSTETTER; 2014; LEDOUX, 2014).

Apesar do debate considerável sobre a capacidade dos animais experimentarem o sentimento de medo (o termo “medo” é utilizado para descrever a sensação humana vivenciada frente a uma ameaça), pesquisas utilizando protocolos de condicionamento aversivo têm permitido a investigação dos substratos neurais para processos inconscientes que controlam a formação de memórias aversivas, bem como as respostas defensivas induzidas por ameaças de naturezas diferentes (GROSS; CANTERAS, 2012). Somando-se a isto, o desenvolvimento de técnicas de imagem funcional na década de 90 aumentou a validade translacional das pesquisas utilizando condicionamento aversivo, uma vez que se tornou possível comprovar o envolvimento de determinadas regiões cerebrais no aprendizado associativo e na expressão de respostas defensivas e/ou de medo tanto em roedores quanto em humanos (GRECO; LIBERZON, 2015). Entre elas, destacam-se a amígdala, o córtex pré-frontal medial e o hipocampo, que são fortemente implicadas nestes processos (GILMARTIN; BALDERSTON; GRECO; LIBERZON, 2015; HELMSTETTER; 2014; HERRY; JOHANSEN, 2014, LEDOUX, 2014).

Um grande interesse na pesquisa atual é a busca de modelos animais que mimetizem, pelo menos em parte, a formação de memórias de medo intensas a ponto de promover alterações relacionadas ao PTSD. A maioria dos modelos animais existentes até o presente momento limita-se, principalmente, por avaliarem parâmetros quantitativos (intensidade) da memória, ao passo que negligenciam os parâmetros qualitativos (especificidade), o que dificulta a distinção entre processos normais ou adaptativos daqueles disfuncionais (DESMEDT; MARIGHETTO; PIAZZA, 2015; PITMAN et al., 2012). Apesar de alguns paradigmas mimetizarem determinadas alterações comportamentais e/ou neuroendócrinas relacionadas ao PTSD, ainda

não existe nenhum modelo animal aceito como completo para este transtorno (WHITAKER; GILPIN; EDWARDS, 2014).

Em 1993, Yehuda e Antelman sugeriram cinco critérios que deveriam ser levados em consideração para que um modelo animal fosse considerado útil para a compreensão do PTSD: (i) a capacidade do agente estressor induzir respostas biológicas e comportamentais relacionadas ao PTSD (ii) de maneira intensidade-dependente e (iii) persistente ao longo do tempo, além de (iv) induzir alterações comportamentais que têm expressão bidirecional (responsividade aumentada ou reduzida) e (v) que apresentam variabilidade individual (YEHUDA; ANTELMAN, 1993; WHITAKER; GILPIN; EDWARDS, 2014). Atualmente, os principais agentes utilizados na tentativa de induzir tais características são os estressores físicos (como choques nas patas ou estresse por contenção), sociais (como isolamento social, separação materna e derrota social) ou psicológicos (incluindo exposição ao predador ou odor do predador). Ainda, modelos animais baseados na modulação pontual de determinada alteração neuroendócrina classicamente observada no PTSD (como hiperatividade adrenérgica ou aumento nos níveis de hormônios glicocorticoides) vêm sendo amplamente estudados, já que além de mimetizarem características observadas neste transtorno, permitiriam a identificação de possíveis alvos para intervenção terapêutica (YEHUDA, 2005).

### **1.3 O sistema adrenérgico**

Em 1921, Otto Loewi demonstrou que uma substância química liberada por estímulos nervosos transmitia o efeito da estimulação simpática para o coração (SZABADI 2013) e, apesar de ter sido estabelecido relativamente cedo que esta substância era uma catecolamina, provavelmente a adrenalina, foram necessários mais 30 anos de pesquisa para acumular evidências concretas de que, de fato, tratava-se da noradrenalina (VON EULER, 1951). Logo em seguida, Vogt demonstrou que a noradrenalina estava presente no cérebro (VOGT, 1954) e, a partir de então, a modulação adrenérgica vem sendo extensivamente estudada e atribuída a uma gama de funções periféricas e cerebrais.

O sistema adrenérgico é composto pelas catecolaminas endógenas adrenalina (ADR) e noradrenalina (NA) e seus receptores. Enquanto a NA atua majoritariamente como neurotransmissor ao modular diversas funções em nível de SNC (inclusive, mediando os

efeitos periféricos da ativação do sistema nervoso autônomo simpático), a adrenalina tem ação hormonal, liberada pela medula da glândula adrenal diretamente na corrente sanguínea (para revisão ver YAMAMOTO; SHINBA; YOSHII, 2014). Essas catecolaminas exercem seus efeitos através da interação com receptores adrenérgicos distribuídos por todo o corpo, resultando em uma ampla gama de efeitos, como aumento da taxa de batimentos cardíacos, regulação do tônus vascular, broncodilatação, assim como efeitos controlados em nível de SNC, incluindo aprendizado e memória, alerta e respostas ao estresse. Todos os receptores adrenérgicos são compostos por uma única cadeia polipeptídica com 7 domínios hidrofóbicos transmembranares que interagem com proteínas reguladoras de ligação de nucleotídeos de guanina (proteínas G). A ligação dos agonistas (endógenos ou exógenos) a estes receptores estabiliza sua mudança conformacional, facilitando sua interação com as subunidades da proteína G a qual estão acoplados, promovendo a troca de uma guanina-difosfato (GDP) por uma guanina-trifosfato (GTP) e permitindo, assim, a ativação ou inibição de diversas vias efetoras intracelulares (BYLUND, 2007; COTECCHIA; STANASILA; DIVIANI, 2012).

A classificação atual dos receptores adrenérgicos estabelece 3 tipos principais, cada qual dividido, ainda, em 3 subtipos: receptores do tipo  $\alpha_1$ - ( $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  e  $\alpha_{1D}$ ),  $\alpha_2$ - ( $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  e  $\alpha_{2C}$ ) e  $\beta$ -adrenérgicos ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$ ). Receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos são, respectivamente, acoplados às proteínas G estimulatórias Gq e Gs. Enquanto a ativação de proteína Gq promove a ativação da fosfolipase C e aumento do cálcio intracelular, a ativação de proteína Gs promove o aumento de atividade da enzima adenilil ciclase e aumento da concentração de adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Os receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, pelo contrário, estão acoplados a proteínas G inibitórias (Gi) que reduzem a atividade da adenilil ciclase e diminuem a concentração de AMPC (BYLUND, 2007; COTECCHIA; STANASILA; DIVIANI, 2012). Além da ativação de diferentes vias intracelulares, a afinidade de ligação da noradrenalina aos subtipos de receptores adrenérgicos também é distinta, sendo os receptores  $\alpha_2$  e  $\alpha_1$  são ativados mais facilmente que os  $\beta$ -adrenérgicos (sobretudo os  $\beta_2$ - e  $\beta_3$ -adrenérgicos) frente a concentrações baixas dos ligantes (ZHANG; OUYANG; THOMAS, 2004).

### 1.3.1 A modulação noradrenérgica no sistema nervoso central

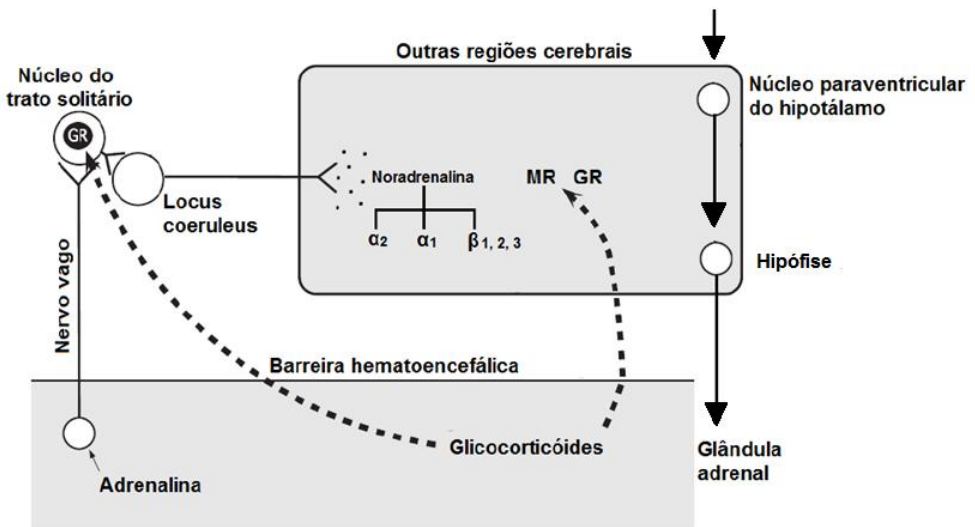
Os corpos celulares de neurônios centrais que liberam a noradrenalina como neurotransmissor principal estão localizados em sua totalidade em um núcleo do tronco cerebral, descoberto em 1784 por Félix Vicq-d'Azyr e conhecido como *locus coeruleus* (do latim, '*locus*', lugar ou ponto, e '*coeruleus*', azul escuro) devido à presença de pontos pigmentados (que se tratam de corpos celulares contendo grânulos de melanina) característicos em humanos e primatas (MAEDA, 2000).

Em 1964, Dahlström e Fuxe sugeriram a existência de sete núcleos noradrenérgicos no SNC, nomeados de A1 a A7, posteriormente identificados e descritos tanto em ratos quanto em primatas (FELTEN; SLADEK, 1983; JACOBOWITZ; MACLEAN, 1978). Estes núcleos são divididos em três grupos: caudal (ou medular), central (ou pontino-medular) e rostral (ou pontino), sendo o último composto por um único núcleo, o *locus coeruleus* (LC), que representa a área A6. O grupo rostral é considerado o mais importante, uma vez que o LC contém mais de 50% de todos os neurônios noradrenérgicos do SNC.

Atualmente já se sabe que a liberação de noradrenalina no SNC é controlada principalmente, mas não somente, pela atividade do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA). Determinadas informações (sobretudo aquelas de caráter emocional) são capazes de promover a estimulação do eixo HPA e liberação de adrenalina da medula da glândula adrenal para a corrente sanguínea. Embora a adrenalina seja incapaz de atravessar a barreira hematoencefálica, sua ação em receptores  $\beta$ -adrenérgicos presentes em aferentes do nervo vago propicia a ativação do núcleo do trato solitário (NTS) (CAREAGA et al., 2015; CHEN; WILLIAMS, 2012; DE DIEGO; GANDÍA; GARCÍA, 2008; SCHREURS; SEELIG; SCHULMAN, 1986). Esta estrutura, por sua vez, envia projeções excitatórias para o LC, promovendo a liberação de noradrenalina em diversas regiões cerebrais (Figura 2), como o tálamo, a amígdala, o córtex pré-frontal medial e o hipocampo (LOUGHLIN; FOOTE; GRZANNA, 1986; SZABADI, 2013).

Diferentemente dos corpos celulares dos neurônios centrais que liberam NA, os receptores  $\alpha$ - e  $\beta$ -adrenérgicos estão distribuídos e expressos amplamente por todo o SNC (ALEXANDER; DAVIS; LEFKOWITZ, 1975; JOYCE et al., 1992; NICHOLAS; HÖKFELT; PIERIBONE, 1996; RAINBOW; BIEGON, 1983). Entretanto, as diferenças quanto à densidade de expressão e a localização pré- ou pós-sináptica destes receptores culminam em efeitos distintos mediante aumento da liberação de NA. Por exemplo, os receptores  $\alpha_2$ -

adrenérgicos, inibitórios, são expressos de maneira significativa na pré-sinapse de neurônios do LC e apresentam um papel autorregulatório essencial, diminuindo a síntese e liberação excessiva de NA frente à estimulação deste núcleo (STARKE, 2001). Já a ativação de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos expressos na pós-sinapse de neurônios do córtex pré-frontal é essencial para a atividade desta estrutura e para o processamento de informações em memórias de trabalho (BERRIDGE; SPENCER, 2015; WANG et al., 2007). Assim, uma vez liberada pelos neurônios que se projetam do LC para outras regiões do SNC e se ligando aos diferentes subtipos de receptores adrenérgicos, a NA atua como um modulador importante para o funcionamento de circuitos neurais envolvidos em uma gama de funções, como aprendizado e memória (SARA, 2015; OTIS; WERNER; MUELLER, 2015; UEMATSU; TAN; JOHANSEN, 2015; WANG et al., 2007), sono e vigília (LIN et al., 2011), medo e ansiedade (MCCALL et al., 2015; ROOZENDAAL; BARSEGYAN; LEE, 2008).



**Figura 2. Controle da liberação de noradrenalina no sistema nervoso central pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal.** Frente determinadas situações, como de estresse, a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal acarreta o aumento da liberação dos hormônios adrenalina e glicocorticoides pela glândula adrenal, favorecendo o aumento da liberação de noradrenalina em diversas regiões cerebrais que recebem aferentes do *locus coeruleus*. GR= receptores glicocorticoides; MR= receptores mineralocorticoides. (Adaptado de ROOZENDAAL; BARSEGYAN; LEE, 2008).

### **1.3.2 Experiências aversivas, noradrenalina e memórias de medo**

Diversas evidências têm se acumulado na literatura científica atribuindo ao sistema noradrenérgico o controle sobre vigília, atenção, processamento de informação sensorial, flexibilidade comportamental, plasticidade sináptica e memória (SARA, 2015).

Em contraste com a baixa ativação tônica em situações de repouso, estados fisiológicos de vigília frente a agentes estressores e experiências aversivas favorecem a ativação aguda e robusta dos neurônios noradrenérgicos do LC (VALENTINO; VAN BOCKSTAELE, 2008). Estes, por sua vez, exercem o controle direto tanto de respostas autonômicas na periferia, através das projeções diretas com o NTS e o nervo vago (VAN BOCKSTAELE; ASTON-JONES, 1995), quanto de respostas centrais mediante conexões com núcleos do hipotálamo e da amígdala (REYES et al., 2011; SARA; BOURET, 2012). Ainda, hormônios glicocorticoides liberados pela glândula adrenal frente a situações de estresse, além de influenciarem a formação da memória relacionada ao evento aversivo ao atuarem em seus próprios receptores, potencializam de maneira sustentada a eficácia da ativação noradrenérgica (JOËLS; FERNANDEZ; ROOZENDAAL, 2011; ROOZENDAAL; QUIRARTE; MCGAUGH, 2002; QUIRARTE; ROOZENDAAL; MCGAUGH, 1997).

Condições estressantes e que acarretam uma maior liberação de NA favorecem a ativação dos receptores adrenérgicos que apresentam menor afinidade por este neurotransmissor (os  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos), que vem sendo associados com estados de vigília relacionada ao estresse, flexibilidade comportamental, prejuízo de memória de trabalho, potencialização da formação de memórias aversivas e aumento das respostas comportamentais de medo e ansiedade (ARNSTEN, 2000; ARNSTEN, 2015; BERRIDGE; SPENCER, 2015; GAZARINI et al., 2014; SARA, 2015; SOETER; KINDT, 2011; ZHANG, W. P.; OUYANG, M.; THOMAS, 2004). Logo, o aumento da atividade noradrenérgica parece ser decisivo para que informações de experiências estressantes sejam armazenadas de maneira intensa e persistente como memórias de longa duração (GOLD; VAN BUSKIRK, 1975; 1978; ROOZENDAAL; MCGAUGH, 2011).

O LC inerva densamente regiões envolvidas na consolidação de memórias (SARA, 2009), onde sabidamente a NA desempenha um papel essencial na plasticidade sináptica e manutenção da LTP (COULL



et al., 1999; HARLEY, 1987; HARLEY, 2007; LIM et al., 2010; MARZO; BAI; OTANI, 2009; SHAKHAWAT et al., 2015). Para isso, cascatas de vias de sinalização intracelulares recrutadas pela ativação de receptores  $\alpha$ - (CARR et al., 2007; DOZE et al., 2011; HUANG; KANDEL, 1996; PUSSINEN; SIRVIÖ, 1998; ZHANG et al., 2013) e, principalmente,  $\beta$ -adrenérgicos (CAHILL et al., 1994; MAITY et al., 2015; MCREYNOLDS et al., 2014; O'DELL et al., 2015; SCHUTSKY; OUYANG; THOMAS, 2011; ZHOU et al., 2013) trabalham de maneira orquestrada para propiciar um remodelamento estrutural e funcional das sinapses requeridas para o armazenamento de uma determinada memória. Para tanto, a NA desempenha um papel importante ao induzir a fosforilação da subunidade GluR1 de receptores AMPA, promovendo a inserção desses receptores na membrana plasmática e diminuindo o limiar necessário para a LTP (HU et al., 2007). A ativação de receptores  $\beta$ -adrenérgicos também parece se relacionar com a diminuição da atividade de canais de potássio dependentes de cálcio (HAAS; KONNERTH, 1983), e o aumento da atividade de canais de cálcio voltagem-dependentes (GRAY; JOHNSTON, 1987) e de receptores NMDA (HUANG; TSAI; GEAN, 1993).

A resultante comportamental das alterações moleculares promovidas pelo recrutamento do sistema noradrenérgico durante a consolidação de memórias aversivas vem sendo extensivamente estudada ao longo das últimas duas décadas em diversos trabalhos utilizando manipulações farmacológicas dos receptores  $\alpha$ - (FERRY; ROOZENDAAL; MCGAUGH, 1999a; 1999b; FERRY et al., 2015; GIBBS; HUTCHINSON; SUMMERS, 2010; LAZZARO et al., 2010) ou  $\beta$ -adrenérgicos (CAHILL; PHAM; SETLOW, 2000; FERRY; MCGAUGH, 1999; KROON; CAROBREZ, 2009; OUYANG et al., 2012; QU; GUO; LI, 2008; TRONEL; FEENSTRA; SARA, 2004; ZHOU et al., 2013). Recentemente foi demonstrado que a administração sistêmica de ioimbina, um antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos que atua impedindo o mecanismo de retroalimentação negativa exercido pela NA sobre esses receptores no LC e que acarreta no aumento da liberação deste mesmo neurotransmissor, potencializa a consolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto por favorecer a ativação de receptores  $\beta$ -adrenérgicos (GAZARINI et al., 2013), corroborando o papel crucial da NA em favorecer a formação de uma memória intensa e duradoura (GAZARINI et al., 2014; MCGAUGH; ROOZENDAAL, 2002).

O sistema noradrenérgico no SNC também modula outros processos mnemônicos, como aquisição (ARCHER et al., 1981; COLE;

ROBBINS, 1987; MIRANDA; FERRY; FERREIRA, 2007; RADWANSKA; NIKOLAEV; KACZMAREK, 2010), evocação (DEVAUGES; SARA, 1991; STERPENICH et al., 2006), reconsolidação (DEBIEC, BUSH, LEDOUX, 2011; DO MONTE et al., 2013; GAZARINI et al., 2013; OTIS; WERNER; MUELLER, 2015; PRZYBYSLAWSKI, ROULLET, SARA, 1999; SCHWABE, NADER, PRUESSNER, 2013) e extinção de memórias aversivas (DO-MONTE et al., 2010; FITZGERALD et al., 2015), sendo inclusive relacionada com o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos relacionados ao estresse, como transtornos de ansiedade e PTSD (BISAZ; TRAVAGLIA; ALBERINI, 2014; FINSTERWALD; ALBERINI, 2014; YAMAMOTO; SHINBA; YOSHII, 2014).

### **1.3.3 O sistema noradrenérgico e o desenvolvimento e tratamento de transtornos psiquiátricos relacionados às memórias traumáticas**

Visto que a exposição a eventos traumáticos é muitas vezes inevitável, prever quais fatores desencadeariam a manifestação posterior de respostas comportamentais exacerbadas poderia oferecer uma oportunidade de direcionar estratégias de prevenção e intervenção aos indivíduos vulneráveis. Entretanto, o potencial de uma experiência altamente estressante em culminar no desenvolvimento de um transtorno psiquiátrico parece depender da interação complexa entre diversos fatores ambientais, genéticos e epigenéticos que alteram a modulação neuroendócrina de vias envolvidas na patogênese destes transtornos, modificando a capacidade do indivíduo em enfrentar essa situação (KREMEN et al., 2012; PITMAN et al., 2012; ZANNAS; PROVENÇAL; BINDER, 2015).

Neste contexto, apesar do fortalecimento de memórias de eventos aversivos mediado pelo aumento do tônus noradrenérgico ser extremamente importante de um ponto de vista funcional e evolutivo, por favorecer respostas comportamentais de atenção e alerta, seu impacto sobre uma memória emocional também pode contribuir para o desenvolvimento e manutenção de transtornos psiquiátricos correlatos, como transtornos de ansiedade e o PTSD (KALK; NUTT; LINGFORD-HUGHES, 2011; STRAWN; GERACIOTI, 2008). Dados clínicos acumulados ao longo das últimas décadas demonstram que os indivíduos acometidos por estes transtornos apresentam aumento nos níveis de ADR e NA tanto na periferia (BLANCHARD et al., 1991;

KOSTEN et al., 1987) quanto no SNC (GERACIOTI et al., 2001), assim como aumento de afinidade dos receptores  $\alpha$ - e  $\beta$ -adrenérgicos (BROW et al., 1988; GURGUIS et al., 1999a; 1999b; KANG; YU, 2005; PERRY; GILLER; SOUTHWICK, 1987) aos ligantes endógenos. Variações genéticas em receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos tanto em animais de laboratório quanto em humanos têm sido associadas com um efeito facilitatório sobre a formação de memórias de medo (DE QUERVAIN et al., 2007; RASCH et al., 2009). Pode ser observada, ainda, maior reatividade noradrenérgica frente à exposição a pistas relacionadas ao evento aversivo (LIBERZON et al., 1999; PITMAN et al., 1987), manifestada por alterações neuroendócrinas no eixo HPA (BAKER et al., 1999; DE KLOET et al., 2006; MEEWISSE et al., 2007) e autonômicas mediadas pelo sistema adrenérgico, como taquicardia, aumento da pressão sanguínea e tremor (COHEN et al., 2000; SHERIN; NEMEROFF, 2011). Por conta disso, disfunções noradrenérgicas são tidas como uma das principais alterações neuroquímicas e classicamente observadas em pacientes com PTSD (O'DONNELL; HEGADOREN; COUPLAND, 2004).

Outro ponto relevante está no tratamento do PTSD, que é atualmente um grande desafio, uma vez que diversas classes de agentes farmacológicos (incluindo antidepressivos inibidores seletivos de recaptação de serotonina, tricíclicos ou inibidores da monoamina oxidase, assim como os benzodiazepínicos e agentes estabilizadores de humor) têm sido utilizadas, mas mostram-se pouco efetivas (DASKALAKIS; YEHUDA; DIAMOND, 2013). Apesar de atenuarem manifestações autonômicas, o tratamento farmacológico atual falha possivelmente por não interferir na raiz do problema, ou seja, a memória traumática em si, o que coloca a combinação de terapias farmacológicas e comportamentais como uma alternativa promissora (HRUSKA; CULLEN; DELAHANTY, 2014; TAYLOR; TORREGROSSA, 2015).

Alguns estudos já discutem, inclusive, a eficácia de drogas que modulam a atividade do sistema noradrenérgico no tratamento destes transtornos. O antagonista  $\beta$ -adrenérgico não seletivo, propranolol, é uma das drogas noradrenérgicas potencialmente interessantes mais testadas e parece reduzir os a incidência e os sintomas do PTSD quando administrado após um acontecimento traumático (PITMAN et al., 2002; VAIVA et al., 2003). Apesar disso, alguns pesquisadores refutam tal utilidade devido às limitações dos estudos realizados até o momento (AMOS; STEIN; IPSER, 2014; STEENEN et al., 2015). De maneira semelhante, e explorando o arsenal terapêutico de drogas seguras e já aprovadas para usos distintos em humanos, o antagonista  $\alpha_1$ -adrenérgico

prazosina (GREEN, 2014; TAYLOR et al., 2006) e o agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico clonidina (BELKIN; SCHWARTZ, 2015) vem sendo investigados como drogas que poderiam ser utilizadas no tratamento de transtornos como o PTSD.

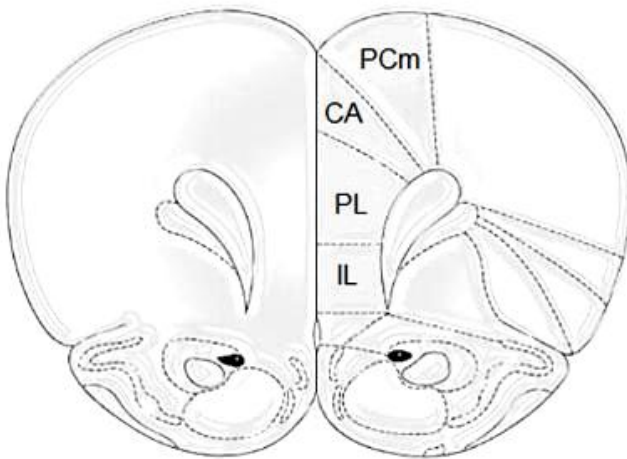
Por fim, devido ao acúmulo de evidências sobre o envolvimento do sistema noradrenérgico nos transtornos psiquiátricos relacionados ao trauma, bem como da dificuldade em validar um tratamento efetivo para os mesmos, é de interesse o desenvolvimento de modelos animais que mimetizem características neurobiológicas e comportamentais induzidas pela modulação noradrenérgica exagerada nestes transtornos, o que auxiliaria no desenvolvimento de biomarcadores e terapias farmacológicas mais efetivas (DASKALAKIS; YEHUDA; DIAMOND, 2013). Foi demonstrado recentemente, por exemplo, que o aumento da atividade noradrenérgica induzido pela ioimbina, antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, durante a consolidação de uma memória aversiva, no protocolo de medo condicionado ao contexto, é capaz de mimetizar, em ratos, características observadas em pacientes com PTSD. Essas características incluem a incapacidade de restringir a um contexto adequado as respostas comportamentais e autonômicas de medo, além da formação de uma memória relacionada ao evento aversivo que é mais persistente e menos susceptível à supressão através de um protocolo de extinção ou mesmo pelo prejuízo da reconsolidação induzido por agentes amnésicos (GAZARINI et al., 2014). Embora a participação da transmissão noradrenérgica no hipocampo seja crítica nesse caso (GAZARINI, 2015), o envolvimento de outras estruturas encefálicas que tem papel central na formação das memórias de medo ainda é desconhecido.

#### **1.4 O córtex pré-frontal medial**

O córtex pré-frontal medial (CPFm) é composto de neurônios piramidais excitatórios de projeção (80 a 90% do total da população neuronal) e neurônios de circuitos locais ou interneurônios inibitórios, organizados em 6 lâminas ou camadas distintas (RAKIC, 2009; RIGA et al., 2014). Localizado no polo anterior do cérebro dos mamíferos, os principais critérios para se definir a homologia do CPFm entre as diferentes espécies são suas características estruturais e padrão de conexões com as demais regiões encefálicas.

Anatomicamente, se aceita que o CPFm de roedores é subdividido em quatro regiões principais (Figura 3), dispostas no

sentido dorsoventral: córtices pré-central medial (PCm), cingulado anterior (CA), pré-límbico (PL) e infralímbico (IL) (COURTIN et al., 2013; VERTES, 2004). Apesar da dificuldade de se determinar com exatidão a homologia entre as espécies, pesquisadores sugerem que a região do córtex PL de roedores é homóloga ao córtex cingulado anterior dorsal (área 32 de Brodmann) em macacos e humanos, enquanto o córtex IL seria homólogo ao córtex ventromedial (área 25 de Brodmann) (GABBOTT et al., 2003; MYERS-SCHULZ; KOENIGS, 2012).



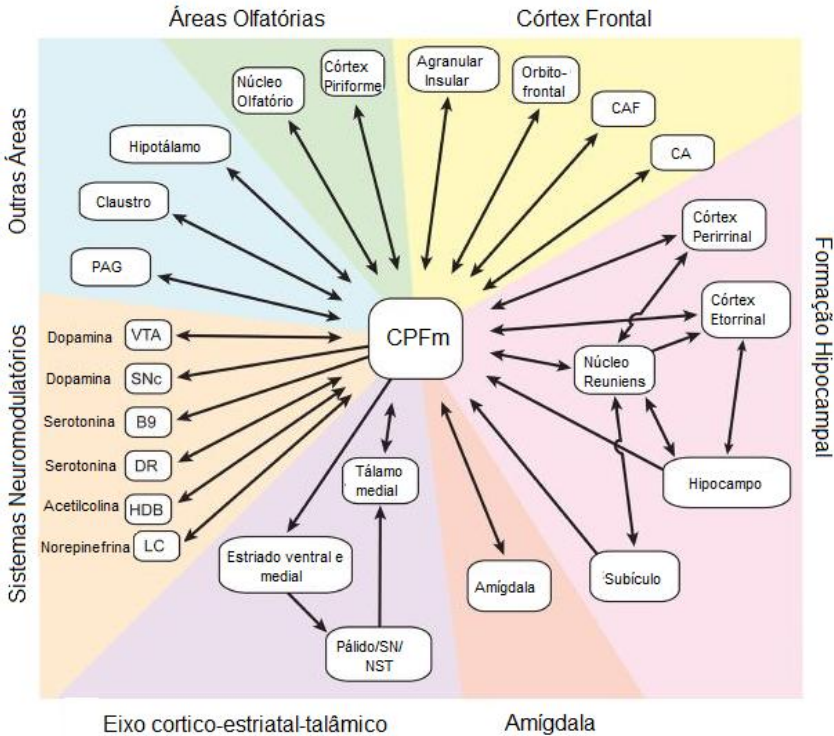
**Figura 3. Divisão anatômica do córtex pré-frontal medial de roedores.** (Adaptado de PAXINOS; WATSON, 2009).

De uma perspectiva histórica, já desde o século XIX supunha-se que o aumento de tamanho do CPFm ao longo do desenvolvimento filogenético, sobretudo em humanos, indicaria presumivelmente que este seria o substrato neural para funções cognitivas de alta ordem. Estudiosos como Hitzig e Ferrier, utilizando-se de técnicas de ablação, demonstraram a influência do CPFm sobre o comportamento e seu papel fundamental em tarefas que envolviam atenção (FUSTER, 2008). Décadas mais tarde, Bianchi e Shepherd Franz foram os primeiros a examinar a influência da ablação do CPFm em diferentes espécies, corroborando os achados anteriores e promovendo o CPFm como um

importante centro associativo e perceptivo, bem como executivo de determinadas habilidades motoras (FUSTER, 2008).

Porém, embora diversos estudos busquem demarcar e delimitar estruturalmente o CPFm, a complexidade anatômica dessa estrutura torna improvável sua homogeneidade funcional (FUSTER, 2008). Atualmente, a literatura científica atribui ao CPFm um papel importante sobre as emoções (PITMAN et al. 2012), tomada de decisões (EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012), controle executivo e memória de trabalho (POSNER et al., 2007), processos de atenção, avaliação de risco e recompensa (BECHARA; DAMASIO, 2005), controle oculomotor e da atividade visceral (EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012; ROSESKE et al., 2014; VERTES, 2004). Os córtices CA e PCm parecem estar implicados principalmente na regulação de comportamentos motores, enquanto os córtices PL e IL seriam responsáveis pelo controle de funções emocionais, mnemônicas e cognitivas (ROZESKE et al., 2014; HEIDBREDER; GROENEWEGEN, 2003; VERTES, 2004).

A diversidade de funções atribuídas ao CPFm se dá, sobretudo, pelas suas conexões com diversas regiões cerebrais (Figura 4). Em particular, o tálamo medial dorsal envia eferentes para todas as sub-regiões do CPFm: a porção medial do tálamo envia projeções para os córtices PL e IL, a porção lateral comunica-se com o PL e o CA, enquanto a porção paralela envia projeções para o PCm (UYLINGS; EDEN, 1990; VAN DE WERD et al., 2010). O CPFm recebe aferentes de uma gama de outras estruturas subcorticais, como a área tegmental ventral, núcleos da base, *locus coeruleus*, a amígdala, o hipocampo, os córtices entorrinal e perirrinal, somatossensorial e motor. Ainda, o CPFm envia projeções diretamente para o núcleo basolateral da amígdala, núcleo *reuniens* do tálamo, substância negra *pars compacta*, área tegmental ventral, substância cinzenta periaquedutal, núcleos da Rafe, entre outras (COURTIN et al., 2013; EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012; GABBOTT et al., 2005; VERTES, 2004). Projeções eferentes para regiões subcorticais são originadas majoritariamente das lâminas V e VI do CPFm, enquanto conexões para regiões corticais seriam feitas por neurônios piramidais das lâminas mais superficiais II e III (DOUGLAS; MARTIN, 2004).



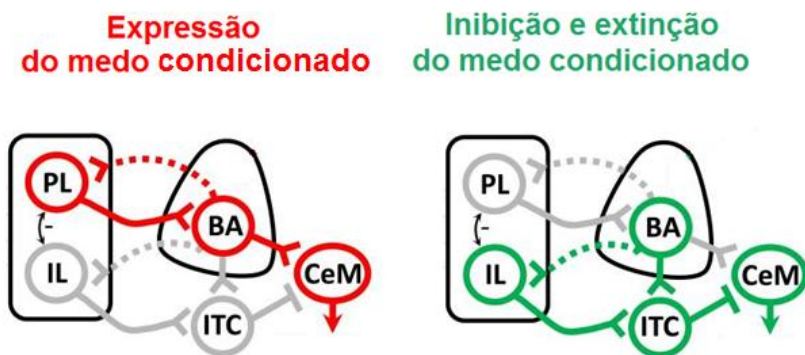
**Figura 4. Principais conexões entre o córtex pré-frontal medial e outras regiões cerebrais.** B9= Células serotoninérgicas B9; CA= Cingulado anterior; CAF= Córte associativo frontal; CPFm= córtex pré-frontal medial; DR= Núcleo dorsal da Rafe; HDB= Núcleo horizontal da banda diagonal de Broca; LC= *Locus coeruleus*; NST= Núcleo subtalâmico; PAG= Substância cinzenta periaquedutal (do inglês, '*periaqueductal gray*'); SN= Substância negra; SNc= Substância negra pars compacta; VTA= Área tegmental ventral (do inglês, '*ventral tegmental area*'). (Adaptado de EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012).

### 1.4.1 O córtex pré-frontal medial e as memórias de medo

Resultados obtidos através de estudos em humanos e em animais de laboratório ao longo dos últimos anos têm destacado a participação desta estrutura também na aquisição, expressão, reconsolidação e extinção de memórias de medo condicionado (EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012; ROZESKE et al., 2014). Trabalhos utilizando

principalmente manipulações farmacológicas demonstraram, ainda, que as diferentes regiões do CPFm desempenham papéis únicos (e algumas vezes opostos) na modulação de processos mnemônicos, bem como na resposta comportamental subsequente (Figura 5). Tais diferenças seriam observadas, sobretudo, devido à heterogeneidade das conexões das sub-regiões do CPFm com áreas específicas do hipocampo, dos núcleos do tálamo e, principalmente, da amígdala.

Como exemplo, o IL envia projeções excitatórias para as células intercalares (ITC, do inglês *'intercalated cells'*) e divisão lateral da amígdala central (CeL), ambos contendo neurônios GABAérgicos cuja estimulação culmina na inibição das projeções de saída do núcleo medial da amígdala central (CeM) para a substância cinzenta periaquedutal ventrolateral (vIPAG). O PL, por sua vez, projeta-se para a porção basolateral (BA) da amígdala, região crítica para a expressão de medo (SOTRES-BAYON; QUIRK, 2010). Assim, conforme demonstrado em protocolos de medo condicionado ao som, enquanto as sub-regiões do CA e do PL estariam envolvidas na promoção de respostas de medo, o IL seria um sítio anatômico crítico para a inibição e extinção de respostas de medo condicionado (SOTRES-BAYON; QUIRK, 2010).



**Figura 5. Conectividade dos córtex pré-límbico e infralímbico com os núcleos da amígdala e seu papel na modulação de respostas de medo em um protocolo de condicionamento de medo ao som.** Enquanto as conexões do córtex pré-límbico (PL) com o núcleo basolateral da amígdala (BA) promovem a expressão de respostas de medo condicionado ao som, as conexões do córtex infralímbico (IL) com as células intercalares (ITC) propiciam a inibição e a extinção destas respostas. (Adaptado de SOTRES-BAYON; QUIRCK, 2010).



Além do papel modulatório substancial das sub-regiões do CPFm na expressão de respostas comportamentais relacionadas à memória de medo condicionado, diversos trabalhos já demonstraram que a atividade do CPFm imediatamente após a aquisição de uma memória de medo é necessária para sua estabilização e manutenção ao longo do tempo (GONZALEZ et al., 2013). Assim como a estimulação da região CA1 do hipocampo, importante para a consolidação de memórias de medo condicionado (sobretudo aquelas associadas a contextos) acarreta em um aumento sustentado da eficiência sináptica no CPFm (LAROCHE; JAY; THIERRY, 1990; LIM et al., 2010; SAKATA et al., 2013), a inativação temporária ou interferências em vias de neurotransmissão e/ou na expressão de genes relacionados à plasticidade sináptica nos córtices CA e PL, têm sido implicadas em um prejuízo na consolidação e posterior evocação destas memórias aversivas (CARBALLO-MÁRQUEZ et al., 2007; CHOI; GOURLEY; RESSLER, 2012; EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012; HOLLOWAY; MCINTYRE, 2011; ROZESKE et al., 2014; TRONEL; SARA, 2003; VETERE et al., 2011; ZHANG; FUKUSHIMA; KIDA, 2011).

Evidências mais recentes sugerem que o CPFm também exerceria papel importante sobre a evocação e reconsolidação das memórias de medo (DO-MONTE; QUIÑONES-LARACUENTE; QUIRK, 2015). A infusão de anisomicina, um inibidor de síntese proteica, na sub-região do CA do CPFm de ratos prejudica a reconsolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto recente ou remota (EINARSSON; NADER, 2012), efeito semelhante ao encontrado com a infusão de um agonista de receptores GABA<sub>A</sub> (STERN et al., 2014) ou um antagonista de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos no PL (DO MONTE et al., 2013).

Recentemente, com o interesse crescente na extinção de memórias de medo como uma possível ferramenta para a regulação da expressão de memórias de medo, tem sido demonstrado o envolvimento do CPFm nesta fase dos processos mnemônicos (MILAD; QUIRK, 2002; SOTRES-BAYON; CAIN; LEDOUX, 2006). Enquanto a estimulação do CPFm correlaciona-se positivamente com a extinção do comportamento de medo, a inativação seletiva das sub-regiões PL e IL do CPFm com um agonista de receptores GABA<sub>A</sub> evidenciou que o IL, mas não o PL, é um substrato neural envolvido na consolidação da extinção de memórias de medo (LAURENT; WESTBROOK, 2009; QUIRK; GARCIA; GONZÁLEZ-LIMA, 2006; SIERRA-MERCADO; PADILLA-COREANO; QUIRK, 2011), assim como a plasticidade sináptica nesta região é necessária para que essa memória de extinção

seja posteriormente evocada (MAMIYA et al., 2009; MILAD et al., 2007).

### **1.4.2 O córtex pré-frontal medial e a generalização do medo**

A generalização do medo ocorre quando a resposta de medo adquirida para um estímulo em particular não se restringe a ele, sendo também expressa frente a outros estímulos. Acreditava-se que a generalização era meramente uma falha na discriminação entre estímulos não condicionados e pareados. Entretanto, agora tem sido sugerido que em algumas situações a generalização pode ocorrer mesmo frente a estímulos que poderiam ser facilmente distinguidos (DUNSMOOR; MITROFF; LABAR, 2009). No que remete às memórias de medo, a generalização do medo pode se tornar inadequada quando estímulos não ameaçadores são interpretados como nocivos, o que impacta negativamente a qualidade de vida do paciente com PTSD. Embora muitos trabalhos venham elucidando a neurobiologia das memórias de medo, pouco se sabe ainda sobre a circuitaria neural responsável pela regulação da especificidade das memórias de medo, bem como as alterações nos mecanismos que sustentam a capacidade discriminatória entre estímulos aversivos e neutros que acarretariam na generalização do medo (VIEIRA et al., 2014; XU; SÜDHOF, 2013).

Pesquisas científicas sobre este tema foram direcionadas inicialmente para a amígdala, região de extrema importância na associação entre o estímulo neutro e o estímulo aversivo, bem como na promoção de comportamentos de medo, demonstrando que alterações nos níveis de neurotransmissores e no balanço da atividade neuronal desta estrutura parecem estar relacionadas com o aumento da generalização do medo (DUNSMOOR et al., 2011; GOSH; CHATTARJI, 2014; BERGADO-ACOSTA et al., 2008). Porém, apesar das evidências crescentes da participação do CPFm na modulação de processos de aprendizado e memória, poucos estudos até o momento focaram na possível participação desta estrutura (além dos sistemas de neurotransmissão e vias de sinalização locais) na generalização do medo.

Alguns trabalhos demonstraram que lesões no CPFm de ratos promovem um prejuízo na discriminação de odores (DEVITO et al., 2010) e um aumento da generalização do medo, visto que, na ausência da porção IL desta estrutura, ratos expostos a um protocolo de condicionamento de medo apresentam respostas de medo também frente

um novo ambiente sem qualquer relação com aquele associado ao evento aversivo (ZELIKOWSKY et al., 2013). Em protocolos de condicionamento de medo ao contexto, essa discriminação precisa entre estímulos parece necessitar da sintonia fina entre a região CA1 do hipocampo, a sub-região PL do CPFm e o núcleo *reuniens* (NR) do tálamo. Nesse caso, a inativação das projeções do CPFm para o NR ou a inativação direta do NR são relacionadas com um aumento da generalização do medo (XU; SÜDHOF, 2013), assim como as projeções do PL para a vIPAG parecem estar diretamente relacionadas com a expressão da generalização do medo (ROZESKE et al. 2014).

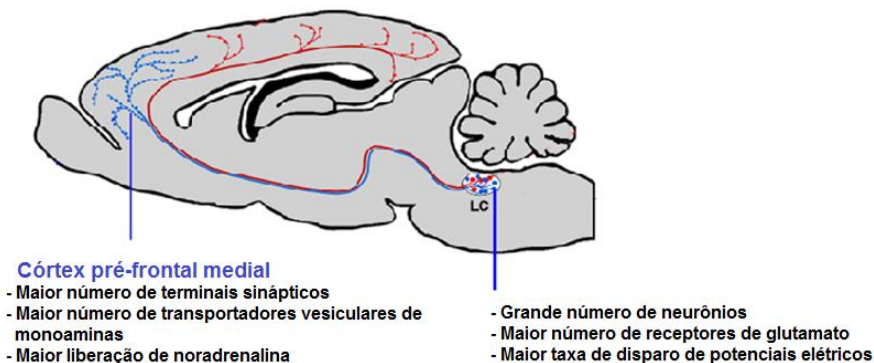
Ainda, em protocolos de medo condicionado a pistas auditivas, a ativação de receptores NMDA para glutamato expressos em neurônios excitatórios no CPFm vêm sendo relacionada com a generalização do medo. Sobretudo, a ativação destes receptores seria capaz de engajar mecanismos intracelulares que culminariam no recrutamento de enzimas acetiltransferases dependentes da proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc (CREB), sendo recentemente demonstrado que interferências nessas vias de sinalização resultam em prejuízo na discriminação de estímulos relacionados a memórias de eventos aversivos (KORZUS, 2015; VIEIRA et al. 2014; VIEIRA et al., 2015).

Dados clínicos que corroboram os achados em animais de laboratório demonstraram que a reatividade da porção ventromedial do CPFm está reduzida durante a generalização do medo em indivíduos com transtorno de ansiedade generalizada (CHA et al., 2014; GREENBERG et al., 2013), assim como a redução da atividade desta estrutura e a hiperativação do córtex cingulado anterior dorsal (CCAd), homólogo às sub-regiões do CA e do PL em roedores, estão associados com a incapacidade de regular o medo e a ansiedade em pacientes com PTSD (PITMAN et al., 2012; ROUGEMONT-BUCKING et al., 2011; SHIN; RAUCH; PITMAN, 2006).

### **1.4.3 A influência da modulação noradrenérgica no córtex pré-frontal medial sobre as memórias**

Embora os primeiros estudos neuroanatômicos tenham sugerido que os aferentes do LC para diversas áreas cerebrais eram provenientes de uma única projeção cujos axônios bifurcavam-se extensivamente, Chandler e colaboradores demonstraram recentemente a existência de projeções exclusivas para regiões do córtex frontal, como o córtex orbitofrontal, córtex pré-frontal medial e córtex cingulado anterior

(CHANDLER; GAO; WATERHOUSE, 2014; SARA, 2015). Curiosamente, os neurônios do LC que se projetam para regiões do córtex frontal apresentam características funcionais distintas dos demais, uma vez que se caracterizam por uma maior taxa de disparo espontâneo, são mais responsivos ao glutamato e sua hiperpolarização é menos duradoura (Figura 6), sugerindo uma influência determinante da modulação noradrenérgica sobre essas áreas (SARA, 2015).

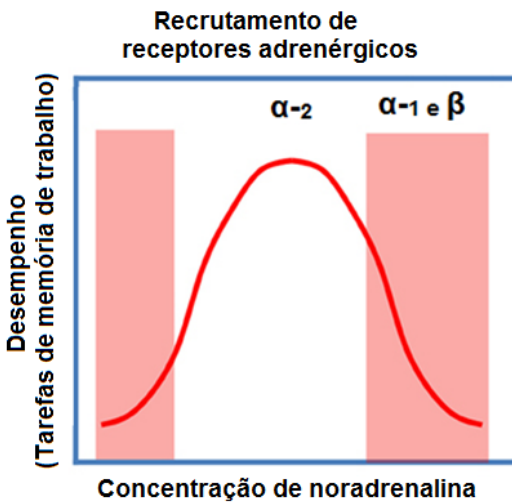


**Figura 6. Projeções dos neurônios noradrenérgicos do *locus coeruleus* para regiões do córtex pré-frontal.** Corpos celulares de neurônios do *locus coeruleus* (LC) e seus eferentes direcionados para regiões do córtex pré-frontal (em azul) apresentam características funcionais distintas e que os tornam mais excitáveis e responsivos ao glutamato que aqueles que se projetam às demais regiões encefálicas (em vermelho). (Adaptado de SARA, 2015).

Em 1979, Brozoski e colaboradores publicaram um dos primeiros trabalhos explorando a relevância da neurotransmissão noradrenérgica no CPFm para a modulação de processos cognitivos (BROZOSKI et al., 1979). Eles observaram que primatas com uma depleção das catecolaminas dopamina e noradrenalina no CPFm apresentavam prejuízos cognitivos em tarefas relacionadas à memória de trabalho, semelhantes aos observados em estudos com a ablação dessa estrutura cerebral em primatas ou com a depleção natural desses neurotransmissores em decorrência do envelhecimento em ratos (LUINE; BOWLING; HEARNS, 1990). Ao longo das últimas duas décadas, diversos trabalhos vêm corroborando os achados de Brozoski e colaboradores, demonstrando o papel crucial exercido pela noradrenalina no CPFm sobre a cognição (ARNSTEN, 2011; CLARK;

NOUDOOST, 2014; RAMOS; ARNSTEN, 2007; ROBBINS; ARNSTEN, 2009; WANG et al., 2007).

Ao nível comportamental, é possível observar que a estimulação noradrenérgica no CPFm obedece a um padrão de curva dose-resposta em U invertido sobre a modulação de tarefas de memória de trabalho, que reflete o recrutamento diferencial de receptores adrenérgicos nesta região (ROBBINS; ARNSTEN, 2009; ZHANG et al., 2013). Enquanto em condições basais a noradrenalina é liberada em níveis moderados e se liga preferencialmente em receptores adrenérgicos pós-sinápticos do subtipo  $\alpha_{2A}$ , favorecendo uma melhor performance cognitiva nestas tarefas, níveis mais altos de noradrenalina liberados sob condições de estresse prejudicam a função do CPFm via ativação dos receptores adrenérgicos do tipo  $\alpha_1$  e  $\beta$  (Figura 7), de menor afinidade para este neurotransmissor (BERRIDGE; SPENCER, 2015; BIRNBAUM et al., 1999; RAMOS; ARNSTEN, 2007; RAMOS et al., 2005; ROBBINS; ARNSTEN, 2009). É importante ressaltar, também, que os receptores adrenérgicos do subtipo  $\alpha_{2A}$  são os mais comumente encontrados no CPFm (AOKI et al., 1998), embora os subtipos  $\alpha_1$  e  $\beta$  também sejam encontrados (GOLDMAN-RAKIC et al., 1990).



**Figura 7. Recrutamento de receptores noradrenérgicos do córtex pré-frontal medial para a modulação da memória de trabalho.** Níveis intermediários de noradrenalina promovem a ativação preferencial de receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos, favorecendo um melhor desempenho em tarefas relacionadas

à memória de trabalho, enquanto níveis mais altos seriam prejudiciais devido a uma maior ativação de receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos. (Adaptado de BERRIDGE; SPENCER, 2015).

Quanto à modulação dos processos mnemônicos envolvidos na manutenção de memórias associativas e de valência emocional aversiva, a participação do sistema noradrenérgico no CPFm permanece pouco explorada. Apesar de alguns autores proporem que o aumento da liberação dos hormônios glicocorticoides e adrenalina durante a aquisição de uma memória aversiva altere o padrão de ativação de circuitarias cerebrais envolvidas (VAN STEGEREN et al., 2010), apenas recentemente Fitzgerald e colaboradores (2015) demonstraram que a noradrenalina liberada durante um evento aversivo facilita a consolidação da memória aversiva por alterar o padrão de atividade elétrica do CPFm. A aplicação de choques nas patas em uma sessão de condicionamento de medo, além de aumentar a resposta comportamental de medo condicionado, promove um aumento ou diminuição da taxa de disparos de neurônios das regiões PL e IL do CPFm de ratos, respectivamente, efeitos atenuados pela administração sistêmica do antagonista de receptores  $\beta$ -adrenérgicos propranolol (FITZGERALD et al., 2015).

A modulação noradrenérgica no CPFm também é importante para que uma memória de medo seja evocada e subsequentemente reconsolidada ou extinta (MUELLER; PORTER; QUIRK, 2008; PRZYBYSLAWSKI; ROULLET; SARA, 1999; SARA, 2009; STERPENICH et al., 2006). O antagonismo dos receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos na região PL do CPFm de ratos com a infusão local de prazosina imediatamente após a reativação de uma memória aversiva condicionada ao odor é suficiente para prejudicar a sua reconsolidação e expressão posterior (DO MONTE et al., 2013), demonstrando a importância da modulação noradrenérgica no CPFm na manutenção das informações do evento aversivo. Os receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos também são necessários para a extinção de uma memória de medo, visto que o antagonismo destes receptores é capaz de promover um prejuízo de extinção do medo condicionado ao contexto em ratos (DO-MONTE; ALLENSWORTH; CAROBREZ, 2010). De maneira semelhante, já foi demonstrado que a infusão local de isoproterenol, um agonista  $\beta$ -adrenérgico não seletivo, facilita a extinção de uma memória de medo condicionado ao contexto, ao passo que o pré-tratamento com atenolol (antagonista seletivo dos receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos) impede esse efeito (DO-MONTE et al., 2010).

Por fim, mesmo com a literatura vasta sustentando o envolvimento da porção pré-límbica do CPFm na manutenção de memórias de medo, da ação modulatória importante do sistema noradrenérgico sobre esta região cerebral, assim como o envolvimento de ambos (estudados de maneira isolada) na generalização de respostas de medo, até o presente momento nenhum trabalho investigou a possível correlação entre estes dois fatores para a manifestação desta característica comportamental. Uma vez que modelos animais nos permitem a busca por uma compreensão melhor da neurobiologia de processos fisiológicos e/ou patologias correlatas, com potencial de aperfeiçoar o arsenal terapêutico no âmbito dos estudos na área da Farmacologia, as hipóteses do presente trabalho são de que (i) o aumento sistêmico da atividade noradrenérgica potencializaria a consolidação de uma memória aversiva e favoreceria a generalização da resposta de medo em um protocolo de medo condicionado ao contexto, além de possivelmente propiciar o desenvolvimento de outras características comportamentais relacionadas a uma experiência traumática, como uma resistência maior às tentativas posteriores de manipulação destas memórias, e que (ii) a porção pré-límbica do CPFm seria uma estrutura recrutada para a manifestação destas características.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

- Investigar se a hiperatividade adrenérgica sistêmica potencializa a consolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto, promove a generalização da resposta de medo e torna a memória aversiva mais resistente à manipulação comportamental que suprime sua expressão (extinção);
- Investigar se a hiperatividade noradrenérgica na porção pré-límbica do córtex pré-frontal medial potencializa a consolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto, promove a generalização da resposta de medo e torna a memória aversiva mais resistente a uma intervenção farmacológica que prejudica sua reconsolidação.

### 2.2 Objetivos específicos

- Investigar se a administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto induz a generalização da resposta de medo;
- Investigar se a administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação de uma memória de medo condicionada ao contexto promove um prejuízo na extinção desta memória;
- Investigar o efeito do antagonismo dos receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex pré-límbico imediatamente antes da administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação da memória aversiva condicionada ao contexto;
- Investigar o efeito da infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico na consolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto e indução da generalização da resposta de medo;
- Caracterizar, através da infusão local de antagonistas dos receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos, os subtipos de receptores adrenérgicos recrutados pela infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico durante a consolidação da memória de medo condicionado ao contexto;



▪ Investigar se a infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico durante a consolidação da memória de medo condicionado ao contexto altera a susceptibilidade desta memória ao efeito farmacológico do canabidiol durante a sua reconsolidação;

▪ Avaliar se o agonista parcial de receptores para glutamato, D-cicloserina, altera o efeito farmacológico do canabidiol durante a reconsolidação da memória de medo condicionado ao contexto manipulada pela infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina, com 3 a 4 meses de idade e pesando entre 270 e 350 g. Os ratos foram alocados em gaiolas plásticas (36 x 30 x 15 cm) com serragem, em um número máximo de 5 animais por gaiola. Durante a permanência no biotério, os animais foram mantidos em ciclo de luz claro/escuro de 12 h (início da fase clara às 7:00 h) e temperatura constante de  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , com acesso livre a água e comida. O trabalho foi realizado mediante aprovação pelo comitê de ética para uso de animais da Universidade Federal de Santa Catarina (Ofício nº 71/CEUA/PRPE/2012- PP00766). Foram respeitadas as normas internacionais do cuidado e bem estar animal.

### 3.2 Drogas

Bitartarato de adrenalina (ADR; 0,1, 0,5, 1 ou 2 mg/kg; Sigma-Aldrich, EUA) foi dissolvido em água destilada e administrado sistemicamente por via intraperitoneal (i.p.) no volume de 1,0 ml/kg imediatamente após a sessão de Condicionamento. Bitartarato de noradrenalina (NA; 1, 2 ou 4 µg/hemisfério; Sigma-Aldrich, EUA), S-propranolol (S-PROP; 0,3 µg/hemisfério; Sigma-Aldrich, EUA) e cloridrato de prazosina (PRAZ; 0,3 µg/hemisfério; Sigma-Aldrich, EUA) foram administrados bilateralmente por microinjeção no córtex pré-límbico imediatamente após a sessão de Condicionamento. NA e S-PROP foram dissolvidos em solução salina fisiológica (NaCl 0,9%), enquanto PRAZ foi dissolvida em água destilada. Visando minimizar interações químicas e farmacocinéticas, um intervalo de 5 min foi adotado quando mais de uma microinjeção foi realizada. Para os experimentos que visavam a interferência da reconsolidação da memória de medo condicionado ao contexto, canabidiol (CBD; 10 mg/kg; THC-Pharma, Alemanha) e D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg; Sigma-Aldrich, EUA) foram dissolvidos em solução salina com 5% de Tween 80® e apenas solução salina, respectivamente, e administrados sistemicamente por via intraperitoneal (i.p.) no volume de 1,0 ml/kg. O CBD foi administrado imediatamente após a sessão de Reativação, enquanto a DCS o foi 30 minutos antes da exposição a esta sessão.

Experimentos prévios e estudos que demonstram o efeito de potencializar a consolidação de memórias de medo permitiram selecionar as doses testadas de adrenalina (GOLD; VAN BUSKIRK, 1975) e noradrenalina (KATCHE et al., 2010; YANG; LI et al., 2011; LIANG, 2014). Com base em dados da literatura, foram escolhidas doses subefetivas (capazes de impedir o efeito da noradrenalina sem apresentarem, entretanto, qualquer efeito *per se*) de S-propranolol (BUSH et al., 2010; DEBIEC; LEDOUX, 2004; QUIRARTE; ROOZENDAAL; MCGAUGH, 1997) e prazosina (DO MONTE et al., 2013) para microinjeção no córtex pré-límbico. A dose de CBD foi escolhida com base em estudos que demonstram sua capacidade de prejudicar a reconsolidação de memórias de medo contextual (GAZARINI et al., 2014; STERN et al., 2012; 2014). A dose de D-cicloserina foi escolhida com base em trabalhos que demonstram seu efeito facilitatório sobre a labilização de memórias aversivas, sem qualquer efeito aparente sobre a expressão e reconsolidação desta memória (BUSTOS et al., 2010; GAZARINI et al., 2014).

### **3.3 Procedimentos para infusão intracerebral**

#### **3.3.1 Cirurgia estereotáxica**

Os animais foram anestesiados com injeção i.p. de uma solução de quetamina (100 mg/ml/kg; Cetamin<sup>®</sup>, Syntec Ltda., Brasil) e xilazina (10 mg/ml/kg; Xilazin<sup>®</sup>, Syntec Ltda., Brasil) e, após a perda total dos reflexos e a tricotomia da região craniana, foram fixados em aparelho estereotáxico para ratos (Stoelting, EUA). Uma solução de álcool iodado (2%) foi utilizada para assepsia da região craniana e a injeção s.c. de uma solução de lidocaína 3% com adrenalina 1:50.000 (Lidostesim<sup>®</sup>, Dentsply Pharmaceutical, Brasil) foi aplicada visando promover anestesia local e minimizar o sangramento. Uma pequena porção da pele do animal foi retirada, permitindo a raspagem do periósteo e a exposição do crânio e das suturas lambdóide e coronal. Com auxílio de broca odontológica de baixa rotação, o crânio dos animais foi perfurado a fim de permitir a fixação de dois parafusos de aço inoxidável, bem como a inserção bilateral de cânulas-guia (confeccionadas a partir de agulhas hipodérmicas de 22 G1 e 25,0 x 7,0 mm, ajustadas para um comprimento de 11,0 mm) visando atingir 2,1 mm acima do PL. As coordenadas para inserção das cânulas-guia no PL foram retiradas do atlas do cérebro de ratos de Paxinos e Watson (2009): 2,7 mm anterior

ao Bregma,  $\pm 0,5$  mm relativo ao eixo lateral e  $- 1,7$  mm relativo ao eixo dorso-ventral. Visando ancorar as peças fixadas e proteger a área exposta do crânio do animal, foi utilizado acrílico odontológico auto-polimerizável para a confecção de uma prótese sólida. Em cada uma das cânulas-guia, ainda, foi inserido um fio de aço inoxidável (nº 24) para protegê-las de obstrução. Após a realização do procedimento cirúrgico, os animais foram retirados do aparelho estereotáxico e mantidos em ambiente aquecido para evitar hipotermia causada pela anestesia. Uma injeção s.c. de banamine (2,5 mg/kg; Schering-Plough, Brasil), um agente analgésico, antipirético e anti-inflamatório foi aplicada ao término do processo cirúrgico. Um período de 10 dias foi reservado para a recuperação dos animais, sem a realização de nenhum procedimento experimental.

### **3.3.2 Infusão intracerebral**

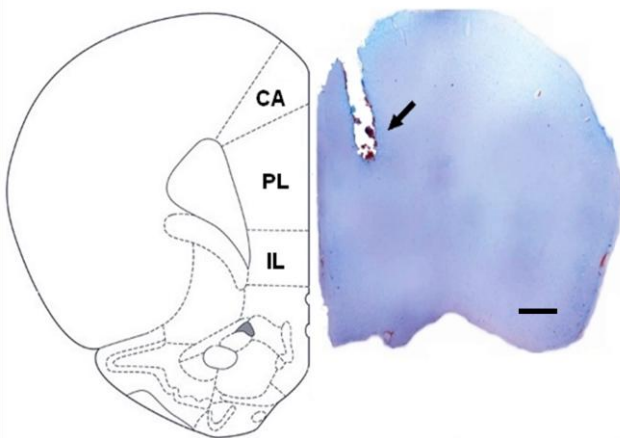
Para experimentos que requeriam a infusão bilateral de drogas diretamente no PL, agulhas medindo 13,1 mm (confeccionadas a partir de agulhas gengivais de 30 G) foram conectadas a um tubo de polietileno (PE10; Clay Adams, EUA) acoplado a uma microseringa (Hamilton, EUA) de 5  $\mu$ l. O tubo de polietileno foi preenchido com água destilada, deixando uma bolha de ar interposta à solução a ser injetada, facilitando a visualização do deslocamento da solução durante a infusão da droga.

No momento da infusão, o animal foi imobilizado, o fio de aço retirado com auxílio de um alicate e a cânula desobstruída com uma lima odontológica (K-FILE Colorinox® A012D, Dentsply Ind. Com. Ltda., Brasil) de 11,0 mm. A agulha foi introduzida na cânula-guia e, com auxílio de uma bomba de infusão (Insight, Brasil), cada animal recebeu 0,2  $\mu$ l da solução de interesse por hemisfério, infundidos simultaneamente durante 60 s. Após a injeção, a agulha foi mantida por 30 s adicionais para reduzir o fluxo retrógrado da solução.

### **3.3.3 Análise histológica**

Ao término dos experimentos, os animais receberam uma injeção i.p. de solução anestésica contendo cloral hidratado (30% p/v; 3 ml/animal; Vetec, Brasil), seguida pela infusão intracerebral bilateral de azul de Evans (0,2  $\mu$ l/hemisfério) aplicada através das cânulas-guia.

Após decapitação, os encéfalos foram retirados e conservados em solução de formalina 10%. Para a verificação do sítio de injeção da droga, os encéfalos foram armazenados durante 48 h em solução de sacarose 20% e cortes coronais (50  $\mu\text{m}$ ) foram obtidos utilizando criostato (Leica CM 1850, Alemanha) a uma temperatura aproximada de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Foi realizada a fixação dos cortes em lâminas de vidro gelatinizadas que, após secagem, foram coradas pelo método de Giemsa modificado (Sigma Aldrich, EUA), montadas com resina sintética (DPX® ‘mountant for histology’, Sigma Aldrich, EUA) e cobertas com lamínulas. As lâminas foram fotografadas em uma lupa acoplada a uma câmera (Motic Moticam 2000; 2.0 MP Live Resolution) e um programa de imagens (Motic Image Plus 2.0), e comparadas com os diagramas do cérebro de ratos (PAXINOS, WATSON, 2009). A avaliação da análise histologia foi realizada de maneira cega, e apenas os animais com histologia bilateral confirmada para o PL foram incluídos na análise estatística.



**Figura 8. Desenho esquemático de um corte coronal do córtex pré-frontal medial de ratos e do sítio de infusão das drogas no córtex pré-límbico.** Diagrama e fotomicrografia representando a localização do córtex cingulado anterior (CA), pré-límbico (PL) e infralímbico (IL) de ratos e o sítio de infusão das drogas (indicado pela seta) no córtex pré-límbico. Barra de escala: 500  $\mu\text{m}$ .

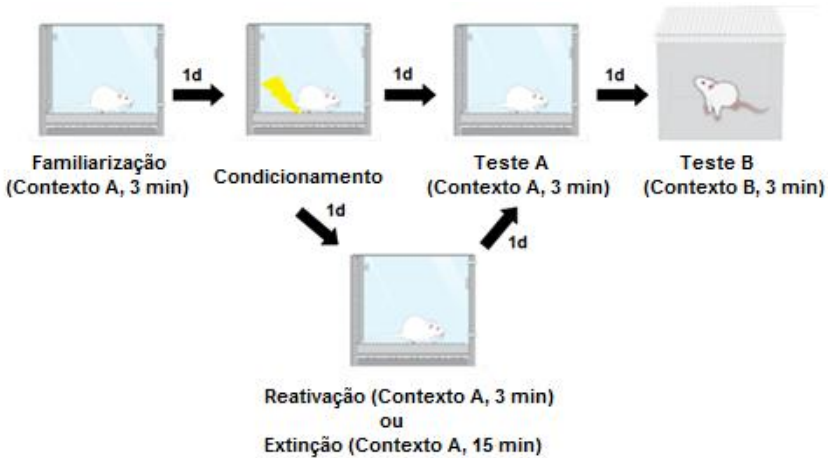
### 3.4 Condicionamento de medo ao contexto e protocolo experimental

O condicionamento de medo contextual foi realizado em uma caixa retangular (35 x 20 x 30 cm) com paredes laterais de alumínio, parede frontal e teto de acrílico, e piso gradeado (barras de aço inoxidável de 3 mm de diâmetro, espaçadas por 9 mm de distância) conectado a um gerador de choques elétricos (Insight, Ribeirão Preto, Brasil). Essa caixa passou a ser denominada como “Contexto A”. Uma segunda caixa (30 x 30 x 30 cm), com paredes e piso de vidro e teto gradeado, designada como “Contexto B”, foi utilizada para verificar a ocorrência de generalização da resposta de medo em um ambiente diferente daquele associado aos choques nas patas.

O protocolo experimental utilizado teve duração total de 4 a 7 dias (Figura 9), de acordo com o experimento. No dia 1, durante uma sessão inicial de familiarização, o animal foi colocado no Contexto A, onde podia explorar livremente a caixa por um período de 3 minutos. No dia seguinte, o animal foi re-exposto ao Contexto A para a sessão de condicionamento (ou pareamento), durante a qual recebeu, após um período inicial (pré-choque) de 30 s, um ou três choques elétricos nas patas, conforme o protocolo adotado. Para o protocolo de treino forte, foram aplicados três choques de 0,7 mA a 60 Hz por 3 s a cada 30 s nos experimentos com animais não operados e três choques de 1 mA a 60 Hz por 3 s a cada 30 s nos experimentos com animais que passaram pelo procedimento de cirurgia estereotáxica para inserção de cânulas-guia no PL. O protocolo de treino fraco consistiu de apenas um choque de 0,7 ou 1 mA, 60 Hz, por 3 s. As diferenças de intensidade dos choques visou a obtenção do mesmo nível de tempo de congelamento entre animais não operados e operados. Após a sessão de condicionamento, o animal permaneceu na caixa de condicionamento por 30 s adicionais (período pós-choque) antes de retornar à caixa-moradia. Os protocolos utilizados foram adotados com base em estudos piloto para triagem de uma intensidade de choque que fosse capaz de gerar um “condicionamento forte”, com a formação de uma memória associativa intensa e expressão significativa de comportamentos relacionados ao medo, ou um “condicionamento fraco”, que permitisse observar um aumento nesses comportamentos caso a consolidação da memória fosse potencializada.

Um dia após a sessão de condicionamento, os animais foram re-expostos ao Contexto A por 3 min, para a evocação e avaliação da retenção da memória (Teste A), sem a aplicação de choques nas patas. Um dia depois do Teste A, os animais foram expostos ao Contexto B

por 3 min (Teste B). Em experimentos que visavam detectar a interferência da reconsolidação da memória, uma sessão adicional (denominada de “Reativação” e livre da aplicação de choques nas patas) foi inserida entre a sessão de condicionamento e o Teste A. Nos experimentos de extinção, um dia depois do Teste B o animal permanecia durante 15 min no Contexto A (sem a aplicação de choques nas patas) e, 24 ou 48 h depois, era re-exposto ao Contexto A (Teste A<sub>2</sub>) ou ao Contexto B (Teste B<sub>2</sub>), respectivamente, para avaliar a retenção da extinção.



**Figura 9. Protocolo de condicionamento de medo ao contexto.**

O comportamento avaliado durante as sessões foi o tempo de congelamento (tempo na ausência de movimentos, exceto os necessários pra a respiração), quantificado (em segundos) a cada minuto usando um cronômetro. O tempo de congelamento foi expresso como porcentagem de tempo de congelamento total de cada sessão. Os experimentos foram gravados por uma câmera de vídeo acoplada a um aparelho de DVD, permitindo a avaliação dos comportamentos realizados pelos animais. O experimentador permanecia em uma antessala, acompanhando o comportamento do animal por meio da visualização pelo monitor.

Os experimentos comportamentais foram realizados com luminosidade de 60 lux e ocorreram entre às 13:00 e 17:00 h. A limpeza dos contextos foi feita com solução de etanol 10% (v/v) entre a exposição de um animal e outro e após cada uma das sessões experimentais realizadas.

### 3.5 Análises estatísticas

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Após verificar a distribuição normal das amostras e assegurar sua normalidade, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma ou duas vias, ou ao teste t de Student, conforme necessário. Quando re-exposições ao mesmo contexto foram realizadas ou durante os blocos de 3 min adotados durante a sessão de extinção, ANOVA de medidas repetidas foi adotada. O teste *post-hoc* de Newman-Keuls foi realizado quando a ANOVA revelou uma interação significativa, sendo aceito um valor de significância estatística de  $P < 0,05$ , para determinar as diferenças entre os grupos. Os resultados foram analisados utilizando o software Statistica 7<sup>®</sup> (StatSoft Inc., EUA) e foram representados em gráficos confeccionados com o software GraphPad Prism 5<sup>®</sup> (GraphPad Prism, EUA).



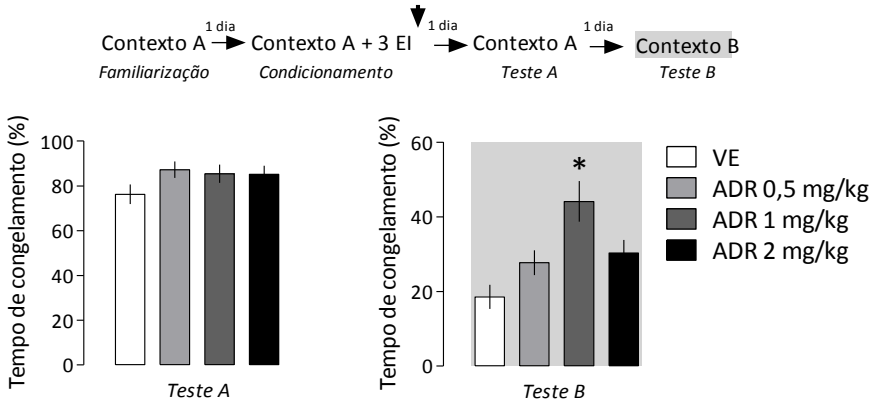


## 4 RESULTADOS

### **4.1 Experimento 1: A administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação da memória aversiva promove a generalização da resposta de medo condicionada ao contexto.**

Para investigar se o aumento da atividade noradrenérgica induzido pela injeção sistêmica de adrenalina seria capaz de promover a generalização da resposta de medo, 40 ratos foram distribuídos randomicamente em 4 grupos experimentais (9-11 animais por grupo) e receberam uma injeção de veículo ou adrenalina (0,5, 1 ou 2 mg/kg) por via i.p. imediatamente após a sessão de treino forte (pareamento do contexto A com 3 choques) no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.

A ANOVA de uma via não demonstrou efeito significativo do tratamento durante o Teste A ( $F_{3,36} = 1,54$ ;  $P = 0,22$ ). Todos os grupos apresentaram valores semelhantes de tempo de congelamento quando re-expostos ao contexto previamente pareado com os choques nas patas, possivelmente devido ao alcance de um nível teto para esta resposta comportamental condicionada nas condições experimentais adotadas (o treino forte proporciona, por si só, níveis próximos a 80% de tempo de congelamento). Durante a exposição ao contexto novo (Teste B), a ANOVA de uma via demonstrou um efeito significativo do tratamento no tempo de congelamento ( $F_{3,36} = 7,27$ ;  $P = 0,00062$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que os animais tratados com 1 mg/kg de adrenalina apresentaram aumento significativo do tempo de congelamento frente à exposição ao contexto novo em relação aos animais tratados com veículo ( $P = 0,00039$ ), sugerindo generalização da resposta de medo, conforme ilustrado na Figura 10.



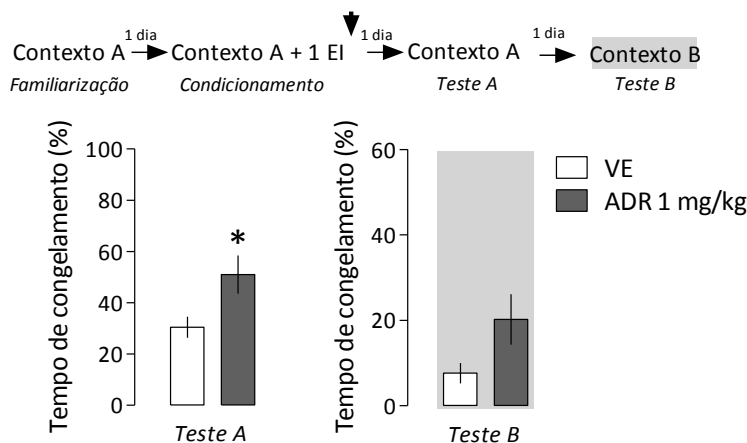
**Figura 10. A injeção sistêmica de adrenalina induz a generalização da resposta de medo no protocolo de treino forte do condicionamento de medo ao contexto.** Veículo (VE) ou adrenalina (ADR; 0,5, 1 ou 2 mg/kg) foram administrados por via intraperitoneal (i.p.) imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle (ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE= 11, ADR 0,5 mg/kg= 9, ADR 1 mg/kg= 9 e ADR 2 mg/kg= 11.

#### 4.2 Experimento 2: O efeito da administração sistêmica de adrenalina resulta da potencialização da consolidação da memória de medo condicionado ao contexto.

No experimento anterior, níveis teto de tempo de congelamento podem ter sido alcançados durante o Teste A em decorrência da adoção do protocolo de treino forte, “mascarando” possíveis aumentos nesse parâmetro e dificultando a interpretação do efeito da adrenalina especificamente sobre a consolidação da memória de medo. Para confirmar que o efeito da injeção sistêmica de adrenalina promoveu a generalização da resposta de medo por potencializar a consolidação da memória de medo, 19 ratos foram distribuídos em 2 grupos experimentais independentes (9-10 animais por grupo) e receberam a

injeção de veículo ou adrenalina (1 mg/kg) por via i.p. imediatamente após a sessão de treino fraco (pareamento do contexto A com 1 choque) no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.

Conforme observado na Figura 11, o teste “t” de Student revelou uma diferença significativa do tratamento no Teste A ( $t_{17} = 5,45$ ;  $P = 0,03$ ), uma vez que os animais tratados com 1 mg/kg apresentaram um aumento significativo no tempo de congelamento em relação aos animais tratados com veículo, evidenciando a potencialização da consolidação da memória de medo condicionado ao contexto nas condições adotadas. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos na sessão de Teste B ( $t_{17} = 3,63$ ;  $P = 0,07$ ).



**Figura 11. A injeção sistêmica de adrenalina potencializa a consolidação de uma memória aversiva em um protocolo de condicionamento de medo ao contexto.** Veículo (VE) ou adrenalina (ADR; 1 m/kg) foram administrados por via intraperitoneal (i.p.) imediatamente após a sessão de treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao respectivo grupo controle (teste “t” de Student). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE= 9 e ADR 1 mg/kg= 10.

### **4.3 Experimento 3: A memória de medo potencializada pela injeção sistêmica de adrenalina durante a consolidação é mais resistente à extinção.**

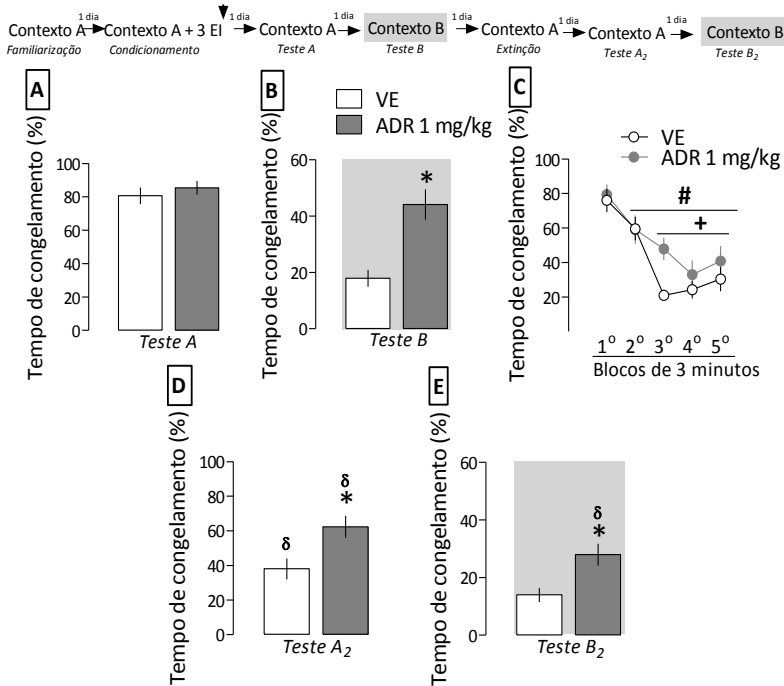
Para avaliar se a potencialização da consolidação induzida pela administração sistêmica de adrenalina aumenta a resistência dessa memória à extinção, 19 ratos foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos experimentais (9-10 animais por grupo) e receberam a injeção de veículo ou adrenalina (1 mg/kg) por via i.p. imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. De forma semelhante aos experimentos anteriores, após a sessão de Condicionamento os animais foram submetidos aos Testes A e B, com o diferencial de serem posteriormente expostos a uma sessão de Extinção (15 min) e aos Testes A<sub>2</sub> e B<sub>2</sub>, a fim de avaliar a eficácia desse procedimento em reduzir o tempo de congelamento.

Como demonstrado previamente, o teste “t” de Student não revelou uma diferença significativa no Teste A ( $t_{17} = 0,54$ ;  $P = 0,47$ ) (Figura 12A), mas sim durante o Teste B ( $t_{17} = 18,82$ ;  $P = 0,00045$ ) (Figura 12B), onde os animais tratados com adrenalina apresentaram um tempo de congelamento significativamente maior que aqueles tratados com veículo. Durante a sessão de Extinção (Figura 12C), a ANOVA de medidas repetidas demonstrou uma diferença significativa em relação aos cinco blocos de 3 min durante essa sessão ( $F_{4,68} = 28,76$ ;  $P = 0,000001$ ), havendo uma redução significativa na expressão de congelamento nos grupos tratados com veículo e adrenalina a partir do segundo e terceiro blocos em relação ao primeiro, respectivamente. Dessa forma, ambos os grupos foram capazes de adquirir a memória de extinção, embora o processo tenha ocorrido de maneira mais lenta nos animais tratados com adrenalina. Não foram observados efeitos significativos do tratamento ( $F_{1,17} = 2,17$ ;  $P = 0,15861$ ) ou da interação entre o tratamento e os blocos de 3 min ( $F_{4,68} = 1,86$ ;  $P = 0,12793$ ).

Após a sessão de Extinção, o teste “t” de Student revelou que os animais tratados com adrenalina expressaram tempo de congelamento significativamente maior que os animais tratados com veículo durante o Teste A<sub>2</sub> ( $t_{17} = 7,80$ ;  $P = 0,012$ ) e o Teste B<sub>2</sub> ( $t_{17} = 10,01$ ;  $P = 0,006$ ) (Figura 12D e E), sugerindo que, apesar de ambos adquirirem a memória de extinção de maneira semelhante, os animais tratados com adrenalina apresentaram um prejuízo na consolidação da memória de extinção.

Quando os dados da Figura 12A e D foram comparados, a ANOVA de medidas repetidas indicou um efeito significativo do

tratamento ( $F_{1,17} = 6,48$ ;  $P = 0,021$ ) e do fator repetição ( $F_{1,17} = 40,17$ ;  $P = 0,00001$ ), mas não uma interação significativa entre eles ( $F_{1,17} = 3,55$ ;  $P = 0,077$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que tanto o grupo tratado com veículo quanto o tratado com adrenalina apresentaram um tempo de congelamento significativamente menor após a sessão de extinção (Teste A<sub>2</sub>) ( $P = 0,000205$  e  $0,015413$ , respectivamente). Para os Testes B e B<sub>2</sub> (Figura 12B e E), a ANOVA de medidas repetidas indicou um efeito significativo do tratamento ( $F_{1,17} = 25,71$ ;  $P = 0,00009$ ) e do fator repetição ( $F_{1,17} = 8,23$ ;  $P = 0,01065$ ), mas não uma interação entre ambos ( $F_{1,17} = 3,04$ ;  $P = 0,09927$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que apenas os animais tratados com adrenalina apresentaram um tempo de congelamento significativamente menor no Teste B<sub>2</sub>, realizado após a sessão de Extinção ( $P = 0,004741$ ). Dessa forma, mesmo que o procedimento de extinção tenha sido capaz de atenuar as respostas de medo condicionadas e generalizadas nos grupos tratados com adrenalina, essa intervenção tornou a extinção menos eficiente, confirmando a maior resistência dessa memória aversiva quando comparado aos controles.



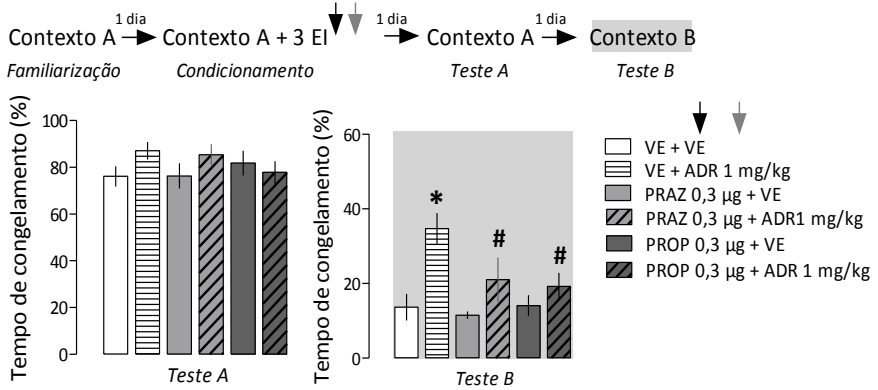
**Figura 12. A injeção sistêmica de adrenalina durante a consolidação prejudica a extinção da memória de medo ao contexto.** Veículo (VE) ou adrenalina (ADR; 1 mg/kg) foram administrados por via intraperitoneal (i.p.) imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. (A) e (B) Porcentagem do tempo de congelamento frente à exposição aos contextos pareado (Teste A) e neutro (Teste B) realizados antes da sessão de Extinção. (C) Os animais foram submetidos a uma sessão de extinção com duração de 15 minutos no contexto pareado (contexto A), seguida por novos testes nos contextos (D) pareado (Teste A<sub>2</sub>) e (E) neutro (Teste B<sub>2</sub>) nos dias seguintes. A seta indica o momento do tratamento. Os valores são expressos como média ± EPM da porcentagem de tempo de congelamento. \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle, # e + indicam uma diferença significativa em relação ao próprio grupo durante o primeiro bloco da extinção e  $\delta$  indica uma diferença significativa quando comparado ao respectivo grupo durante o Teste A ou B (teste “t” de Student ou ANOVA de medidas repetidas seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE= 10 e ADR 1 mg/kg= 9.

#### **4.4 Experimento 4: O antagonismo de receptores $\alpha_1$ - e $\beta$ -adrenérgicos no córtex PL previne a generalização da resposta de medo promovida pela administração sistêmica de adrenalina.**

Para investigar se os receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL são recrutados para a generalização da resposta de medo promovida pela administração sistêmica de adrenalina, 58 ratos foram alocados em 6 grupos experimentais (8-11 animais por grupo) nos quais receberam a infusão bilateral de veículo, do antagonista  $\alpha_1$ -adrenérgico prazosina (0,3  $\mu\text{g}$ /hemisfério) ou do antagonista  $\beta$ -adrenérgico propranolol (0,3  $\mu\text{g}$ /hemisfério) no córtex PL imediatamente antes da injeção de veículo ou adrenalina (1 mg/kg) por via i.p. As injeções foram realizadas após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.

A ANOVA de duas vias não revelou diferença significativa do pré-tratamento ( $F_{2,52} = 0,07$ ;  $P = 0,93427$ ), tratamento ( $F_{1,52} = 1,87$ ;  $P = 0,17744$ ) ou interação destes fatores ( $F_{2,52} = 1,41$ ;  $P = 0,25423$ ) para o tempo de congelamento no Teste A. Conforme observado na Figura 13, todos os grupos apresentaram valores semelhantes de tempo de congelamento quando re-expostos ao contexto pareado. Durante o Teste B, a ANOVA de duas vias indicou uma diferença significativa quanto ao tratamento ( $F_{1,52} = 12,76$ ;  $P = 0,00077$ ), mas não quanto ao pré-tratamento ( $F_{2,52} = 2,34$ ;  $P = 0,10636$ ) ou interação entre ambos os fatores ( $F_{2,52} = 1,95$ ;  $P = 0,15294$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que o grupo pré-tratado com veículo e tratado com adrenalina apresentou um aumento significativo do tempo de congelamento em comparação com o grupo pré-tratado e tratado com veículo ( $P = 0,005389$ ). Contudo, os grupos pré-tratados com prazosina ou propranolol e tratados com adrenalina apresentaram uma diminuição significativa da porcentagem de tempo de congelamento em comparação com o grupo pré-tratado com veículo e tratado com adrenalina ( $P = 0,021282$  e  $0,025497$ , respectivamente), sugerindo que a ativação dos receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos presentes no córtex PL é necessária para a generalização da resposta de medo promovida pela injeção sistêmica de adrenalina.





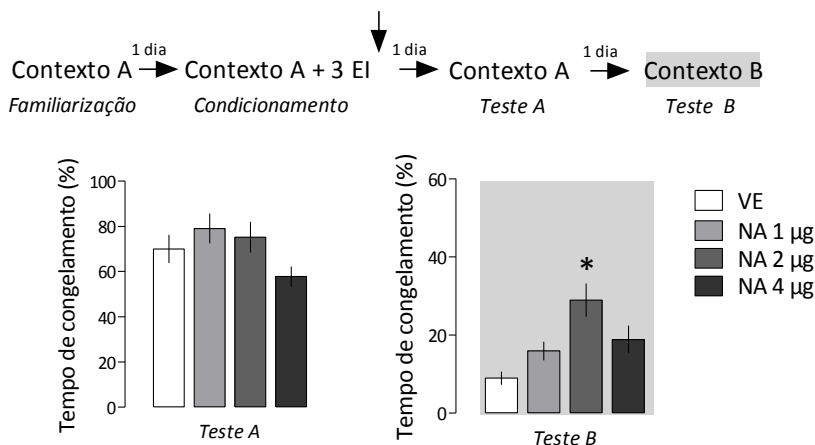
**Figura 13.** Os receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex pré-límbico são necessários para a generalização da resposta de medo promovida pela injeção sistêmica de adrenalina no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Veículo (VE), prazosina (PRAZ; 0,3  $\mu$ g por hemisfério) ou propranolol (PROP; 0,3  $\mu$ g por hemisfério) foram infundidos no córtex pré-límbico (PL) imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto, seguido, imediatamente, pela injeção via intraperitoneal (i.p.) de veículo (VE) ou adrenalina (ADR; 1 mg/kg). As setas indicam o momento do pré-tratamento e do tratamento. Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao respectivo grupo controle e # indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo VE-ADR (ANOVA fatorial seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE + VE= 8, VE + ADR1 mg/kg= 10, PRAZ 0,3  $\mu$ g + VE= 10, PRAZ 0,3  $\mu$ g + ADR 1 mg/kg= 11, PROP 0,3  $\mu$ g + VE= 8 e PROP 0,3  $\mu$ g + ADR1 mg/kg= 11.

#### 4.5 Experimento 5: A infusão de noradrenalina no córtex PL durante a consolidação da memória aversiva promove a generalização da resposta de medo condicionada ao contexto.

Para explorar se o aumento da atividade noradrenérgica diretamente no córtex PL seria suficiente para induzir a generalização da resposta de medo, 41 ratos foram distribuídos em 4 grupos experimentais (9-11 animais por grupo) que receberam a infusão

bilateral de veículo ou noradrenalina (1, 2 ou 4  $\mu\text{g}$ /hemisfério) no córtex PL imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.

A ANOVA de uma via não demonstrou efeito significativo do tratamento no tempo de congelamento durante o Teste A ( $F_{3,37} = 2,20$ ;  $P = 0,10417$ ). No Teste B, a ANOVA de uma via indicou em efeito significativo do tratamento ( $F_{3,37} = 7,29$ ;  $P = 0,000581$ ), e o teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que os animais tratados com noradrenalina expressaram um tempo de congelamento significativamente maior ( $P = 0,000581$ ) que aqueles tratados com veículo. Esses dados indicam que o aumento da atividade noradrenérgica especificamente no córtex PL é suficiente para induzir a generalização da resposta de medo, conforme observado na Figura 14.

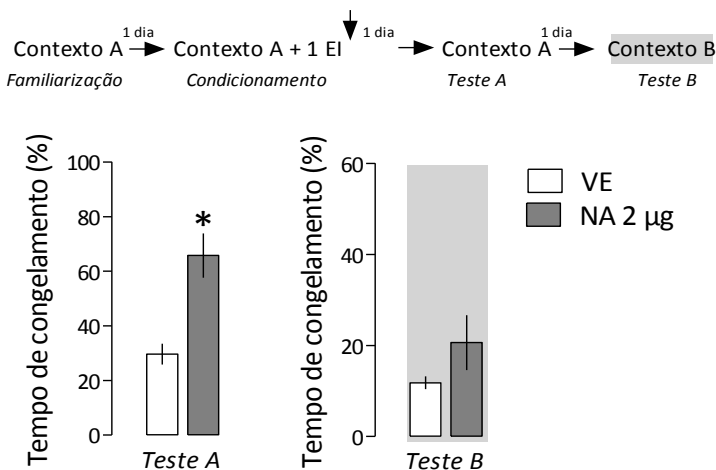


**Figura 14. A infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico durante a consolidação de uma memória aversiva promove a generalização da resposta de medo em um protocolo de condicionamento de medo ao contexto.** Veículo (VE) ou noradrenalina (NA; 1, 2 ou 4  $\mu\text{g}$  por hemisfério) foram infundidos no córtex pré-límbico (PL) imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao respectivo grupo controle (ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE= 8, NA 1  $\mu\text{g}$ = 9, NA 2  $\mu\text{g}$ = 11 e NA 4  $\mu\text{g}$ = 10.

#### 4.6 Experimento 6: O efeito da noradrenalina infundida no córtex PL resulta da potencialização da consolidação da memória de medo condicionado ao contexto.

Visando avaliar se o aumento da atividade noradrenérgica no córtex PL promove a generalização da resposta de medo por potencializar a consolidação da memória de medo, 16 ratos foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos experimentais (8 animais por grupo) e receberam a infusão bilateral de veículo ou noradrenalina (2  $\mu\text{g}$ /hemisfério) no córtex PL imediatamente após a sessão de treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.

O teste “t” de Student revelou uma diferença significativa do tratamento ( $t_{14} = 16,15$ ;  $P = 0,001227$ ) durante o Teste A. Conforme observado na Figura 15, os animais tratados com noradrenalina apresentaram um aumento significativo no tempo de congelamento em relação aos animais tratados com veículo, sugerindo a potencialização da consolidação da memória de medo condicionado ao contexto no protocolo de treino fraco. Para a exposição ao contexto neutro, não foi observada qualquer diferença significativa entre os grupos ( $t_{14} = 2,04$ ;  $P = 0,17532$ ).



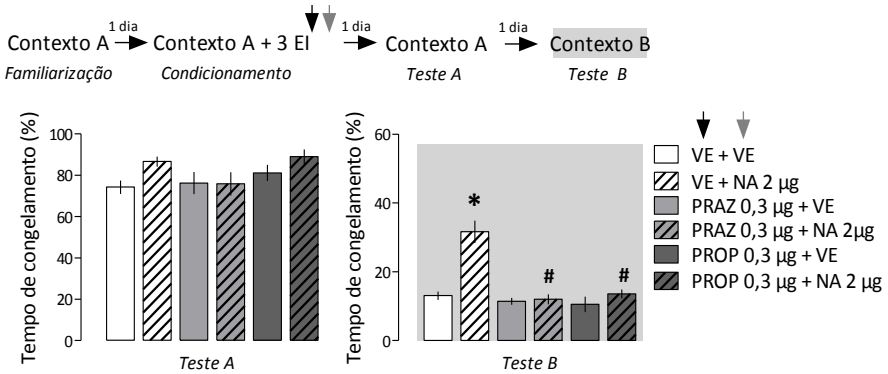
**Figura 15. A infusão de noradrenalina no córtex pré-límbico potencializa a consolidação da memória aversiva em um treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Veículo (VE) ou noradrenalina (NA; 2**

µg por hemisfério) foram infundidos no córtex pré-límbico (PL) imediatamente após a sessão de treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Os valores são expressos como média ± EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao respectivo grupo controle (teste “t” de Student). EI= Estimulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE= 8 e NA 2 µg= 8.

#### **4.7 Experimento 7: Os receptores $\alpha_1$ - e $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL contribuem para a generalização da resposta de medo promovida pela infusão local de noradrenalina.**

Para confirmar o papel dos receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL na generalização da resposta de medo promovida pelo aumento da atividade noradrenérgica local, 52 ratos foram randomicamente distribuídos em 6 grupos experimentais (8-10 animais por grupo) e receberam como pré-tratamento veículo, propranolol (0,3 µg/hemisfério) ou prazosina (0,3 µg/hemisfério) 5 minutos antes do tratamento com veículo ou noradrenalina (2 µg/hemisfério), ambos infundidos bilateralmente no córtex PL, após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto.

Todos os grupos expressaram um tempo de congelamento semelhante durante o Teste A (Figura 16), onde a ANOVA fatorial não revelou qualquer efeito significativo do pré-tratamento ( $F_{2,46} = 2,26$ ;  $P = 0,11554$ ), do tratamento ( $F_{1,46} = 3,63$ ;  $P = 0,0615$ ) ou da interação entre ambos ( $F_{2,46} = 1,17$ ;  $P = 0,31864$ ). No Teste B, a ANOVA fatorial demonstrou um efeito significativo do pré-tratamento ( $F_{2,46} = 19,79$ ;  $P = 0,000001$ ), do tratamento ( $F_{1,46} = 22,43$ ;  $P = 0,00002$ ) e da interação entre ambos ( $F_{2,46} = 12,99$ ;  $P = 0,00003$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que os animais pré-tratados com veículo e tratados com noradrenalina apresentaram um tempo de congelamento significativamente maior que os animais controle ( $P = 0,000128$ ), efeito que foi prevenido pelo pré-tratamento com prazosina ( $P = 0,000171$ ) e propranolol ( $P = 0,000119$ ). Esse resultado confirma que tanto os receptores  $\alpha_1$ - quanto  $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL sustentam a generalização da resposta de medo induzida pelo aumento da transmissão noradrenérgica local.



**Figura 16.** Os receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex pré-límbico são necessários para a generalização da resposta de medo induzida pela infusão local de noradrenalina durante a consolidação da memória aversiva no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Veículo (VE), prazosina (PRAZ; 0,3 µg por hemisfério) ou propranolol (PROP; 0,3 µg por hemisfério) foram infundidos no córtex pré-límbico (PL) imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto, seguido, 5 minutos após, pela infusão de VE ou noradrenalina (NA; 2 µg por hemisfério) na mesma região cerebral. As setas indicam o momento do pré-tratamento e do tratamento. Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao respectivo grupo controle e # indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo VE-NA (ANOVA fatorial seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE + VE= 8, VE + NA 2 µg= 9, PRAZ 0,3 µg + VE= 10, PRAZ 0,3 µg + NA 2 µg= 8, PROP 0,3 µg + VE= 8 e PROP 0,3 µg + NA 2 µg= 9.

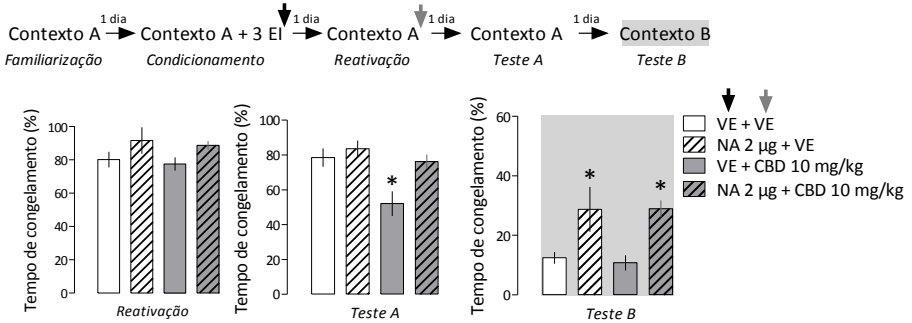
#### 4.8 Experimento 8: O aumento da atividade noradrenérgica no córtex PL durante a consolidação da memória de medo a torna resistente à interferência farmacológica durante sua reconsolidação.

Para explorar se, além da generalização da resposta de medo, o aumento da atividade noradrenérgica no córtex PL durante a consolidação de uma memória aversiva seria capaz de induzir o aparecimento de outra característica relacionada às memórias aversivas patológicas, como a maior resistência à ação de agentes farmacológicos durante a sua reconsolidação (BOS; BECKERS; KINDT, 2014;

GAZARINI et al., 2014), 39 ratos foram alocados em 4 grupos experimentais (8-11 animais por grupo) e receberam como pré-tratamento a infusão de veículo ou noradrenalina (2 µg/hemisfério) no córtex PL imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto e, um dia depois, imediatamente após serem re-expostos ao contexto pareado na sessão de Reativação, receberam o tratamento com veículo ou canabidiol (CBD; 10 mg/kg), um fitocanabinoide capaz de prejudicar a reconsolidação de memórias de medo ao contexto (STERN et al., 2012), por via i.p.

A ANOVA de duas vias com medidas repetidas apontou um efeito significativo do pré-tratamento ( $F_{1,35} = 8,88$ ;  $P = 0,00521$ ), do tratamento ( $F_{1,35} = 5,18$ ;  $P = 0,02914$ ) e da re-exposição ao Contexto A ( $F_{1,35} = 32,464$ ;  $P = 0,000001$ ), mas não da interação entre todos esses fatores ( $F_{1,35} = 5,2615$ ;  $P = 0,2792$ ). Conforme demonstrado na Figura 17, o teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que o tratamento com canabidiol foi capaz de diminuir o tempo de congelamento no Teste A nos animais pré-tratados com veículo ( $P = 0,000124$ ), mas tal efeito foi omitido nos animais pré-tratados com noradrenalina no córtex PL, sugerindo uma resistência à ação deste agente farmacológico em atenuar a resposta de medo condicionada ao contexto.

Para o Teste B, a ANOVA fatorial indicou uma diferença significativa quanto ao pré-tratamento ( $F_{1,35} = 19,99$ ;  $P = 0,00008$ ), mas não quanto ao tratamento ( $F_{1,35} = 0,04$ ;  $P = 0,84858$ ) ou a interação entre eles ( $F_{1,35} = 0,06$ ;  $P = 0,80670$ ). O teste *post-hoc* de Newman-Keuls revelou que os animais pré-tratados com noradrenalina no córtex PL apresentaram um aumento significativo do tempo de congelamento no contexto neutro, de maneira independente do tratamento com veículo ( $P = 0,005257$ ) ou canabidiol ( $P = 0,012646$ ) após a sessão de Reativação. Esses resultados demonstram que a hiperativação noradrenérgica no PL tornou a memória de medo resistente ao efeito do canabidiol de atenuar tanto a resposta de medo condicionada quanto o perfil de generalização da resposta de medo.



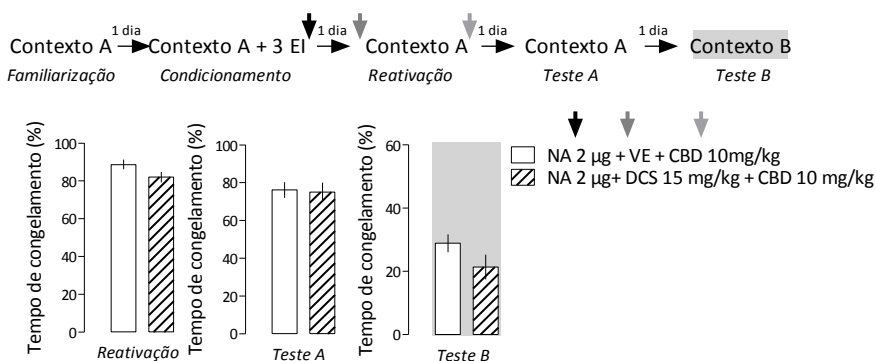
**Figura 17. O aumento da atividade noradrenérgica no córtex pré-límbico durante a consolidação da memória aversiva previne o efeito do canabidiol sobre a reconsolidação da memória de medo ao contexto.** Veículo (VE) ou noradrenalina (NA; 2 µg por hemisfério) foram infundidos no córtex pré-límbico (PL) imediatamente após a sessão de Condicionamento em um treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Um dia depois, durante a sessão de Reativação, VE ou canabidiol (CBD; 10 mg/kg) foram administrados por via intraperitoneal (i.p.). As setas indicam o momento do pré-tratamento e do tratamento. Os valores são expressos como média ± EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente ao contexto pareado (Reativação e Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao respectivo grupo controle (ANOVA de duas vias de medidas repetidas ou ANOVA fatorial seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: VE + VE= 10, NA 2 µg + VE= 8, VE + CBD 10 mg/kg= 11 e NA 2 µg + CBD 10 mg/kg= 10.

#### 4.9 Experimento 9: A administração sistêmica de D-cicloserina não torna a memória aversiva potencializada pelo aumento da atividade noradrenérgica no córtex PL mais sensível à interferência farmacológica durante a sua reconsolidação.

Uma vez que o aumento da atividade noradrenérgica pode prejudicar a labilização de uma memória aversiva e impedir o efeito farmacológico de agentes amnésicos de interferir em sua reconsolidação (GAZARINI et al., 2014; SOETER; KINDT, 2013), justificando os achados descritos no experimento anterior, este experimento teve como objetivo avaliar o potencial da D-cicloserina (DCS), um agonista parcial de receptores glutamatérgicos NMDA que facilita a labilização da

memória (BUSTOS et al., 2010; MAO; LIN; GEAN, 2008), em recuperar o efeito farmacológico do canabidiol sobre a reconsolidação. Para tanto, 22 ratos receberam uma infusão de noradrenalina (2 µg/hemisfério) no córtex PL imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto e, posteriormente, foram distribuídos em 2 grupos experimentais (10-12 animais por grupos) com base na administração, por via i.p., de veículo ou D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg) 30 min antes da sessão de Reativação e do tratamento com veículo ou canabidiol (10 mg/kg) imediatamente após essa mesma sessão.

Conforme observado na Figura 18, para as re-exposições ao contexto pareado durante as sessões de Reativação e Teste A, a ANOVA de medidas repetidas não apontou um efeito significativo quanto ao tratamento ( $F_{1,20} = 0,72$ ;  $P = 0,40560$ ), ao fator repetição ( $F_{1,20} = 2,59$ ;  $P = 0,12336$ ) ou da interação entre ambos ( $F_{1,20} = 0,41$ ;  $P = 0,52780$ ). Esses dados demonstram que a dose utilizada de D-cicloserina não interferiu na expressão da resposta condicionada ao contexto durante a sessão de Reativação, mas também não se mostrou capaz de superar a resistência ao efeito farmacológico do canabidiol, uma vez que não foi observada uma diminuição da porcentagem de tempo de congelamento durante o Teste A. No Teste B, o teste “t” de Student não indicou nenhuma diferença significativa ( $t_{20} = 0,02$ ;  $P = 0,89136$ ).



**Figura 18.** A administração sistêmica de D-cicloserina não elimina a resistência ao efeito farmacológico do canabidiol induzida pelo aumento da atividade noradrenérgica no córtex pré-límbico durante a consolidação da memória aversiva em um protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Veículo (VE) ou noradrenalina (NA; 2 µg por hemisfério) foram



infundidos no córtex pré-límbico (PL) imediatamente após a sessão de treino forte no protocolo de condicionamento de medo ao contexto. Um dia depois, os animais receberam uma injeção intraperitoneal (i.p.) de VE ou D-cicloserina (DCS; 15 mg/kg) 30 minutos antes da sessão de Reativação e, imediatamente após a sessão, uma injeção i.p. de canabidiol (CBD; 10 mg/kg). As setas indicam o momento do pré-tratamento e dos tratamentos. Os valores são expressos como média  $\pm$  EPM da porcentagem de tempo de congelamento frente exposição ao contexto pareado (Reativação e Teste A) ou neutro (Teste B). \* indica uma diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação ao grupo controle (ANOVA de medidas repetidas seguida pelo teste *post-hoc* de Newman-Keuls, ou teste “t” de Student para grupos independentes). EI= Estímulo incondicionado. Número de animais por grupo: NA 2  $\mu$ g + VE + CBD 10 mg/kg= 10 e NA 2  $\mu$ g + DCS 15 mg/kg + CBD 10 mg/kg= 12.

## 5 DISCUSSÃO

Os principais resultados deste trabalho foram: (i) a administração sistêmica de adrenalina potencializou a consolidação da memória aversiva e promoveu um aumento do tempo de congelamento em um contexto neutro, sugerindo certo grau de generalização da resposta de medo, além de (ii) tornar essa memória mais resistente ao processo de extinção; (iii) o antagonismo de receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos no córtex PL impediu a generalização da resposta de medo induzida pela injeção sistêmica de adrenalina; (iv) a infusão de noradrenalina no córtex PL foi suficiente para promover a generalização da resposta de medo (v) por meio do recrutamento de receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos desta região; (vi) a memória aversiva potencializada pela infusão de noradrenalina no córtex PL se mostrou resistente ao prejuízo de reconsolidação induzido pelo canabidiol, condição que permaneceu inalterada mesmo após administração sistêmica de D-cicloserina antes da sessão de Reativação.

A ocorrência de um evento traumático é capaz de alterar o processamento das informações pertinentes a essa experiência, permitindo que estas sejam armazenadas de maneira mais intensa e duradoura (MCGAUGH, 2013). Os dados obtidos neste trabalho sustentam o envolvimento do sistema adrenérgico na formação de uma memória aversiva robusta, generalizada e que é menos susceptível à supressão por meio da extinção, em concordância com trabalhos prévios demonstrando o papel da adrenalina liberada sistemicamente pela glândula adrenal na formação e manutenção de memórias relacionadas a eventos aversivos (ROOZENDAAL; BARSEGYAN; LEE, 2008). Com a administração de adrenalina por via sistêmica imediatamente após a sessão de treino forte no Experimento 1, não foi possível observar um aumento do tempo de congelamento durante a sessão de Teste A, possivelmente devido a obtenção de um nível máximo da expressão desse comportamento nestas condições experimentais. Entretanto, a dose intermediária de adrenalina (1 mg/kg) foi capaz de promover a generalização da resposta de medo, observada através do aumento significativo do tempo de congelamento durante a sessão de Teste B. Esse resultado evidencia o efeito de curva em U invertido classicamente associado à transmissão adrenérgica, onde a formação de uma memória seria potencializada até um nível ótimo de estresse, acima ou abaixo do qual este efeito não seria observado (SALEHI; CORDERO; SANDI, 2010; YERKES; DODSON, 1908). Não está bem estabelecido na

literatura científica quais mecanismos sustentariam esse efeito de curva em U invertido observado em decorrência da hiperatividade noradrenérgica, mas se acredita que o recrutamento de outros sistemas neuromodulatórios seria responsável pelo antagonismo fisiológico desta transmissão de maneira a evitar uma ativação excessiva de circuitos neurais (ORDWAY; SCHWARTZ; FRAZER, 2007).

Embora os efeitos descritos anteriormente indiquem o potencial da adrenalina em facilitar a consolidação das memórias de medo, a ausência de aumentos na resposta de congelamento frente ao contexto pareado não sustenta essa conclusão. Contudo, quando a dose efetiva de adrenalina foi administrada imediatamente após a sessão de treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto utilizado no Experimento 2, ela potencializou a formação da memória aversiva, permitindo observar um aumento no tempo de congelamento durante o Teste A. Na sessão de treino fraco no protocolo de condicionamento de medo ao contexto apenas 1 choque elétrico é aplicado nas patas dos animais durante o pareamento com o Contexto A, o que induz a expressão de um tempo de congelamento menor que aquele obtido após a sessão de treino forte, e permite observar um aumento desse parâmetro caso a memória seja potencializada. Assim, o resultado obtido com o experimento 2 confirma a potencialização da consolidação da memória aversiva pela adrenalina, embora outros experimentos poderiam ser realizados.

Para descartar qualquer efeito de sensibilização como consequência apenas da administração da droga, onde o aumento do tempo de congelamento não estaria relacionado necessariamente com a potencialização da consolidação da memória aversiva, a administração da adrenalina poderia ser realizada sem a aplicação prévia de choques nas patas na sessão de Condicionamento, ou em uma sessão de Condicionamento de choque imediato, onde o animal recebe os choques nas patas imediatamente quando exposto ao contexto. Em ambas as situações a memória associativa do evento aversivo não é formada, visto que ou o choque não é apresentado, ou é apresentado de maneira tão abrupta que não permite ao animal associá-lo com o contexto. Assim, qualquer aumento do tempo de congelamento observado posteriormente seria inespecífico e não relacionado com a potencialização da consolidação da memória aversiva. Ainda, em outro experimento que permitiria confirmar se a adrenalina promoveu um aumento no tempo de congelamento por potencializar a consolidação da memória aversiva, seria esperado que a administração concomitante de uma droga capaz de prejudicar a consolidação (como a anisomicina, um inibidor de síntese

proteica) prevenisse o aumento do tempo de congelamento induzido pela adrenalina. Também, as sessões de Teste A e Teste B poderiam ser realizadas em um intervalo de tempo maior após a sessão de Condicionamento, quando ocorre a administração de adrenalina

Os resultados obtidos no presente trabalho, além de sugerirem que o aumento no tempo de congelamento durante a sessão de Teste A é consequência da potencialização da consolidação da memória aversiva pela adrenalina, vão ao encontro de dados prévios que demonstram a natureza quantitativa do perfil de expressão de medo necessário para a indução do aumento do tempo de congelamento em um contexto novo e generalização da resposta de medo. No experimento 2, o tempo de congelamento obtido no contexto pareado após a potencialização da consolidação da memória com a adrenalina na sessão de treino fraco não alcançou os mesmos níveis obtidos com este mesmo tratamento após a sessão treino forte durante o Experimento 1, assim como no Experimento 2 também não foi observado um aumento significativo do tempo de congelamento no contexto novo durante a sessão de Teste B. Esses resultados estão em concordância com outros trabalhos que sugerem que a generalização da resposta de medo frente a pistas contextuais ou sonoras só acontece após a potencialização da memória ser capaz de induzir a expressão de níveis máximos de respostas de medo no contexto pareado (GAZARINI et al., 2013; 2014; KAOUANE et al., 2012).

Apesar de esses trabalhos sugerirem que a generalização da resposta de medo seria uma consequência comportamental preferencialmente de memórias aversivas muito intensas ou potencializadas, a generalização da resposta de medo em um contexto não pareado com o estímulo incondicionado é um evento esperado à medida que uma memória torna-se remota, o que segundo a teoria da consolidação sistêmica aconteceria devido ao rearranjo do engrama do hipocampo (região altamente especializada no processamento de pistas espaciais e contextuais) para regiões corticais (DUDAI, 2004; KNIERIM; LEE; HARGREAVES, 2006; WILTGEN; SILVA, 2007).

Além disso, um evento aversivo não necessariamente se repetirá da mesma maneira e no mesmo contexto da experiência original. Assim, a habilidade de generalizar o aprendizado de estímulos para outras situações é importante e pode ser considerado como “adaptativo” em determinadas situações. Embora essa influência da emoção sobre a memória seja essencial para a sobrevivência, pois permite que o indivíduo detecte e evite situações futuras que possam lhe oferecer perigo, através do desencadeamento de respostas fisiológicas e

comportamentais adequadas (SURI; VAIDYA, 2015), a capacidade de discriminar entre estímulos e limitar a aplicação do aprendizado somente quando apropriado evita a manifestação de respostas comportamentais ditas “inadequadas” ou “disfuncionais”, como a supergeneralização da resposta de medo (DUNSMOOR; PAZ, 2015).

Seria precipitado, todavia, inferir apenas com base na avaliação de uma característica comportamental (o aumento da porcentagem de tempo de congelamento em um contexto neutro em relação ao grupo controle) que a administração sistêmica de adrenalina no protocolo de treino forte utilizado no presente trabalho potencializa a consolidação de uma memória aversiva de tal maneira a mimetizar em um modelo animal a generalização de respostas de medo “inadequada” ou “disfuncional” observada em transtornos psiquiátricos como o PTSD, ficando evidente a necessidade de uma caracterização comportamental mais aprofundada, ou seja, se a administração de adrenalina também promove outras características observadas na clínica deste transtorno.

Além da manifestação de respostas defensivas exacerbadas, memórias de medo intensas e generalizadas são menos susceptíveis a intervenções farmacológicas e comportamentais durante a extinção ou reconsolidação que permitam atenuar sua valência negativa (BOS; BECKERS; KINDT, 2014; CAIN; MAYNARD; KEHNE, 2012; DEBIEC; BUSH; LEDOUX, 2011; GAZARINI et al., 2014; SOETER; KINDT, 2013). Neste trabalho, a potencialização da memória induzida pela administração sistêmica de adrenalina no Experimento 3 retardou a aquisição da memória de extinção e impediu a supressão da resposta de medo a níveis semelhantes aos obtidos com essa manipulação comportamental no grupo controle, tanto no contexto pareado quanto no contexto neutro. Estes resultados estão de acordo com dados pré-clínicos e clínicos que demonstram que memórias traumáticas estão associadas com um prejuízo na aquisição, consolidação ou expressão da extinção tanto das respostas comportamentais quanto autonômicas associadas (BLECHERT et al., 2007; KNOX et al., 2012; MILAD et al., 2008; 2009; PITMAN et al., 2012; YAMAMOTO et al., 2009). Entretanto, não foi investigado se alterações no protocolo, como aumento no tempo de exposição à sessão de Extinção, seriam capazes de neutralizar ou contrabalançar o prejuízo observado nos animais tratados com adrenalina e igualar o tempo de congelamento destes animais nas sessões de Teste A<sub>2</sub> e Teste B<sub>2</sub> com os daqueles tratados com veículo.

De maneira interessante, diversos trabalhos demonstram que a hiperativação noradrenérgica durante momentos críticos para a formação de memórias aversivas pode contribuir para a instalação desse

prejuízo de extinção tanto em humanos quanto em animais de laboratório (DEBIEC; BUSH; LEDOUX, 2011; GAZARINI et al., 2014; SOETER; KINDT, 2012), destacando a importância dessa via de transmissão. Um perfil semelhante de resistência à extinção foi observado após a indução da hiperatividade noradrenérgica com a utilização do antagonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos ioimbina durante a consolidação de uma memória aversiva em ratos (GAZARINI et al., 2014). Somados aos demais, estes resultados nos permitem afirmar que a administração sistêmica de adrenalina é capaz de potencializar a consolidação de uma memória aversiva de tal maneira que promove a manifestação de características comportamentais que são também observadas no PTSD, tais como a generalização da resposta de medo e o prejuízo de extinção.

A potencialização da formação de memórias aversivas e da manifestação de respostas comportamentais de medo e ansiedade através do aumento da atividade adrenérgica já foram demonstradas em uma gama de trabalhos (ARNSTEN, 2015; BERRIDGE; SPENCER, 2015; GAZARINI et al., 2014; GOLD; VAN BUSKIRK, 1975; 1978; ROOZENDAAL; MCGAUGH, 2011; SARA, 2015; SOETER; KINDT, 2011), e um esforço considerável tem sido direcionado para um melhor entendimento dos mecanismos periféricos através dos quais a adrenalina, incapaz de atravessar a BHE, modula estes processos. Duas linhas de pesquisa principais exploram estes mecanismos. A primeira defende que a adrenalina, ao se ligar em receptores  $\beta$ -adrenérgicos presentes em aferentes do nervo vago, propicia a ativação do NTS e consequente maior liberação de noradrenalina por eferentes do LC em diversas regiões cerebrais (CAREAGA et al., 2015; CHEN; WILLIAMS, 2012; DE DIEGO; GANDÍA; GARCÍA, 2008; LOUGHLIN; FOOTE; GRZANNA, 1986; SCHREURS; SEELIG; SCHULMAN, 1986; SZABADI, 2013), sendo que a estimulação ou inibição do NTS mimetizam ou bloqueiam, respectivamente, os efeitos da administração sistêmica de adrenalina, assim como a vagotomia bloqueia os efeitos de alguns tratamentos sobre a memória (GOLD, 2014; NOGUEIRA; TOMAZ; WILLIAMS, 1994; WILLIAMS; MCGAUGH, 1998). Além disso, a segunda linha de pesquisa demonstra que os efeitos da adrenalina sobre a memória, após liberação pela glândula adrenal ou administração exógena, estão relacionados com um aumento nos níveis circulantes de glicose através da ativação de receptores  $\beta$ -adrenérgicos hepáticos (GOLD, 2014). A administração sistêmica de glicose potencializa a memória de roedores em diversas tarefas (HALL; GOLD, 1986; KOPF; BARATTI, 1996; MESSIER,

1997; PACKARD; WHITE, 1990; SCHOLEY et al., 2013), assim como a infusão de glicose no hipocampo, na amígdala e no estriado (CANAL et al., 2005; PSYCH; KIM; GOLD, 2006; SCHROEDER; PACKARD, 2003). A glicose é transportada ativamente através da BHE, e os mecanismos através dos quais poderia facilitar a formação de memórias incluem o aumento e regulação da liberação de neurotransmissores e neuromoduladores, e a glicogenólise em astrócitos que fornece substrato energético para uma maior atividade neural (GOLD, 2014; MAGISTRETTI, 2006; RAGOZZINO et al., 1998).

Apesar de sinérgicos, ambos os mecanismos (aumento da liberação de noradrenalina no SNC e aumento de glicose circulante) parecem exercer efeitos independentes sobre a formação de memórias. Atentando-se ao primeiro mecanismo, visto que o enfoque do presente trabalho está na influência da modulação adrenérgica sobre a formação de memórias aversivas e manifestação de características comportamentais correlatas, já foi demonstrado que a administração sistêmica de um antagonista de receptores  $\beta$ -adrenérgicos que não atravessa a BHE, o nadolol, não previne a potencialização da consolidação ou reconsolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto (GAZARINI et al., 2013), e que o antagonismo de receptores  $\beta$ -adrenérgicos hipocampais previne a generalização da resposta de medo (GAZARINI, 2015). Assim, o alinhamento desses resultados pode ser um indicativo de que a adrenalina administrada sistemicamente potencializou a consolidação da memória aversiva, de fato, pelo recrutamento e ativação de vias noradrenérgicas centrais, sugerindo o envolvimento crítico da modulação noradrenérgica em regiões do SNC em nossas condições experimentais. Contudo, permanece pouco explorado quais são as regiões encefálicas, além do hipocampo, que suportam a manifestação das características comportamentais de uma memória de medo potencializada pela hiperatividade adrenérgica.

Nos últimos anos, trabalhos baseados nos resultados obtidos durante a manipulação das fases de formação e manutenção de memórias aversivas em animais de laboratório (HERRY; JOHANSEN, 2014; LEDOUX, 2000; QUIRK; MUELLER, 2008) permitiram identificar o envolvimento de estruturas cerebrais na modulação de memórias aversivas “adaptativas”: a amígdala, o córtex pré-frontal medial e o hipocampo (DUNSMOOR; PAZ, 2015; MAREN; PAN; LIBERZON, 2013; PAPE; PARE, 2010). Trabalhos como estes têm servido como base para estudos de neuroimagem em humanos visando a elucidação das circuitarias neuronais que podem estar envolvidas na

exacerbação e generalização das respostas de medo observadas em pacientes com PTSD. Em uma meta-análise de 79 estudos acerca da circuitaria neuronal envolvida na manifestação do PTSD, Hayes e colaboradores demonstraram que o córtex cingulado anterior dorsal (região homóloga ao córtex PL de ratos) e a amígdala de humanos parecem ser regiões que estão hiperativadas, enquanto o córtex pré-frontal medial ventral (região homóloga ao córtex IL de ratos) se encontraria hipoativo (HAYES; HAYES; MIKEDIS, 2012).

Direcionando a atenção para a sub-região PL do CPFm de ratos, Radley e colaboradores demonstraram que esta região modula a ativação do eixo HPA através do controle da liberação de CRH pelo núcleo paraventricular do hipotálamo (RADLEY; WILLIAMS; SAWCHENKO, 2008), bem como já foi demonstrado seu envolvimento na regulação da consolidação e expressão de memórias aversivas (CARBALLO-MÁRQUEZ et al., 2007; CHOI; EINARSSON; PORS; NADER, 2015; GOURLEY; RESSLER, 2012; GONZALEZ et al., 2013; SOTRES-BAYON; QUIRK, 2010), na generalização de respostas de medo (EINARSSON; PORS; NADER, 2015) e prejuízo de discriminação entre estímulos (KORZUS, 2015; VIEIRA et al. 2014; VIEIRA et al., 2015). O papel central do córtex PL se daria, sobretudo, por sua vasta conectividade com outras estruturas cerebrais envolvidas no processamento de memórias e emoções, como hipocampo, amígdala, núcleo *reuniens* do tálamo (NR), substância negra *pars compacta*, área tegmental ventral, substância cinzenta periaquedutal, núcleos da Rafe no tronco cerebral, entre outras (COURTIN et al., 2013; EUSTON; GRUBER; MCNAUGHTON, 2012; GABBOTT et al., 2005; SOTRES-BAYON; QUIRK, 2010; VERTES, 2004). O PL parece ser uma estrutura-chave de um circuito envolvendo a região CA1 do hipocampo, a amígdala e o NR. Alterações funcionais no PL acarretariam numa falha da inibição da amígdala, levando ao aumento e generalização das respostas de medo e prejuízo da extinção das memórias traumáticas (EINARSSON; PORS; NADER, 2015; ROZESKE et al., 2015). Ainda, a inativação de projeções do CPFm para o NR ou a inativação direta do NR foram relacionadas com um aumento da generalização do medo (XU; SÜDHOF, 2013). Somando-se a isso, os neurônios do LC que se projetam para o CPFm apresentam uma maior taxa de disparo espontâneo, são mais responsivos ao glutamato e sua hiperpolarização é menos duradoura, sugerindo uma influência determinante da modulação noradrenérgica nessa região (CHANDLER; GAO; WATERHOUSE, 2014; SARA, 2015).



Os resultados obtidos no Experimento 4 deste trabalho demonstraram que tanto o bloqueio dos receptores  $\alpha_1$ - quanto  $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL foi capaz de prevenir a generalização da resposta de medo induzida pela injeção sistêmica de adrenalina, sugerindo que a modulação noradrenérgica nessa região cerebral é necessária para a potencialização da consolidação e promoção da generalização da resposta de medo. Ainda, não foi observado um prejuízo na formação da memória aversiva e diminuição do tempo de congelamento durante a sessão de Teste A nos animais que receberam a infusão dos antagonistas dos receptores  $\alpha_1$ - quanto  $\beta$ -adrenérgicos no córtex PL, mas receberam a administração sistêmica de veículo ao invés de adrenalina. Esse resultado sugere que os mecanismos recrutados para a consolidação de uma memória aversiva potencializada e que promove a generalização da resposta de medo difere daqueles recrutados quando a memória não é potencializada.

Embora Gazarini e colaboradores (2013) tenham sugerido que os receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos seriam recrutados para a promoção da generalização da resposta de medo apenas durante a potencialização da reconsolidação de uma memória aversiva, divergindo do observado com os nossos resultados com a administração de prazosina, no estudo citado foi realizada a administração sistêmica deste antagonista, que possivelmente acarreta o bloqueio de receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos em diversas estruturas encefálicas envolvidas na consolidação e generalização da memória aversiva, e que poderia recrutar mecanismos compensatórios.

Buscando um melhor entendimento da participação do córtex PL na promoção de uma resposta de medo generalizada, os resultados obtidos com a infusão de noradrenalina diretamente no córtex PL nos Experimento 5 e 6 confirmaram que o aumento da atividade noradrenérgica nesta região foi suficiente para potencializar a consolidação da memória aversiva e promover a generalização da resposta de medo de maneira semelhante ao obtido com a administração sistêmica de adrenalina, seguindo o mesmo padrão de curva em U invertido. Contudo, o tempo de congelamento no contexto novo não alcançou os mesmos níveis que os obtidos através da manipulação sistêmica, um resultado esperado frente à manipulação pontual de apenas uma das estruturas envolvidas na manifestação desta característica comportamental, visto que já foi demonstrado que os receptores  $\beta$ -adrenérgicos do hipocampo dorsal também são recrutados para a potencialização de uma memória de medo condicionado ao

contexto que induz a expressão generalizada de medo (GAZARINI, 2015).

Adicionalmente, conforme observado no Experimento 7, tanto os receptores  $\alpha_1$ - quanto  $\beta$ -adrenérgicos expressos no córtex PL foram recrutados para a indução desse efeito, resultado que concorda com o obtido através da administração sistêmica de adrenalina. Estes resultados também reforçam que seria necessária uma alteração quantitativa da ativação noradrenérgica no córtex PL para promover a generalização da resposta de medo e que altos níveis de noradrenalina liberados sob condições de estresse aumentam a ativação de receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos que, apesar de possuírem menor afinidade para este neurotransmissor, são amplamente expressos no CPFm (GOLDMAN-RAKIC et al., 1990). Em tarefas de memória de trabalho já foi demonstrado que em condições basais, a noradrenalina é liberada em níveis moderados e se liga preferencialmente em receptores adrenérgicos pós-sinápticos do subtipo  $\alpha_{2A}$ , fortalecendo as funções do CPFm e favorecendo uma melhor performance cognitiva. Nessas situações, a ativação dos receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos fortalece a função do CPFm por inibir canais de potássio (canais HCN) dependentes de AMPc que diminuem a eficiência sináptica dos receptores glutamatérgicos do tipo NMDA e a taxa de disparo neuronal (ARNSTEN, 2015; WANG et al., 2007). Altos níveis de noradrenalina liberados sob condições de estresse, por sua vez, propiciam a ativação dos receptores adrenérgicos do tipo  $\alpha_1$  e  $\beta$  de menor afinidade para este neurotransmissor, e prejudicam a função do CPFm possivelmente pelo aumento de AMPc e consequente ativação de canais HCN (BERRIDGE; SPENCER, 2015; BIRNBAUM et al., 1999; RAMOS; ARNSTEN, 2007; RAMOS et al., 2005; ROBBINS; ARNSTEN, 2009), que hiperpolarizam os neurônios e dificultam a propagação de potenciais de ação.

Devido à relevância funcional da ativação de receptores  $\alpha_{2A}$ -adrenérgicos do CPFm para o desempenho cognitivo em tarefas de memória de trabalho, apesar do presente estudo avaliar outro tipo de memória, optou-se pela utilização de adrenalina ao invés de ioimbina para a indução da hiperatividade noradrenérgica. A ioimbina é um antagonista dos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos que atua como um agente simpatomimético indireto por impedir mecanismos de retroalimentação negativa sobre o LC, aumentando a liberação de noradrenalina (EGAN et al., 1983). A administração desta droga é utilizada tanto em modelos animais (GAZARINI et al., 2013; 2014) quanto em humanos (MORGAN, et al., 1995; SOETER; KINDT, 2012) para induzir

alterações relacionadas à hiperativação noradrenérgica. Porém, no presente estudo, seria impreciso afirmar se utilizando ioimbina as alterações observadas a nível comportamental seriam em decorrência do aumento da liberação de noradrenalina por aferentes do LC no CPFm (que atuaria em todos os subtipos de receptores adrenérgicos), pelo bloqueio dos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos desta região, ou por ambas as variáveis. Ainda, não está bem esclarecido se existem diferenças quanto ao perfil de hiperatividade noradrenérgica induzido pela administração de adrenalina ou ioimbina, assim como as consequentes comportamentais destas manipulações.

Tal como realizado com a administração sistêmica de adrenalina, no presente trabalho foi avaliada, além da generalização da resposta de medo, a manifestação de outra característica comportamental induzida pela hiperatividade noradrenérgica no córtex PL. Atualmente muito se discute sobre a possibilidade de utilizar a interferência da reconsolidação de uma memória como estratégia para intervenção terapêutica, sobretudo em memórias relacionadas a traumas ou ao uso de drogas de abuso (BESNARD; CABOCHE; LAROCHE, 2012; DEBIEC, 2012), e tanto a atividade do córtex PL, quanto a modulação dos receptores  $\alpha_1$ - ou  $\beta$ -adrenérgicos do CPFm, parecem exercer papel importante sobre a evocação e reconsolidação das memórias aversivas (DEBIEC, BUSH, LEDOUX, 2011; DO MONTE et al., 2013; DO-MONTE; QUIÑONES-LARACUENTE; QUIRK, 2015; GAZARINI et al., 2013; 2014; OTIS; WERNER; MUELLER, 2015; PRZYBYSLAWSKI; ROULLET; SARA; STERN et al., 2014). Contudo, a hiperatividade noradrenérgica em situações de grande estresse parece estar relacionada com uma falha em manipular essa etapa de estabilização das memórias e, conseqüentemente, a expressão de respostas de medo condicionado (BOS; BECKERS; KINDT, 2014; SOETER; KINDT, 2013).

A hiperatividade noradrenérgica induzida pela administração sistêmica de ioimbina promove uma resistência à ação amnésica de um agonista de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, clonidina, ou do canabidiol (GAZARINI et al., 2014). O canabidiol (CBD), fitocanabinóide presente na *Cannabis sativa*, vem sendo explorado como uma droga segura (BERGAMASCHI et al., 2011) e potencialmente útil no tratamento de diversos quadros clínicos devido às suas ações ansiolítica, antipsicótica, antiepiléptica e anti-inflamatória (BERGAMASCHI et al., 2011; CAMPOS et al., 2012; DEVINSKY et al., 2014). Já foi observado que a infusão de CBD no córtex PL é capaz de atenuar a expressão de respostas de medo em um protocolo de medo condicionado ao contexto

(LEMOS; RESSTEL; GUIMARÃES, 2010), e que o efeito ansiolítico desta droga quando injetada no córtex PL parece estar relacionado com a ativação local de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT<sub>1A</sub> (FOGAÇA et al., 2014). Recentemente foi demonstrado que o CBD é capaz, também, de atenuar memórias de medo condicionado ao contexto, recentes ou remotas, através do prejuízo de sua reconsolidação (GAZARINI et al., 2014; STERN et al., 2012).

Neste trabalho, os resultados obtidos no Experimento 8 demonstraram que tanto a resposta de medo ao contexto condicionado quanto a generalização da resposta de medo não foram atenuadas pela intervenção farmacológica com este fitocanabinoide. Embora apenas uma dose de CBD tenha sido utilizada, é importante ressaltar que a mesma dose já se mostrou suficiente para prejudicar a reconsolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto (STERN et al., 2012), e que um padrão similar de resistência à ação farmacológica do CBD também foi demonstrado com a indução da hiperatividade noradrenérgica através da administração sistêmica de ioimbina (GAZARINI et al., 2014).

A explicação mais provável para a resistência observada possivelmente está em alguma alteração molecular decorrente da hiperatividade noradrenérgica no córtex PL durante a consolidação da memória aversiva, e que a tornou mais resistente à interferência durante sua reconsolidação.

Em modelos de aprendizado associativo, como no condicionamento de medo ao contexto, a re-exposição ao contexto pareado na ausência do estímulo incondicionado (choque nas patas) pode acarretar a desestabilização da memória previamente adquirida e possibilitar sua reconsolidação ou extinção, dependendo de fatores como a intensidade com a qual a memória foi consolidada e duração da sessão de evocação que remete às pistas da memória original (DUDAI, 2012; FLAVELL et al., 2013; EISENBERG et al., 2003; PEDREIRA; MALDONADO, 2003; REICHELTE; LEE, 2012; SUZUKI et al., 2004). Entretanto, evocação e desestabilização são processos independentes, ou seja, uma memória pode ser lembrada sem tornar-se susceptível à mudanças (CAMMAROTA et al., 2004; LEE; FLAVELL, 2014). Para desestabilização (ou labilização), que independe da expressão da memória, além da ativação de receptores NMDA contendo a subunidade NR2B (BEM MAMOU; GAMACHE; NADER, 2006), também parecem necessários a degradação proteica, endocitose de receptores AMPA para glutamato, abertura de canais de cálcio voltagem-dependentes do tipo L e ativação de receptores endocanabinóides CB1

(LEE et al., 2008; RAO-RUIZ et al., 2011; SOL FUSTIÑANA et al., 2014; SUZUKI et al., 2008). A manipulação farmacológica da etapa de labilização com um antagonista de receptores glutamatérgicos NMDA (AP5) ou um antagonista seletivo para receptores NMDA contendo a subunidade GluN2B (ifenprodil) é capaz de impedir o efeito amnésico de um inibidor de síntese proteica administrado após a sessão de evocação de uma memória de medo condicionado ao som (BEN MAMOU; GAMACHE; NADER, 2006), reforçando a necessidade de ativação desses receptores para que ocorra a labilização das memórias de medo.

Memórias mais remotas ou com maior valência emocional tendem a ser menos propensas a passarem pelo processo de reconsolidação (BUSTOS; MALDONADO; MOLINA 2009; BUSTOS et al., 2010), justamente devido a uma maior resistência aos processos necessários para a labilização. Em situações aversivas, a diminuição da expressão de receptores NMDA contendo a subunidade NR2B em estruturas encefálicas importantes para a manutenção de memórias pode ser observada (COSTA-NUNES et al., 2014; JIANG et al., 2013; WANG et al., 2006), inclusive na porção dorsal do CPFm, à qual pertence o córtex PL (LEE; GOTO, 2011), sendo possivelmente um mecanismo determinante para os efeitos comportamentais observados de resistência à labilização e posterior reconsolidação.

Uma ferramenta farmacológica que tem sido amplamente utilizada na tentativa de atenuar memórias aversivas é a D-cicloserina (DCS), um agonista parcial do sítio de ligação para glicina em receptores NMDA (HOFMANN et al., 2015; ROTHBAUM et al., 2014). Diversos trabalhos já demonstraram o potencial da DCS em facilitar a extinção de memórias de medo (KLUMPERS et al., 2009; MALAN-MÜLLER et al., 2015; RICHARDSON; LEDGERWOOD; CRANNEY, 2004; VERVLIET, 2008) e, mais recentemente, o potencial da DCS em reverter o prejuízo de labilização durante a reconsolidação de memórias aversivas vem sendo demonstrado. Bustos e colaboradores (2010) demonstraram que a administração de DCS antes do tratamento com midazolam facilita a labilização e possibilita o prejuízo da reconsolidação de uma memória potencializada pela exposição a um estresse prévio (BUSTOS et al., 2010), mesmo efeito facilitatório observado na interferência farmacológica com clonidina e CBD em uma memória aversiva potencializada pela administração de ioimbina durante a consolidação (GAZARINI et al. 2014), e no tratamento com propranolol em uma memória relacionada ao abuso de álcool (ORTIZ et al., 2015).

De maneira contrária ao esperado, nas nossas condições experimentais a dose de 15mg/kg de DCS utilizada no Experimento 9 não se mostrou capaz de facilitar a labilização da memória aversiva e recuperar o efeito amnésico do CBD sobre a reconsolidação, permanecendo intactos a resposta aumentada de medo condicionado e o perfil de generalização de medo. Já foi demonstrado que o CPFm parece ser um alvo importante para o efeito da DCS em atenuar respostas de medo relacionadas a memórias traumáticas, através do aumento da expressão local de receptores NMDA contendo a subunidade NR1 (SARIDOĞAN et al., 2015). Dessa forma, alterações funcionais e moleculares resultantes da hiperativação noradrenérgica especificamente nesta região cerebral poderiam prejudicar o efeito farmacológico da DCS. Outras doses de DCS e alterações de protocolo (como, por exemplo, aumento do tempo da sessão de Reativação) poderiam ser utilizados futuramente na tentativa de facilitar a labilização desta memória e contornar essa limitação. Adicionalmente, a avaliação da expressão das subunidades de receptores NMDA seria útil para confirmar se a hiperatividade noradrenérgica no córtex PL torna a memória aversiva resistente à interferência farmacológica por alterar a composição de receptores glutamatérgicos necessários para o processo de labilização.

Uma explicação adicional para o efeito observado poderia basear-se nos alvos celulares de ação do CBD. Apesar da variedade de mecanismos de ação associados a esse fitocanabinóide (IZZO et al., 2009), seu efeito em potencializar a extinção ou bloquear a reconsolidação de uma memória aversiva se dá pela ligação a receptores canabinoides do tipo 1 (CB1) (BITTENCOURT, PAMPLONA & TAKAHASHI, 2008; STERN et al., 2012). Igualmente, o mecanismo responsável pelo prejuízo da reconsolidação observados com a administração de  $\Delta^9$ -tetraidrocanabinol (THC), outro constituinte presente em grande quantidade na *Cannabis sativa* e cuja ação é potencializada pelo CBD, necessita da ativação de receptores CB1 no córtex PL (STERN et al., 2015). Em contrapartida, tem sido demonstrado que a modulação endocanabinoide, via ativação de receptores CB1 localizados em fibras nervosas no córtex pré-frontal, aumenta a liberação de noradrenalina nesta região (OROPEZA; MACKIE; VAN BOCKSTAELE, 2007; PAGE; OROPEZA; VAN BOCKSTAELE 2008). Já foi demonstrado, também, que a administração repetida de um agonista sintético de receptores CB1 induz comportamentos do tipo ansiolítico no teste do labirinto em cruz elevado e que esse efeito se correlaciona com o aumento da expressão

da enzima de síntese de catecolaminas no LC (PAGE et al., 2007), o que possivelmente contribui para um aumento na liberação de noradrenalina em regiões cerebrais como o córtex PL. Embora esses resultados levantem o questionamento se ao invés de atenuar a memória aversiva, o CBD poderia fortalecer ainda mais a memória aversiva através da hiperatividade noradrenérgica nessa região durante sua reconsolidação, esta é uma explicação pouco provável, visto que nos animais do grupo pré-tratado com a infusão de veículo no córtex PL e que recebeu o tratamento com CBD imediatamente após a sessão de reativação foi observado um efeito amnésico e não a potencialização da memória aversiva. Investigar a eficácia de outros agentes farmacológicos (como, por exemplo, antagonistas  $\alpha_1$ - ou  $\beta$ -adrenérgicos ou mesmo agentes que atuem em outras vias de transmissão) seria útil para esclarecer que a resistência à ação de um agente amnésico durante a reconsolidação não está relacionado ao mecanismo de ação do CBD, embora Gazarini e colaboradores já tenham demonstrado que a clonidina, um agonista  $\alpha_2$ -adrenérgico, também não é capaz de atenuar as respostas de medo de uma memória aversiva potencializada pela administração sistêmica ioimbina (GAZARINI et al., 2014).

Por fim, algumas possíveis limitações deste trabalho podem ser listadas. As alterações comportamentais observadas ocorreram como consequência do fornecimento adicional de adrenalina ou noradrenalina, o que pode se distanciar, de maneira muito artificial, dos níveis que seriam alcançados em condições fisiológicas, assim como pode não refletir o efeito que seria obtido através da somatória da interação com outros sistemas modulatórios. Logo, uma alternativa válida para contornar essa limitação seria a adequação do protocolo para que, utilizando apenas os choques nas patas, fosse possível observar as mesmas alterações comportamentais e, principalmente, revertê-las pela manipulação dos receptores adrenérgicos distribuídos pelo SNC ou especificamente no córtex PL.

Quanto aos receptores adrenérgicos, apesar de já ter sido demonstrado que os receptores  $\beta_2$ - e  $\beta_3$ -adrenérgicos do hipocampo contribuem de maneira mais significativa que os receptores  $\beta_1$ -adrenérgicos para a generalização da resposta de medo em um protocolo de medo condicionado ao contexto (GAZARINI, 2015), ainda não foi investigado qual subtipo específico de receptor adrenérgico recrutado no córtex PL durante a consolidação da memória aversiva contribui para a generalização da resposta de medo neste trabalho. Também, não foi investigado neste trabalho se a ativação dos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos

do CPFm seria capaz de prevenir a potencialização da memória aversiva e a generalização da resposta de medo.

Não foi avaliado, por fim, se a administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação tornaria a memória mais resistente ao prejuízo de reconsolidação com CBD, semelhante ao que foi observado pela administração sistêmica de ioimbina (GAZARINI et al., 2014), bem como se a infusão de noradrenalina no córtex PL durante a consolidação aumentaria a resistência dessa memória à extinção, semelhante ao observado pela administração sistêmica de adrenalina neste trabalho. Com isso, não foi possível avaliar se a generalização da resposta de medo, a menor susceptibilidade a interferentes farmacológicos na reconsolidação e o prejuízo de extinção compartilham de substratos neurais comuns, ou seja, se a hiperatividade noradrenérgica no córtex PL seria suficiente para desencadear todas as alterações comportamentais em foco neste estudo.

Em resumo, os dados apresentados neste trabalho propiciam um melhor entendimento acerca de neurobiologia e neuroquímica que sustentam características comportamentais observadas em transtornos relacionados ao trauma e à formação de memórias aversivas intensas, como o PTSD. Além disso, estudos como este evidenciam a importância de estudos futuros investigando a eficácia de drogas noradrenérgicas, seguras e já utilizadas na clínica para o tratamento de outras patologias, como uma possível estratégia de intervenção terapêutica para atenuar a manifestação dos sintomas do PTSD.





## 6 CONCLUSÕES

- A administração sistêmica de adrenalina potencializa a consolidação de uma memória de medo condicionado ao contexto, promove a generalização da resposta de medo frente à exposição a um contexto neutro, além de prejudicar o estabelecimento de uma memória de extinção;

- O antagonismo de receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos do córtex PL impede a generalização da resposta de medo associada à memória aversiva potencializada pela administração sistêmica de adrenalina durante a consolidação, demonstrando a importância da modulação noradrenérgica nesta região para o estabelecimento desta alteração comportamental;

- A infusão de noradrenalina diretamente no córtex PL é suficiente para potencializar a consolidação da memória de medo condicionado ao contexto e induzir a generalização da resposta de medo em um contexto neutro;

- O antagonismo de receptores  $\alpha_1$ - e  $\beta$ -adrenérgicos no córtex PL previne a generalização do medo induzida pela administração de noradrenalina durante a consolidação da memória de medo condicionado ao contexto, demonstrando que ambos os subtipos de receptores adrenérgicos estão envolvidos nessa alteração comportamental;

- A hiperatividade noradrenérgica no córtex PL durante a consolidação da memória de medo a torna resistente ao efeito farmacológico do canabidiol na dose de 10 mg/kg durante a etapa de reconsolidação;

- Nas condições experimentais utilizadas, a D-cicloserina não é capaz de facilitar a labilização da memória de medo condicionado ao contexto potencializada pela infusão de noradrenalina no córtex PL e recuperar o efeito farmacológico do canabidiol durante a reconsolidação desta memória.



## REFERÊNCIAS

ABRAHAM, W.C.; LOGAN, B.; GREENWOOD, J. M.; DRAGUNOW, M. Induction and Experience-Dependent Consolidation of Stable Long-Term Potentiation Lasting Months in the Hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, v. 22, n. 21, p. 9626-9634, 2002.

ABRAHAM, W. C.; WILLIAMS, J. M. LTP maintenance and its protein synthesis-dependence. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 89, n.3, p. 260-268, 2008.

ADHIKARI, A.; LERNER, T. N.; FINKELSTEIN, J.; PAK, S.; JENNINGS, J. H.; DAVIDSON, T. J.; FERENCZI, E.; GUNAYDIN, L. A.; MIRZABEKOV, J. J.; YE, L.; KIM, S. Y.; LEI, A.; DEISSEROTH, K. Basomedial amygdala mediates top-down control of anxiety and fear. *Nature*, v. 527, n. 7577, p. 179-185, 2015.

ALEXANDER, R. W.; DAVIS, J. N.; LEFKOWITZ, R. J. Direct identification and characterization of beta-adrenergic receptors in rat brain. *Nature*, v. 258, n. 5534, p. 437-440, 1975.

AMOS, T.; STEIN, D. J.; IPSE, J. C. Pharmacological interventions for preventing post-traumatic stress disorder (PTSD). *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014.

AOKI, C.; VENKATESAN, C.; GO, C. G.; FORMAN, R.; KUROSE, H. Cellular and subcellular sites for noradrenergic action in the monkey dorsolateral prefrontal cortex as revealed by the immunocytochemical localization of noradrenergic receptors and axons. *Cerebral Cortex*, v. 8, p. 269-277, 1998.

ARCHER, T.; OGREN, S. O.; FUXE, K.; AGNATI, L. F.; ENEROTH, P. On the interactive role of central noradrenaline neurons and corticosterone in two-way active avoidance acquisition in the rat. *Neuroscience Letters*, v. 27, n. 3, p. 341-346, 1981.

ARNSTEN, A. F. Through the looking glass: differential noradrenergic modulation of prefrontal cortical function. *Neural Plasticity*, v. 7, p. 133-146, 2000.

ARNSTEN, A. F. Catecholamine influences on dorsolateral prefrontal cortical networks. *Biological Psychiatry*, v. 69, n. 12, p. 89-99, 2011.

ARNSTEN, A. F. Stress weakens prefrontal networks: molecular insults to higher cognition. *Nature Neuroscience*, v. 18, n. 10, p. 1376-1385, 2015.

BAKER, D. G.; WEST, S.A.; NICHOLSON, W. E.; EKHATOR, N. N.; KASCKOW, J. W.; HILL, K. K.; BRUCE, A. B.; ORTH, D. N.; GERACIOTI, T. D. Serial CSF corticotropin-releasing hormone levels and adrenocortical activity in combat veterans with posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry*, v. 156, p. 585-588, 1999.

BECHARA, A.; DAMASIO, A. R. The somatic marker hypothesis: A neural theory of economic decision. *Games and Economic Behavior*, v. 52, p. 336-372, 2005.

BELKIN, M. R.; SCHWARTZ, T. L. Alpha-2 receptor agonists for the treatment of posttraumatic stress disorder. *Drugs in Context*, v. 4, 2015.

BEN MAMOU, C.; GAMACHE, K.; NADER, K. NMDA receptors are critical for unleashing consolidated auditory fear memories. *Nature Neuroscience*, v. 9, p. 1237-1239, 2006.

BERARDI, A.; TREZZA, V.; CAMPOLONGO, P. Modeling specific phobias and posttraumatic stress disorder in rodents: the challenge to convey both cognitive and emotional features. *Reviews in the Neurosciences*, v. 23, n. 5-6, p. 645-657, 2012.

BERGADO-ACOSTA, J. R.; SANGHA, S.; NARAYANAN, R.T., OBATA, K.; PAPE, H.; STORK, O. Critical role of the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase in consolidation and generalization of Pavlovian fear memory. *Learning and Memory*, v. 15, p. 163-171, 2008.

BERGAMASCHI, M. M.; QUEIROZ, R. H.; ZUARDI, A. W.; CRIPPA, J. A. Safety and side effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent. *Current Drug Safety*, v. 6, n. 4, p. 237-249, 2011.

BERRIDGE, C. W.; SPENCER, R. C. Differential cognitive actions of norepinephrine  $\alpha_2$  and  $\alpha_1$  receptor signaling in the prefrontal cortex. *Brain Research* (Online), 2015.

BIRNBAUM, S. G.; GOBESKE, K. T.; AUERBACH, J.; TAYLOR, J. R.; ARNSTEN, A. F. T. A role for norepinephrine in stress-induced cognitive deficits: Alpha-1-adrenoceptor mediation in prefrontal cortex. *Biological Psychiatry*, v. 46, p. 1266-1274, 1999.

BITENCOURT, R. M.; PAMPLONA, F. A.; TAKAHASHI, R. N. Facilitation of contextual fear memory extinction and anti-anxiogenic effects of AM404 and cannabidiol in conditioned rats. *European Journal of Neuroscience*, v. 18, p. 849-859, 2008.

BLANCHARD, E. B.; KOLB, L. C.; PRINS, A.; GATES, S.; MCCOY, G. C. Changes in plasma norepinephrine to combat-related stimuli among Vietnam veterans with posttraumatic stress disorder. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, v. 179, p. 371-373, 1991.

BLECHERT, J.; MICHAEL, T.; VRIENDS, N.; MARGRAF, J.; WILHELM, F. H. Fear conditioning in posttraumatic stress disorder: evidence for delayed extinction of autonomic, experiential, and behavioural responses. *Behavior Research and Therapy*, v. 45, p. 2019-2033, 2007.

BLISS, T. V.; COLLINGRIDGE, G. L. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, v. 361, n.6047, p. 31-39, 1993.

BLISS, T. V. P.; LØMO, T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, v. 232, n.2, p. 331-356, 1973.

BOCCIA, M. M.; BLAKE, M. G.; ACOSTA, G. B.; BARATTI, C. M. Post-retrieval effects of icv infusions of hemicholinium in mice are dependent on the age of the original memory. *Learning and Memory*, v. 13, p. 376-381, 2006.

BORGES, J. L. *Collected Fictions*. Toronto, Canada: Penguin Group, 1998.

BUCHERELLI, C.; TASSONI, G. Engram activation reinstates the susceptibility of consolidated memory traces to retrograde-amnesia by

functional blockade of parabrachial nuclei. *Behavioural Brain Research*, v. 51, p. 61-65, 1992.

BOS, M. G.; BECKERS, T.; KINDT, M. Noradrenergic blockade of memory reconsolidation: a failure to reduce conditioned fear responding. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v.8,n. 412, 2014.

BROZOSKI, T.; BROWN, R. M.; ROSVOLD, H. E.; GOLDMAN, P. S. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science*, v. 205, p. 929-931, 1979.

BROWN, S. L.; CHARNEY, D. S.; WOODS, S. W.; HENINGER, G. R.; TALLMAN, J. Lymphocyte  $\beta$ -adrenergic receptor binding in panic disorder. *Psychopharmacology*, v. 94, n. 1, p. 24-28, 1988.

BROZOSKI, T.; BROWN, R. M.; ROSVOLD, H. E.; GOLDMAN, P. S. Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. *Science*, v. 205, p. 929-931, 1979.

BURKE, A.; HEUER, F.; REISBERG, D. Remembering emotional events. *Memory & Cognition*, v. 20, n. 3, p. 277-290, 1992.

BUSH, D. E.; CAPAROSA, E. M.; GEKKER, A.; LEDOUX, J. Beta-adrenergic receptors in the lateral nucleus of the amygdala contribute to the acquisition but not the consolidation of auditory fear conditioning. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 4, 2010.

BUSTOS, S. G.; MALDONADO, H.; MOLINA, V. A. Disruptive effect of midazolam on fear memory reconsolidation: decisive influence of reactivation time span and memory age. *Neuropsychopharmacology*, v. 34, n. 2, p. 446-457, 2009.

BUSTOS, S. G.; GIACHERO, M.; MALDONADO, H.; MOLINA, V. A. Previous stress attenuates the susceptibility to Midazolam's disruptive effect on fear memory reconsolidation: influence of pre-reactivation D-cycloserine administration. *Neuropsychopharmacology*, v. 35, n. 5, p. 1097-1080, 2010.

BYLUND, D. B. Receptors for norepinephrine and signal transduction pathways. In: ORDWAY GA, SCHWARTZ MA, FRAZER A (Eds.).

Brain Norepinephrine: Neurobiology and Therapeutics. New York: Cambridge University Press, p.105-130, 2007.

CAHILL, L.; PHAM, C.A.; SETLOW, B. Impaired memory consolidation in rats produced with beta-adrenergic blockade. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 74, n. 3, p.259-266, 2000.

CAHILL, L.; PRINS, B.; WEBER, M.; MCGAUGH, J. L. Beta-adrenergic activation and memory for emotional events. *Nature*, v. 371, p. 702-704, 1994.

CAIN, C. K.; MAYNARD, G. D.; KEHNE, J. H. Targeting memory processes with drugs to prevent or cure PTSD. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, v. 21, p. 1323-1350, 2012.

CAJAL, S.R. La fine structure des centres nerveux. Londres: Proceedings of the Royal Society of London, 1894.

CAMMAROTA, M.; BEVILAQUA, L.R.; MEDINA, J.H.; IZQUIERDO, I. Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learning and Memory*, v. 11, p. 572-578, 2004.

CAMPOS, A. C.; MOREIRA, F. A.; GOMES, F. V.; DEL BEL, E. A.; GUIMARÃES, F. S. Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, v. 367, n. 1607, p. 3364-3378, 2012.

CANAL, C.; STUTZ, S. J.; GOLD, P. E. Glucose injections into the hippocampus or striatum of rats prior to Tmaze training: modulation of learning rates and strategy selection. *Learning and Memory*, v. 12, p. 367-374, 2005.

CARBALLO-MÁRQUEZ, A.; VALE-MARTÍNEZ, A.; GUILLAZO-BLANCH, G.; TORRAS GARCIA, M.; BOIX-TRELIS, N.; MARTÍ-NICOLOVIUS, M. Differential effects of muscarinic receptor blockade in prelimbic cortex on acquisition and memory formation of an odor-reward task. *Learning and Memory*, v. 14, n. 9, p. 616-624, 2007.

CAREAGA, M. B. L.; TIBA, P. A.; OTA, S. M.; SUCHECKI, D. Pre-test metyrapone impairs memory recall in fear conditioning tasks: lack



of interaction with  $\beta$ -adrenergic activity. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 9, n. 51, 2015.

CARR, D. B.; ANDREWS, G. D.; GLEN, W. B.; LAVIN, A.  $\alpha$ 2-Noradrenergic receptors activation enhances excitability and synaptic integration in rat prefrontal cortex pyramidal neurons via inhibition of HCN currents. *The Journal of Physiology*, v. 584, n. 2, p. 437-450, 2007.

CHA, J.; GREENBERG, T.; CARLSON, J. M.; DEDORA, D. J.; HAJCAK, G.; MUJICA-PARODI, L. R. Circuit-Wide Structural and Functional Measures Predict Ventromedial Prefrontal Cortex Fear Generalization: Implications for Generalized Anxiety Disorder. *The Journal of Neuroscience*, v. 34, n. 11, p. 4043-4053, 2014.

CHANDLER, D. J. Evidence for a specialized role of the locus coeruleus noradrenergic system in cortical circuitries and behavioral operations. *Brain Research (Online)*, 2015.

CHANDLER, D. J.; GAO, W. J.; WATERHOUSE, B. D. Heterogeneous organization of the locus coeruleus projections to prefrontal and motor cortices. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 111, n. 18, p. 6816-6821, 2014.

CHEN, C. C.; WILLIAMS, C. L. Interactions between epinephrine, ascending vagal fibers, and central noradrenergic systems in modulating memory for emotionally arousing events. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 6, n. 35, 2012.

CHOI, D. C.; GOURLEY, S. L.; RESSLER, K. J. Prelimbic BDNF and TrkB signaling regulates consolidation of both appetitive and aversive emotional learning. *Translational Psychiatry*, v. 2, 2012.

CLARK, K. L.; NOUDOOST, B. The role of prefrontal catecholamines in attention and working memory. *Frontiers in Neural Circuits (Online)*, 2014.

COLE, B. J.; ROBBINS, T. W. Dissociable effects of lesions to the dorsal or ventral noradrenergic bundle on the acquisition, performance, and extinction of aversive conditioning. *Behavioral Neuroscience*, v. 101, n. 4, p. 476-488, 1987.

COSTA-NUNES, J.; ZUBAREVA, O.; ARAÚJO-CORREIA, M.; VALENÇA, A.; SCHROETER, C. A.; PAWLUSKI, J. L.; VIGNISSE, J.; STEINBUSCH, H.; HERMES, D.; PHILLIPINES, M.; STEINBUSCH, H. M.; STREKALOVA, T. Altered emotionality, hippocampus-dependent performance and expression of NMDA receptor subunit mRNAs in chronically stressed mice. *Stress*, v. 17, n. 1, p. 108-116, 2014.

COULL, J. T.; BUCHEL, C.; FRISTON, K. J.; FRITH, C. D. Noradrenergically mediated plasticity in a human attentional neuronal network. *Neuroimage*, v. 10, p. 705-715, 1999.

COHEN, H.; BENJAMIN, J.; GEVA, A. B.; MATAR, M. A.; KAPLAN, Z.; KOTLER, M. Autonomic dysregulation in panic disorder and in post-traumatic stress disorder: application of power spectrum analysis of heart rate variability at rest and in response to recollection of trauma or panic attacks. *Psychiatry Research*, v. 96, n. 1, p. 1-13, 2000.

COTECCHIA, S.; STANASILA, L.; DIVIANI, D. Protein-Protein Interactions at the Adrenergic Receptors. *Current Drug Targets*, v. 13, n. 1, p. 15-27, 2012.

COURTIN, J.; BIENVENU, T. C.; EINARSSON, E. Ö.; HERRY, C. Medial prefrontal cortex neuronal circuits in fear behavior. *Neuroscience*, v. 240, p. 219-242, 2013.

DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurones in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurones. *Acta Physiologica Scandinavica*, v. 62, p. 1-55, 1964.

DASH, P. K.; MOORE, A. N.; KOBORI, N.; RUNYAN, J. D. Molecular activity underlying working memory. *Learning and Memory*, v. 14, n. 8, p. 554-563, 2007.

DASKALAKIS, N. P.; YEHUDA, R.; DIAMOND, D. M. Animal models in translational studies of PTSD. *Psychoneuroendocrinology*, v. 38, n. 9, p. 1895-1911, 2013.

DAVIS, S.; BLISS, T. V. P.; DUTRIEUX, G.; LAROCHE, S.; ERRINGTON, M. L. Induction and duration of long-term potentiation in the hippocampus of the freely moving mouse. *Journal of Neuroscience Methods*, v.75, p. 75-80, 1997.

DE DIEGO, A.M.; GANDÍA, L.; GARCÍA, A.G. A physiological view of the central and peripheral mechanisms that regulate the release of catecholamines at the adrenal medulla. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, v. 192, n. 2, p. 287-301, 2008.

DE LA FUENTE, V.; FREUDENTHAL, R.; ROMANO, A. Reconsolidation or Extinction: Transcription Factor Switch in the Determination of Memory Course after Retrieval. *The Journal of Neuroscience*, v. 31, n. 15, p. 5562-5573, 2011.

DE QUERVAIN, D. J.; KOLASSA, I. T.; ERTL, V.; ONYUT, P. L.; NEUNER, F.; ELBERT, T.; PAPASSOTIROPOULOS, A. A deletion variant of the alpha2b-adrenoceptor is related to emotional memory in Europeans and Africans. *Nature Neuroscience*, v. 10, n. 9, p. 1137-1139, 2007.

DEBIEC, J. Memory reconsolidation processes and posttraumatic stress disorder: promises and challenges of translational research. *Biological Psychiatry*, v. 71, n. 4, p. 284-285, 2012.

DEBIEC, J.; BUSH, D. E.; LEDOUX, J. E. Noradrenergic enhancement of reconsolidation in the amygdala impairs extinction of conditioned fear in rats--a possible mechanism for the persistence of traumatic memories in PTSD. *Depression and Anxiety*, v. 28:, p. 86-193, 2011.

DEBIEC, J.; LEDOUX, J. E. Disruption of reconsolidation but not consolidation of auditory fear conditioning by noradrenergic blockade in the amygdala. *Neuroscience*, v. 129, n. 2, 267-272, 2004.

DESMEDT, A.; MARIGHETTO, A.; PIAZZA, P. V. Abnormal Fear Memory as a Model for Posttraumatic Stress Disorder. *Biological Psychiatry*, v. 78, n. 5, p. 290-297, 2015.

DEVAUGES, V.; SARA, S. J. Memory retrieval enhancement by locus coeruleus stimulation: evidence for mediation by beta receptors. *Behavioral Brain Research*, v. 43, p. 93-97, 1991.

DEVINSKY, O.; CILIO, M. R.; CROSS, H.; FERNANDEZ-RUIZ, J.; FRENCH, J.; HILL, C.; KATZ, R.; DI MARZO, V.; JUTRAS-ASWAD, D.; NOTCUTT, W. G.; MARTINEZ-ORGADO, J.; ROBSON, P. J.; ROHRBACK, B. G.; THIELE, E.; WHALLEY, B.; FRIEDMAN, D. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. *Epilepsia*, v. 55, n. 6, p. 791-802, 2014.

DEVITO, L. M.; LYKKEN, C.; KANTER, B. R.; EICHENBAUM, H. Prefrontal cortex: role in acquisition of overlapping associations and transitive inference. *Learning and Memory*, v. 17, n.3, p. 161-167, 2010.

DO-MONTE, F. H.; ALLENSWORTH, M.; CAROBREZ, A. P. Impairment of contextual conditioned fear extinction after microinjection of alpha-1-adrenergic blocker prazosin into the medial prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, v. 211, p. 89-95, 2010.

DO-MONTE, F. H.; KINCHESKI, G. C.; PAVESI, E.; SORDI, R.; ASSREUY, J.; CAROBREZ, A. P. Role of beta-adrenergic receptors in the ventromedial prefrontal cortex during contextual fear extinction in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 94, n. 3, p. 318-328, 2010.

DO-MONTE, F. H.; QUIÑONES-LARACUENTE, K.; QUIRK, G. J. A temporal shift in the circuits mediating retrieval of fear memory. *Nature*, v. 519, n. 7544, p. 460-463, 2015.

DO MONTE, F. H.; SOUZA, R. R.; WONG, T. T.; CAROBREZ, A. de P. Systemic or intra-prelimbic cortex infusion of prazosin impairs fear memory reconsolidation. *Behavioural Brain Research*, v. 244, p. 137-141, 2013.

DOUGLAS, R. J.; MARTIN, K. A. Neuronal circuits of the neocortex. *Annual Review of Neuroscience*, v. 27, n. 419, p. 419-451, 2004.

DOZE, V. A.; PAPAY, R. S.; GOLDENSTEIN, B. L.; GUPTA, M. K.; COLLETTE, K. M.; NELSON, B. W.; LYONS, M. J.; DAVIS, B. A.;

LUGER, E. J.; WOOD, S. G.; HASELTON, J. R.; SIMPSON, P. C.; PEREZ, D. M. Long-term  $\alpha$ 1A-adrenergic receptor stimulation improves synaptic plasticity, cognitive function, mood, and longevity. *Molecular Pharmacology*, v. 80, n. 4, p. 747-758, 2011.

DUDAI, Y. Memory from A to Z: keywords, concepts, and beyond. *Oxford University Press*, v. 12, p. 211-2016, 2002.

DUDAI, Y. The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annual Review of Psychology*, v. 55, p. 51-86, 2004.

DUDAI, Y. The restless engram: consolidations never end. *Annual Review of Neuroscience*, v. 35, p. 227-247, 2012.

DUDAI, Y.; EISENBERG, M. Rites of passage of the engram: reconsolidation and the lingering consolidation hypothesis. *Neuron*, v. 44, n. 1, p. 93-100, 2004.

DUNSMOOR, J. E.; MITROFF, S. R.; LABAR, K. S. Generalization of conditioned fear along a dimension of increasing fear intensity. *Learning and Memory*, v. 16, n. 7, p. 460-469, 2009.

DUNSMOOR, J. E.; PAZ, R. Fear Generalization and Anxiety: Behavioral and Neural Mechanisms. *Biological Psychiatry*, v. 78, n. 5, p. 336-343, 2015.

DUNSMOOR, J. E.; PRINCE, S. E.; MURTY, V. P.; KRAGEL, P. A.; LABAR, K. S. Neurobehavioral mechanisms of human fear generalization. *Neuroimage*, v. 55, n. 4, p. 1878-1888, 2011.

EGAN, T. M.; HENDERSON, G.; NORTH, R. A.; WILLIAMS, J. T. Noradrenaline-mediated synaptic inhibition in rat locus coeruleus neurones. *The Journal of Physiology*, v. 345, p. 477-488, 1983.

EHLERS, M. D. Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin–proteasome system. *Nature Neuroscience*, v. 6 p. 231-242, 2003.

EINARSSON, E. O.; NADER, K. Involvement of the anterior cingulate cortex in formation, consolidation, and reconsolidation of recent and

remote contextual fear memory. *Learning and Memory*, v. 19, p. 449–452, 2012.

EINARSSON, E. Ö.; PORS, J.; NADER, K. Systems reconsolidation reveals a selective role for the anterior cingulate cortex in generalized contextual fear memory expression. *Neuropsychopharmacology*, v. 40, n. 2, p. 480-487, 2015.

EISENBERG, M.; DUDAI, Y. Reconsolidation of fresh, remote, and extinguished fear memory in Medaka: old fears don't die. *European Journal of Neuroscience*, v. 20, p. 3397-3403, 2004.

EISENBERG, M.; KOBILO, T.; BERMAN, D.E.; DUDAI, Y. Stability of retrieved memory: inverse correlation with trace dominance. *Science*, v. 301, p. 1102-1104, 2003.

EUSTON, D. R.; GRUBER, A. J.; MCNAUGHTON, B. L. The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, v. 76, n. 6, p. 1057-1070, 2012.

FELTEN, D. L.; SLADEK, J. R. Monoamine distribution in primate brain. V. Monoaminergic nuclei: Anatomy, pathways and local organization. *Brain Research Bulletin*, v. 10, p. 171-284, 1983.

FERRY, B.; MCGAUGH, J. L. Clenbuterol administration into the basolateral amygdala post-training enhances in an inhibitory avoidance task. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 72, p. 8-12, 1999.

FERRY, B.; PARROT, S.; MARIEN, M.; LAZARUS, C.; CASSEL, J. C.; MCGAUGH, J. L. Noradrenergic influences in the basolateral amygdala on inhibitory avoidance memory are mediated by an action on  $\alpha 2$ -adrenoceptors. *Psychoneuroendocrinology*, v. 51, p. 68-79, 2015.

FERRY, B.; ROOZENDAAL, B.; MCGAUGH, J. L. Involvement of alpha1-adrenoceptors in the basolateral amygdala in modulation of memory storage. *European Journal of Pharmacology*, v. 372, p. 9-16, 1999a.

FERRY, B.; ROOZENDAAL, B.; MCGAUGH, J. L. Basolateral amygdala noradrenergic influences on memory storage are mediated by

an interaction between beta- and alpha1-adrenoceptors. *The Journal of Neuroscience*, v. 19, p. 5119-5123, 1999b.

FITZGERALD, P. J.; GIUSTINO, T. F.; SEEMANN, J. R.; MAREN, S. Noradrenergic blockade stabilizes prefrontal activity and enables fear extinction under stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 112, n. 28, 2015.

FLAVELL, C. R.; LAMBERT, E. A.; WINTERS, B. D.; BREDY, T.W. Mechanisms governing the reactivation dependent destabilization of memories and their role in extinction. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 7, n. 214, 2013.

FOGAÇA, M. V.; REIS, F. M.; CAMPOS, A. C.; GUIMARAES, F. S. Effects of intra-prelimbic prefrontal cortex injection of cannabidiol on anxiety-like behavior: involvement of 5HT1A receptors and previous stressful experience. *European Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 24, n. 3, p. 410-419, 2014.

FRANKLAND, P. W.; DING, H. K.; TAKAHASHI, E.; SUZUKI, A.; KIDA, S.; SILVA, A. J. Stability of recent and remote contextual fear memory. *Learning and Memory*, v. 13, p. 451-457, 2006.

FUSTER, J. M. The prefrontal cortex. Londres: Elsevier, 2008.

GABBOTT, P. L.; WARNER, T. A.; JAYS, P. R.; BACON, S. J. Areal and synaptic interconnectivity of prelimbic (area 32), infralimbic (area 25) and insular cortices in the rat. *Brain Research*, v. 993, n. 1-2, p. 59-71, 2003.

GABBOTT, P. L.; WARNER, T; A.; JAYS, P. R.; SALWAY, P.; BUSBY, S. J. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of Comparative Neurology*, v. 492, n. 2, p. 145-177, 2005.

GAZARINI, L.; STERN, C. A.; CAROBREZ, A. P.; BERTOGLIO, L. J. Enhanced noradrenergic activity potentiates fear memory consolidation and reconsolidation by differentially recruiting  $\alpha$ 1- and  $\beta$ -adrenergic receptors. *Learning and Memory*, v. 20, n. 4, p. 210-219, 2013.

GAZARINI, L.; STERN, C. A.; PIORNEDO, R. R.; TAKAHASHI, R. N.; BERTOGLIO, L. J. PTSD-like memory generated through enhanced noradrenergic activity is mitigated by a dual step pharmacological intervention targeting its reconsolidation. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 18, n. 1, 2014.

GERACIOTI, T. D.; BAKER, D. G.; EKHATOR, N. N.; WEST, S. A.; HILL, K. K.; BRUCE, A. B.; SCHMIDT, D.; ROUNDS-KUGLER, B.; YEHUDA, R.; KECK, P. E.; KASCKOW, J. W. CSF norepinephrine concentrations in posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, v. 158, p. 1227-1230, 2001.

GIBBS, M. E.; HUTCHINSON, D. S.; SUMMERS, R. J. Noradrenaline release in the locus coeruleus modulates memory formation and consolidation; roles for  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic receptors. *Neuroscience*, v. 170, n. 4, p. 1209-1222, 2010.

GILBERTSON, M. W.; MILAD, M. R.; Liberzon, I. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 13, p. 769–787, 2012.

GILMARTIN, M. R.; BALDERSTON, N. L.; HELMSTETTER, F. J. Prefrontal cortical regulation of fear learning. *Trends in Neuroscience*, v. 37, n. 8, p. 455-464, 2014.

GHOSH, S.; CHATTARJI, S. Neuronal encoding of the switch from specific to generalized fear. *Nature Neuroscience*, v. 18, p. 112-120, 2015.

GOLD, P. E. Regulation of memory – From the adrenal medulla to liver to astrocyte neurons. *Brain Research Bulletin*, p. 25-35, 2014.

GOLD, P. E.; VAN BUSKIRK, R. Posttraining brain norepinephrine concentrations: correlation with retention performance of avoidance training and with peripheral epinephrine modulation of memory processing. *Behavioral Biology*, v. 23, p. 509-520, 1978.

GOLD, P. E.; VAN BUSKIRK, R. B. Facilitation of time-dependent memory processes with posttrial epinephrine injections. *Behavioral Biology*, v. 13, p. 145-153, 1975.



GOLDMAN-RAKIC, P. S.; LIDOW, M. S.; GALLAGER, D. W. Overlap of dopaminergic, adrenergic, and serotonergic receptors and complementarity of their subtypes in primate prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, v. 10, p. 2125-2125, 1990.

GONZALEZ, C.; KRAMAR, C.; GARAGOLI, F.; ROSSATO, J. I.; WEISSTAUB, N.; CAMMAROTA, M.; MEDINA, J. H.. Medial prefrontal cortex is a crucial node of a rapid learning system that retrieves recent and remote memories. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 103, p. 19-25, 2013.

GRAY, R.; JOHNSTON, D. Noradrenaline and beta-adrenoceptor agonists increase activity of voltage-dependent calcium channels in hippocampal neurons. *Nature*, v. 327, p.620-622,1987.

GREEN, B. Prazosin in the treatment of PTSD. *Journal of Psychiatric Practice*, v.20, n. 4, p. 253-259, 2014.

GREENBERG, T.; CARLSON, J. M. CHA, J.; HAJCAK, G.; MUJICA-PARODI, L. R. Ventromedial prefrontal cortex reactivity is altered in generalized anxiety disorder during fear generalization. *Depression and anxiety*, v. 30, p. 242-250, 2013.

GROSS, C. T.; CANTERAS, N. S. The many paths to fear. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 13, n. 9, p. 651-658, 2012.

GURGUIS, G. N.; ANDREWS, R.; ANTAI-OTONG, D.; VO, S. P.; BLAKELEY, J. E.; ORSULAK, P. J.; RUSH, A. J. Neutrophil beta2-adrenergic receptor coupling efficiency to Gs protein in subjects with post-traumatic stress disorder and normal controls. *Psychopharmacology*, v. 143, n. 2, p. 131-140, 1999a.

GURGUIS, G. N.; ANDREWS, R.; ANTAI-OTONG, D.; VO, S. P.; DIKIS, E. J.; ORSULAK, P. J.; RUSH, A. J. Platelet alpha2-adrenergic receptor coupling efficiency to Gi protein in subjects with post-traumatic stress disorder and normal controls. *Psychopharmacology*, v. 141, n. 3, p. 733-737, 1999b.

HAAS, H. L.; KONNERTH, A. Histamine and noradrenaline decrease calcium-activated potassium conductance in hippocampal pyramidal cells. *Nature*, v. 320, p. 432-434, 1983.

HALL, J. L.; GOLD, P; E. The effects of training, epinephrine, and glucose injections on plasma glucose levels in rats. *Behavioral Neural Biology*, v. 46,156-176, 1986.

HAMANN, S. Cognitive and neural mechanisms of emotional memory. *Trends in Cognitive Sciences*, v. 5, n. 9, p.394-400, 2001.

HARDT, O.; EINARSSON, E.O.; NADER, K. A bridge over troubled water: reconsolidation as a link between cognitive and neuroscientific memory research traditions. *Annual Review of Psychology*, v. 61, p. 141-167, 2010.

HARDT, J. L.; NADER, K.; NADEL, L. Decay happens: the role of active forgetting in memory. *Trends in Cognitive Sciences*, v. 17, n. 3, p. 111-120, 2013.

HARLEY, C. W. A role for norepinephrine in arousal, emotion and learning?: limbic modulation by norepinephrine and the Kety hypothesis. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 11, p. 419-458, 1987.

HARLEY, C. W. Norepinephrine and the dentate gyrus. *Progress in Brain Research*, v. 163, p. 299-318, 2007.

HAYES, J. P.; HAYES, S. M.; MIKEDIS, A. M. Quantitative meta-analysis of neural activity in posttraumatic stress disorder. *Biology of Mood and Anxiety Disorders*, v. 2, n. 9, 2012.

HEIDBREDER, C. A.; GROENEWEGEN, H. J. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, v. 27, n. 6, p. 555-579, 2003.

HENDRIKSEN, H.; OLIVIER, B.; OOSTING, R. S. From non-pharmacological treatments for post-traumatic stress disorder to novel therapeutic targets. *European Journal of Pharmacology*, v. 732, p. 139-158, 2014.

HERRY, C.; JOHANSEN, J. P. Encoding of fear learning and memory in distributed neuronal circuits. *Nature Neuroscience*, v. 17, n. 12, p. 1644-1654, 2014.

HOFMANN, S. G.; OTTO, M. W.; POLLACK, M. H.; SMITS, J. A. D-cycloserine augmentation of cognitive behavioral therapy for anxiety disorders: an update. *Current Psychiatry Reports*, v. 17, n. 1, p. 532, 2015.

HOLLOWAY, C. M.; MCINTYRE, C. K. Post-training disruption of Arc protein expression in the anterior cingulate cortex impairs long-term memory for inhibitory avoidance training. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 95, n.4, p. 425-432, 2011.

HONG, I.; KIM, J.; KIM, J.; LEE, S.; KO, H.G.; NADER, K.; KAANG, B. K.; TSIEN, R. W.; CHOI, S. AMPA receptor exchange underlies transient memory destabilization on retrieval. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, n. 20, p. 8218-8223, 2013.

HRUSKA, B.; CULLEN, P. K.; DELAHANTY, D. L. Pharmacological modulation of acute trauma memories to prevent PTSD: considerations from a developmental perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 122, p. 122-129, 2014.

HU, H.; REAL, E.; TAKAMIYA, K.; KANG, M. G.; LEDOUX, J.; HUGANIR, R. L.; MALINOW, R. Emotion enhances learning via norepinephrine regulation of AMPA-receptor trafficking. *Cell*, v. 131, n. 5, p. 160-173, 2007.

HUANG, Y. Y.; KANDEL, E. R. Modulation of both the early and the late phase of mossy fiber LTP by the activation of  $\beta$ -adrenergic receptors. *Neuron*, v. 16, p. 611-617, 1996.

HUANG, C. C.; LIN, H. J.; HSU, K. S. Repeated cocaine administration promotes long-term potentiation induction in rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, v. 17, n. 8, p. 1877-1888, 2007.

HUANG, C. C.; TSAI, J. J.; GEAN, P. W. Enhancement of NMDA receptor-mediated synaptic potential by isoproterenol is blocked by Rp-

adenosine 3',5'-cyclic monophosphothioate. *Neuroscience Letters*, v. 161, p. 207-210, 1993.

IZQUIERDO, L. A.; VIANNA, M.; BARROS, D. M.; MELLO E SOUZA, T.; ARDENGHI, P.; SANT'ANNA, M. K.; RODRIGUES, C.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I. Short- and long-term memory are differentially affected by metabolic inhibitors given into hippocampus and entorhinal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 73, n. 2, p. 141-149, 2000.

IZZO, A. A.; BORRELLI, F.; CAPASSO, R.; DI MARZO, V.; MECHOULAM, R. Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 30, p.515-527, 2009.

JACOBOWITZ, D. M.; MACLEAN, P.D. A brainstem atlas of catecholaminergic neurons and serotonergic perikarya in a pygmy primate (*Cebuella pygmaca*). *Journal of Comparative Neurology*, v. 177, p.397-416, 1978.

JAMES, W. *The Principles of Psychology*. New York: Holt, 1890.

JANAK, P. H.; TYE, K. M. From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature*, v. 517, n. 7534, p. 284-292, 2015.

JIANG, B.; WANG, W.; WANG, F.; HU, Z. L.; XIAO, J. L.; YANG, S.; ZHANG, J.; PENG, X. Z.; WANG, J. H.; CHEN, J. G. The stability of NR2B in the nucleus accumbens controls behavioral and synaptic adaptations to chronic stress. *Biological Psychiatry*, v. 74, n. 2, p. 145-155, 2013.

JOËLS, M.; FERNANDEZ, G.; ROOZENDAAL, B. Stress and emotional memory: a matter of timing. *Trends in Cognitive Sciences*, v. 15, n. 6, p. 280-288, 2011.

JOHANSEN, J. P.; CAIN, C.K; OSTROFF, L. E.; LEDOUX, J. E. Molecular mechanisms of fear learning and memory. *Cell*, v. 147, n. 3, p. 509-524, 2011.

JOSSELYN, S. A.; KÖHLER, S.; FRANKLAND, P. W. Finding the engram. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 15, p. 521-524, 2015.

JOYCE, J. N.; LEXOW, N.; KIM, S. J.; ARTYMYSHYN, R.; SENZON, S.; LAWRENCE, D.; CASSANOVA, M. F.; KLEINMAN, J. E.; BIRD, E. D.; WINOKUR, A. Distribution of beta-adrenergic receptor subtypes in human post-mortem brain: alterations in limbic regions of schizophrenics. *Synapse*, v. 10, n. 3, p. 228-246, 1992.

JUDGE, M. E.; QUARTERMAIN, D. Characteristics of retrograde amnesia following reactivation of memory in mice. *Physiology & Behavior*, v. 28, p. 585-590, 1982.

KAANG, B. K.; CHOI, J. H. Protein Degradation during Reconsolidation as a Mechanism for Memory Reorganization. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 5, n. 2, 2011.

KALK, N. J.; NUTT, D. J.; LINGFORD-HUGHES, 2011. The role of central noradrenergic dysregulation in anxiety disorders: evidence from clinical studies. *Journal of Psychopharmacology*, v. 25, n. 1, p. 3-16, 2011.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. The Molecular and Systems Biology of Memory. *Cell*, v. 157, p.163-186 2014.

KANG, E. H.; YU, B. H. Anxiety and beta-adrenergic receptor function in a normal population. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, v. 29, n. 5, p. 733-737, 2005.

KAOUANE, N.; PORTE, Y.; VALLÉE, M.; BRAYDA-BRUNO, L.; MONS, N.; CALANDREAU, L.; MARIGHETTO, A.; PIAZZA, P. V.; DESMEDT, A. Glucocorticoids can induce PTSD-like memory impairments in mice. *Science*, v. 335, n. 6075, p. 1510-1513, 2012.

KATCHE, C.; BEKINSCHTEIN, P.; SLIPCZUK, L.; GOLDIN, A.; IZQUIERDO, I. A.; CAMMAROTA, M; MEDINA, J. H. Delayed wave of c-Fos expression in the dorsal hippocampus involved specifically in persistence of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 107, n. 1, p.349-354, 2010.

KIM, J.; LEE, S.; PARK, K.; HONG, I.; SONG, B.; SON, G.; PARK, H.; KIM, W. R.; PARK, E.; CHOE, H. K.; KIM, H.; LEE, C.; SUN, W.;

KIM, K.; SHIN, K. S.; CHOI, S. Amygdala depotentiation and fear extinction. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 104, n. 52, p. 20955-20960, 2007.

KLUMPERS, F.; DENYS, D.; KENEMANS, J. L.; GRILLON, C.; VAN DER AART, J.; BAAS, J. M. Testing the effects of  $\Delta^9$ -THC and D-cycloserine on extinction of conditioned fear in humans. *Journal of Psychopharmacology*, v. 26, n. 4, p. 471-478, 2012.

KNIERIM, J. J.; LEE, I.; HARGREAVES, E. L. Hippocampal place cells: parallel input streams, subregional processing, and implications for episodic memory. *Hippocampus*, v. 16, n. 9, p. 755-764, 2006.

KNOX, D.; GEORGE, S. A.; FITZPATRICK, C. J.; RABINAK, C. A.; MAREN, S.; LIBERZON, I. Single prolonged stress disrupts retention of extinguished fear in rats. *Learning and Memory*, v. 19 n. 2, p. 43-49, 2012.

KOPF, S. R.; BARATTI, C. M. Effects of posttraining administration of glucose on retention of a habituation response in mice: participation of a central cholinergic mechanism. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 65, p. 253-260, 1996.

KORZUS, E. Prefrontal Cortex in Learning to Overcome Generalized Fear. *Journal of Experimental Neuroscience*, v. 9, p. 53-56, 2015.

KOSTEN, T. R.; MASON, J. W.; GILLER, E. L.; OSTROFF, R. B.; HARKNESS, L. Sustained urinary norepinephrin and epinephrine elevation in post-traumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*, v. 12, p. 13-20, 1987

KREMEN, W. S.; KOENEN, K. C.; AFARI, N.; LYONS, M. J. Twin studies of posttraumatic stress disorder: differentiating vulnerability factors from sequelae. *Neuropharmacology*, v. 62, n. 2, p. 647-653, 2012.

KROON, J. A.; CAROBREZ, A. P. Olfactory fear conditioning paradigm in rats: Effects of midazolam, propranolol or scopolamine. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 91, p. 32-40, 2009.

LABAR, K. S.; CABEZA, R. Cognitive neuroscience of emotional memory. *Nature Reviews Neuroscience*, v.7, n. 1, p. 54-64, 2006.

LAROCHE, S.; JAY, T. M.; THIERRY, A. M. Long-term potentiation in the prefrontal cortex following stimulation of the hippocampal CA1/subicular region. *Neuroscience letters*, v. 114, n. 2, p. 184-190, 1990.

LAURENT, V.; WESTBROOK, R. F. Inactivation of the infralimbic but not the prelimbic cortex impairs consolidation and retrieval of fear extinction. *Learning and Memory*, v. 16, n. 9, p. 520-529, 2009.

LAZZARO, S. C.; HOU, M.; CUNHA, C.; LEDOUX, J. E.; CAIN, C. K. Antagonism of lateral amygdala alpha1-adrenergic receptors facilitates fear conditioning and long-term potentiation. *Learning and Memory*, v. 17, n. 10, p. 489-493, 2010.

LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, v. 23, p. 155-184, 2000.

LEDOUX, J. E. Coming to terms with fear. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, v. 111, n. 8, p. 2871-2878, 2014.

LEE, J. L. Memory reconsolidation mediates the updating of hippocampal memory content. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, v. 4, n. 168, 2010.

LEE, J. L. Reconsolidation: maintaining memory relevance. *Trends in Neuroscience*, v. 32, n. 8, p. 413-420, 2009.

LEE, J. L.; FLAVELL, C. R. Inhibition and enhancement of contextual fear memory destabilization. *Frontiers in Behavioral Neurosciences*, v. 8, n. 144, p. 1-9, 2014.

LEE, S. H.; CHOI, J. H.; LEE, N.; LEE, H. R.; KIM, J. I.; YU, N. K.; CHOI, S. L.; LEE, S. H.; KIM, H.; KAANG, B. K. Synaptic protein degradation underlies destabilization of retrieved fear memory. *Science*, v. 319, n. 5867, p. 1253-1256, 2008.

LEE, W. E.; WADSWORTH, M. E. J.; HOTOPF, M. The protective role of trait anxiety: a longitudinal cohort study. *Psychological Medicine*, v. 36, n. 3, p. 345-351, 2006.

LEE, Y. A.; GOTO, Y. Chronic stress modulation of prefrontal cortical NMDA receptor expression disrupts limbic structure-prefrontal cortex interaction. *European Journal of Neuroscience*, v. 34, n. 3, p. 426-436, 2011.

LEE; J. L.; EVERITT, B. J.; THOMAS, K. L. Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science*, v. 304, n. 5672, p. 839-843, 2004.

LEMONS, J. I.; RESSTEL, L. B.; GUIMARAES, F. S. Involvement of the prelimbic prefrontal cortex on cannabidiol-induced attenuation of contextual conditioned fear in rats. *Behavioral Brain Research*, v. 207, n. 1, p. 105-111, 2010.

LEWIS, D. J.; BERGMAN, N. J. Source of cues for cue-dependent amnesia in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, v. 85, p. 421-426, 1973.

LI, Q.; LIU, X. S.; ZENG, Q. W.; XUE, Q. S.; CAO, X. H.; LIU, J.; REN, Y.; YU, B. W. Post-training intra-basolateral amygdala infusions of norepinephrine block sevoflurane-induced impairment of memory consolidation and activity-regulated cytoskeletal protein expression inhibition in rat hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 96, n. 3, p. 492-497, 2011.

LIBERZON, I.; ABELSON, J. L.; FLAGEL, S. B.; RAZ, J.; YOUNG, E. A. Neuroendocrine and psychophysiologic responses in PTSD: A symptom provocation study. *Neuropsychopharmacology*, v. 21, p. 40-50, 1999.

LIM, E. P.; TAN, C. H.; JAY, T. M.; DAWE, G. S. Locus coeruleus stimulation and noradrenergic modulation of hippocampo-prefrontal cortex long-term potentiation. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 13, p. 1219-1231, 2010.

LIN, J. S.; ANACLET, C.; SERGEEVA, O. A.; HAAS, H. L. The waking brain: an update. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 68, n. 15, p. 2499-2512, 2011.



LIN, C. H.; LEE, C. C.; GEAN, P. W. Involvement of a calcineurin cascade in amygdala depotentiation and quenching of fear memory. *Molecular Pharmacology*, v. 63, n.1, p. 44-52, 2003.

LIN, C. H.; YEH, S. H.; LU, H. Y.; GEAN, P. W. The similarities and diversities of signal pathways leading to consolidation of conditioning and consolidation of extinction of fear memory. *The Journal of Neuroscience*, v. 23, n. 8310–8317, 2003.

LING, D.S. F.; BENARDO, L. S.; SERRANO, P. A.; BLACE, N.; KELLY, M. T.; CRARY, J. F.; SACKTOR, T. C. Protein kinase Mzeta is necessary and sufficient for LTP maintenance. *Nature Neuroscience*, v. 5, n. 4, p. 295-296, 2002.

LØMO, T. The discovery of long-term potentiation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v.358,n.1432, p.617-620, 2003.

LOUGHLIN, S. E.; FOOTE, S. L.; GRZANNA, R. Efferent projections of nucleus locus coeruleus: morphologic subpopulations have different efferent targets. *Neuroscience*, v. 18, p. 307-319, 1986.

LUINE, V.; BOWLING, D.; HEARNS, M. Spatial memory deficits in aged rats: contributions of monoaminergic systems. *Brain Research*, v. 537, p. 271-278, 1990.

LÜSCHER, C.; MALENKA, R. C. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 4, n. 6, 2012.

MAMIYA, N.; FUKUSHIMA, H.; SUZUKI, A.; MATSUYAMA, Z.; HOMMA, S.; FRANKLAND, P. W.; KIDA, S. Brain region-specific gene expression activation required for reconsolidation and extinction of contextual fear memory. *The Journal of Neuroscience*, v. 29, p. 402-413, 2009.

MAEDA, T. The locus coeruleus: history. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, v. 18, n. 1-2, p. 57-64, 2000.

MAGISTRETTI, P. J. Neuron–glia metabolic coupling and plasticity. *Journal of Experimental Biology*, v.209, p. 2304-2311, 2006.

MAITY, S.; RAH, S.; SONENBERG, N.; GKOGKAS, C. G.; NGUYEN, P. V. Norepinephrine triggers metaplasticity of LTP by increasing translation of specific mRNAs. *Learning and Memory*, v. 22, n. 10, p. 499-508, 2015.

MALAN-MÜLLER, S.; FAIRBAIRN, L.; DANIELS, W. M. DASHTI, M. J.; OAKELEY, E. J.; ALTORFER, M.; KIDD, M.; SEEDAT, S.; GAMIELDIEN, J.; HEMMING, S. M. Molecular mechanisms of D-cycloserine in facilitating fear extinction: insights from RNAseq. *Metabolic Brain Disease* (Online), 2015.

MAO, S. C.; LIN, H. C.; GEAN, P. W. Augmentation of fear extinction by D-cycloserine is blocked by proteasome inhibitors. *Neuropsychopharmacology*, v. 33, p. 3085-3095, 2008.

MAREN, S.; PHAN, K. L.; LIBERZON, I. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *Nature reviews Neuroscience*, v. 14, p. 417-428, 2013.

MARZO, A.; BAI, J.; OTANI, S. Neuroplasticity Regulation by Noradrenaline in Mammalian Brain. *Current Neuropharmacology*, v. 7, n. 4, p. 286-295, 2009.

MCCALL, J. G.; AL-HASANI, R.; SIUDA, E. R.; HONG, D. Y.; NORRIS, A. J.; FORD, C. P.; BRUCHAS, M. R. CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety. *Neuron*, v. 87, n. 3, p. 605-620, 2015.

MCGAUGH, J. L. Making lasting memories: Remembering the significant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, p. 10402-10407, 2013.

MCGAUGH, J. L. Memory – a Century of Consolidation. *Science*, v. 287, n. 5451, p. 248-251, 2000.

MCGAUGH, J. L.; ROOZENDAAL, B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 12, n. 2, p. 205-210, 2002.

MCREYNOLDS, J. R.; ANDERSON, K. M.; DONOWHO, K. M.; MCINTYRE, C. K. Noradrenergic actions in the basolateral complex of the amygdala modulate Arc expression in hippocampal synapses and consolidation of aversive and non-aversive memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 115, p. 49-57, 2014.

MERLO, E.; MILTON, A. L.; GOOZÉE, Z. Y.; THEOBALD, D. E.; EVERITT, B. J. Reconsolidation and Extinction Are Dissociable and Mutually Exclusive Processes: Behavioral and Molecular Evidence. *The Journal of Neuroscience*, v. 34, n. 7, p. 2422-2431, 2014.

MESSIER, C. Object recognition in mice: improvement of memory by glucose. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 67, p. 172-175, 1997.

MILAD, M. R.; ORR, S. P.; LASKO, N. B.; CHANG, Y.; RAUCH, S. L.; PITMAN, R. K. Presence and acquired origin of reduced recall for fear extinction in PTSD: Results of a twin study. *Journal of Psychiatric Research*, v. 42, n. 7, p. 515-520, 2008.

MILAD, M. R.; PITMAN, R. K.; ELLIS, C. B.; GOLD, A. L.; SHIN, L. M.; LASKO, N. B.; ZEIDAN, M. A.; HANDWERGER, K.; ORR, S. P.; RAUCH, S. L. Neurobiological Basis of Failure to Recall Extinction Memory in Posttraumatic Stress Disorder. *Biological Psychiatry*, v. 66, n. 12, p. 1075-1082, 2009.

MILAD, M. R.; QUIRK, G. J. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature*, v. 420, n. 6911, p. 70-74, 2002.

MILAD, M. R.; WRIGHT, C. I.; ORR, S. P.; PITMAN, R. K.; QUIRK, G. J.; RAUCH, S. L. Recall of fear extinction in humans activates the ventromedial prefrontal cortex and hippocampus in concert. *Biological Psychiatry*, v. 62, n. 5, p. 446-454, 2007.

MILEKIC, M. H.; ALBERINI, C. M. Temporally graded requirement for protein synthesis following memory reactivation. *Neuron*, v. 36, p. 521-525, 2002.

MILNER, B.; SQUIRE, L. R.; KANDEL, E. Cognitive Neuroscience and the Study of Memory. *Neuron*, v. 20, p. 445-468, 1998.

MILTON, A. L.; MERLO, E.; RATANO, P.; GREGORY, B. L.; DUMBRECK, J.K.; EVERITT, B. J. Double dissociation of the requirement for GluN2B- and GluN2A-containing NMDA receptors in the destabilization and restabilization of a reconsolidating memory. *The Journal of Neuroscience*, v. 33, n. 3, p. 1109-1115, 2013.

MIRANDA, M. A.; FERRY, B.; FERREIRA, G. Basolateral amygdala noradrenergic activity is involved in the acquisition of conditioned odor aversion in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 88, n. 2, p. 260-263, 2007.

MISANIN, J. R.; MILLER, R.R.; LEWIS, D. J. Retrograde amnesia produced by electroconvulsive shock after reactivation of a consolidated memory trace. *Science*, v. 160, n. 3827, p. 554-555, 1968.

MONFILS, M. H.; COWANSAGE, K. K.; KLANN, E.; LEDOUX, J. E. Extinction reconsolidation boundaries: key to persistent attenuation of fear memories. *Science*, v. 324, p. 951-955, 2009.

MORGAN, C. A. 3rd; GRILLON, C.; SOUTHWICK, S. M.; NAGY, L. M.; DAVIS, M.; KRYSTAL, J. H.; CHARNEY, D. S. Yohimbine facilitated acoustic startle in combat veterans with post-traumatic stress disorder. *Psychopharmacology*, v. 117, n. 4, p. 466-471, 1995.

MUELLER, D.; PORTER, J. T.; QUIRK, G. J. Noradrenergic signaling in infralimbic cortex increases cell excitability and strengthens memory for fear extinction. *The Journal of Neuroscience*, v. 28, n. 2, p. 369-375, 2008.

MÜLLER, G. E.; PILZECKER, A. Experimentelle Beiträge zur Lehre vom Gedächtniss. *Zeitschrift fuer Psychologie*, suppl.1, p. 1-288, 1900.

MYERS-SCHULZ, B.; KOENIGS, M. Functional anatomy of ventromedial prefrontal cortex: implications for mood and anxiety disorders. *Molecular Psychiatry*, v. 17, n. 2, p. 132-141, 2012.

MYKLETUN, A.; BJERKESET, O.; VERLAND, S.; PRINCE, M.; DEWEY, M.; STEWART, R. Levels of anxiety and depression as predictors of mortality: the HUNT study. *The British Journal of Psychiatry*, v. 195, n. 2, p. 118-125, 2009.

NADER, K. HARDT, O.; LANIUS, R. Memory as a new therapeutic target. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, v. 15, n. 4, p. 475-486, 2013.

NADER, K.; SCHAFE, G. E.; LEDOUX, J.E. Fear memories require protein synthesis in the amygdala for reconsolidation after retrieval. *Nature*, v. 406, p. 722-726, 2000.

NICHOLAS, A. P.; HÖKFELT, T.; PIERIBONE, V. A. The distribution and significance of CNS adrenoceptors examined with in situ hybridization. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 17, n. 7, p. 245-255, 1996.

NOGUEIRA, P. J.; TOMAZ, C.; WILLIAMS, C. L. Contribution of the vagus nerve in mediating the memoryfacilitating effects of substance P. *Behavioural Brain Research*, v. 62, p. 165-169, 1994.

O'DELL, T. J.; CONNOR, S. A.; GUGLIETTA, R.; NGUYEN, P. V.  $\beta$ -Adrenergic receptor signaling and modulation of long-term potentiation in the mammalian hippocampus. *Learning and Memory*, v. 22, n. 9, p. 461-471, 2015.

ORDWAY, G. A.; SCHWARTZ, M. A.; FRAZER, A. Brain Norepinephrine: Neurobiology and Therapeutics. Nova Iorque: Cambridge University Press, 2007.

OROPEZA, V. C.; MACKIE, K.; VAN BOCKSTAELE, E. J. Cannabinoid receptors are localized to noradrenergic axon terminals in the rat frontal cortex. *Brain Research*, v. 1127, n. 1, p. 36-44, 2007.

ORTIZ, V.; GIACHERO, M.; ESPEJO, P. J.; MOLINA, V. A.; MARTIJENA, I. D. The effect of Midazolam and Propranolol on fear memory reconsolidation in ethanol-withdrawn rats: influence of d-cycloserine. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, v. 18, n. 4, 2015.

OTIS, J. M.; WERNER, C. T.; MUELLER, D. Noradrenergic regulation of fear and drug-associated memory reconsolidation. *Neuropsychopharmacology*, v. 40, v. 4, p. 793-803, 2015.

OUYANG, M.; YOUNG, M. B.; LESTINI, M. M.; SCHUTSKY, K.; THOMAS, S. A. 2012. Redundant catecholamine signaling consolidates fear memory via phospholipase C. *J Neuroscience*, v. 32, n. 6, p. 1932-1941, 2012.

PACKARD, M. G.; WHITE, N. M. Effect of posttraining injections of glucose on acquisition of two appetitive learning tasks. *Psychobiology*, v. 18, 282-286, 1990.

PAGE, M. E.; OROPEZA, V. C.; SPARKS, S. E.; QIAN, Y.; MENKO, A. S.; VAN BOCKSTAELE, E. J. Repeated cannabinoid administration increases indices of noradrenergic activity in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v. 86, n. 1, p. 162-168, 2007.

PAGE, M. E.; OROPEZA, V. C.; VAN BOCKSTAELE, E. J. Local administration of a cannabinoid agonist alters norepinephrine efflux in the rat frontal cortex. *Neuroscience Letters*, v. 431, n. 1, p. 1-5, 2008.

PAPE, H. C.; PARE, D. Plastic Synaptic networks of the amygdala for the acquisition, expression, and extinction of conditioned fear. *Physiological Reviews*, v. 90, n. 2, p. 419-463, 2010.

PEDREIRA, M. E.; MALDONADO, H. Protein synthesis subserves reconsolidation or extinction depending on reminder duration. *Neuron*, v. 38, p. 863-869, 2003.

PERRY, B. D.; GILLER, E. L.; SOUTHWICK, S. M. Altered platelet alpha 2-adrenergic binding sites in posttraumatic stress disorder. *The American Journal of Psychiatry*, v. 144, p. 1511-1512, 1987.

PITMAN, R. K.; ORR, S. P.; FORGUE, D. F.; DEJONG, J. B.; CLAIBORN, J. M. Psychophysiologic assessment of post traumatic stress disorder imagery in Vietnam combat veterans. *Archives of General Psychiatry*, v. 44, p. 970-975, 1987.

PITMAN, R. K.; RASMUSSEN, A. M.; KOENEN, K. C.; SHIN, L. M.; ORR, S. P.; GILBERTSON, M. W.; MILAD, M. R.; LIBERZON, I. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 13, p. 769-787, 2012.

PITMAN, R. K.; SANDERS, K. M.; ZUSMAN, R. M.; HEALY, A. R.; CHEEMA, F.; LASKO, N. B.; CAHILL, L.; ORR, S. P. Pilot study of secondary prevention of posttraumatic stress disorder with propranolol. *Biological Psychiatry*, v. 51, p. 189-192, 2002.

POSNER, M. I.; ROTHBART, M. K.; SHEESE, B. E.; TANG, Y. The anterior cingulate gyrus and the mechanism of self-regulation. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, v. 7, p. 391-395, 2007.

PRZYBYSLAWSKI, J.; ROULLET, P.; SARA, S. J. Attenuation of emotional and nonemotional memories after their reactivation: role of beta adrenergic receptors. *The Journal of Neuroscience*, v. 19, p. 6623-6628, 1999.

PUSSINEN, R.; SIRVIÖ, J. Minor role for alpha1-adrenoceptors in the facilitation of induction and early maintenance of long-term potentiation in the CA1 field of the hippocampus. *Journal of Neuroscience Research*, v. 51, p. 309-315, 1998.

PYCH, J. C.; KIM, M.; GOLD, P. E. Effects of injections of glucose into the dorsal striatum on learning of place and response mazes. *Behavioural Brain Research*, v. 167, p. 373-378, 2006.

QU, L. L.; GUO, N. N.; LI, B. M. Beta1- and beta2-adrenoceptors in basolateral nucleus of amygdala and their roles in consolidation of fear memory in rats. *Hippocampus*, v. 18, n. 11, p. 1131-1139, 2008.

QUIRARTE, G. L.; ROOZENDAAL, B.; MCGAUGH, J. L. Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* v. 94, n. 25, p. 14048-14053, 1997.

QUIRK, G. J.; GARCIA, R.; GONZÁLEZ-LIMA, F. Prefrontal mechanisms in extinction of conditioned fear. *Biological Psychiatry*, v. 60, n. 4, p. 337-343, 2006.

QUIRK, G. J.; MUELLER, D. Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology*, v. 33, p. 56-72, 2008.

QUIRK, G. J.; PARÉ, D.; RICHARDSON, R.; HERRY, C.; MONFILS, M. H.; SCHILLER, D.; VICENTIC, A. Erasing fear memories with extinction training. *The Journal of Neuroscience*, v. 30, n. 45, p. 14993-14997, 2010.

RADLEY, J. J.; WILLIAMS, B; SAWCHENKO, P. E. Noradrenergic innervation of the dorsal medial prefrontal cortex modulates hypothalamo-pituitary-adrenal responses to acute emotional stress. *The Journal of Neuroscience*, v. 28, n. 22, p. 5806-5816, 2008.

RADWANSKA, K.; NIKOLAEV, E.; KACZMAREK, L. Central noradrenergic lesion induced by DSP-4 impairs the acquisition of avoidance reactions and prevents molecular changes in the amygdala. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 94, n. 3, p. 303-311, 2010.

RAGOZZINO, M. E.; PAL, S. N.; UNICK, K.; STEFANI, M. R.; GOLD, P. E. Modulation of hippocampal acetylcholine release and spontaneous alternation scores by intrahippocampal glucose injections. *The Journal of Neuroscience*, v. 18, p. 1595-1601, 1998.

RAINBOW, T. C.; BIEGON, A. Quantitative autoradiography of [3H]prazosin binding sites in rat forebrain. *Neuroscience Letters*, v. 40, p. 221-226, 1983.

RAKIC, P. Evolution of the neocortex: Perspective from developmental biology. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 10, n. 10, p. 724-735, 2009.

RAMOS, B. P.; ARNSTEN, A. F. Adrenergic pharmacology and cognition: focus on the prefrontal cortex. *Pharmacology & Therapeutics*, v. 117, n. 3, p. 523-536, 2007.

RAMOS, B.; COLGAN, L.; NOU, E.; ARNSTEN, A. F. T. The b1 adrenergic antagonist, betaxolol, improves working memory performance in rats and monkeys. *Biological Psychiatry* (Online). 2005.

RAO-RUIZ, P.; ROTARU, D. C.; VAN DER LOO, R. J.; MANSVELDER, H. D.; STIEDL, O.; SMIT, A. B.; SPIJKER, S. Retrieval-specific endocytosis of GluA2-AMPA receptors underlies adaptive reconsolidation of contextual fear. *Nature Neuroscience*, v. 14, p. 1302-1308, 2011.



RASCH, B.; SPALEK, K.; BUHOLZER, S.; LUECHINGER, R.; BOESIGER, P.; PAPASSOTIROPOULOS, A.; DE QUERVAIN, D. J. A genetic variation of the noradrenergic system is related to differential amygdala activation during encoding of emotional memories. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 106, n. 45, p. 19191-19196, 2009.

REICHELDT, A.C.; LEE, J.L. Appetitive Pavlovian goal-tracking memories reconsolidate only under specific conditions. *Learning and Memory*, v. 20, p. 51-60, 2012.

RESCORLA, R. A. Spontaneous Recovery. *Learning Memory*, v. 11, p. 501-509, 2004.

REYES, B.A.S.; CARVALHO, A. F.; VAKHARIA, K.; VAN BOCKSTAELE, E. J. Amygdalar peptidergic circuits regulating noradrenergic locus coeruleus neurons: linking limbic and arousal centers. *Experimental Neurology*, v. 230, p. 96-105, 2011.

RICHARDSON, R.; LEDGERWOOD, L.; CRANNEY, J. Facilitation of fear extinction by D-cycloserine: theoretical and clinical implications. *Learning and Memory*, v. 11, n. 5, p. 510-516, 2004.

RIGA, D.; MATOS, M. R.; GLAS, A.; SMIT, A. B.; SPIJKER, S.; VAN DEN OEVER, M. C. Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. *Frontiers in Systems Neuroscience*, v. 8, n. 230, p. 1-19, 2014.

ROBBINS, T. W.; ARNSTEN, A. F. The neuropsychopharmacology of fronto-executive function: monoaminergic modulation. *Annual Review of Neuroscience*, v. 32, p. 267-287, 2009.

ROGAN, M. T.; STÄUBLI, U.; LEDOUX, J. E. Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*, v. 390, p. 604-607, 1997.

ROOZENDAAL, B.; BARSEGYAN, A.; LEE, S. Adrenal stress hormones, amygdala activation, and memory for emotionally arousing experiences. *Progress in Brain Research*, v. 167, p. 79-97, 2008.

ROOZENDAAL, B.; MCGAUGH, J. L. Memory modulation. *Behavioral Neuroscience*, v. 125, n. 6, p. 797-824, 2011.

ROOZENDAAL, B.; QUIRARTE, G. L.; MCGAUGH, J. L. Glucocorticoids interact with the basolateral amygdala beta-adrenoceptor--cAMP/cAMP/PKA system in influencing memory consolidation. *European Journal of Neuroscience*, v. 15, n. 3, p. 553-560, 2002.

ROTHBAUM, B. O.; PRICE, M.; JOVANOVIĆ, T.; NORRHOLM, S. D.; GERARDI, M.; DUNLOP, B.; DAVIS, M.; BRADLEY, B.; DUNCAN, E. J.; RIZZO, A.; RESSLER, K. J. A randomized, double-blind evaluation of D-cycloserine or alprazolam combined with virtual reality exposure therapy for posttraumatic stress disorder in Iraq and Afghanistan War veterans. *The American Journal of Psychiatry*, v. 171, n. 6, p. 640-648, 2014.

ROUGEMONT-BUCKING, A.; LINNMAN, C.; ZEFFIRO, T. A.; ZEIDAN, M. A.; LEBRON-MILAD, K.; RODRIGUEZ-ROMAGUERA, J.; RAUCH, S. L.; PITMAN, R. K.; MILAD, M. R. Altered processing of contextual information during fear extinction in PTSD: an fMRI study. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, v. 17, n. 4, p. 227-236, 2011.

ROULLET, P.; SARA, S. J. Consolidation of memory after its reactivation: involvement of  $\beta$  noradrenergic receptors in the late phase. *Neural Plasticity*, v. 6, p. 63-68, 1998.

ROZESKE, R. R.; VALERIO, S.; CHAUDUN, F.; HERRY, C. Prefrontal neuronal circuits of contextual fear conditioning. *Genes, Brain and Behavior*, v. 14, n. 1, p. 22-36, 2014.

SACKTOR, T. C. PKM $\zeta$ , LTP maintenance, and the dynamic molecular biology of memory storage. *Progress Brain Research*, v. 169, p. 27-40, 2008.

SAKATA, K.; MARTINOWICH, K.; WOO, N. H.; SCHLOESSER, R. J.; JIMENEZ, D. V.; JI, Y.; SHEN, L.; LU, B. Role of activity-dependent BDNF expression in hippocampal-prefrontal cortical regulation of behavioral perseverance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, n. 37, p. 15103-15108, 2013.

SALEHI, B.; CORDERO, M. I.; SANDI, C. Learning under stress: the inverted-U-shape function revisited. *Learning and Memory*, v. 17, n. 10, p. 522-530, 2010.

SARA, S. Retrieval and reconsolidation: toward a neurobiology of remembering. *Learning and Memory*, v. 7, n.2, p. 73-84, 2000.

SARA, S. J. Reconsolidation: Historical Perspective and Theoretical Aspects. *Learning Theory and Behavior*, v.1 de *Learning and Memory: A Comprehensive Reference*, p. 461–476, 2008.

SARA, S. J. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 10, p. 211-223, 2009.

SARA, S. J. Locus Coeruleus in time with the making of memories. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 35, p. 87-94, 2015.

SARA, S. J.; BOURET, S. Orienting and Reorienting: The Locus Coeruleus Mediates Cognition through Arousal. *Neuron*, v. 76, n. 1, p. 130-141, 2012.

SARIDOĞAN, G. E.; AYKAÇ, A.; CABADAK, H.; CERIT, C.; ÇALIŞKAN, M.; GÖREN, M. Z. D-Cycloserine acts via increasing the GluN1 protein expressions in the frontal cortex and decreases the avoidance and risk assessment behaviors in a rat traumatic stress model. *Behavioral Brain Research*, v. 293, p. 227-233, 2015.

SCHNEIDER, A. M.; SHERMAN, W. Amnesia: a function of the temporal relation of footshock to electroconvulsive shock. *Science*, v. 159, p. 219-221, 1968.

SEJNOWSKI, T.J. The book of Hebb. *Neuron*, v. 24, p. 773–776, 1999.

SCHILLER, D.; MONFILS, M. H.; RAIIO, C. M.; JOHNSON, D. C.; LEDOUX, J. E.; PHELPS, E. A. Preventing the return of fear in humans using reconsolidation update mechanisms. *Nature*, v. 463, n. 7277, p.49-53, 2009.

SCHILLER, D.; RAIIO, C. M.; PHELPS, E. A. Extinction Training During the Reconsolidation Window Prevents Recovery of Fear. *Journal of Visualized Experiments*, v. 66, n.3893, p. 1-9, 2012.

SCHOLEY, A.; MACPHERSON, H.; SÜNRAM-LEA, S.; ELLIOTT, J.; STOUGH, C.; KENNEDY, D. Glucose enhancement of recognition memory: Differential effects on effortful processing but not aspects of 'remember-know' responses. *Neuropharmacology*, v. 64, p. 544-549, 2013.

SCHREURS, J.; SEELIG, T.; SCHULMAN, H.  $\beta$ 2-adrenergic receptors on peripheral nerves. *Journal of Neurochemistry*, v.46, p. 294-296 1986.

SCHROEDER, J. P.; PACKARD, M. G. Systemic or intra-amygdala injections of glucose facilitate memory consolidation for extinction of drug-induced conditioned reward. *European Journal of Neuroscience*, v. 17, p. 1482-1488, 2003.

SCHUTSKY, K.; OUYANG, M.; THOMAS, S. A. Xamoterol impairs hippocampus-dependent emotional memory retrieval via Gi/o-coupled  $\beta$ 2-adrenergic signaling. *Learning and Memory*, v. 18, p. 598-604, 2011.

SCHWABE, L.; NADER, K.; PRUESSNER, J. C.  $\beta$ -Adrenergic blockade during reactivation reduces the subjective feeling of remembering associated with emotional episodic memories. *Biological Psychology*, v. 92, n. 2, p. 227-232, 2013.

SCOVILLE, W. B.; MILNER, B. Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, v. 20, n.1, p.11-21, 1957.

SHAKHAWAT, A. M.; GHEIDI, A.; MACINTYRE, I. T.; WALSH, M. L.; HARLEY, C. W.; YUAN, Q. Arc-Expressing Neuronal Ensembles Supporting Pattern Separation Require Adrenergic Activity in Anterior Piriform Cortex: An Exploration of Neural Constraints on Learning. *The Journal of Neuroscience*, v. 35, n. 41, p. 14070-14075, 2015.

SHERIN, J. E.; NEMEROFF, C. B. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. *Dialogues in Clinical Neurosciences*, v. 13, n. 3, p. 263-278, 2011.

SHIN, L. M.; RAUCH, S. L.; PITMAN, R. K. Amygdala, medial prefrontal cortex, and hippocampal function in PTSD. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1071, p. 67-79, 2006.

SIERRA-MERCADO, D.; PADILLA-COREANO, N.; QUIRK, G. J. Dissociable roles of prelimbic and infralimbic cortices, ventral hippocampus, and basolateral amygdala in the expression and extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology*, v. 36, n. 2, p. 529-538, 2011.

SOETER, M.; KINDT, M. Noradrenergic enhancement of associative fear memory in humans. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 96, n. 2, p.263-271, 2011.

SOETER, M.; KINDT, M. Stimulation of the noradrenergic system during memory formation impairs extinction learning but not the disruption of reconsolidation. *Neuropsychopharmacology*, v. 37, p. 1204-1215, 2012.

SOETER, M.; KINDT, M. High trait anxiety: a challenge for disrupting fear memory reconsolidation. *PLoS One*, v. 8, n. 11, 2013.

SOL FUSTIÑANA, M.; DE LA FUENTE, V.; FEDERMAN, N.; FREUDENTHAL, R.; ROMANO, A. Protein degradation by ubiquitin-proteasome system in formation and labilization of contextual conditioning memory. *Learning and Memory* v. 21, n. 9, p. 478-487, 2014.

SOMERS, J. M.; Goldner, E. M.; Waraich, P.; Hsu, L. Prevalence and incidence studies of anxiety disorders: a systematic review of the literature. *Canadian Journal of Psychiatry*, v. 51, n. 2, p. 100, 2006.

SOTRES-BAYON, F.; CAIN, C. K.; LEDOUX, J. E. Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. *Biological Psychiatry*, v. 60, n. 4, p. 329-336, 2006.

SOTRES-BAYON, F.; QUIRK, G. J. Prefrontal control of fear: more than just extinction. *Current Opinion in Neurobiology*, v. 20, n. 2, p. 231-235, 2010.

SPEAR, N. Retrieval of memory in animals. *Psychological Review*, v. 80, p. 163-194, 1973.

SQUIRE, L. R. The Legacy of Patient H.M. for Neuroscience. *Neuron*, v. 61, n. 1, p. 6-9, 2009.

SQUIRE, L. R.; DEDE, A. J. Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 7, n. 3, 2015.

SQUIRE, L. R.; ZOLA, S. M. Structure and function of declarative and nondeclarative memory systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 93, n. 24, p. 13515-13522, 1996.

SQUIRE, L. R.; WIXTED, J. T. The Cognitive Neuroscience of Human Memory Since H.M. *Annual Review Neuroscience*, v. 34, p. 259–288, 2011.

STARKE, K. Presynaptic autoreceptors in the third decade: focus on alpha2-adrenoceptors. *Journal of Neurochemistry*, v. 78, n. 4, p. 685-693, 2001.

STEENEN, S. A.; VAN WIJK, A. J.; VAN DER HEIJDEN, G. J.; VAN WESTRHENEN, R.; DE LANGE, J.; DE JONGH, A. Propranolol for the treatment of anxiety disorders: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Psychopharmacology*, 2015.

STERN, C. A.; GAZARINI, L.; TAKAHASHI, R. N.; GUIMARÃES, F. S.; BERTOGLIO, L. J. On disruption of fear memory by reconsolidation blockade: evidence from cannabidiol treatment. *Neuropsychopharmacology*, v. 37, n. 9, p. 2132-2142, 2012.

STERN, C. A.; GAZARINI, L.; VANVOSSSEN, A. C.; HAMES, M. S.; BERTOGLIO, L. J. Activity in prelimbic cortex subserves fear memory reconsolidation over time. *Learning and Memory*, v. 21, p. 14–20, 2014.

STERN, C. A.; GAZARINI, L.; VANVOSSSEN, A. C.; ZUARDI, A. W.; GALVE-ROPERH, I.; GUIMARAES, F. S.; TAKAHASHI, R. N.; BERTOGLIO, L. J.  $\Delta$ 9-Tetrahydrocannabinol alone and combined with cannabidiol mitigate fear memory through reconsolidation disruption. *European Neuropsychopharmacology*, v. 25, n. 6, p. 958-965, 2015.

STERPENICH, V.; D'ARGEMBEAU, A.; DESSEILLES, M.; BALTEAU, E.; ALBOUY, G.; VANDEWALLE, G.; DEGUELDRE, C.; LUXEN, A.; COLLETTE, F.; MAQUET, P. The locus ceruleus is involved in the successful retrieval of emotional memories in humans. *The Journal of Neuroscience*, v. 26, n. 28, p. 7416-7423, 2006.

STRAWN, J. R.; GERACIOTI, T. D. Noradrenergic dysfunction and the psychopharmacology of posttraumatic stress disorder. *Depression and Anxiety*, v. 25, n. 3, p. 260-271, 2008.

SURI, D.; VAIDYA, V. A. The adaptive and maladaptive continuum of stress responses - A hippocampal perspective. *Reviews in the Neurosciences*, v. 26, n. 4, p. 415-442, 2015.

SUZUKI, A.; JOSSELYN, S.; FRANKLAND, P.W.; MASUSHIGE, S.; SILVA, A.J.; KIDA, S. Memory reconsolidation and extinction have distinct temporal and biochemical signatures. *The Journal of Neuroscience*, v. 24, p. 4787-4795, 2004.

SUZUKI, A.; MUKAWA, T.; TSUKAGOSHI, A.; FRANKLAND, P. W.; KIDA, S. Activation of LVGCCs and CB1 receptors required for destabilization of reactivated contextual fear memories. *Learning and Memory*, v. 15, n. 6, p. 426-433, 2008.

SZABADI, E. Functional neuroanatomy of the central noradrenergic system. *Journal of Psychopharmacology*, v. 27, n. 8, p. 659-693, 2013.

TAYLOR, F. B.; LOWE, K.; THOMPSON, C.; MCFALL, M. M.; PESKIND, E. R.; KANTER, E. D.; ALLISON, N.; WILLIAMS, J.; MARTIN, P.; RASKIND, M. A. Daytime prazosin reduces psychological distress to trauma specific cues in civilian trauma posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, v. 59, p. 577-581, 2006.

TAYLOR, J. R.; TORREGROSSA, M. M. Pharmacological disruption of maladaptive memory. *Handbook of Experimental Pharmacology*, v. 228, p. 381-415, 2015.

THIMOTHY, J.; HELMSTETTER, F. J. The ubiquitin-proteasome system as a critical regulator of synaptic plasticity and long-term

memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 105, p. 107-116, 2013.

TOVOTE, P.; FADOK, J. P.; LÜTHI, A. Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 16, p. 317-331, 2015.

TRONEL, S.; FEENSTRA, M. G. P.; SARA, S. J. Noradrenergic action in prefrontal cortex in the late stage of memory consolidation. *Learning and Memory*, v. 11, p. 453-458, 2004.

TRONEL, S.; SARA, S. J. Blockade of NMDA receptors in prelimbic cortex induces an enduring amnesia for odor-reward associative learning. *The Journal of Neuroscience*, v. 23, p. 5472-5476, 2003.

TRONSON, N. C.; TAYLOR, J. R. Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nature Reviews Neuroscience*, v. 8, n. 4, p. 262-275, 2007.

UEMATSU, A.; TAN, B. Z.; JOHANSEN, J. P. Projection specificity in heterogeneous locus coeruleus cell populations: implications for learning and memory. *Learning and Memory*, v. 22, p. 444-451, 2015.

UYLINGS, H. B. M.; EDEN, C. G. Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Progress in Brain Research*, v. 85, p. 31-62, 1990.

VAIVA, G.; DUCROCQ, F.; JEZEQUEL, K.; AVERLAND, B.; LESTAVEL, P.; BRUNET, A.; MARMAR, C.R. Immediate treatment with propranolol decreases posttraumatic stress disorder two months after trauma. *Biological Psychiatry*, v. 54, 947-949, 2003.

VALENTINO, R. J.; VAN BOCKSTAELE, E. J. Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress. *European Journal of Pharmacology* v. 583, p. 194-203, 2008.

VAN BOCKSTAELE, E. J.; ASTON-JONES, G. Integration in the ventral medulla and coordination of sympathetic, pain and arousal functions. *Clinical and Experimental Hypertension*, v. 17, p. 153-165, 1995.



VAN DE WERD, H. J. J. M. ; RAJKOWSKA, G.; EVERS, P.; UYLINGS, H. B. M. Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse. *Brain Structure and Function*, v. 214, n. 4, p. 339-353, 2010.

VAN STEGEREN, A. H.; ROOZENDAAL, B.; KINDT, M.; WOLF, O. T.; JOËLS, M. Interacting noradrenergic and corticosteroid systems shift human brain activation patterns during encoding. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 93, n. 1, p. 56-65, 2010.

VERTES, R. P. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, v. 51 , n. 1, p. 32-58, 2004.

VERVLIET, B. Learning and memory in conditioned fear extinction: effects of D-cycloserine. *Acta Psychologica*, v. 127, n. 3, p. 601-613, 2008.

VETERE, G.; RESTIVO, L.; COLE, C. J.; ROSS, P. J.; AMMASSARI-TEULE, M.; JOSSELYN, S. A.; FRANKLAND, P. W. Spine growth in the anterior cingulate cortex is necessary for the consolidation of contextual fear memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 108, n. 20, p. 8456–8460, 2011.

VIANNA, M. R.; IGAZ, L. M.; COITINHO, A. S.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I. Memory extinction requires gene expression in rat hippocampus. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 79, p. 199-203, 2003.

VIANNA, M. R.; IZQUIERDO, L. A.; BARROS, D. M.; WALZ, R.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I. Short- and long-term memory: differential involvement of neurotransmitter systems and signal transduction cascades. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 72, n. 3, p. 353-364, 2000.

VIEIRA, P. A.; CORCHES, A.; LOVELACE, J. W.; WESTBROOK, K. B.; MENDOZA, M.; KORZUS, E. Prefrontal NMDA receptors expressed in excitatory neurons control fear discrimination and fear extinction. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 119, p. 52-62, 2015.

VIEIRA, P. A.; LOVELACE, J. W.; CORCHES, A.; RASHID, A. J.; JOSSELYN, S. A.; KORZUS, E. Prefrontal consolidation supports the attainment of fear memory accuracy. *Learning and Memory*, v. 21, n. 8, p. 394-405, 2014.

VOGT, M. The concentration of sympathin in different parts of the central nervous system under normal conditions and after administration of drugs. *The Journal of Physiology*, v. 123, p. 451-481, 1954.

VON EULER, U. S. The nature of adrenergic nerve mediators. *Pharmacological Reviews*, v. 3, p. 247-27, 1951.

WANG, M.; RAMOS, B. P.; PASPALAS, C. D.; SHU, Y.; SIMEN, A.; DUQUE, A.; VIJAYRAGHAVAN, S.; BRENNAN, A.; DUDLEY, A.; NOU, E.; MAZER, J. A.; MCCORMICK, D. A.; ARNSTEN, A. F. Alpha2A-adrenoceptors strengthen working memory networks by inhibiting cAMP-HCN channel signaling in prefrontal cortex. *Cell*, v. 129, n. 2, p. 397-410, 2007.

WANG, M.; YANG, Y.; DONG, Z.; CAO, J.; XU, L. NR2B-containing N-methyl-D-aspartate subtype glutamate receptors regulate the acute stress effect on hippocampal long-term potentiation/long-term depression in vivo. *Neuroreport*, v. 17, n. 12, p. 1343-1346, 2006.

WHITAKER, A. M.; GILPIN, N. W.; EDWARDS, S. Animal models of post-traumatic stress disorder and recent neurobiological insights. *Behavioural Pharmacology*, v. 25, n. 5-6, p. 398-409, 2014.

WILLIAMS, C. L.; MCGAUGH, J. L. Reversible lesions of the nucleus of the solitary tract attenuate the memory-modulating effects of posttraining epinephrine. *Behavioral Neuroscience*, v. 107, p. 955-962, 1998.

WILTGEN, B. J.; SILVA, A. J. Memory for context becomes less specific with time. *Learning and Memory*, v. 14, n. 4, p. 313-317, 2007.

YAMAMOTO, S.; MORINOBU, S.; TAKEI, S.; FUCHIKAMI, M.; MATSUKI, A.; YAMAWAKI, S.; LIBERZON, I. Single prolonged stress: toward an animal model of posttraumatic stress disorder. *Depression and Anxiety*, v. 26, n. 12, p. 1110-1117, 2009.

YAMAMOTO, K.; SHINBA, T.; YOSHII, M. Psychiatric symptoms of noradrenergic dysfunction: a pathophysiological view. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, v. 68, n. 1, p. 1-20, 2014.

YANG, F. C.; LIANG, K. C. Interactions of the dorsal hippocampus, medial prefrontal cortex and nucleus accumbens in formation of fear memory: difference in inhibitory avoidance learning and contextual fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, v. 112, p. 186-194, 2014.

YERKES, R. M.; DODSON, J. D. The relation of strength of stimulus to rapidity of habit-formation. *Journal of Comparative Neurology and Psychology*, v. 18, p. 459-482, 1908.

YEHUDA, R. Neuroendocrine aspects of PTSD. *Handbook of Experimental Pharmacology*, v. 169, p. 371-403, 2005.

YEHUDA, R.; ANTELMAN, S. M. Criteria for rationally evaluating animal models of posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, v. 33, p. 479-486, 1993.

YUSTE, R. The discovery of dendritic spines by Cajal. *Frontiers in Neuroanatomy*, v. 9, n. 18, 2015.

XU, W.; SÜDHOF, T. C. A neural circuit for memory specificity and generalization. *Science*, v. 339, n. 6125, p. 1290-1295, 2013.

ZANNAS, A. S.; PROVENÇAL, N.; BINDER, E. B. Epigenetics of Posttraumatic Stress Disorder: Current Evidence, Challenges, and Future Directions. *Biological Psychiatry*, v. 78, n. 5, p. 327-335, 2015.

ZELIKOWSKY, M.; BISSIERE, S.; HAST, T. A.; BENNETT, R. Z.; ABDIPRANOTO, A.; VISSSEL, B.; FANSELOW, M. S. Prefrontal microcircuit underlies contextual learning after hippocampal loss. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 110, n. 24, p. 9938-9943, 2013.

ZHANG, W. P.; OUYANG, M.; THOMAS, S. A. Potency of catecholamines and other L-tyrosine derivatives at the cloned mouse adrenergic receptors. *Neuropharmacology*, v. 47, n. 3, p. 438-449, 2004.

ZHANG, Y.; FUKUSHIMA, H.; KIDA, S. Induction and requirement of gene expression in the anterior cingulate cortex and medial prefrontal cortex for the consolidation of inhibitory avoidance memory. *Molecular Brain*, v. 4, n. 4, 2011.

ZHANG, Z.; MATOS, S. C.; JEGO, S.; ADAMANTIDIS, A.; SÉGUÉLA, P. Norepinephrine Drives Persistent Activity in Prefrontal Cortex via Synergistic  $\alpha 1$  and  $\alpha 2$  Adrenoceptors. *Plos One*, v. 8, n. 6, 2013.

ZHOU, H. C. SUN, Y. Y.; CAI, W.; HE, X. T.; YI, F.; LI, B. M.; ZHANG, X. H. Activation of  $\beta 2$ -adrenoceptor enhances synaptic potentiation and behavioral memory via cAMP-PKA signaling in the medial prefrontal cortex of rats. *Learning and Memory*, v. 20, n. 5, p. 274-284, 2013.