



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

Vicente Constantino Pereira Batista

Papel do núcleo reuniens do tálamo na aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos: uma revisão de mapeamento da literatura

Florianópolis

2024

Vicente Constantino Pereira Batista

Título: Papel do núcleo reuniens do tálamo na aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos: uma revisão de mapeamento da literatura

Dissertação submetida 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.

Orientador: Prof. Dr. Leandro José Bertoglio

Florianópolis

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Batista, Vicente Constantino Pereira

Papel do núcleo reuniens do tálamo na aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos: uma revisão de mapeamento da literatura / Vicente Constantino Pereira Batista ; orientador, Leandro José Bertoglio, coorientadora, Alana Eduarda de Castro Panzenhagen, 2024.

110 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Florianópolis, 2024.

Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Farmacologia. 3. Núcleo Reuniens do Tálamo. 4. Memória . 5. Roedores de laboratório. I. Bertoglio, Leandro José. II. Panzenhagen, Alana Eduarda de Castro. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. IV. Título.

Vicente Constantino Pereira Batista

Papel do núcleo reuniens do tálamo na aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos: uma revisão de mapeamento da literatura

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado, em 16 de fevereiro de 2024, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.^a Dr.^a Cilene Lino de Oliveira
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Dr.^a Fernanda Troyner
Prefeitura Municipal - Florianópolis

Prof. Dr. Antônio de Pádua Carobrez
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof.^a Dr.^a Juliana Kroon
Faculdade Censupeg

Certificamos que esta é a versão **original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre Farmacologia.

Prof. Dr. José Eduardo da Silva Santos
Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Leandro José Bertoglio
Orientador(a)

Florianópolis, 2024

AGRADECIMENTOS

À minha família, por sempre ser suporte, especialmente minha mãe, que sempre me incentivou a não desistir dos meus objetivos e sempre acredita nas minhas metas.

Ao professor Dr. Leandro José Bertoglio, por ter me orientado durante esses anos, pelos ensinamentos e contribuição para meu crescimento como cientista.

À Dr.^a Alana C. Panzenhagen que me coorientou na realização deste trabalho.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Farmacologia, que contribuíram para a minha formação.

Aos meus colegas de laboratório, especialmente a Mestra Luciane A. Soares, que me auxiliou na elaboração desta revisão sistemática.

À minha psicóloga, Maria Celeste, que me ajudou durante esse período desafiador.

Aos meus amigos e colegas, Higor Rodrigues, Luana Nunes, Leonardo de Bortoli, Sophia Vieira, Mariane Werlang e Nagela Seko que estiveram do meu lado e foram suporte em vários momentos dessa jornada.

À CAPES pelo apoio financeiro e a UFSC como instituição.

RESUMO

O núcleo reuniens (NR) é o maior dos núcleos mediais do tálamo. Ele possui conectividade com áreas importantes, tais como o hipocampo (HPC), córtex pré-frontal medial (CPFm) e amígdala, relacionadas ao processamento de memórias espaciais ou aversivas. A revisão de mapeamento é uma ferramenta de pesquisa sistematizada que possibilita a compreensão geral dos dados disponíveis na literatura em um determinado tema de interesse, identificando o que foi publicado até o momento e lacunas a serem exploradas em trabalhos futuros. O objetivo desse trabalho foi avaliar o papel do NR, por meio de desfechos comportamentais, na aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos. Para tanto, foi elaborado um protocolo de revisão para responder essa pergunta (PROSPERO 2023 CRD42023399421). Identificou-se nas bases de dados (Pubmed, Embase e Scopus via Periódicos Capes) 34 publicações relevantes para a revisão de mapeamento. Foi-se extraído vários parâmetros qualitativos (fase da memória, tipo de intervenção, dose, momento da intervenção, sexo, espécie, linhagem e teste comportamental) de cada estudo. A lesão ou inativação do NR promove um déficit na aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias espaciais e aversivas, inferidas pelo aumento de congelamento, generalização da memória, diminuição na capacidade de reconhecimento de objetos, aumento na latência para encontrar a plataforma no labirinto aquático, entre outros. As lacunas identificadas foram a falta de comparações de memórias com idades diferentes e entre machos e fêmeas.

Palavras chave: Núcleo reuniens, animais de laboratório, aprendizagem, condicionamento de medo.

ABSTRACT

The reuniens nucleus (NR) is the largest of the medial nuclei in the thalamus. It is connected to significant areas such as the hippocampus (HPC), medial prefrontal cortex (mPFC), and amygdala, which are related to the processing of spatial or aversive memories. A mapping review is a systematic research tool that enables a comprehensive understanding of the data available in the literature on a given topic of interest, identifying what has been published so far and gaps to be explored in future work. The aim of this study was to assess the role of the NR, through behavioral outcomes, in the acquisition, consolidation, retrieval-expression, destabilization-reconsolidation, and extinction of memories in rats and mice. To this end, a review protocol was developed to answer this question (PROSPERO 2023 CRD42023399421). A total of 34 relevant publications for the mapping review were identified in databases (PubMed, Embase, and Scopus *via Periódicos Capes*). Various qualitative parameters (memory phase, type of intervention, dose, timing of the intervention, sex, species, strain, and behavioral test) were extracted from each study. Lesioning or inactivating the NR results in deficits in the acquisition, consolidation, retrieval-expression, destabilization-reconsolidation, and extinction of spatial and aversive memories, as inferred by increased freezing time, memory generalization, decreased object recognition ability, increased latency to find the platform in the water maze, among others. The identified gaps included the lack of comparisons between memories with different ages and between males and females.

Keywords: Learning, memory, laboratory rodents, fear conditioning, water-maze.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do processo de memorização.....	14
Figura 2 - Esquema da comunicação entre córtex pré-frontal medial e hipocampo..	17
Figura 3 - Esquema das entradas corticais e alo corticais do núcleo reuniens. A espessura da linha representa a escala da entrada.....	18
Figura 4 - Esquema das projeções do núcleo reuniens para diferentes áreas hipocámpais.....	18
Figura 5 – Labirinto aquático de Morris.....	21
Figura 6 – Tarefa de objeto no local.....	22
Figura 7 – Tarefa de localização de objetos.....	23
Figura 8 – Tarefa de preferência por um objeto novo.....	24
Figura 9 – Tarefa de mudança de conjunto de atenção. Caixa de realização da tarefa e habituação.....	25
Figura 10 – <i>Crossword maze</i>	26
Figura 11 – Labirinto radial tradicional de oito braços.....	28
Figura 12 Labirinto em T tradicional (à esquerda) e labirinto em T modificado (à direita)	32
Figura 13 – Labirinto em T modificado para as tarefas de CA e DA. Ponto em preto representa a recompensa alimentar.....	33
Figura 14 – Labirinto em T modificado para a tarefa de CD. Malha preta (à esquerda) e piso de madeira (à direita)	34
Figura 15 – Labirinto em T modificado para a tarefa de CDWM. Malha preta (à esquerda) e piso de madeira (à direita)	35
Figura 16 – Labirinto em T modificado para a tarefa de DNMS.....	36
Figura 17 – Labirinto duplo H.....	37
Figura 18 – Labirinto duplo H período de treino/teste.....	38
Figura 19 – Câmara de treinamento/teste de CAM.....	39
Figura 20 – Sessão de treinamento/teste de CAM. Fase focada na atenção (à esquerda), atraso e recompensa alimentar (centro) e fase focada na memória (à direita)	40

Figura 21 – Visor tátil para a tarefa de discriminação visual e reversão. Fase de treinamento.....	41
Figura 22 – Visor tátil para a tarefa de discriminação visual e reversão.....	42
Figura 23 – Visor tátil para a tarefa de tomada de decisão com atraso.....	43
Figura 24 – Tarefa de CFC. Caixa de condicionamento (à esquerda). Contexto B (à direita)	44
Figura 25 – Tarefa de CFC. Fase de condicionamento.....	45
Figura 26 – Tarefa de CFC. Fase de exposição ao contexto não pareado ao estímulo.....	45
Figura 27 – Tarefa de condicionamento aversivo ao som. Caixa de condicionamento (à esquerda). Contexto B (à direita)	46
Figura 28 – Tarefa de condicionamento aversivo ao som. Caixa de condicionamento (à esquerda). Reexposição ao contexto A (centro). Contexto B (à direita).....	47
Figura 29 – Tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Aparato experimental.....	47
Figura 30 – Tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Fase de teste.....	48
Figura 31 – Tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Fase de reexposição ao contexto.....	48
Figura 32 – Tarefa de esquiva passiva. Fase de habituação.....	49
Figura 33 – Tarefa de esquiva passiva. Fase de treinamento.....	50
Figura 34 – Tarefa de esquiva passiva. Fase de teste.....	50
Figura 35 – Tarefa de esquiva ativa sinalizada. Fase de treino. Condicionamento (à esquerda). <i>Shuttling</i> (à direita)	51
Figura 36 – Tarefa de esquiva ativa sinalizada. Fase de teste. Comportamento de <i>shuttling</i> na presença do CS evita que o animal receba o choque nas patas (US)....	52
Figura 37 – Tarefa de STFP. Etapa de demonstração. É oferecido ao animal demonstrador pó saborizado com cominho por 30 minutos.....	53
Figura 38 – Tarefa de STFP. Etapa de interação social. O animal demonstrador é colocado para interagir com o animal observador por 15 minutos.....	54

Figura 39 – Tarefa de STFP. Etapa de teste de preferência alimentar. O animal observador é colocado para escolher entre dois recipientes com pós saborizado por 30 minutos.....	54
Figura 40 - Etapas para revisão sistemática.....	57
Figura 41 – Fluxograma PRISMA.....	61

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Palavras-chave para a pesquisa nos bancos de dados online.....	58
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre aquisição de memórias incluídas na revisão.....	61
Tabela 2 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre consolidação de memórias incluídas na revisão.....	68
Tabela 3 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre evocação-expressão de memórias incluídas na revisão.....	71
Tabela 4 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre desestabilização-reconsolidação de memórias incluídas na revisão.....	82
Tabela 5 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre extinção de memórias incluídas na revisão.....	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AST - Mudança de conjunto de atenção
- Arch - Arquerodopsina
- CA - Alternância contínua
- CAM - Tarefa combinada de atenção e memória
- CD - Discriminação condicional
- CDWM - Discriminação condicional dependente de memória de trabalho
- CFC - Condicionamento aversivo ao contexto
- ChR - Canal de rodopsina
- CNO - Clozapina
- CS - Estímulo condicionado
- CPFm – Córtex pré-frontal medial
- DA - Alternância com atraso
- DNMS - Alternância espacial com atraso não correspondente à amostra
- DNMTP - Discriminação espacial condicional com atraso
- DREADD - *Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs*
- G GPCRs - Receptores muscarínicos acoplados à proteína
- HPC – Hipocampo
- KORD - *k-opioid receptor D138N*
- NR – Núcleo Reuniens
- NMDA - N-metil-D-aspartato
- NpHR – Halorodopsina
- RAM - Labirinto radial
- TEPT – Transtorno de estresse pós traumático
- US - Estímulo incondicionado
- VSRT - Tempo de reação visuoespacial
- VC-DNM - Não correspondência atrasada de escolha variável no labirinto radial
- SALB – Salvinorina B
- STFP - Transmissão social de preferência alimentar
- PICO – População, Intervenção, Controle e Desfecho

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 MEMÓRIA.....	13
1.2 ÁREAS CEREBRAIS ENVOLVIDAS NA MEMORIZAÇÃO E NÚCLEO REUNIENS.....	16
1.3 TESTES PARA AVALIAÇÃO DA MEMÓRIA.....	18
1.3.1 Testes para avaliação da memória da memória espacial.....	18
1.3.1.1 Labirinto aquático de Morris.....	19
1.3.1.2 Tarefa de reconhecimento associativo de objetos.....	20
1.3.1.3 Tarefa de objeto no local.....	20
1.3.1.4 Tarefa de localização de objetos.....	21
1.3.1.5 Tarefa de preferência por um novo objeto.....	22
1.3.1.6 Tarefa de mudança de conjunto de atenção.....	23
1.3.1.7 Tarefa de crossword maze.....	24
1.3.1.8 Tarefa de tempo de reação visuoespacial.....	25
1.3.1.9 Labirinto radial.....	26
1.3.1.9.1 Labirinto radial win-shift.....	27
1.3.1.9.2 Memória espacial no labirinto radial.....	28
1.3.1.9.3 Tarefa de discriminação espacial condicional com atraso.....	28
1.3.1.9.4 Tarefa de não correspondência atrasada de escolha variável.....	29
1.3.1.10 Labirinto em T.....	30
1.3.1.10.1 Tarefa de alternância contínua.....	31
1.3.1.10.2 Tarefa de alternância com atraso.....	32
1.3.1.10.3 Tarefa de discriminação condicional.....	32
1.3.1.10.4 Tarefa de discriminação condicional dependente de memória de trabalho.....	33
1.3.1.10.5 Tarefa de alternância espacial com atraso não correspondente à amostra.....	34

1.3.1.11 Labirinto duplo H.....	35
1.3.1.12 Tarefa combinada de atenção e memória.....	37
1.3.1.13 Tarefa de discriminação visual e reversão.....	39
1.3.1.14 Tarefa de tomada de decisão com atraso.....	41
1.3.2 Testes para avaliação da memória aversiva e social.....	42
1.3.2.1 Tarefa de condicionamento aversivo ao contexto.....	43
1.3.2.2 Tarefa de condicionamento aversivo ao som.....	44
1.3.2.3 Tarefa de medo condicionado ao odor de predador.....	46
1.3.2.4 Tarefa de esquiva passiva.....	47
1.3.2.5 Tarefa de esquiva ativa sinalizada.....	49
1.3.2.6 Tarefa de transmissão social de preferência alimentar.....	50
1.4 MÉTODOS DE INATIVAÇÃO/LESÃO DO NR.....	52
1.5 REVISÃO DE MAPEAMENTO.....	54
2 HIPÓTESE.....	55
3 OBJETIVOS.....	55
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	55
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	55
4 METODOLOGIA.....	56
4.1 PROTOCOLO PROSPERO PARA REVISÃO DE MAPEAMENTO.....	56
4.2 FERRAMENTA PICO.....	56
4.3 ESTRATÉGIA DE BUSCA.....	57
4.4 SELEÇÃO DE ESTUDOS.....	57
4.5 CRITÉRIO DE ELEGIBILIDADE.....	58
4.6 EXTRAÇÃO DE DADOS.....	58
5 RESULTADOS.....	58
5.1 FLUXOGRAMA PRISMA.....	58
5.2 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A AQUISIÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS.....	60
5.3 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A CONSOLIDAÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS.....	66

5.4 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A EVOCAÇÃO-EXPRESSÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS.....	71
5.5 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A DESESTABILIZAÇÃO-RECONSOLIDAÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS.....	81
5.6 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A EXTINÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS.....	85
6 DISCUSSÃO.....	90
7 CONCLUSÃO.....	93
7.1 OBJETIVOS CUMPRIDOS.....	93
7.2 CONCLUSÃO GERAL.....	94
7.3 ANEXOS	103

1. INTRODUÇÃO

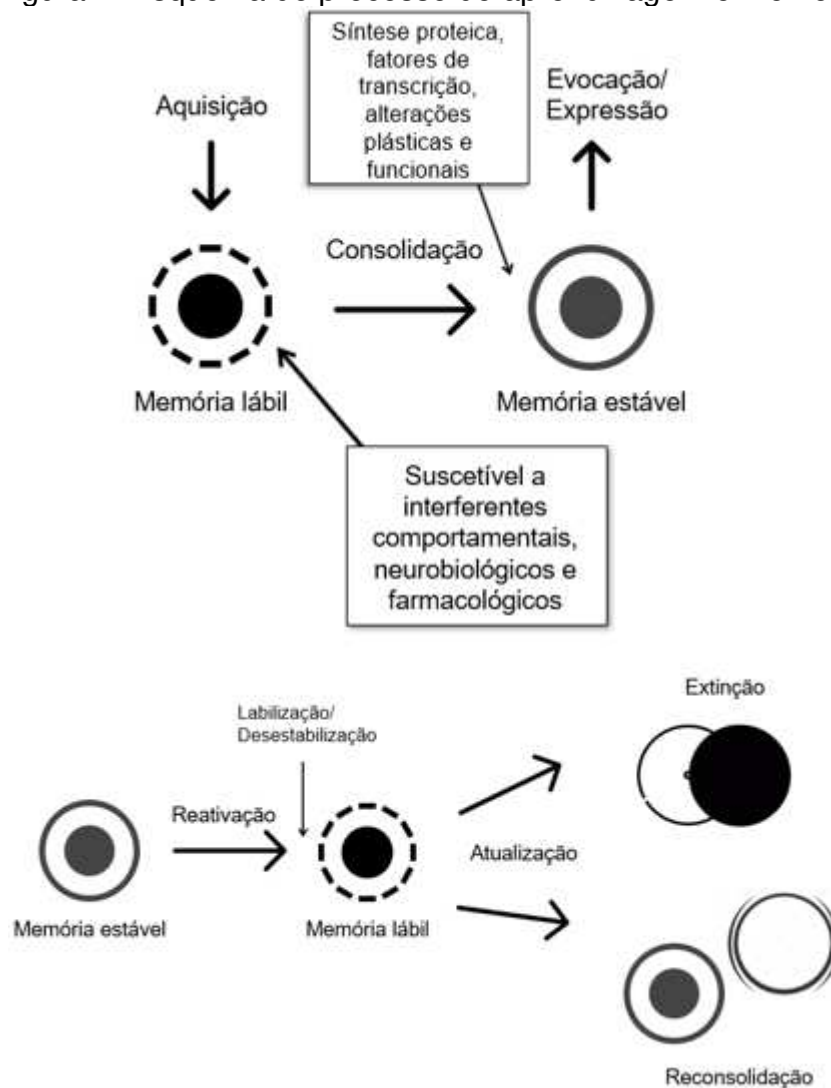
1.1 MEMÓRIA

A memória é um processo fisiológico que ocorre na maioria dos seres vivos e desempenha um papel importante e adaptativo. No entanto, pode tornar-se disfuncional e estar relacionado a comportamentos como ansiedade e patologias como o transtorno de estresse pós traumático (TEPT) (Alberini; Ledoux, 2013; Kida S,2019).

O processo de aprendizagem (Figura 1) envolve inicialmente a aquisição, etapa na qual ocorre a exposição à nova informação, e segue para a etapa de consolidação, que tem por objetivo o armazenamento dessa informação. Nessa etapa ocorrem mudanças na circuitaria celular responsável por codificar a memória promovendo a sua estabilização, gerando a representação interna da experiência vivida (Dudai; Karni; Born, 2015).

Quando a memória adquirida é evocada e reativada brevemente, pode ocorrer o processo de desestabilização-reconsolidação, ou seja, a memória se torna lábil novamente, havendo mudanças sinápticas que permitem que ela se restabeleça na forma original, de forma mais intensa (como no caso de uma memória traumática) ou mais branda, quando é atenuada farmacologicamente, por exemplo (Lee; Nader; Schiller, 2017). Quando a evocação da memória é mais longa, é possível que seu desfecho comportamental seja a extinção, processo este que envolve a formação de uma nova memória neutra que suprime a original (Bouton M.E,2004; Euston *et al.*, 2012; Haubrich; Nader, 2018).

Figura 1. Esquema do processo de aprendizagem e memória



Legenda: Representação esquemática das etapas de aprendizagem e memória. A partir do momento da aquisição até algumas horas depois (janela de consolidação), a memória lábil é suscetível a diversos interferentes, passando por vários processos moleculares para estabilização. Quando estabilizada, é possível o retorno da memória ao estado de labilidade ao ser reativada e evocada. Uma vez nesse estado a memória pode ser reconsolidada ou extinta, onde há a aprendizagem de um novo traço de memória que suprime em partes ou totalmente a memória original. Elaborado pelo autor (2024).

A memória pode ser de curto ou longo prazo, tendo como diferença a duração e a capacidade de armazenamento. A memória de curto prazo armazena as informações por pouco tempo e possui capacidade limitada para memorizar. Já a memória de longo prazo possui longa duração e maior capacidade de armazenamento, sendo possível a recuperação de uma informação adquirida há anos, por exemplo. Na memória de longo prazo, se tem como um fator importante o estado emocional do indivíduo durante a aquisição da informação que será posteriormente armazenada. Em situações estressantes, aversivas ou ansiogênicas, as memórias

são consolidadas e evocadas de forma mais intensa e duradoura (Squire L.R, 1986; Cowan N, 2008; Kensinger; Ford, 2019).

Existe ainda a chamada memória de trabalho, que pode ser usada para planejar e realizar determinado comportamento, sendo geralmente associada à memória de curto prazo em conjunto com outros mecanismos para o processamento da informação (Miller *et al*, 1960).

Dentro das memórias de longo prazo, a divisão se dá entre memória declarativa e não declarativa e/ou de procedimento. A memória declarativa é aquela que se refere à informação que é expressa ou transmitida convencionalmente, de forma explícita e consciente e pode ser dividida entre memória semântica e episódica (Squire L.R, 1986; Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009). A memória semântica corresponde aos conhecimentos gerais do mundo, como eles se relacionam e seus usos, fatos bem como conceitos, palavras e seus significados. Ela não tem relação com um episódio em específico do indivíduo. Porém, está relacionada majoritariamente a espécie humana, pois é difícil estabelecer se roedores ou outras espécies são capazes de formar um sistema semântico para processar certas informações, sendo insuficiente somente relacionar o conhecimento/informação geral em espécies não humanas (Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009). Já a memória episódica se refere às informações relacionadas a experiências e episódios temporais específicos do indivíduo/animal (Matthews, 2015).

Existem ainda outros tipos de memória de longo prazo que não se reduzem apenas a divisão entre declarativa e de procedimento, como a espacial e aversiva. A memória espacial consiste naquela responsável por reconhecer, codificar, armazenar e recuperar informações relacionadas sobre a disposição de objetos e lugares. Usualmente, a memória espacial é tida como um subtipo da memória episódica, pois armazena e relaciona informações dentro de um espaço-temporal (Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009).

A memória aversiva desencadeia uma resposta adaptativa e pode ser descrita como uma memória responsável por reconhecer, codificar e recuperar informações ligadas a situações perigosas/aversivas ao indivíduo, levando a comportamentos de enfrentamento, esquiva, ansiedade e estresse. Esse tipo de memória é importante para a detecção de ameaças e respostas de defesa. Além disso, as memórias podem se tornar mal adaptativas, se apresentando como pensamentos intrusivos, evocação de memórias associada a um evento traumático, generalização do medo em contextos

distintos, como ocorre no TEPT. Segundo a literatura a prevalência de transtornos ansiosos é maior em mulheres do que homens, sendo elas mais susceptíveis a quadros de fobias sociais, depressão maior, ansiedade generalizada e TEPT. Logo é necessário a comparação entre sexos nos experimentos para avaliar se há diferenças de respostas comportamentais em testes especialmente de memórias aversivas (Beery; Zucker, 2011; LeDoux J.E, 2014; Taylor; Torregrossa, 2015; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016).

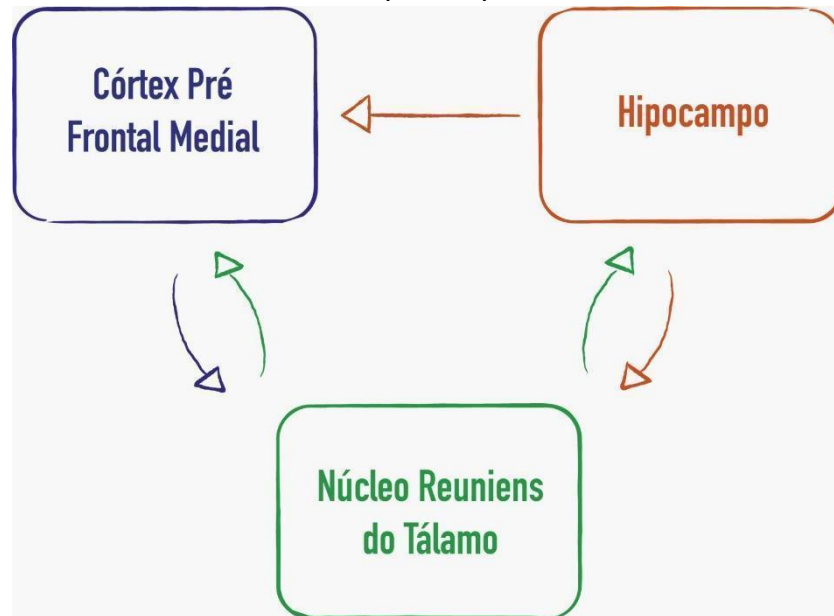
1.2 ÁREAS CEREBRAIS ENVOLVIDAS NO PROCESSO DE APRENDIZAGEM E MEMÓRIA

Algumas áreas encefálicas são de extrema importância para o processamento de aspectos mnemônicos, tais como o hipocampo (HPC) dorsal/ventral e o córtex pré-frontal medial (CPFm) (Preston; Eichenbaum, 2013; Ramanathan; Maren, 2019). O HPC é uma região modula a especificidade da memória, discriminação contextual e o armazenamento de memórias (Frankland *et al*, 1998; Wiltgen *et al*, 2010; Moser *et al*, 2015). Já o CPFm está relacionado com a generalização da memória e mudança de estratégia (Preston; Eichebaum, 2013). Outras regiões como a amígdala também são importantes para formação de memórias, que como parte do sistema límbico atua associando o componente emocional à informação adquirida, codificada e/ou evocada (Parkinson; Robbins; Everitt, 2000; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016).

Há evidências de estudos anatômicos de que as duas áreas citadas (HPC e CPFm) se comunicam através de projeções celulares vindas do HPC ao CPFm, porém essa comunicação não se dá pelo caminho inverso (Varela *et al*, 2014; Vertes, 2004).

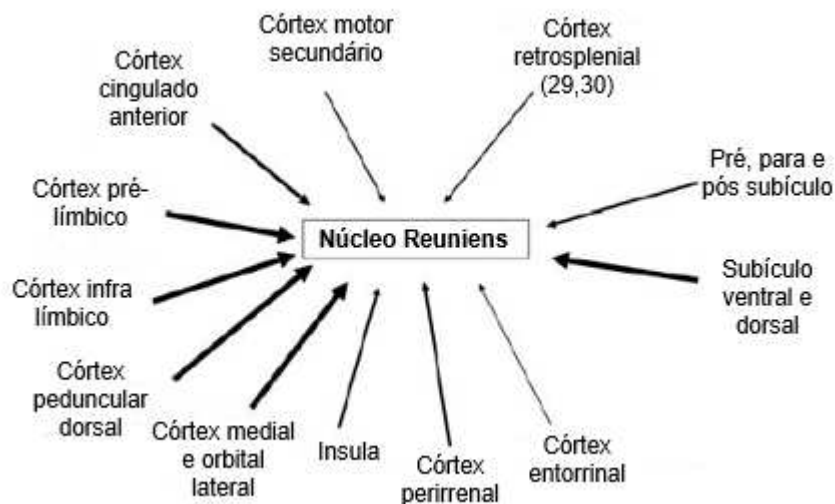
O núcleo reuniens (NR) está situado na área ventromedial do tálamo e se comunica reciprocamente com as subregiões do CPFm, córtex retroesplênico, o subículo e os córtices perirrinal e entorrinal (Figura 2, 3 e 4). Além das áreas mencionadas, estudos sugerem que o NR atua como um elo de comunicação e sincronização, regulando bidirecionalmente informações entre o CPFm e o hipocampo (Barker; Warburton, 2018; Scheel; Wulff; De Mooij-Van Malsen, 2020; Mathiasen *et al*, 2020).

Figura 2. Esquema das conexões anatômicas entre córtex pré-frontal medial e hipocampo



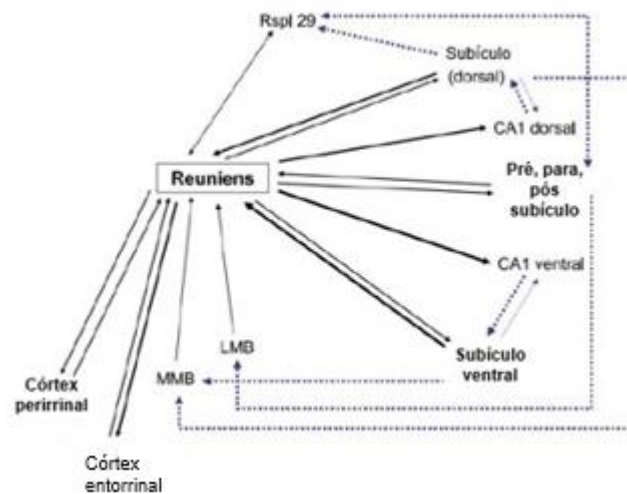
Legenda: Conexões anatômicas entre NR, HPC e CPFm. O NR possui projeções para ambas as áreas. A comunicação do HPC com o CPFm é feita de forma unidirecional. Para a informação ser transmitida do CPFm para o HPC é necessário a participação do NR. Elaborado pelo autor (2024).

Figura 3. Esquema das entradas corticais e alo corticais do núcleo reuniens.



Legenda: Projeções celulares corticais e alo corticais que o NR recebe. A espessura da linha representa a densidade das projeções. Adaptado de Mathiasen *et al*, 2020.

Figura 4. Esquema das projeções do núcleo reuniens para diferentes áreas corticais e hipocampais.



Legenda: Projeções do NR para áreas corticais e hipocampais. A espessura da linha representa a densidade das projeções. Linhas mais grossas representam maior número de projeções. Linhas pontilhadas representam comunicação secundária entre as regiões que as conecta. Adaptado de Mathiasen *et al*, 2020.

Conforme ilustrado na Figura 4, as principais conexões da formação do hipocampo e regiões para-hipocampais com o NR, o que ampara a sua participação no processo de memorização que envolve o recrutamento da circuitaria celular do hipocampo. A Figura também demonstra (linhas pontilhadas) as conexões formadas de modo indireto entre o NR e regiões corticais e corpos mamilares (Mathiasen *et al*, 2020).

Para memórias espaciais dependentes de HPC, lesões no NR levam a prejuízo na retenção e aprendizagem da memória, segundo a literatura (Dolleman-van der Weel *et al*, 2019). É sugerido que o NR auxilia a regular e controlar a informação espacial. No qual, a flexibilidade cognitiva fica prejudicada após mudanças no protocolo experimental (Mathiasen *et al*, 2020).

Para memórias aversivas, é relatado que o NR afeta diversas fases da memória, sendo sua atividade mais ou menos participativa de acordo com o protocolo experimental e a fase. Foi relatado que para a tarefa de esQUIVA passiva, mesmo que inicialmente o NR não afeta a aprendizagem, subseqüentemente a sua ausência de atividade afeta a consolidação e recuperação (Davoodi *et al*, 2011).

1.3 TESTES PARA AVALIAÇÃO DA MEMÓRIA

Existem testes com diferentes propósitos e distinções entre eles para avaliação das etapas da memória em ratos e camundongos. Aqui serão descritos os testes usados nos artigos selecionados na presente revisão sistemática.

1.3.1 Testes para avaliação da memória espacial

Para avaliar o papel do NR na memória espacial foram utilizados os seguintes testes: labirinto aquático de Morris, reconhecimento associativo de objetos, mudança de conjunto de atenção (AST), *crossword maze*, tempo de reação visuoespacial (VSRT), labirinto radial (RAM), discriminação espacial condicional com atraso (DNMTP e VC-DNM), labirinto em T para tarefas de discriminação condicional dependente de memória de trabalho (CDWM) e discriminação condicional (CD), labirinto em T para tarefas de alternância contínua (CA) e alternância com atraso (DA), tarefa combinada de atenção e memória (CAM), discriminação visual e reversão, tomada de decisão com atraso, labirinto duplo H, e labirinto em T para tarefa de alternância espacial com atraso não correspondente à amostra.

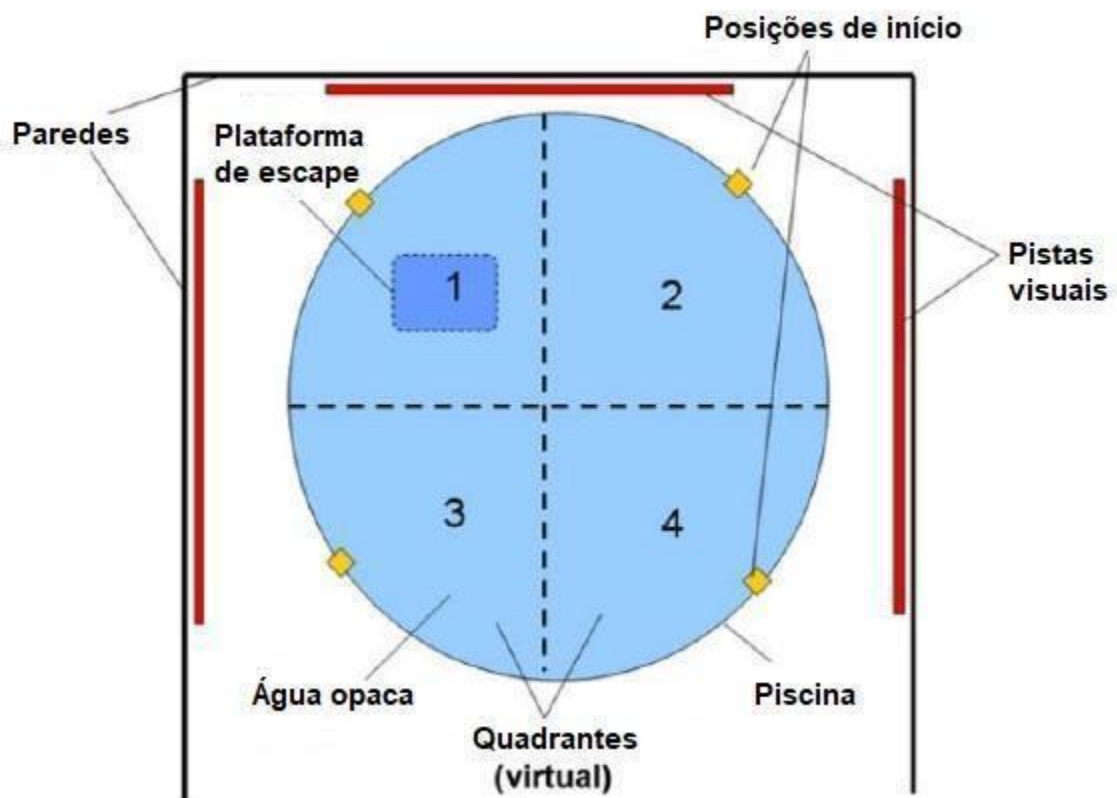
1.3.1.1 Labirinto aquático de Morris

O labirinto aquático (Figura 5), proposto inicialmente por Richard Morris, consiste em uma piscina redonda preenchida com água de coloração opaca e em temperatura ambiente. A piscina é dividida virtualmente em quatro quadrantes demarcados com pontos cardeais. Uma plataforma de escape é escondida submersa no interior da piscina em um dos quadrantes, sendo denominado quadrante alvo. Nas paredes de cada quadrante são coladas figuras geométricas que servem de guia visual para os animais se orientarem na procura pela plataforma. Antes dos testes, é possível submeter os animais a um período de habituação na piscina sem a presença da plataforma, devido ao potencial estressor da água para o animal (Morris R, 1981; Morris R, 1894; Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009).

Posteriormente, os animais passam por um período de treinamento, no qual a plataforma é colocada em um dos quadrantes e os animais são soltos de diferentes posições da piscina para que encontrem a plataforma e escapem da água. O tempo que o animal leva para encontrar a plataforma é chamado de latência para encontrar a plataforma, sendo uma das variáveis a serem medidas na avaliação da memória

espacial. O tempo gasto por quadrante ou no quadrante alvo também pode ser mensurado, especialmente durante o teste (Morris R, 1981; Morris R, 1894; Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009). Após o animal localizar a plataforma e ficar acima do nível da água é possível permanecer sobre a plataforma por até 60 segundos para favorecer a aprendizagem da tarefa. Durante o teste, tanto a plataforma quanto as pistas visuais das bordas da piscina são removidas a fim de discriminar qual estratégia está sendo usada pelo animal para encontrar a plataforma. Também se pode testar os animais no escuro ou ter o labirinto cercado por uma cortina de fundo escuro para evitar que os animais usem pistas espaciais (Morris R, 1981; Morris R, 1894; Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009).

Figura 5 – Labirinto aquático de Morris.



Fonte: Adaptado de Carrilo-Mora; Magda; Abel, 2009.

1.3.1.2 Tarefa de reconhecimento associativo de objetos

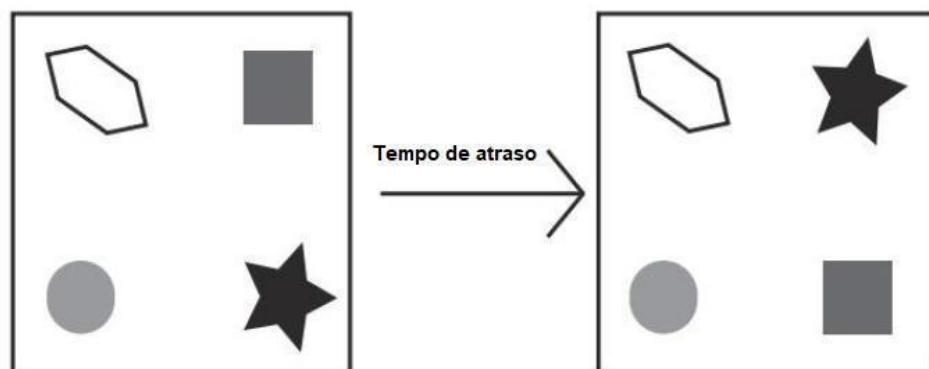
A tarefa de reconhecimento associativo de objetos compreende um conjunto de tarefas com o objetivo de testar o reconhecimento de itens individuais associado à sua localização. Assim, pode-se dividir esse conjunto em tarefa de objeto

no local, localização de objetos e preferência por um novo objeto (Barker; Warburton, 2018).

1.3.1.3 Tarefa de objeto no local

A tarefa de objeto no local (Figura 6) consiste em uma arena de campo aberto podendo ou não apresentar algumas pistas visuais nas paredes como cores diferentes e cortinas parcialmente abertas para auxiliar o animal no desempenho da tarefa. A tarefa consiste em uma fase de amostragem na qual o animal recebe quatro objetos diferentes (A, B, C, D por exemplo), sendo eles colocados nos cantos da arena a cerca de 10 cm das paredes. Cada animal é colocado no centro da arena e deixado por cerca de 5 minutos para exploração. O animal é então retirado da arena e os objetos são limpos para remoção de qualquer pista olfativa (Barker; Warburton, 2018). Na fase de teste, dois dos quatro objetos, ambos à esquerda ou à direita da arena trocam de lugares, então o animal volta ao centro da arena depois de um tempo de atraso definido pelo experimentador e pode explorar o local por cerca de 3 minutos. O tempo que foi gasto para explorar os dois objetos que foram trocados de lugar são comparados com o tempo gasto para explorar os dois objetos que permaneceram no lugar (Barker; Warburton, 2018). Se a memória do animal não sofreu nenhum tipo de interferência, é natural que ele passe mais tempo explorando os objetos que trocaram de lugar do que os que permaneceram no local quando foi realizada a fase de amostragem (Barker; Warburton, 2018).

Figura 6 – Tarefa de objeto no local



Fonte: Adaptado de Barker; Warburton, 2018.

1.3.1.4 Tarefa de localização de objetos

A tarefa de localização de objetos (Figura 7) é realizada em uma arena de campo aberto, podendo ou não apresentar pistas visuais nas paredes para auxiliar o animal no desempenho da tarefa. A tarefa também é dividida em uma fase de amostragem, na qual é colocado duas cópias idênticas de um objeto no canto da arena cerca de 10 cm da parede e o animal é colocado no centro da arena e pode explorar os objetos por cerca de 3-4 minutos e então é removido da arena. É utilizado um tempo de atraso entre a fase de amostragem e a fase de teste que é escolhida pelo experimentador (Ennaceur *et al*, 2005; Barker; Warburton, 2018). Na fase de teste, uma das cópias do objeto muda de posição sendo colocada em outra extremidade da arena. O animal então é colocado no centro da arena por cerca de 3 minutos e é medido o tempo que ele “gasta” com o objeto em sua nova localização. Se a memória do animal estiver íntegra, a tendência é que o animal passe mais tempo explorando o objeto na nova localização (Ennaceur *et al*, 2005; Barker; Warburton, 2018).

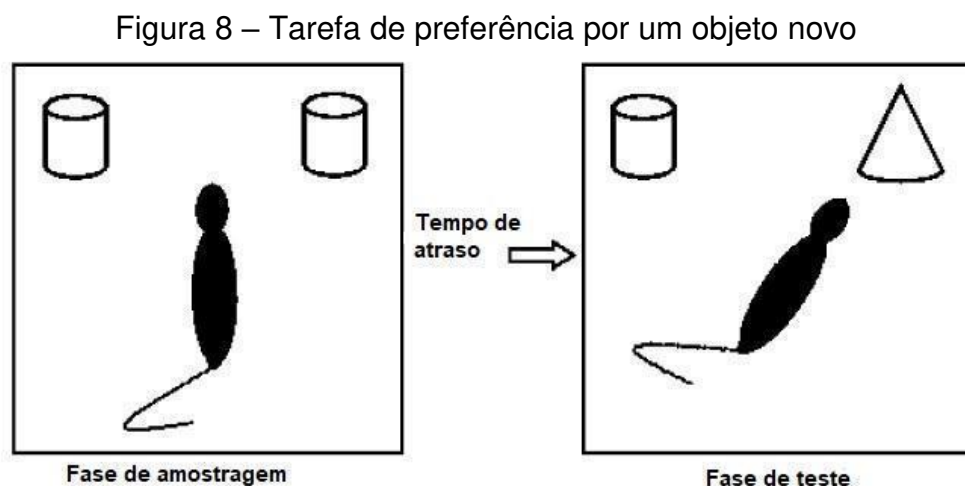


Fonte: Adaptado de Ennaceur *et al*, 2005. Fase de amostragem (à esquerda). Fase de teste (à direita).

1.3.1.5 Tarefa de preferência por um novo objeto

A tarefa de preferência por um novo objeto (Figura 8) é realizada em uma arena de campo aberto, também dividida entre uma fase de amostragem e uma de teste, sendo separadas por um tempo de atraso, que é escolhido pelo experimentador. Dentro da arena são colocadas duas cópias de objetos em uma das das extremidades da arena, cerca de 10 cm das paredes. O animal é colocado na extremidade oposta dos objetos, e pode explorar a arena e os objetos por 3-4 minutos. Os objetos então são limpos com álcool para remover qualquer pista olfativa (Ennaceur *et al*, 2005;

Barker; Warburton, 2018). Na fase de teste, um novo objeto é colocado na mesma posição de uma das cópias do objeto usado na fase de amostragem. O animal é colocado na extremidade oposta onde estão os objetos (a cópia e o novo) e deixado por cerca de 3 minutos para exploração. Se a memória do animal está íntegra, a tendência é que ele passe mais tempo explorando o novo objeto colocado na fase de teste (Ennaceur *et al*, 2005; Barker; Warburton, 2018).



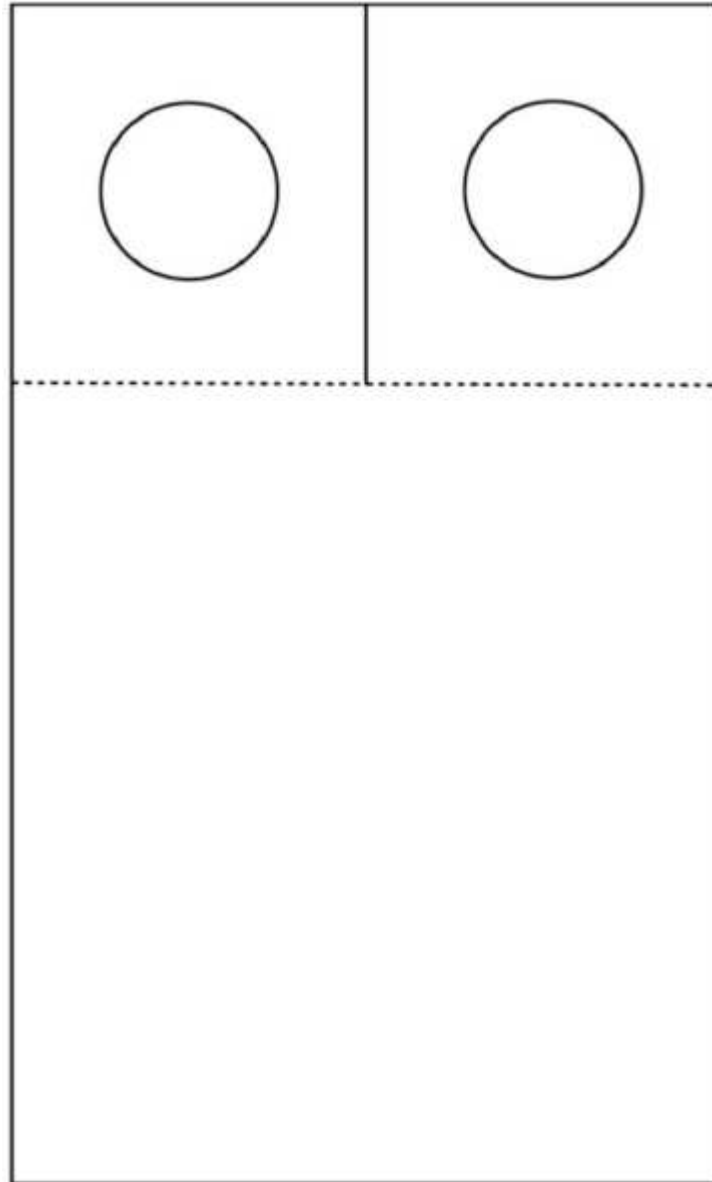
Fonte: Adaptado de Ennaceur *et al*, 2005. Fase de amostragem (à esquerda). Fase de teste (à direita)

1.3.1.6 Tarefa de mudança de conjunto de atenção

A tarefa de mudança de conjunto de atenção (AST) é o nome comum dado à tarefa de discriminação odor/textura, que possui a finalidade de investigar as funções executivas e a flexibilidade comportamental por meio da discriminação de texturas no chão do aparato e odores diferentes. A tarefa é realizada numa caixa retangular de plástico opaca com um divisor longitudinal também opaco presente no meio da caixa apresentando em uma das extremidades duas arenas de escolha. Dentro da arena de escolha há adição de material para escavação apresentando texturas diferentes, além de odores discriminativos (Figura 9) (Birrell; Brown, 2000; Linley; Gallo; Vertes, 2016). Inicialmente é feita a habituação dos animais ao ambiente de realização da tarefa. Os animais são colocados no aparato vazio e deixados para explorá-lo por cerca de 5 minutos. Os animais passam por uma etapa de treinamento antes do teste, com a finalidade de estabelecer o comportamento de escavação e associação de pistas (odores). Na etapa de teste os animais são testados em 7 estágios: discriminação simples, discriminação composta, aprendizado reverso da discriminação composta, deslocamento interdimensional, aprendizado reverso do deslocamento

interdimensional, deslocamento extradimensional e aprendizado reverso do deslocamento extradimensional (Birrell; Brown, 2000; Linley; Gallo; Vertes, 2016).

Figura 9 – Tarefa de mudança de conjunto de atenção. Caixa de realização da tarefa e habituação



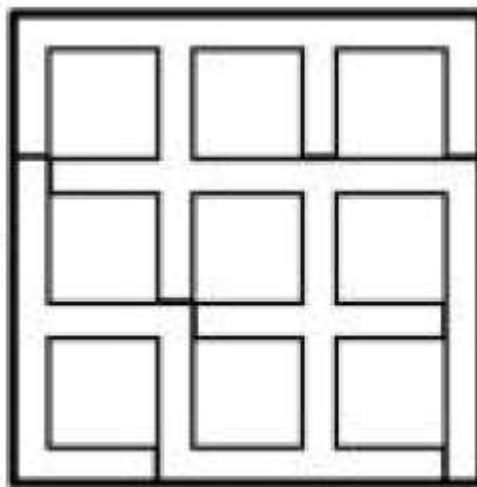
Fonte: Adaptado de Linley; Gallo; Vertes, 2016.

1.3.1.7 Tarefa de crossword maze

A tarefa de *crossword maze* (Figura 10) consiste em um aparato construído geralmente em plástico, pintado de preto, formando um conjunto de 9 seções quadráticas idênticas. O animal é colocado em um ponto do labirinto e tem que percorrer um caminho para chegar à uma recompensa alimentar. A tarefa é dividida

entre uma fase de habituação, onde os animais aprendem a percorrer um caminho para alcançar a recompensa. Os locais onde os animais são soltos na habituação são diferentes dos usados no dia do teste. A fase de habituação é repetida até que o comportamento do animal se torne consistentemente orientado para a recompensa (McNamara *et al*, 2014; Mei; Logothetis; Eschenko, 2018). No dia do teste os animais são soltos em uma extremidade pseudo aleatória do labirinto e deixados para procurarem a recompensa, tendo um tempo de cerca de 3 minutos para atingir o objetivo. São utilizados dois locais de início na sessão de teste, sendo as duas trajetórias mais curtas que levam à recompensa. Cada sessão de treino consiste em 10 tentativas. Entre cada tentativa o labirinto é limpo para remover qualquer pista olfativa. É medido a velocidade do animal, a escolha da trajetória correta, o comprimento da trajetória e os “erros”, na qual é considerado a escolha do caminho incorreto ou movimentação na trajetória correta, porém no seu caminho inverso, ou seja, longe da recompensa (McNamara *et al*, 2014; Mei; Logothetis; Eschenko, 2018).

Figura 10 – *Crossword maze*



Fonte: Adaptado de Mei; Logothetis; Eschenko, 2018.

1.3.1.8 Tarefa de tempo de reação visuoespacial

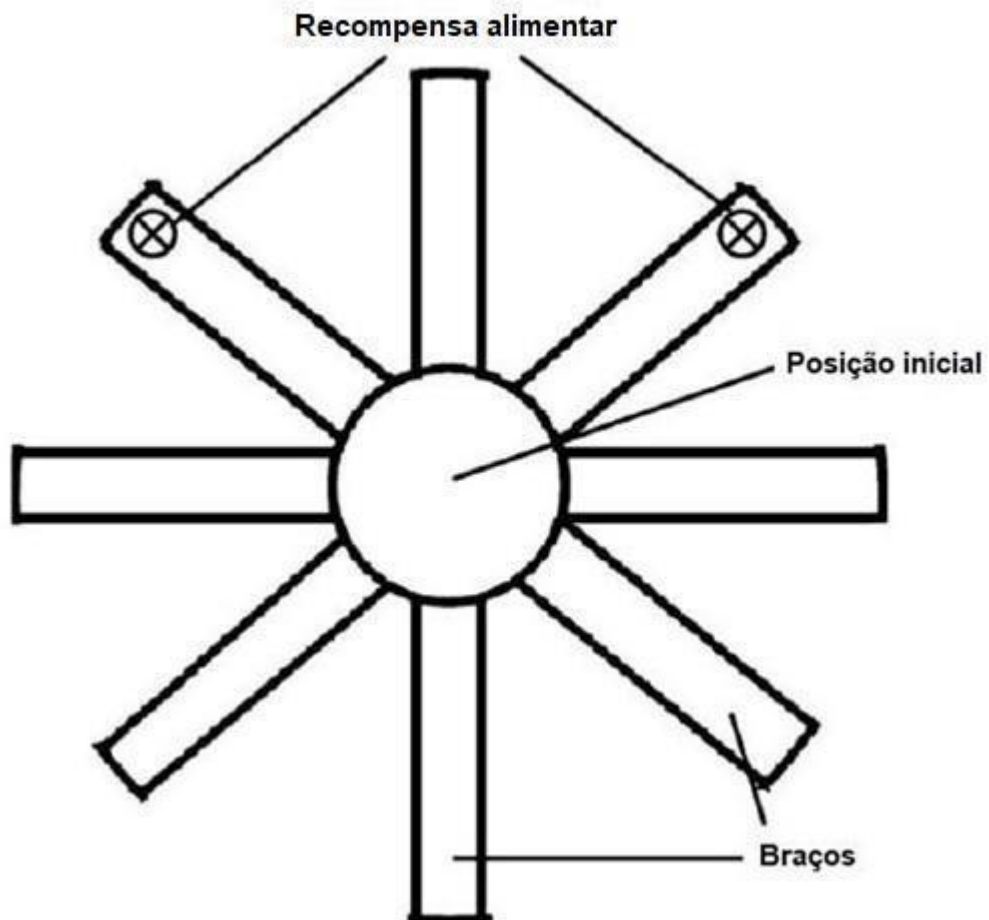
A tarefa de tempo de reação visuoespacial (VSRT) é realizada numa câmara de teste com um painel de cinco portas em uma extremidade e uma passagem centralizada em outra extremidade. Cada porta é equipada com uma luz de estímulo, tendo uma fotocélula que quando acionada serve para medir cutucadas do nariz do animal e um poço onde é adicionado um pouco de água que serve como reforço pela

ativação de uma válvula. A pista do aparelho possui uma alavanca retrátil na extremidade para o início do teste e também uma fotocélula para detectar quando os animais entram na câmara depois de pressionar a alavanca (Hembrook; Mair, 2011). A tarefa consiste em uma fase de treinamento e teste. Nas duas etapas o animal precisa pressionar a alavanca que acende todas as luzes das cinco portas. A luz de quatro portas é apagada, somente uma permanece acesa quando os animais cruzam a fotocélula presente no braço do aparelho, com duração variável. A localização da porta que se mantém acesa e duração do estímulo visual são alternadas aleatoriamente entre as tentativas. Quando os animais respondem primeiro à porta que está com a luz acesa num período de cinco segundos depois de cruzar a fotocélula do braço do aparelho a resposta é classificada como correta e é dado o reforço (água) ao animal. É classificado erro quando o animal responde primeiro à alguma das portas que a luz está apagada ou quando não toca o nariz nas fotocélulas das portas no período de cinco segundos. É considerado uma tarefa bem sucedida quando o animal acerta 70% entre as 96 tentativas (Hembrook; Mair, 2011).

1.3.1.9 Labirinto radial

O labirinto radial (RAM) é uma estrutura de oito braços lineares equipados com fotocélulas convergindo para uma pequena arena central circular, onde é utilizado para tarefas de problema de múltiplas soluções (Figura 11). Várias tarefas podem ser estudadas usando como base o labirinto radial, como a RAM *win-shift*, memória espacial, tarefa de discriminação espacial condicional com atraso e tarefa de não correspondência atrasada de escolha variável.

Figura 11 – Labirinto radial tradicional de oito braços



Fonte: Adaptado de Carrilo- Mora; Magda; Abel, 2009.

1.3.1.9.1 Labirinto radial *win-shift*

No RAM *win-shift*, o animal é habituado ao aparato onde recebe de três a quatro recompensas/reforço (água de torneira) em cada braço do labirinto por cerca de cinco sessões. Na fase de teste, o animal é colocado no centro do labirinto e os portões dos oito braços são abertos. Estes permanecem assim até que o animal faça o total de oito entradas nos braços, definido pelo acionamento da fotocélula presente em cada um dos braços. Se o braço escolhido ainda não foi adentrado pelo animal, é tido como uma escolha correta e então é dada a recompensa. Em caso de a escolha do braço ser um que previamente já foi explorado, a recompensa é retida. Após a oitava entrada, ou seja, todos os braços explorados, todos os portões são fechados e o animal fica preso por um período de cerca de 10 segundos. Todos os braços são abertos novamente e então uma nova sessão de escolhas é iniciada. O animal é treinado num total de 3 tentativas por dia. É tido como uma tentativa bem sucedida a

entrada do animal nos oito braços sem que haja a repetição de escolha de um braço que já foi explorado (Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009; Hembrook; Mair, 2011).

1.3.1.9.2 Memória espacial no labirinto radial

Outro teste que pode ser feito utilizando o labirinto radial utilizado e descrito por Prasad; Abela; Chudasama (2016) é o teste de memória espacial. Ele é dividido em uma fase de treino e teste. Na fase de treino, o animal é deixado ao centro do labirinto, e somente quatro dos oito braços do labirinto é aberto aleatoriamente, e em sua extremidade contém uma recompensa alimentar (*pellet* de sacarose). Após o animal recolher os quatro *pellets* disponíveis, os quatro braços restantes são abertos, permitindo ao animal acesso aos oito braços do labirinto. O animal agora possui quatro chances adicionais de recuperar a recompensa. Se o animal entrar novamente nos braços que entrou nas primeiras quatro tentativas, o ato é contabilizado como um erro. O desempenho é definido como ≤ 1 erro em duas sessões consecutivas (Prasad; Abela; Chudasama, 2016). Na fase de teste tudo é conduzido da mesma forma, com a diferença de que a abertura dos quatro últimos braços é separada por um tempo de atraso de 10 e 30 minutos (Prasad; Abela; Chudasama, 2016).

1.3.1.9.3 Tarefa de discriminação espacial condicional com atraso

A tarefa de discriminação espacial condicional com atraso consiste em duas tarefas, sendo a tarefa de não correspondência atrasada para a posição (DNMTP) e não correspondência atrasada de escolha variável no labirinto radial (VC-DNM).

A DNMTP é realizada em uma câmara automatizada com três alavancas retráteis, sendo duas na parede frontal e uma na parede traseira, um recipiente preenchido com água, no qual serviu como um reforço para o animal, que foi colocado entre as duas alavancas da parede frontal, e uma fonte de luz. A tarefa é dividida entre uma fase de treinamento e uma fase de teste. Na fase de treinamento o animal é colocado na câmara, e todas as alavancas são estendidas dentro da câmara. Assim que é pressionado pelo animal, a alavanca é retraída. Cada sequência de treinamento começa com a extensão da alavanca traseira e a extensão de uma das duas alavancas frontais. Após isso, novamente a alavanca traseira é estendida, seguido da alavanca frontal que não foi estendida na seção anterior. A quarta vez que a alavanca

é pressionada é dada a água como reforço para o animal (Porter; Burk; Mair, 2000; Hembrook; Onos; Mair, 2012). A fase de teste consiste na extensão da alavanca traseira, que é retraída após uma das duas alavancas frontais ser pressionada, sendo essa alavanca frontal denominada “amostra”. A alavanca frontal que é pressionada se retrai e faz com que a alavanca traseira se estenda por um período de atraso selecionado aleatoriamente. A alavanca traseira se mantém estendida até que seja pressionada novamente após esse período de atraso, se retraindo e fazendo com que as duas alavancas frontais se estendam para o animal escolher. A resposta correta de escolha se dá pela pressão da alavanca que não estava estendida durante a fase de amostragem. O critério de acerto é de 75% de escolhas corretas dentro de uma sessão de 60 minutos com 60 tentativas (Porter; Burk; Mair, 2000; Hembrook; Onos; Mair, 2012).

1.3.1.9.4 Tarefa de não correspondência atrasada de escolha variável

A tarefa de não correspondência atrasada de escolha variável no labirinto radial (VC-DNM) é realizada no labirinto radial, onde cada braço do labirinto possui portões automatizados que controlam o acesso aos recipientes contendo recompensa aos animais. Cada braço do labirinto é equipado com uma fotocélula para indicar a entrada do animal nos braços. Primeiro é feita uma habituação ao labirinto radial, onde o animal é colocado em cada um dos braços com os portões fechados até que ele consuma toda a recompensa oferecida (Porter; Burk; Mair, 2000; Hembrook; Onos; Mair, 2012). A tarefa consiste em uma fase de treino e uma de teste. Na fase de treino o animal é deixado no centro do labirinto, e um dos portões dos oito braços é aberto aleatoriamente para a primeira tentativa, onde o reforço foi entregue e o portão foi fechado. Esse primeiro braço foi denominado “amostra”. O animal é colocado novamente ao centro do labirinto e um segundo braço é aberto de forma aleatória. Esse segundo braço é denominado como braço de suporte. Então é contado um tempo de retenção, selecionado aleatoriamente para cada tentativa, que começa ao final do fechamento de portão do segundo braço e entrega de reforço ao animal (Porter; Burk; Mair, 2000; Hembrook; Onos; Mair, 2012). Ao final desse intervalo um terceiro braço (podemos chamar de S+) é aberto juntamente com os dois anteriores. Esse braço S+ é aleatoriamente selecionado e dito não correspondente ao braço de “amostra”. Agora a recompensa só é entregue ao animal quando o braço S+ é

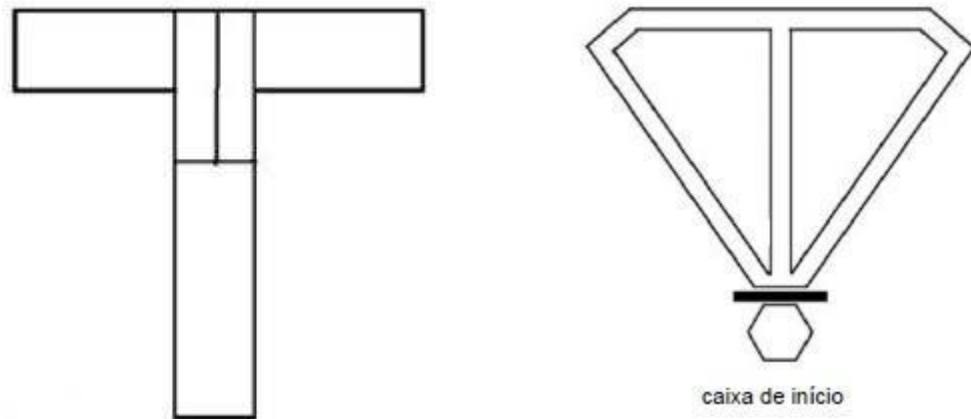
adentrado pelo animal e sua fotocélula é quebrada. Se após a abertura desses três braços o braço S+ é o primeiro que o animal entra, há a pontuação como escolha correta. Se é o braço de “amostra” que o animal entra primeiro a tentativa é tida como incorreta e a recompensa de reforço é retida até que o animal adentre no braço tido como correto (S+) (Porter; Burk; Mair, 2000; Hembrook; Onos; Mair, 2012).

A fase de teste é realizada da mesma forma que a fase de treinamento, porém os braços são reorganizados de forma aleatória. É escolhido um novo braço de “amostra”, de suporte e S+ que serve como não correspondente para a tentativa. A escolha correta segue como descrita para a fase de treinamento. O critério de acerto é considerado de 75% de acertos, em 36 tentativas numa sessão de 60 minutos. Vale lembrar que para essas duas tarefas o consumo de água pelos animais é restrito, visto que a água serve de reforço para esses animais realizarem as tarefas (Porter; Burk; Mair, 2000; Hembrook; Onos; Mair, 2012).

1.3.1.10 Labirinto em T

O labirinto em T (Figura 12) é um aparato, geralmente feito em madeira, que recebe esse nome pois o seu formato é igual a letra ‘T’. Ele é composto por um braço central longo e dois braços curtos laterais angulares de 90° em relação ao braço central, cercados com paredes de madeira. Há a presença de uma divisória na extremidade entre a passagem do braço mais longo para os mais curtos, geralmente contendo um portão removível. Também existe o labirinto em T modificado (Figura 14) que preserva as características do labirinto em T tradicional contendo um braço central longo e dois laterais curtos, porém contém dois braços de retorno à extremidade de início do braço longo do labirinto (Carrillo-Mora; Magda; Abel, 2009; Layfield *et al*, 2015). A ideia central do labirinto é realizar tarefas onde o animal tem que realizar escolhas entre os braços mais curtos, que geralmente contém alguma recompensa de reforço (água ou comida) em sua extremidade. Das tarefas que podem ser realizadas no labirinto em T, temos a chamada de tarefa de alternância contínua (CA), alternância com atraso (DA), discriminação condicional (CD), tarefa de discriminação condicional dependente de memória de trabalho (CDWM) e tarefa de alternância espacial com atraso não correspondente à amostra (DNMS).

Figura 12 – Labirinto em T tradicional (à esquerda) e labirinto em T modificado (à direita)



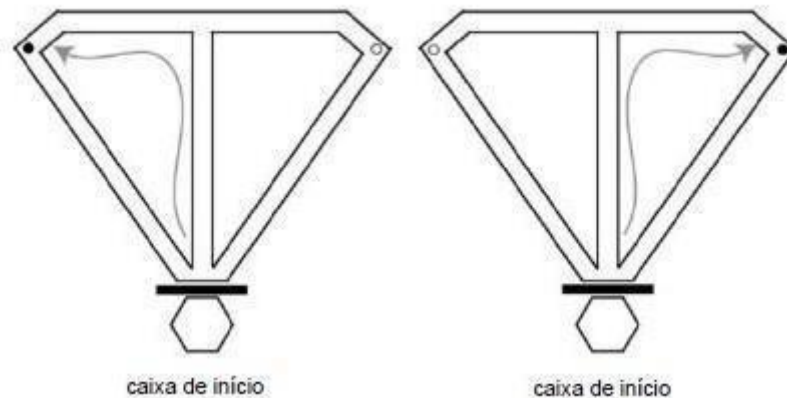
Fonte: Adaptado de Carrilo- Mora; Magda; Abel, 2009 e Viena; Linley; Vertes, 2018.

1.3.1.10.1 Tarefa de alternância contínua

A tarefa de alternância contínua (CA), é realizada no labirinto em T modificado (Figura 13). Ela é dividida em período de habituação, treino e teste. No período de habituação, o animal é colocado nas duas extremidades dos braços curtos para coletar a recompensa alimentar que serve de reforço, e são deixados no local por cerca de 3 minutos. Os animais são isolados nas extremidades dos braços menores, sem acesso ao restante do labirinto. Após o animal aprender a capturar a recompensa, é permitido que ele visite os braços curtos do labirinto partindo do braço central (longo), e retornando à extremidade de partida do braço central pelos braços de retorno. Esse percurso é feito de forma alternada, onde um braço é aberto e o outro fechado, deixando somente uma alternativa de escolha para o animal. Todo esse processo é feito em doze tentativas (Hallock; Arreola *et al*, 2013). Na fase de treinamento, para a tarefa de CA, o animal é solto no braço longo, na extremidade oposta que contém os braços curtos. O animal é obrigado a correr num padrão contínuo de “8” no labirinto, alternando a entrada entre os braços esquerdo e direito para que se obtenha o reforço. Cada sessão de treinamento começa com uma escolha livre, onde ambos os braços curtos possuem o reforço na sua extremidade, onde após essa escolha inicial, o animal tem que ir alternando a entrada nos braços para receber o reforço. Ao total são 24 tentativas no processo de alternância. O critério de aprendizagem é dado por $\geq 80\%$ de escolhas corretas durante três sessões

consecutivas. A sessão de teste é realizada da mesma forma que a sessão de treinamento (Layfield *et al*, 2015).

Figura 13 – Labirinto em T modificado para as tarefas de CA e DA. Ponto em preto representa a recompensa alimentar



Fonte: Adaptado de Viena; Linely; Vertes, 2018.

1.3.1.10.2 Tarefa de alternância com atraso

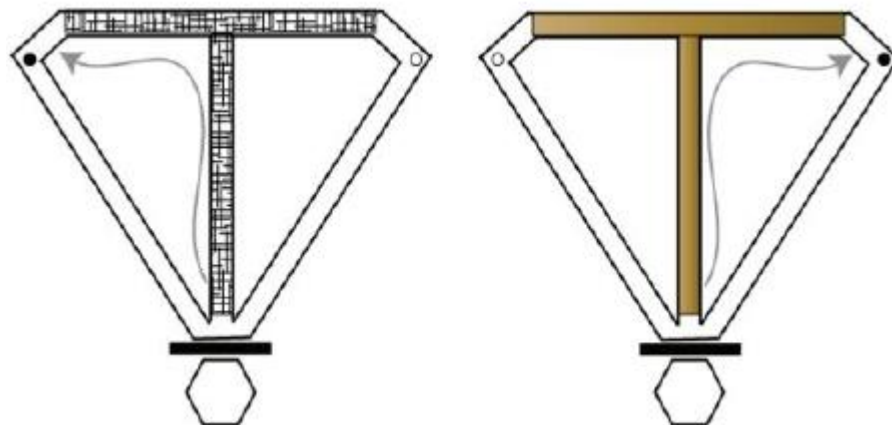
Na tarefa de alternância com atraso (DA) (Figura 13), a divisão da tarefa segue a mesma que descrito na tarefa de CA. A fase de habituação, treino e teste segue o mesmo. Porém, para a tarefa de DA, na fase de treino e teste, os animais são presos na extremidade oposta do braço longo que contém os braços curtos por um atraso de 5 ou 30 segundos entre a alternância de escolha de braços. O total de tentativas no processo de alternância na tarefa de DA é o mesmo de CA, além do critério de aprendizagem de $\geq 80\%$ de escolhas corretas durante três sessões consecutivas (Layfield *et al*, 2015).

1.3.1.10.3 Tarefa de discriminação condicional

A tarefa CD é uma tarefa tátil-visual que não depende da memória de trabalho. Ela é dividida em fase de habituação igual à descrita para as tarefas de alternância contínua (CA) e de alternância com atraso (DA), treino e teste. Na fase de treino é colocado no chão do labirinto em T modificado do braço longo aos braços curtos uma malha preta de um lado dos braços e um piso de madeira no outro braço (Figura 14). O animal aprende a associar a textura e aparência do chão com a recompensa

alimentar de reforço. Metade dos animais aprende a associar a malha preta com o braço direito do labirinto, e a outra metade associa o piso de madeira com o braço esquerdo do labirinto. A segunda metade realiza a mesma associação só que invertendo os lados (direito com o piso de madeira e esquerdo malha preta) (Hallock; Arreola *et al*, 2013; Hallock *et al*, 2013). O treino consiste em uma sessão de 24 tentativas, sendo 12 no piso de madeira e 12 na malha preta. Cada tentativa é apresentada de acordo com uma sequência pseudo aleatória. Entre cada tentativa o animal espera numa caixa de início por cerca de 20 segundos enquanto o experimentador troca entre as texturas, se preparando para a próxima tentativa. As texturas do chão do labirinto sempre são trocadas em tentativas consecutivas, mesmo que na próxima tentativa seja mantida a mesma textura da tentativa anterior. Isso é feito para que o animal não use pistas auditivas para realizar a tarefa. O critério de aprendizagem é de 80% de escolhas corretas pelo braço que contém o reforço em duas sessões consecutivas. A etapa de teste é realizada da mesma forma que a etapa de treinamento (Hallock; Arreola *et al*, 2013; Hallock *et al*, 2013).

Figura 14 – Labirinto em T modificado para a tarefa de CD. Malha preta (à esquerda) e piso de madeira (à direita)



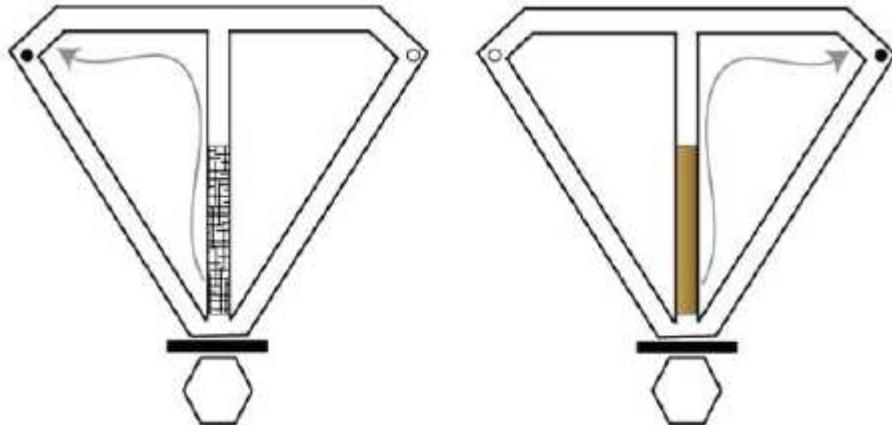
Fonte: Adaptado de Viena; Linely; Vertes, 2018. Ponto em preto representa a recompensa alimentar

1.3.1.10.4 Tarefa de discriminação condicional dependente de memória de trabalho

A tarefa de CDWM segue o mesmo protocolo que a tarefa de CD, porém as texturas (malha preta ou piso de madeira) só cobrem a primeira metade do braço longo (Figura 15). A fase de habituação é a mesma descrita anteriormente nas tarefas de alternância contínua (CA) e de alternância com atraso (DA). A fase de treino e teste é

a mesma descrita para a tarefa de CD. O critério de aprendizagem é de 80% de escolhas corretas pelo braço que contém o reforço em duas sessões consecutivas (Hallock; Arreola *et al*, 2013; Hallock *et al*, 2013).

Figura 15 – Labirinto em T modificado para a tarefa de CDWM. Malha preta (à esquerda) e piso de madeira (à direita)



Fonte: Adaptado de Viena; Linley; Vertes, 2018. Ponto em preto representa a recompensa alimentar.

1.3.1.10.5 Tarefa de alternância espacial com atraso não correspondente à amostra

A tarefa de DNMS (Figura 16) é dividida nas fases de habituação, treino e teste. Na fase de habituação, ambos os braços curtos do labirinto possuem uma recompensa alimentar que serve como reforço na sua extremidade final. Durante uma primeira tentativa o animal é solto no braço longo na extremidade oposta aos braços curtos. O animal pode percorrer livremente e escolher um dos braços para obter a recompensa de reforço. Após o consumo da primeira recompensa o animal retorna a caixa de início pelo braço de retorno. Assim que ele chega à caixa, uma nova tentativa é iniciada. Se o animal entrar no braço oposto ao escolhido na tentativa anterior ele é recompensado com um reforço. Isso é tido como um acerto. Assim que é atingido um critério de 80% de acerto entre tentativas em 3 sessões consecutivas é encerrado o período de habituação (Viena; Linley; Vertes, 2018). A fase de treino para a tarefa DNMS consiste em 10 tentativas executadas conforme descrito na fase de habituação, porém após a primeira tentativa que não possui atraso, nas 9 tentativas restantes há um atraso aleatório de 30, 60 ou 120 segundos entre uma tentativa e outra de escolha do braço correto. Em todas as tentativas o animal precisa alternar entre a escolha dos braços para receber o reforço. Se o animal entrar na tentativa seguinte no braço que

foi escolhido na tentativa anterior, é realizada uma corrida de correção sem atraso. É realizada a corrida de correção até o animal escolher o braço correto e recuperar o reforço. Se o animal não conseguir corrigir o erro de escolha em 10 tentativas, a sessão é encerrada. A fase de teste é executada da mesma maneira que o treinamento. O critério de acerto é de 80% para a escolha do braço correto (Viena; Linley; Vertes, 2018).

Figura 16 – Labirinto em T modificado para a tarefa de DNMS



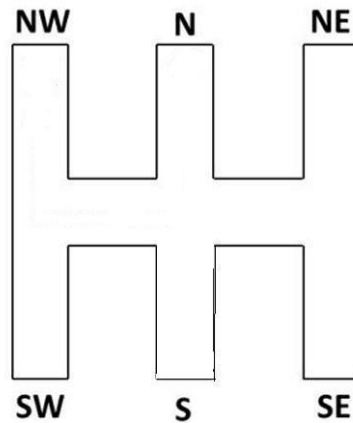
Fonte: Adaptado de Viena; Linely; Vertes, 2018. Ponto em preto representa a recompensa alimentar

1.3.1.11 Labirinto duplo H

O labirinto duplo H (Figura 17) é uma estrutura feita de material transparente com paredes altas se assemelhando a duas letras H juntas. Esse é um labirinto aquático, onde o animal tem que nadar de um ponto inicial até a plataforma de escape que está submersa em um dos quatro braços disponíveis do labirinto. O aparelho conta com seis braços verticais interconectados com um braço longo horizontal (Pol-Bodetto *et al*, 2011; Kirch *et al*, 2015). Cada braço é identificado com um ponto cardeal. Por convenção os dois braços opostos centrais são denominados braço norte (N) e sul (S). Os outros braços restantes são denominados noroeste (NW), nordeste (NE), sudoeste (SW) e sudeste (SE). Para realização da tarefa, sempre um dos braços fica fechado (N ou S), sendo o oposto a esse o ponto inicial de partida do animal para procurar a plataforma que sempre se encontra no braço NE (Pol-Bodetto *et al*, 2011; Kirch *et al*, 2015). Com isso o animal deve escolher entre os quatro braços livres para encontrar a plataforma. A ordem do ponto inicial é selecionada aleatoriamente entre as tentativas. É importante dizer que há a presença de pistas visuais nas paredes do

labirinto para ajudar o animal a localizar a plataforma de escape (Pol-Bodetto *et al*, 2011; Kirch *et al*, 2015).

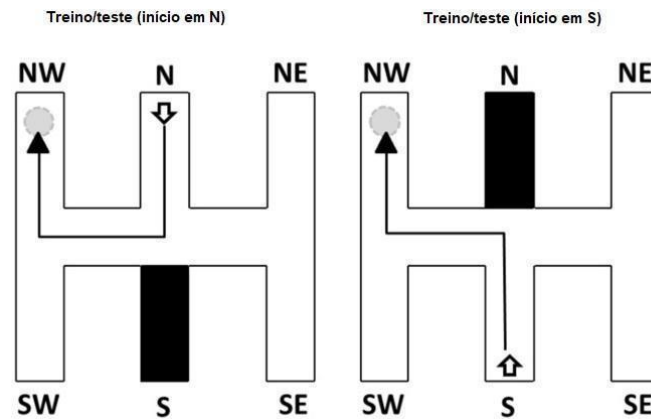
Figura 17 – Labirinto duplo H



Fonte: Adaptado de Cholvin *et al*, 2013.

A tarefa é dividida em fase de habituação, treino e teste. Na fase de habituação o animal é colocado no labirinto e tem que nadar do ponto inicial, localizado no braço NW, a plataforma de escape localizada no braço SW ao longo de quatro tentativas. Uma porta móvel transparente bloqueia o acesso ao corredor central (braço horizontal), fazendo com que o animal só possa nadar diretamente para o braço oposto (Pol-Bodetto *et al*, 2011; Kirch *et al*, 2015). Na fase de treinamento (Figura 18) o animal possui doze tentativas divididas em blocos de quatro tentativas diárias, onde é solto do braço de início (N ou S) e tem que nadar para localizar a plataforma de escape que se encontra submersa no braço NE. Cada tentativa compreende num tempo de 60 segundos. Se ao longo desse período o animal não conseguir localizar a plataforma, ele é guiado pelo experimentador até a plataforma. Uma vez que o animal alcança a plataforma, ele permanece nela por cerca de 10 segundos até a próxima tentativa. A fase de teste é executada da mesma forma que a fase de treinamento (Pol-Bodetto *et al*, 2011; Kirch *et al*, 2015).

Figura 18 – Labirinto duplo H período de treino/teste



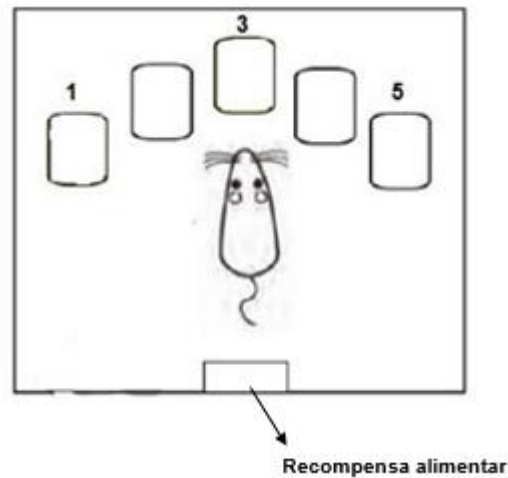
Fonte: Adaptado de Cholvin *et al*, 2013.

Pode-se ainda realizar chamados teste de sondagem dias depois do treinamento e teste, onde é mudado o braço de início do animal (sendo solto no braço SW) e tem como objetivo localizar a plataforma (agora retirada do labirinto) no braço NE. Esses testes permitem avaliar as estratégias adotadas pelo animal para localizar a plataforma no braço NE quando foi treinado para sair do braço N ou S, agora comparando com um ponto de início diferente do aprendido (Cholvin *et al*, 2013).

1.3.1.12 Tarefa combinada de atenção e memória

A tarefa combinada de atenção e memória (CAM) é um teste que avalia a atenção visual e memória de trabalho no mesmo ambiente. Ela é realizada numa câmara de teste com cinco aberturas. No estudo descrito aqui de Prasad; Abela; Chudasama (2016) em específico foi utilizado as aberturas na posição 1,3 e 5 (Figura 19). A tarefa consiste numa fase de treinamento e uma de teste que são conduzidas da mesma forma. Cada tentativa compreende uma fase de atenção (correspondente) e uma fase de memória (não correspondente). Na fase focada na atenção o animal precisa responder a um estímulo luminoso, com duração de 3 segundos (na fase de treinamento) ou 0,7 segundo (na fase de teste), que é apresentado de forma pseudo aleatória em uma das três aberturas presentes na caixa. Se o animal acerta a abertura onde está o estímulo luminoso, após um atraso de 0, 7,14 ou 21 segundos é entregue uma recompensa alimentar como forma de reforço e essa abertura se ilumina.

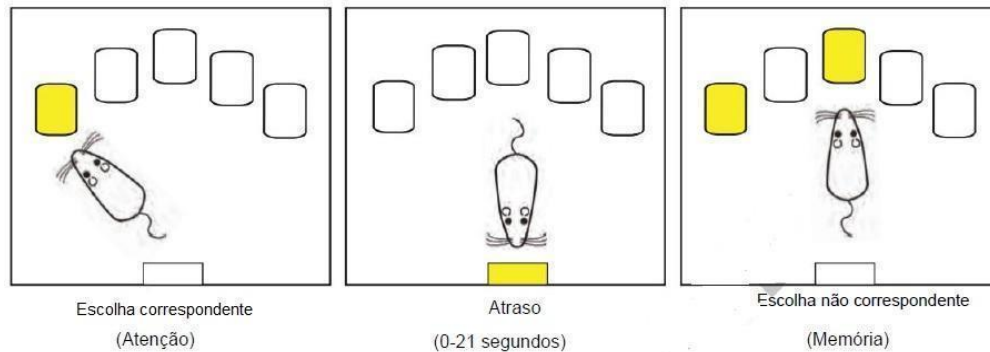
Figura 19 – Câmara de treinamento/teste de CAM



Fonte: Adaptado de Prasad; Abela; Chudasama, 2016.

O animal colocando o nariz na abertura de entrega de recompensa leva à uma escolha entre dois estímulos luminosos com duração de 3 segundos. Um dos estímulos luminosos (correspondente) é aceso na mesma abertura que é acesa na fase de atenção. O segundo estímulo luminoso (não correspondente) é aceso em uma das duas aberturas restantes. Se o animal responder tocando na abertura de estímulo luminoso não correspondente, é tido como uma escolha correta e ele é recompensado com o reforço (Figura 20). Se o animal não escolher a abertura não correspondente, ou não realizar nenhuma escolha dentro de 5 segundos a tentativa é encerrada, e todos os estímulos luminosos são apagados por 5 segundos. Cada sessão consiste em 80 tentativas. Cada atraso (0,7,14 ou 21 segundos) entre o primeiro estímulo luminoso e a entrega da recompensa alimentar consiste em 20 tentativas. O critério de aprendizagem é dado quando as escolhas corretas são de $\geq 75\%$ (Prasad; Abela; Chudasama 2016).

Figura 20 – Sessão de treinamento/teste de CAM. Fase focada na atenção (à esquerda), atraso e recompensa alimentar (centro) e fase focada na memória (à direita).



Fonte: Adaptado de Prasad; Abela; Chudasama, 2016. A cor amarela representa o estímulo luminoso.

1.3.1.13 Tarefa de discriminação visual e reversão

A tarefa de discriminação visual e reversão é realizada numa câmara com um painel tátil em uma das paredes. Esse painel tátil contém dois visores onde exibe diferentes estímulos visuais (Figura 21), onde o animal tocando o nariz pode escolher entre eles, a partir da discriminação entre ambos e com isso receber uma recompensa alimentar (reforço). O objetivo é observar se o animal tem a capacidade de discriminar os estímulos visuais através do aprendizado associando o estímulo à recompensa (Prasad; Abela; Chudasama, 2016). Inicialmente é realizada uma habituação do animal à câmara de treinamento/teste. A fase de treinamento consiste inicialmente numa etapa de discriminação visual simples, sendo o animal posicionado em frente ao visor tátil, na qual é apresentado à um quadro branco ao lado direito ou esquerdo da tela, tendo que tocá-lo com a ponta do nariz para receber a recompensa. O animal conseguiu obter 50 recompensas num período de 20 minutos, ou seja, respondendo corretamente no visor cinquenta vezes, a primeira parte do treinamento está encerrada (Figura 23).

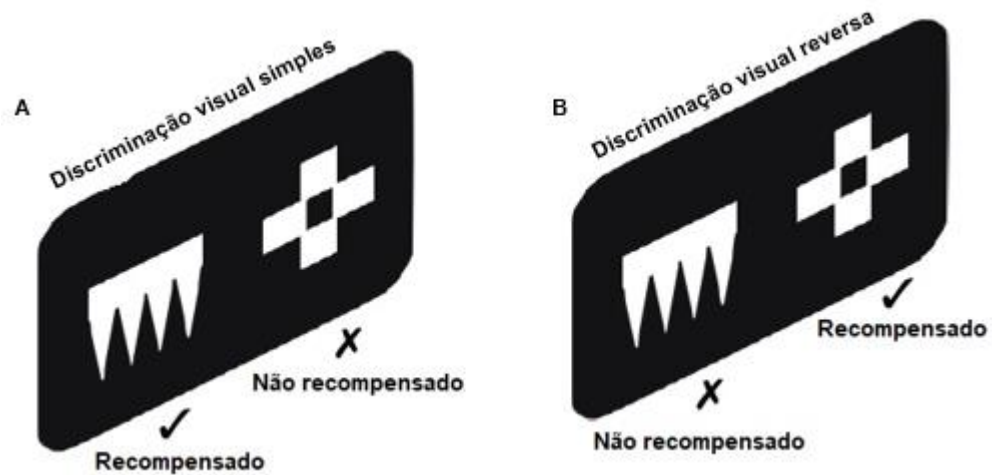
Figura 21 – Visor tátil para a tarefa de discriminação visual e reversão. Fase de treinamento



Fonte: Adaptado de Prasad; Abela; Chudasama, 2016.

A fase de testes consiste na apresentação de duas Figuras brancas de fundo preto, uma ao lado direito e outra ao lado esquerdo do visor tátil ao animal. A posição (esquerda/direita) foi definida de forma pseudo aleatória (Figura 22a). As Figuras permanecem no visor até que o animal faça contato com o focinho. Uma resposta correta ao estímulo (podemos chamar de A+) leva a entrega de uma recompensa. Uma resposta incorreta (B-) não é recompensada, levando ao desaparecimento dos dois estímulos visuais do visor por 5 segundos. Se o animal fizer uma escolha incorreta no mesmo padrão de estímulos visuais, na mesma posição é apresentado a ele numa tentativa de correção. As tentativas de correção são limitadas a 60 dentro do período de teste. O critério de acerto corresponde a 85% de escolhas corretas em duas sessões consecutivas. Ao final dessa primeira parte do período de testes, começa a etapa de escolha de reversão. Assim o estímulo visual que anteriormente levava à recompensa quando pressionado o focinho do animal no visor (A+) passa a não ser mais recompensado, e o estímulo que não era recompensado anteriormente (B-), passa a levar à uma recompensa quando o animal pressiona o visor tátil (Figura 22b). O critério de acerto corresponde a 85% de escolhas corretas em duas sessões consecutivas, onde após isso os estímulos são revertidos novamente. Ao total no teste é apresentado ao animal dois períodos de reversão de escolha (Prasad; Abela; Chudasama, 2016).

Figura 22 – Visor tátil para a tarefa de discriminação visual e reversão



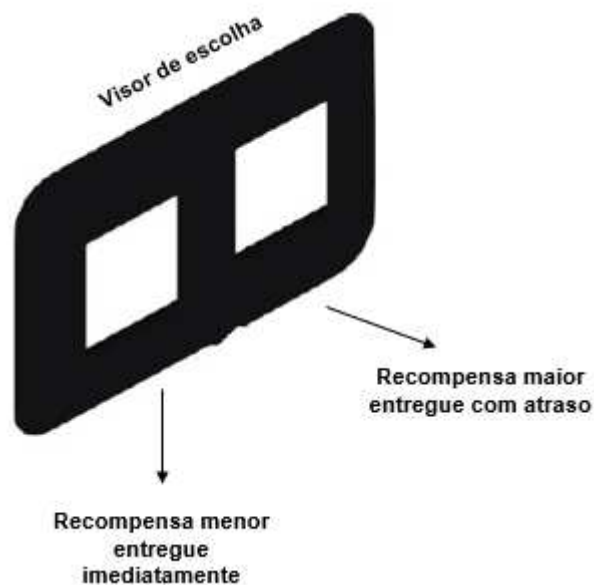
Fonte: Adaptado de Prasad; Abela; Chudasama, 2016. A) Etapa de discriminação visual simples. B) Etapa de reversão.

1.3.1.14 Tarefa de tomada de decisão com atraso

A tarefa de tomada de decisão com atraso (Figura 23) é realizada na mesma câmara contendo um visor tátil descrito anteriormente. Porém a tarefa envolve a escolha do animal entre uma recompensa alimentar menor, porém entregue imediatamente após pressionar o focinho na tela do visor, ou uma recompensa maior, porém entregue após um atraso depois que o visor é pressionado. Inicialmente o animal passa por um período de habituação de 30 minutos, onde é colocado na câmara, sendo-lhe permitido o consumo de forma livre da recompensa alimentar. Então as luzes dos visores táteis passam a se acender e então é feita a entrega da recompensa a cada 10 segundos, recebendo um total de cinquenta recompensas numa sessão de 20 minutos. Assim o animal passa a associar o estímulo luminoso a entrega de recompensa (reforço) (Abela; Chudasama, 2013). Na fase de treinamento, o estímulo luminoso passa se acender no visor do lado esquerdo ou direito de forma aleatória. O estímulo visual permanece no visor tátil até que o animal pressione a tela com o focinho. O estímulo visual do lado esquerdo leva a entrega de uma recompensa menor, porém imediata, já o estímulo do lado direito leva a entrega de uma recompensa maior, porém após um tempo de atraso (Abela; Chudasama, 2013). Na fase de teste o animal é apresentado aos dois estímulos visuais ao mesmo tempo, sendo as recompensas atribuídas a cada estímulo como descrito no parágrafo anterior. Cada lado é contrabalanceado a cada animal testado, ou seja, para o animal

1 o lado esquerdo corresponde a recompensa maior, já para o animal 2, o lado direito. Cada sessão de teste consiste em quatro blocos de doze tentativas. Em cada bloco, duas tentativas são forçadas, onde o animal é forçado a escolher entre os dois estímulos, tendo acesso a recompensa associada a cada um deles. As dez tentativas restantes foram de escolha livre do animal. Inicialmente o animal pode escolher entre as duas recompensas sem nenhum tempo de atraso (Prasad; Abela; Chudasama,2016). Quando o animal escolhe a maior recompensa em 80% das tentativas é incluído um tempo de atraso entre escolher o estímulo visual que corresponde a maior recompensa e recebê-la. Esse atraso é progressivo em cada bloco variando de 0, 8 ,16 e 32 segundos. Cada tentativa dura cerca de 70 segundos, independente do estímulo que o animal escolhe (Prasad; Abela; Chudasama, 2016).

Figura 23 – Visor tátil para a tarefa de tomada de decisão com atraso



Fonte: Adaptado de Prasad; Abela; Chudasama, 2016.

1.3.2 Testes para avaliação da memória aversiva e social

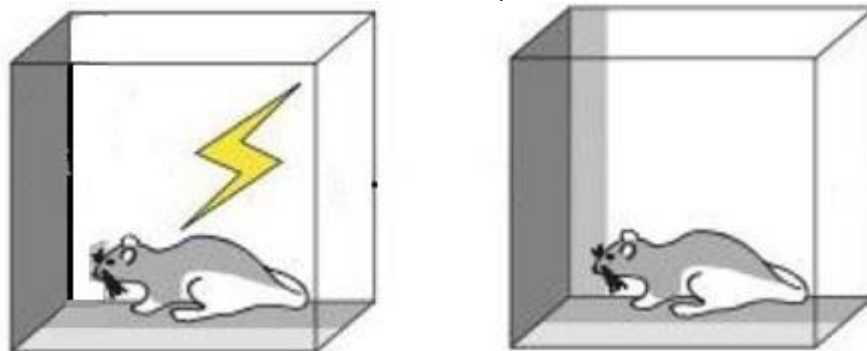
Para avaliação da memória aversiva temos os testes de condicionamento aversivo ao contexto, condicionamento aversivo ao som, medo condicionado ao odor de predador, esquiva passiva, e esquiva ativa sinalizada. Também foi usado o teste de transmissão social de preferência alimentar (STFP) que não envolve diretamente memória aversiva, mas é uma tarefa apetitiva, que envolve restrição alimentar como componente de motivação para os animais. Ela testa a interação social dos animais,

a recordação de um alimento preferido e a transmissão dessa informação para os demais animais (Quet *et al*, 2020).

1.3.2.1 Tarefa de condicionamento aversivo ao contexto

A tarefa de condicionamento aversivo ao contexto (CFC) consiste em fazer o animal associar um estímulo incondicionado (US), choque nas patas, com um estímulo condicionado (CS), que no caso é o contexto de condicionamento, ou seja, a câmara onde os animais recebem o choque (Ledoux, J.E, 2014; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016). Para realização dessa tarefa (Figura 24) é utilizada uma caixa com grades metálicas no chão, onde é aplicado o choque nas patas do animal, coberta por laterais de alumínio, sendo a parede frontal e teto feito em material resistente transparente. Essa caixa de condicionamento geralmente é denominada contexto A. Nessa caixa é feita a etapa de condicionamento. Também é utilizada uma caixa toda feita de material transparente, ou vidro, chamado de contexto B, onde é realizado o teste para a avaliação do comportamento de congelamento (freezing) do animal (Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018).

Figura 24 – Tarefa de CFC. Caixa de condicionamento (à esquerda). Contexto B (à direita)

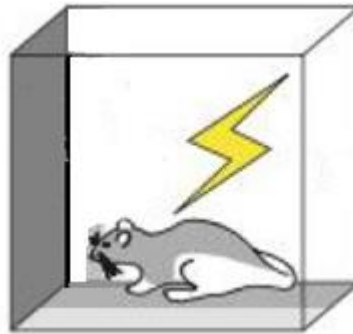


Fonte: Adaptado de Ramanathan *et al*, 2018.

A tarefa é dividida em fase de familiarização, condicionamento e exposição ao contexto condicionado (teste). Na fase de familiarização, o animal é deixado por um período, cerca de 3 minutos, no contexto A para a exploração do local sem receber nenhum choque nas patas. Após esse período ele retorna a sua gaiola (Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018). No período de condicionamento (Figura 25), o animal é colocado no contexto A e então são aplicados um ou mais choques nas patas com

intervalos entre si, variando a quantidade e intensidade de acordo com o protocolo experimental empregado pelos experimentadores. Geralmente, a intensidade fica em torno de 0,8 mA e a duração deles é de 2-3 segundos (Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018).

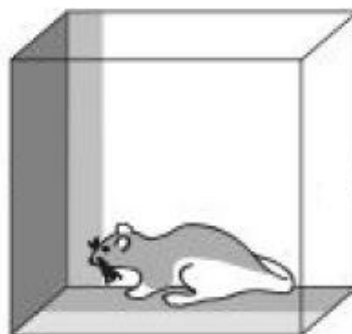
Figura 25 – Tarefa de CFC. Fase de condicionamento



Fonte: Adaptado de Ramanathan *et al*, 2018.

Na exposição ao contexto não pareado ao choque (contexto B) (Figura 26), o animal é colocado na caixa e deixado por cerca de 3 minutos e é avaliado o seu comportamento de congelamento. O congelamento é definido como a ausência total de movimentos do animal, exceto aqueles relacionados a respiração (Blanchard; Blanchard, 1969).

Figura 26 – Tarefa de CFC. Fase de exposição ao contexto não pareado ao estímulo



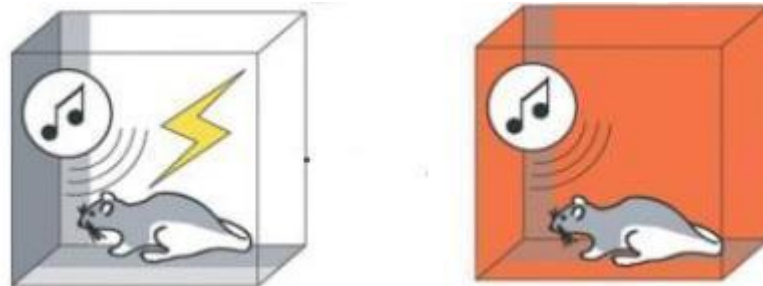
Fonte: Adaptado de Ramanathan *et al*, 2018.

1.3.2.2 Tarefa de condicionamento aversivo ao som

Para a tarefa de condicionamento aversivo ao som (Figura 28), o protocolo é semelhante ao da tarefa de CFC, porém aqui o estímulo condicionado (CS) é um estímulo sonoro emitido, pareado juntamente com um estímulo incondicionado (US)

que é o choque nas patas (Ledoux, J.E, 2014). A execução da tarefa é como descrita anteriormente, contendo uma caixa de condicionamento (contexto A) e uma caixa de exposição (contexto B). A diferença é que o estímulo sonoro é emitido tanto no contexto A quanto no contexto B (Figura 27). Para garantir que o estímulo condicionado seja o som, também há a presença de iluminação diferente nas caixas, por exemplo o contexto A possui iluminação branca e o contexto B iluminação vermelha (Ramanathan *et al*, 2018; Ramanathan; Maren, 2019; Vasudevan *et al*, 2022).

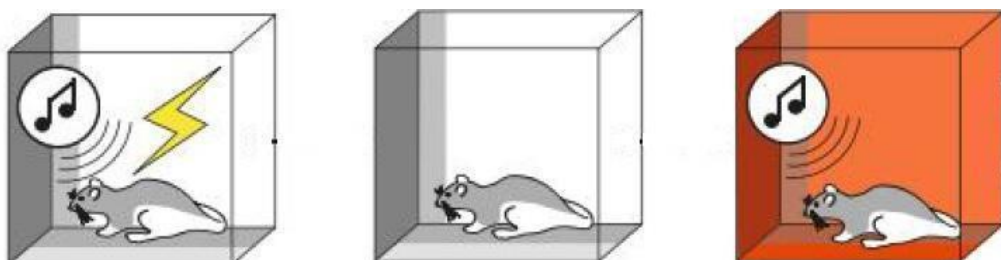
Figura 27 – Tarefa de condicionamento aversivo ao som. Caixa de condicionamento (à esquerda). Contexto B (à direita)



Fonte: Adaptado de Vasudevan *et al*, 2022.

Para os protocolos de extinção de memória aversiva, como envolve o aprendizado de um novo traço de memória sobre a memória aversiva original, além do protocolo de condicionamento contendo contexto A e B, após o condicionamento e antes da sessão de extinção no contexto B o animal é exposto novamente ao contexto A, por cerca de 30 minutos para extinguir o medo associado ao contexto (Ramanathan *et al*, 2018; Ramanathan; Maren, 2019; Vasudevan *et al*, 2022).

Figura 28 – Tarefa de condicionamento aversivo ao som. Caixa de condicionamento (à esquerda). Reexposição ao contexto A (centro). Contexto B (à direita)

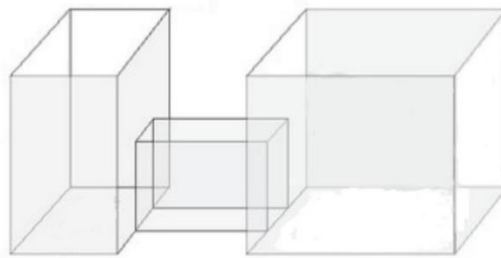


Fonte: Adaptado de Vasudevan *et al*, 2022.

1.3.2.3 Tarefa de medo condicionado ao odor de predador

A tarefa de medo condicionado ao odor de predador (Figura 29) é realizada em uma gaiola conectada à caixa de teste através de um corredor equipado com portas de correr. Nessa caixa de teste há um compartimento de comida, que tem a função de recompensa pelo animal explorar e entrar na caixa. As portas de correr que ligam a gaiola à caixa teste permanecem fechadas na maior parte do tempo, sendo abertas somente nos momentos onde é permitida a exploração do animal por todo aparato (Carvalho-Netto *et al*, 2010).

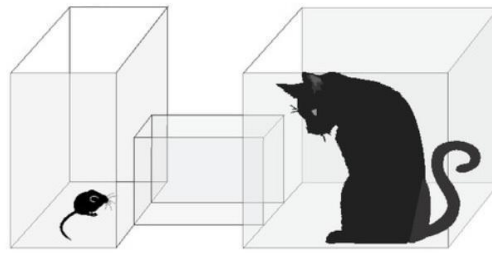
Figura 29 – Tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Aparato experimental



Fonte: Adaptado de Lima *et al*, 2022.

A tarefa é dividida em período de habituação e teste com períodos de claro/escuro. No período de habituação, com duração de 10 dias, o animal é isolado na gaiola doméstica, e no início da fase escura as portas de correr são abertas para que o animal possa explorar o resto do aparato e obter o alimento contido no compartimento que se encontra dentro da caixa de teste. O período de exploração é de cerca de 10 minutos. Durante todo o período de habituação e teste, para aumentar a motivação do animal pela busca de alimento os pellets de alimento da gaiola doméstica são removidos 3 horas antes do início da fase escura. No décimo dia de habituação o animal pode explorar o aparato, porém não é entregue nenhum alimento, seja na gaiola doméstica ou na caixa de teste (Carvalho-Netto *et al*, 2010). Na fase de teste (Figura 30), no décimo primeiro dia, um gato macho adulto é colocado e mantido na caixa teste que contém o compartimento de comida enquanto a porta da gaiola doméstica é aberta. A partir disso é observado o comportamento do animal por cerca de 10 minutos. Após esse período o gato é retirado e o corredor e a caixa teste é limpa com álcool (Carvalho-Netto *et al*, 2010).

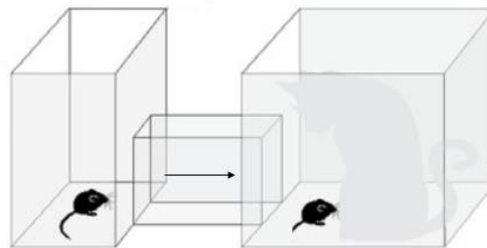
Figura 30 – Tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Fase de teste



Fonte: Adaptado de Lima *et al*, 2022.

Um dia após a exposição ao gato (Figura 31), as portas que separam a gaiola doméstica da caixa de teste foram abertas e por 10 minutos foi permitido que o animal explorasse todo o aparato, consequentemente a caixa teste onde anteriormente o gato foi colocado (contexto predatório) (Carvalho-Netto *et al*, 2010).

Figura 31 – Tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Fase de reexposição ao contexto



Fonte: Adaptado de Lima *et al*, 2022.

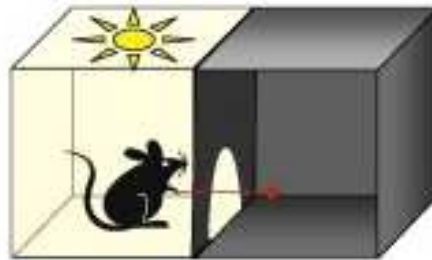
1.3.2.4 Tarefa de esquiva passiva

No contexto de pesquisa científica, a definição de esquiva envolve procedimentos de condicionamento em que o animal aprende a minimizar ou prevenir o contato com estímulo aversivo (choque elétrico ou estímulos associados a ele, como por exemplo um estímulo sonoro) (LeDoux *et al*, 2017).

A tarefa de esquiva passiva consiste em uma caixa grande retangular dividida igualmente por uma abertura em forma de guilhotina. Um lado da caixa é chamado de compartimento claro, contendo a presença de uma lâmpada para iluminação, e o outro lado é chamado de compartimento escuro, ausente de iluminação. O piso de ambos os compartimentos é feito de uma grade metálica, porém o do compartimento escuro é acoplado à um sistema de disparo de choque elétrico (Akbari *et al*, 2007). A tarefa

é dividida entre fase de habituação, treinamento e teste. Na fase de habituação (Figura 32) o animal tem duas tentativas, com intervalo de 30 minutos entre elas para se habituar ao aparato, onde ele é colocado no compartimento claro de costas para a abertura em forma de guilhotina, sendo essa abertura levantada após 5 segundos. Assim que o animal entra no compartimento escuro a abertura é fechada, mantendo o animal no compartimento escuro por 30 segundos (Davoodi *et al*, 2011).

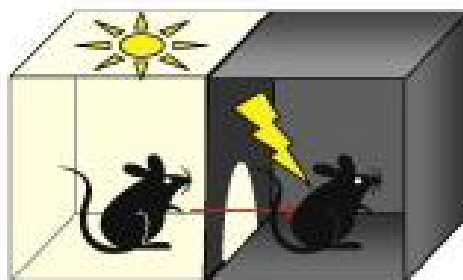
Figura 32 – Tarefa de esquiva passiva. Fase de habituação



Fonte: Adaptado de Akbari *et al*, 2007.

Na fase de treino (Figura 33), o animal é colocado no compartimento claro, assim que ele entra no compartimento escuro a abertura se fecha e um choque elétrico é dado nas patas do animal de forma constante. A intensidade, quantidade e duração do choque varia de acordo com o protocolo experimental, porém fica em torno de 1mA por cerca de 1,5 segundos (Davoodi *et al*, 2011).

Figura 33 – Tarefa de esquiva passiva. Fase de treinamento

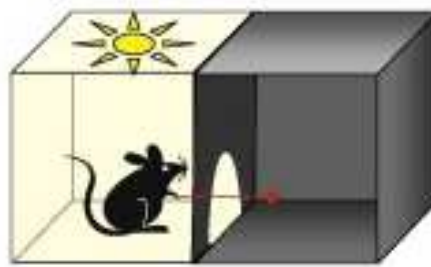


Fonte: Adaptado de Akbari *et al*, 2007.

Cerca de 20 segundos após receber o choque nas patas, o animal é retirado do compartimento escuro e é colocado na sua gaiola de origem. A fase de treinamento é repetida até que o animal permaneça no compartimento claro por 120 segundos (Davoodi *et al*, 2011).

A fase de teste é realizada 24 horas após o treinamento (Figura 34), onde o animal é colocado no compartimento claro e 5 segundos depois a abertura que divide os compartimentos é levantada, permitindo que o animal tenha acesso ao compartimento escuro. O tempo de latência de entrada no compartimento escuro e o tempo gasto dentro do compartimento escuro é medido. Se o animal não fizer nenhuma entrada no compartimento escuro o teste é finalizado (Davoodi *et al*, 2011).

Figura 34 – Tarefa de esquiva passiva. Fase de teste

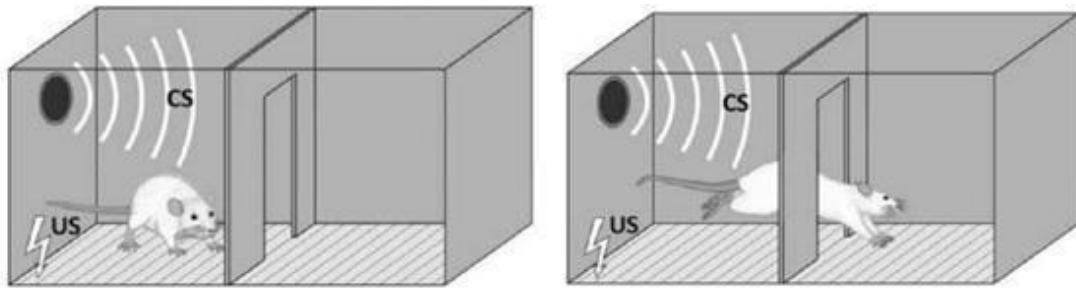


Fonte: Adaptado de Akbari *et al*, 2007.

1.3.2.5 Tarefa de esquiva ativa sinalizada

A tarefa de esquiva ativa sinalizada é realizada no mesmo aparato descrito anteriormente. Porém, nessa tarefa os dois compartimentos são iluminados e contém alto falantes acoplados em paredes opostas para emissão de estímulos sonoros. É medido o chamado '*shuttling*' que é a movimentação do animal de um compartimento para o outro. Isso é dado como comportamento de esquiva ativa (Moscarello *et al*, 2020). A tarefa é dividida em fase de treino e teste. Na fase inicial de treino (Figura 35) o animal passa pelo condicionamento pavloviano, no qual um estímulo sonoro (CS) de 15 segundos é disparado seguido de um choque (US) de 0,7mA nas patas por 0,5 segundo independente do animal ter realizado *shuttling* ou não. Após o condicionamento é realizado 30 tentativas de *shuttling*, com intervalo médio de 120 segundos entre si, no qual o CS é disparado por 15 segundos seguido do US, a menos que o animal realize o *shuttling*, ou seja, passe de um compartimento para o outro. Isso faz com que o CS pare de ser emitido e o animal não receba o US (LeDoux *et al*, 2017; Moscarello *et al*, 2020).

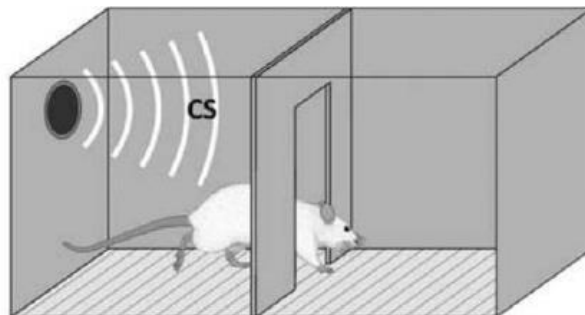
Figura 35 – Tarefa de esquiva ativa sinalizada. Fase de treino. Condicionamento (à esquerda). *Shuttling* (à direita)



Fonte: Adaptado de LeDoux *et al*, 2017.

Na fase de teste (Figura 36) o animal é colocado na caixa e passa por duas sessões de 30 tentativas de *shuttling* com um intervalo de 120 segundos entre si, com o mesmo esquema de disparo de CS seguido de US, porém sem nenhuma etapa de condicionamento inicialmente. Nessa etapa é previsto que o animal tenha aprendido que se movendo pelo compartimento durante o CS ele evita o US (LeDoux *et al*, 2017; Moscarello *et al*, 2020).

Figura 36 – Tarefa de esquiva ativa sinalizada. Fase de teste. Comportamento de *shuttling* na presença do CS evita que o animal receba o choque nas patas (US)



Fonte: Adaptado de LeDoux *et al*, 2017.

1.3.2.6 Tarefa de transmissão social de preferência alimentar

A tarefa de transmissão social de preferência alimentar (STFP) é um teste a fim de explorar a memória social dos animais testados. Inicialmente é realizada uma fase de habituação, em uma gaiola de interação, dividida em dois compartimentos separados por uma parede de plástico transparente com furos, onde o animal que passará pela fase de demonstração (animal demonstrador) e o animal que passará

pela fase de observação (animal observador) são colocados na gaiola para interagir pelo tempo de 5 minutos por 2 dias (Quet *et al*, 2020).

Além da habituação de interação entre os animais demonstradores e observadores, o animal demonstrador passa por regime de restrição alimentar 3 dias antes de prosseguir com o teste, na qual possui acesso ao alimento em pó padrão sem sabor e a ração regular duas vezes ao dia. Ao meio dia, no primeiro acesso ao alimento o animal demonstrador por um período de 3 horas recebe o alimento em forma de pó sem sabor no ambiente teste. Às 18 horas o animal demonstrador recebe pellets da ração regular por cerca de 30 minutos na gaiola moradia (Quet *et al*, 2020).

Depois da habituação a tarefa é dividida em três etapas. A primeira etapa é chamada de fase de demonstração (Figura 37). O animal demonstrador previamente exposto ao regime de restrição alimentar e habituado ao consumo do pó padrão sem sabor tem acesso a um recipiente contendo comida em pó saborizado com cominho por 30 minutos (Quet *et al*, 2020).

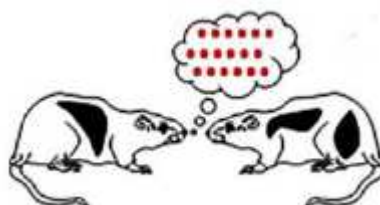
Figura 37 – Tarefa de STFP. Etapa de demonstração. É oferecido ao animal demonstrador pó saborizado com cominho por 30 minutos



Fonte: Adaptado de Quet *et al*, 2020.

A segunda etapa da tarefa de STFP é chamada interação social (Figura 38), onde o animal demonstrador é colocado em contato com o animal observador por 15 minutos para a coleta de informação olfativa da respiração do animal demonstrador (Quet *et al*, 2020).

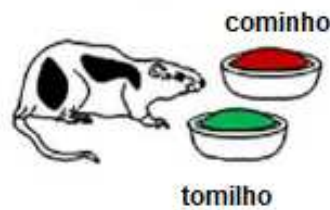
Figura 38 – Tarefa de STFP. Etapa de interação social. O animal demonstrador é colocado para interagir com o animal observador por 15 minutos



Fonte: Adaptado de Quet *et al*, 2020.

A terceira etapa da tarefa de STFP é a fase de teste (Figura 39), onde depois de um atraso de 1 ou 25 dias o animal observador é colocado diante de dois recipientes contendo pó saborizado, sendo um deles de cominho (igual ao que animal demonstrador recebeu antes da interação) e outro com tomilho (sabor novo). É deixado que o animal observador tenha contato e possa escolher entre as duas opções de pó saborizado por 30 minutos. A memória olfativa é avaliada ao final do teste, no qual os dois recipientes são recolhidos e pesados a quantidade de alimento, revelando a quantidade que foi consumida versus o que foi disponibilizado inicialmente na fase de teste (Quet *et al*, 2020).

Figura 39 – Tarefa de STFP. Etapa de teste de preferência alimentar. O animal observador é colocado para escolher entre dois recipientes com pós saborizado por 30 minutos



Fonte: Adaptado de Quet *et al*, 2020.

1.4 MÉTODOS DE INATIVAÇÃO/LESÃO DO NR

O NR pode ser inativado e/ou lesionado de diversas formas. As mais comuns são por meio de lesões, onde a inativação é irreversível/permanente. Elas podem ser de natureza eletrolítica, onde há a passagem de corrente elétrica no NR levando à morte celular da região lesada, ou farmacológica, com uso de agonistas glutamatérgicos por exemplo como o ácido N-metil-D-aspartato (NMDA) ou agonistas GABAérgicos como o ácido ibotênico, que quando injetado na região alvo leva à lesão celular por excitotoxicidade destruindo as células sem afetar as fibras de passagem (Majchrzak; Di Scala, 2000; Jarrard L.E, 2002; Andrade *et al*, 2009).

Outro método é a inativação temporária (reversível/transitória), podendo ser de natureza farmacológica, com uso de anestésicos locais como lidocaína, tetracaína e procaína, cujo mecanismo de ação se dá pelo bloqueio da ação dos canais iônicos na membrana celular neuronal, o que leva ao impedimento da propagação do

potencial de ação (Covino B.G, 1986). Agonistas GABAérgicos como o muscimol, cujo mecanismo de ação se dá pela ligação com receptores GABA_A, levando à inibição pós-sináptica pelo aumento da permeabilidade ao cloreto na membrana, o que reduz a despolarização produzida pelo transmissor excitatório (DeFeudis F.V, 1980; Johnston G.A, 2014). A escolha da ferramenta farmacológica determina a duração da inativação, podendo ser de curta (alguns minutos) à longa duração (algumas horas). O tempo médio de efeito dos fármacos citados vão desde 60 minutos (procaína) a 175 minutos (Tetracaína) e 180 minutos (Lidocaína e Muscimol) (Covino B.G, 1986; Heavner J.E, 2007; Johnston G.A, 2014). O início dos efeitos observados para os anestésicos locais são de 3 a 5 minutos, e o muscimol após 20 a 30 minutos da administração (Covino B.G, 1986; Heavner J.E, 2007; Johnston G.A, 2014).

Outras técnicas de inativação temporária são a optogenética e quimiogenética. A optogenética consiste em expressar proteínas chamadas opsinas sensíveis à luz nos neurônios de interesse com a finalidade de manipulação da atividade neural. As opsinas podem ser excitatórias (despolarizantes) ou inibitórias (hiperpolarizantes). As excitatórias com maior uso são variantes do cátion de canal de rodopsina (ChR). Já as inibitórias incluem bombas de prótons ou cloretos, como a arquerodopsina (Arch) e halorodopsina (NpHR) (Boyner *et al*, 2005; Gradinaru *et al*, 2008; Chow *et al*, 2010).

As opsinas são ativadas quando são iluminadas num comprimento de onda adequado, tendo como tempo de resposta alguns milissegundos, o que leva a uma maior precisão no controle do tempo da atividade neural. A optogenética ainda permite o direcionamento com maior precisão da expressão de opsinas por meio de sequência de promotores/reguladores específicos, como a combinação de um sistema de expressão condicional como a Cre-recombinase e/ou sistema LoxP (Galvan *et al*, 2017).

A técnica Quimiogenética inicialmente, foi um termo cunhado para descrever os efeitos de mutações sobre a especificidade de substratos enzimáticos. Atualmente, ela compreende o processo no qual macromoléculas são projetadas para interagir somente com moléculas menores, que não são reconhecidas pelas proteínas nativas do organismo. Exemplos dessas macromoléculas modificadas são proteínas quinases, enzimas não quinases, canais iônicos controlados por ligantes e receptores acoplados à proteína G (GPCRs)

De todos citados anteriormente, dentro da Quimiogenética a macromolécula mais utilizada são os DREADDs (do inglês *Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs*). Os DREADDs são receptores sintéticos baseados à receptores muscarínicos acoplados à proteína G. Por meio de infecção viral eles são inoculados no local alvo, e quando expressos, são ativados mediante á um ligante específico, no caso dos DREADDs, mediante injeção de Clozapina, comumente administrado pela via intraperitoneal (Sternson; Roth, 2014; Roth B.L, 2016). Uma variante do DREADD que não responde à clozapina (CNO) é o KORD (do inglês *k-opioid receptor D138N*), no qual é um receptor sintético baseado em receptores opioides humanos. O KORD é ativado via ligante específico Salvinorina B (SALB) (Sternson; Roth, 2014; Roth B.L, 2016).

1.5 REVISÃO DE MAPEAMENTO

A revisão de mapeamento é um tipo de revisão de literatura, no qual seu objetivo é fornecer uma visão geral de alto nível da literatura completa, usando uma metodologia parcialmente sistemática (Leenaars *et al*, 2021). Ela agrupa, descreve e cataloga as evidências disponíveis (primárias, secundárias, quantitativas ou qualitativas, por exemplo) relacionadas a um tópico de interesse (James; Randall; Haddaway, 2016). Os estudos incluídos podem ser usados para identificação de lacunas de conhecimento, desenvolvimento de uma maior compreensão de conceitos a respeito da área de interesse e de *clusters* de conhecimento (subconjunto de evidências que podem ser adequadas para pesquisas secundárias) (Grant; Booth, 2009).

Para a formulação da pergunta de pesquisa pode-se fazer uso de ferramentas metodológicas como a ferramenta PICO, PECO, PIT ou PO (James; Randall; Haddaway, 2016).

Formada pelas iniciais das palavras, do inglês, “Population”, “Intervention”, “Comparison” e “Outcomes”, PICO tem sua tradução para o português como população, intervenção, comparação e desfechos. Essa ferramenta permite a definição de parâmetros para a síntese de uma boa estratégia de busca (Cooke; Smith; Booth, 2012).

A partir disso, com auxílio da ferramenta PICO, foi se definindo a pergunta de pesquisa, população, intervenção, o grupo de comparação e desfechos de interesse dentro do campo de estudo.

Os passos para a realização de uma revisão de mapeamento se dão pela elaboração da pergunta de pesquisa, elaboração do protocolo de revisão, seleção dos critérios de inclusão e exclusão, identificação dos bancos de dados para a busca dos artigos, busca e seleção dos estudos de interesse, triagem, extração dos dados, síntese dos resultados, descrição, discussão e interpretação dos resultados, expondo os achados atuais e possíveis lacunas de conhecimento e conclusão (James; Randall; Haddaway, 2016).

2 HIPÓTESE

A atividade/plasticidade do núcleo reuniens modula os processos de aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos da lesão ou inativação do NR sobre a aquisição, consolidação, evocação-expressão, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias em ratos e camundongos por meio de desfechos comportamentais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Elaborar o protocolo para revisão de mapeamento e torna-lo público;

Criar um banco de dados bibliográfico para realização da revisão de mapeamento de acordo com critérios estabelecidos previamente no protocolo;

Extrair os dados para realização da revisão de mapeamento;

Realizar a revisão de mapeamento de acordo com o protocolo previamente elaborado para responder à pergunta de pesquisa.

4 METODOLOGIA

4.1 PROTOCOLO PROSPERO PARA REVISÃO DE MAPEAMENTO

Nesse trabalho foi utilizada a plataforma PROSPERO para elaboração do protocolo para a revisão de mapeamento, sendo ele publicado na plataforma sob o número de identificação CRD42023399421.

O plano da revisão de mapeamento (Figura 40) incluiu as seguintes etapas: 1- Pergunta; 2- Escolha da estratégia de busca; 3- Escolha das bases bibliográficas online a serem usadas; 4- Seleção dos critérios de inclusão/exclusão dos estudos; 5- Seleção dos estudos relevantes e extração de dados e 6- Realização da revisão de mapeamento.

Figura 40 - Etapas para revisão sistemática.



Legenda: RM = Revisão de mapeamento. Fonte: Esquema elaborado pelo autor, ícones disponíveis em flaticon.com

4.2 FERRAMENTA PICO

Como citado anteriormente, PICO é um anagrama em inglês para população, intervenção, comparação e desfechos. Aqui será descrito o que foi escolhido para realização desse trabalho em cada uma dessas categorias.

Como população de interesse para esse trabalho, foram definidos roedores de laboratório (ratos e camundongos adultos de qualquer linhagem ou sexo). A intervenção foi a lesão ou inativação do NR por meios farmacológicos, optogenéticos ou quimiogenéticos. A comparação se deu com grupos de animais que receberam

veículo, salina ou “sham”, tendo como desfecho de interesse as mudanças comportamentais decorrentes da intervenção experimental observadas durante as tarefas e testes envolvendo aprendizagem e memórias nos quais animais foram avaliados.

A pergunta de pesquisa foi: “A lesão ou inativação do NR prejudica o processo de aprendizagem e memória e sua extinção em ratos e camundongos?”.

4.3 ESTRATÉGIA DE BUSCA

PubMed (pesquisa avançada, <http://www.ncbi.nlm.nih>), Scopus e Embase (via plataforma “Periódicos Capes” em <https://www.periodicos.capes.gov.br>) foram utilizados como bases de dados para a pesquisa dos artigos. As buscas ocorreram no dia 17 de agosto de 2022. Os termos apresentados no Quadro 1 foram utilizados para realizar as buscas e não houve período de restrição de publicação ou de linguagem:

Quadro 1 – Palavras-chave para a pesquisa nos bancos de dados online.

PubMed	Embase	Scopus
(“Midline Thalamic Nuclei”[MESH] OR “Ventral Thalamic Nuclei”[mesh] OR reuniens[tiab] OR rhomboid[tiab] OR “ventral midline thalamus”[tiab] OR “ventromedial thalamus”[tiab]) AND (“memory”[tiab] OR learning[tiab] OR consolidation[tiab] OR reconsolidation[tiab] OR extinction[tiab] OR retrieval[tiab] OR acquisition[tiab]) NOT “review”[title]	(‘reuniens nucleus’/exp OR ‘reuniens nucleus’ OR ‘rhomboid nuclei’ OR ‘thalamus midline nucleus’/exp OR ‘thalamus midline nucleus’ OR ‘ventral midline thalamus’ OR ‘nucleus reuniens’/exp OR ‘nucleus reuniens’) AND (‘memory’/exp OR memory) NOT (‘literature’/exp OR literature)	TITLE-ABS-KEY(((midline AND thalamic AND nucleus) OR (reuniens) OR (rhomboid)) AND (memory OR reconsolidation OR retrieval OR learning OR acquisition))

4.4 SELEÇÃO DE ESTUDOS

Os artigos duplicados foram excluídos através do software Rayyan (<https://rayyan.ai/>). A primeira etapa de triagem considerou o título e o resumo dos

trabalhos e a segunda etapa o texto completo, seguindo os critérios de elegibilidade para ambas as etapas. Toda a triagem foi realizada por dois revisores sendo consultado um terceiro em caso de conflito na seleção do artigo. As buscas nas plataformas digitais se restringiram o ano de 2022.

4.5 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram incluídos estudos conduzidos em ratos ou camundongos com lesão ou inativação do NR por via farmacológica, optogenética ou químiogenética e avaliaram memórias de curto ou longo prazo utilizando testes comportamentais para avaliar o desfecho da intervenção experimental.

Trabalhos clínicos, puramente *in vitro*, *ex vivo*, em humanos, que não possuíam grupo controle, sham, crossover, que não possuíam testes comportamentais, que não possuíam dados originais (ex.: carta, editorial, comentário, capítulo de livro ou revisão) foram excluídos.

4.6 EXTRAÇÃO DE DADOS

Foram extraídos a espécie, linhagem, sexo, idade dos animais, tipo de intervenção, droga, momento da administração e dose e significância estatística (de acordo com o relato do autor para estatisticamente significativo). Em casos onde as informações não estavam disponíveis, o autor correspondente ou o primeiro e último autores dos estudos originais foram contatados por e-mail. Nos casos onde nenhuma resposta foi recebida em 2 meses, os registros foram excluídos da análise. Como critério para classificar um estudo como significativo estatisticamente foi considerado o relato do autor.

Dados como primeiro autor, ano de publicação, tipo de publicação, nome da revista, DOI, número e sequência dos testes comportamentais também foram extraídos (Anexos).

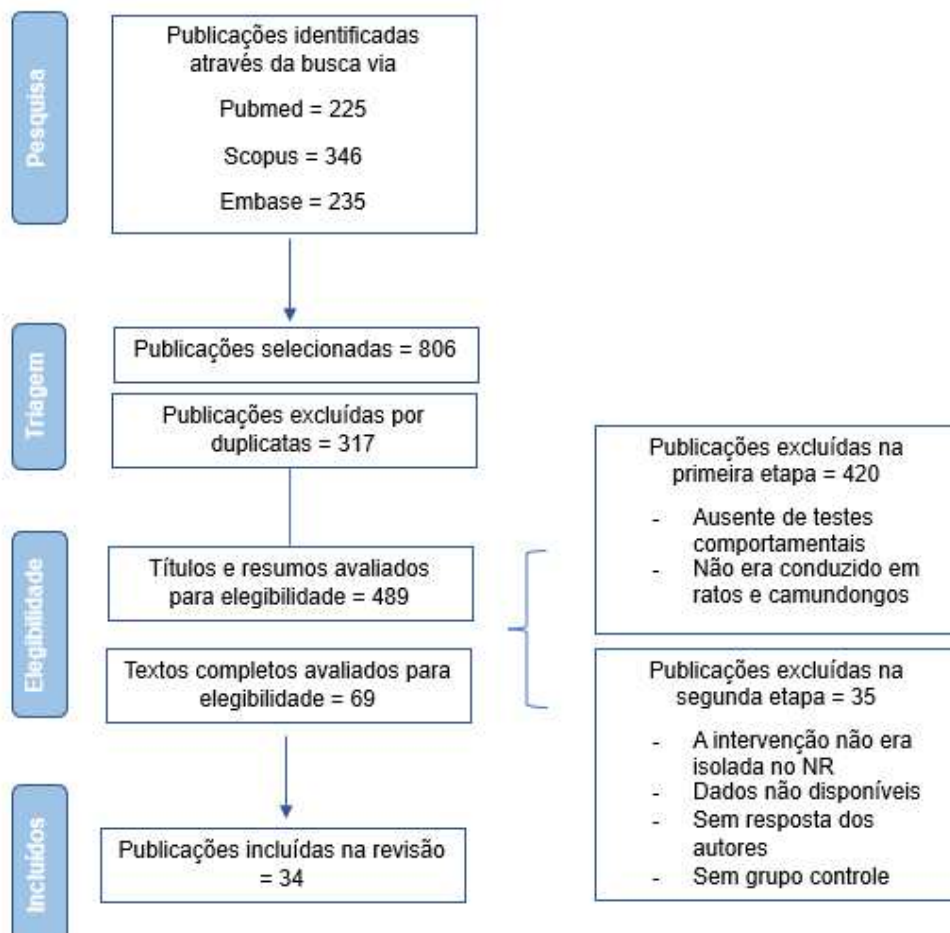
5 RESULTADOS

5.1 FLUXOGRAMA PRISMA

Todas as etapas de estratégia de busca, triagem, elegibilidade e síntese-qualitativa para realização da meta-análise estão representadas no fluxograma PRISMA (Figura 41). Na busca realizada foram identificadas 225 publicações relevantes no Pubmed, 346 no Scopus e 235 no Embase. Para a presente revisão sistemática foram selecionados estudos das três bases de dados após exclusão das duplicatas. Das 489 publicações selecionadas para avaliação de título e resumo, onde 420 foram excluídas por não atender os critérios de elegibilidade. Foram avaliados o texto completo em 69 artigos, sendo que 35 publicações foram excluídas por não atingirem os critérios de elegibilidade e 34 incluídas na síntese qualitativa.

Dessas 34 publicações, 14 estudos foram incluídos na avaliação da aquisição da memória, 6 estudos foram incluídos na consolidação da memória, 21 estudos foram incluídos na evocação-expressão da memória, 2 estudos foram incluídos na desestabilização-reconsolidação e 4 estudos foram incluídos na extinção da memória.

Figura 41 – Fluxograma PRISMA. Adaptado de Moher, Liberati, Tetzlaff e Altman



Fonte: O grupo PRISMA (2009).

5.2 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A AQUISIÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS

Tabela 1 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre aquisição de memórias incluídas na revisão

Animal		Intervenção					Desfechos		Referência
Espécie/Linhagem	Sexo	Idade em semanas	Tipo	Droga, dose utilizada	Momento da administração	Significância estatística	Desfechos primários e secundários	Nome do teste	
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	Tetracaína, 0,5µL 2%	5 minutos antes do teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático de Morris (memória de trabalho e espacial)	Davoodi <i>et al</i> (2009)
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	NMDA, 0,15M	1 semana antes do teste	NS	Medidas espaço temporais (ex: tempo gasto no compartimento alimentar) e comportamentos aversivos/esquiva (ex: congelamento)	Medo condicionado ao odor de predador	Carvalho-Netto <i>et al</i> (2010)
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	Tetracaína, 0,5µL 2%	5 minutos antes do teste	NS	Entrada e tempo gasto no compartimento claro/escuro	Esquiva passiva	Davoodi <i>et al</i> (2011)
Rato, Long-Evans	M	12	Farmacológica	NMDA, 0,12M	2 semanas antes do teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo, número de entrada nos braços, tempo gasto nos braços e distância percorrida	Labirinto aquático de Morris (memória de trabalho e espacial)	Loureiro <i>et al</i> (2012)
Camundongo C57BL/6	M	8	Quimiogénética	TetTox, 0,15µL	2 semanas antes do teste	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto	Xu e Sudhof (2013)
Rato, Sprague Dawley	M	NI	Eletrolítica	Corrente elétrica, 1mA	12 dias antes do teste	S	Discriminação de odor simples, composta, mudança intra e extradimensional e aprendizado reverso	AST	Linley; Gallo; Vertes (2016)
Rato, Long-Evans	M	6	Farmacológica	Muscimol, 0,3µL 0,03µg	10 minutos antes do teste	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto e ao som	Ramanathan <i>et al</i> (2018)

Rato, Lister Hooded	M	NI	Farmacológica	NMDA, 0,1µL 0,09M	14 dias antes do teste	S	Localização de objeto no local, preferência por objeto novo	Reconhecimento associativo de objetos	Barker; Warburton (2018)
Rato, Long-Evans	M	12	Farmacológica	NMDA, 0,1µL 0,1M	2 semanas antes do teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático de Morris	Klein <i>et al</i> (2019)
Camundongo C57BL/6	M	8	Eletrolítica	Corrente elétrica, 0,7mA	2 semanas antes do teste	S	Entrada nos braços, distância percorrida, localização e reconhecimento de objeto	Localização, reconhecimento de objetos e labirinto em Y	Jung; Yeowool; Cho (2019)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	NMDA, 0,1µl 0,12M	2 semanas antes do teste	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto e ao som	Quet <i>et al</i> (2020)
Rato, Long-Evans	F	7	Farmacológica	Muscimol, 0,3µL 0,05mM (0,002µg)*	10 minutos antes do teste	NS	Congelamento, escavação, esquiva, distância percorrida	Condicionamento aversivo ao odor de predador	Ornelas; Voorhies; Besheer (2021)
Camundongo C57BL/6	F	8	Quimiogénetic a	KORD/ DREADD, 0,5µL 4,2x10 ¹²	10 minutos antes do teste	S	Localização de objetos	Colocação de objetos	Schwabe <i>et al</i> (2021)
Rato, Long-Evans	M	6	Farmacológica	Muscimol, 0,5µl 0,1mg/mL (0,05µg)*	NI	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao som	Wu; Chang (2022)

Legenda: NI = Não Informado, NS = Não Significativo, S = Significativo estatisticamente, AST = tarefa de mudança de conjunto de atenção, F = fêmea, M= macho, * = dose calculada em microgramas.

A tabela 1 resume os 14 estudos publicados que avaliaram os efeitos da inativação ou lesão do NR sobre a etapa de aquisição de memórias (de curto ou longo prazo) espaciais (Davoodi *et al*, 2009; Loureiro *et al*, 2012; Linley; Gallo; Vertes, 2016; Barker; Warburton, 2018; Klein *et al*, 2019; Jung; Yeowool; Cho, 2019; Schwabe *et al*, 2021) ou aversivas (Carvalho-Netto *et al*, 2010; Davoodi *et al*, 2011; Xu; Sudhof, 2013; Ramanathan *et al*, 2018; Quet *et al*, 2020; Ornelas; Voorhies; Besheer, 2021; Wu; Chang, 2022). Doze deles relataram resultados significativos para pelo menos um dos desfechos comportamentais mensurados, conforme descrito abaixo.

Davoodi *et al* (2009) relataram um aumento da latência média para encontrar a plataforma no grupo tratado com tetracaína, em relação ao grupo controle, o que sugere que a inativação do NR prejudicou a aquisição da memória espacial (Davoodi *et al*, 2009).

Loureiro *et al* (2012) relataram que para uma memória recente (5 dias), não houve diferença entre o grupo com intervenção e o controle, mas para uma memória remota (25 dias) os animais que tiveram o NR lesado diferiram estatisticamente dos animais controle, não se lembrando da localização da plataforma, indicando um déficit de desempenho no teste e aquisição da memória para esses animais (Loureiro *et al*, 2012).

Klein *et al* (2019) também avaliaram memória recente e remota após lesão com NMDA, tendo como resultado um prejuízo na aquisição da memória para ambos os períodos, recente (5 dias) ou remoto (25 dias) (Klein *et al*, 2019).

No teste de reconhecimento associativo de objetos, Barker; Warburton (2018) mostraram que os animais com o NR lesionado pelo NMDA apresentaram um prejuízo no desempenho da tarefa quando os testes foram realizados com 3 horas (mas não 5 minutos) de intervalo (Barker; Warburton, 2018).

Usando a tarefa de mudança de atenção e aprendizado reverso, Linley; Gallo; Vertes (2016) relataram que a lesão eletrolítica do NR realizada sete dias antes prejudicou a aquisição, ou seja, o grupo lesionado precisou de mais tentativas para concluir as tarefas do que o grupo controle, sugerindo que o NR interferiu na habilidade de adquirir algumas respostas de função executiva e flexibilidade comportamental. Já nas tarefas de discriminação olfativa e tátil não houve diferenças significativa entre os grupos, mesmo apresentando um pequeno déficit de aprendizado no tempo inicial da tarefa, além da demanda de

mais tentativas para cumprir a tarefa de discriminação composta (Linley; Gallo; Vertes, 2016).

Jung; Yeowool; Cho (2019) mostraram que para as tarefas de localização e reconhecimento de objetos, os animais que tiveram o NR lesado apresentaram um prejuízo no desempenho comportamental, indicado pela diminuição da capacidade de reconhecimento do objeto movido quando comparado com o grupo de animais controle (Jung; Yeowool; Cho, 2019). De forma similar, Schwabe *et al* (2021), através da inativação quimiogénética, mostraram que para a tarefa de localização de objetos houve uma diminuição no tempo que os animais passaram com um objeto movido para um novo local, indicando um prejuízo na capacidade de aquisição de memória espacial nos animais lesionados comparado com o grupo controle (Schwabe *et al*, 2021).

Para memórias aversivas, Xu; Sudhof (2013) por meio de inativação quimiogénética na tarefa de condicionamento aversivo ao contexto mostraram que quando o NR está inativado antes do teste há uma maior porcentagem de congelamento e generalização da memória aversiva contextual adquirida (Xu; Sudhof, 2013). Corroborando esses achados, Ramanathan *et al* (2018) realizaram a inativação do NR com muscimol e testaram os grupos de animais para as tarefas de condicionamento aversivo ao contexto e ao som, tendo como resultado o prejuízo na aquisição da memória no grupo de animais que passou pela intervenção no contexto condicionado, sendo expressa uma maior porcentagem de congelamento, generalização e menor precisão da memória. Não houve alteração no contexto com pista (Ramanathan *et al*, 2018).

Quet (2020) e colaboradores também investigaram os efeitos da inativação do NR e a aquisição de memória aversiva no protocolo de condicionamento aversivo ao contexto e ao som. Nesse caso, os pesquisadores lesionaram o NR com NMDA e empregaram um protocolo de avaliação da aquisição da memória aversiva num período recente (5 dias) e remoto (25 dias), tendo sido usado uma sessão de extinção de medo contextual não específico com som no período recente e uma no período remoto. Os resultados foram significativos estatisticamente somente no período remoto (25 dias) da avaliação, onde os animais que tiveram NR lesado exibiram menor porcentagem de congelamento quando comparado aos animais do grupo controle. Para o período de tempo recente não houve nenhuma diferença entre os dois grupos

testados. Para as sessões com som, nenhum dos grupos diferiram estatisticamente, para ambos os períodos (Quet *et al*, 2020).

Wu; Chang (2022) inativaram o NR com muscimol antes de realizar a tarefa de condicionamento aversivo ao som. Para o grupo de animais com o NR inativo foi observada uma maior porcentagem de imobilidade quando comparado com a do grupo de animais controle (Wu; Chang, 2022).

Três trabalhos dos quatorze compilados na Tabela 1 não relataram diferenças significativas. Carvalho-Neto *et al* lesionaram o NR com NMDA e usaram a tarefa de medo condicionado ao odor de predador. Não houve significância estatística entre os grupos controle e lesado. Esse trabalho também avaliou os efeitos de lesões combinadas tanto bilaterais quanto unilaterais da parte ventral do núcleo anteromedial (AMV) + núcleo reuniens (NR). Nesses casos a inativação combinada modificou as respostas contextuais de medo, indicando que a lesão sozinha no NR foi insuficiente para afetar significativamente o comportamento aversivo, sugerindo a dependência de outras regiões cerebrais para o processo de aquisição da informação (Carvalho-Netto *et al*, 2010).

Na tarefa de esquiva passiva (Davoodi *et al*, 2011) o grupo de animais que teve NR inativado com tetracaína não diferiu do grupo controle, sugerindo que a inativação do NR pré-treino não interfere com a aquisição da memória. Porém, em comparações não paramétricas foi mostrado que para o teste de retenção da memória adquirida houve diferença entre os grupos de animais tratados e controle (Davoodi *et al*, 2011).

Ornelas; Voorhies; Besheer (2021) testaram os efeitos da inativação farmacológica do NR antes da exposição ao odor de predador, tendo como resultados a ausência de diferença nos comportamentos reativos ao estresse como escavação defensiva, imobilidade e esquiva, que indica que o NR não está diretamente envolvido na regulação desses comportamentos durante a exposição ao odor de predador (Ornelas; Voorhies; Besheer, 2021).

Em resumo, de acordo com os dados resumidos na Tabela 1, pode se inferir que a atividade do NR influencia a aquisição de memórias espaciais e aversivas. A maioria dos estudos realizou experimentos em machos, somente

dois foram conduzidos em fêmeas. Nenhum dos trabalhos comparou os efeitos da intervenção experimental em machos e fêmeas ou a influência do ciclo estral. Essas questões deveriam ser variáveis a serem exploradas em trabalhos futuros envolvendo a inativação ou lesão do NR. Outro aspecto importante que deveria ser examinado em estudos futuros é o protocolo de avaliação da memória em períodos diferentes após a intervenção, pois de todos os trabalhos (Tabela 1), somente quatro avaliaram a aquisição da memória em períodos recentes e remotos, ou com diferença de minutos e horas.

5.3 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A CONSOLIDAÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS

Tabela 2 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre consolidação de memórias incluídas na revisão

Animal		Intervenção					Desfechos		Referência
Espécie/ Linhagem	Sexo	Idade em semanas	Tipo	Droga, dose utilizada	Momento da administração	Significância estatística	Desfechos primários e secundários	Nome do teste	
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	Tetracaína, 0,5µl 2%	Imediatamente após o teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático de Morris (memória de trabalho e espacial)	Davoodi <i>et al</i> (2009)
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	Tetracaína, 0,5µl 2%	5, 90 e 360 minutos após o teste	S	Entrada e tempo gasto no compartimento claro/escuro	Esquiva passiva	Davoodi <i>et al</i> (2011)
Rato, Wistar	M	14	Farmacológica	Muscimol, 0,2µl 0,48µg	Imediatamente ou 6 horas após o teste	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto	Troyner; Bicca; Bertoglio (2018)
Rato, Sprague Dawley	M	NI	Farmacológica	Muscimol, 0,19µl 0,27 µg	Imediatamente após o teste	NS	Latência de tentativa, distância percorrida e número de erros	<i>Crossword maze</i>	Mei; Logothetis; Eschenko (2018)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	NMDA, 0,1µl 0,12M	5 semanas antes do teste	NS	Preferência alimentar por comida saborizada, quantidade de comida ingerida	STFP	Quet <i>et al</i> (2020)
Camundongo C57BL/6	F	8	Quimiogenética	KORD/ DREADD, 0,5µl, 4,2x10 ¹²	Imediatamente após o teste	S	Localização de objetos	Localização de objetos	Schwabe <i>et al</i> (2021)

Legenda: NI = Não Informado, STFP = transmissão social de preferência alimentar, F = fêmea, M= macho, * = dose calculada em microgramas, S = Significativo estatisticamente, NS = Não Significativo.

A tabela 2 resume os 6 estudos publicados que avaliaram os efeitos da inativação do NR sobre a consolidação de memórias de curto ou longo prazo espacial (Davoodi *et al*, 2009; Mei; Logothetis; Eschenko, 2018; Schwabe *et al*, 2021) ou emocional (Davoodi *et al*, 2011; Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018; Quet *et al*, 2020).

Quatro dos trabalhos relataram resultados significativos para pelo menos um dos desfechos comportamentais mensurados. Davoodi (2009) e colaboradores mostraram que a inativação com tetracaína do NR imediatamente após a tarefa do labirinto aquático de Morris aumentou o tempo de latência de escape comparado com o grupo controle, indicando um prejuízo na consolidação de memória de trabalho espacial. Os parâmetros de velocidade de nado e tempo gasto no quadrante alvo não foram alterados, indicando que a intervenção farmacológica não interferiu com a capacidade locomotora dos animais e a discriminação visual não espacial (Davoodi *et al*, 2009).

Schwabe (2021) *et al* demonstraram que a inativação do NR por via quimiogênica imediatamente após a tarefa de localização de objetos comprometeu a consolidação de memória espacial, pois as fêmeas com o NR inativo gastaram menos tempo com o objeto movido para um novo local. Não houve diferenças significativas na distância percorrida, indicando que a capacidade locomotora não foi afetada (Schwabe *et al*, 2021).

Já para a tarefa de esquiva passiva, Davoodi (2011) *et al* inativaram farmacologicamente o NR com tetracaína nos períodos de 5, 90 ou 360 minutos após essa tarefa. Houve prejuízo no processo de consolidação da memória no período inicial de inativação (5 minutos) mas não nos demais tempos testados, o que indica que esse efeito é dependente do tempo, onde a inativação do NR em momentos mais tardios acaba não interferindo nas cascatas bioquímicas e processos que levam à uma memória ser consolidada (Davoodi *et al*, 2011).

Troyner; Bicca; Bertoglio (2018) mostraram que a inativação do NR com muscimol, seja de uma memória recente ou remota, aumentou a generalização dessas memórias aversivas. A inativação do NR durante o processo de consolidação, num período de tempo remoto, aumentou a intensidade, persistência e generalização do comportamento de congelamento. Também foi investigado se haveria mudanças no comportamento dos animais quando o NR

foi inativado num protocolo de condicionamento fraco, com somente um choque nas patas dos ratos, e os resultados mostraram que o grupo tratado apresentou relativamente maiores porcentagens de congelamento, sugerindo que a memória aversiva consolidada durante a inativação do NR se tornou mais intensa e generalizada, isso valendo para um período de tempo recente e remoto da memória (Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018).

Dois dos trabalhos não reportaram diferenças estatísticas, no qual Mei; Logothetis; Eschenko (2018) após inativação do NR com muscimol imediatamente após o treinamento no *crossword maze* (labirinto cruzado). Os animais foram treinados para encontrar recompensas seguindo uma trajetória complexa e com pistas para a integração do caminho. Foi realizado o teste ao longo de cinco dias, e após cada etapa de aquisição foi injetado o muscimol para inativação do NR. Cada desvio do caminho correto ou percorrer a direção oposta à estabelecida foi considerado um erro. Além disso, foi avaliado o tempo necessário para o alcance da recompensa (latência de tentativa) e o número total de becos visitados pelo animal antes de alcançar a recompensa (distância percorrida). Não houve diferenças entre grupos quando avaliados os parâmetros descritos anteriormente, ressaltando que o desempenho no labirinto melhorou ao longo dos cinco dias, apresentando uma diminuição no número de erros, porém a taxa de aprendizados foi considerada igual para ambos os grupos testados, indicando que a atividade do NR não seria necessária para consolidar essa memória espacial (Mei; Logothetis; Eschenko, 2018).

Quet *et al* (2020) após a inativação do NR com NMDA para a tarefa de STFP mostrou não haver diferença entre os animais lesionados dos animais controle, sugerindo que para esse tipo de memória (social) o NR não está envolvido no processo de consolidação desse tipo de memória pois não depende diretamente do HPC (Quet *et al*; 2020).

Em resumo, de acordo com o que foi apresentado, se pode observar que NR está envolvido no processo de consolidação, e sua inativação e/ou lesão interfere tanto na consolidação da memória espacial quanto aversiva/emocional. Mesmo o trabalho de Mei; Logothetis; Eschenko (2018) contrariando os achados em outros estudos, indica que para este tipo de tarefa que foi utilizado e como ela foi elaborada, segundo autores a inativação do NR não interferiu no processo de consolidação numa janela de tempo imediatamente após a experiência de

aprendizagem, sugerindo que o NR não está envolto na consolidação “off-line” da informação.

Novamente vale ressaltar que nenhum dos seis trabalhos realizaram comparação direta entre machos e fêmeas, e somente um trabalho foi realizado com fêmeas. A avaliação dos efeitos da intervenção em períodos de tempo mais remotos também foi algo pouco explorado. Essas são variáveis que deveriam ser exploradas em novos trabalhos, a fim de enriquecer e complementar as informações disponíveis atualmente.

5.4 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A EVOCAÇÃO E EXPRESSÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS

Tabela 3 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre evocação-expressão de memórias incluídas na revisão

Animal		Intervenção					Desfechos		Referência
Espécie/ Linhagem	Sexo	Idade em semanas	Tipo	Droga, dose utilizada	Momento da administração	Significância estatística	Desfechos primários e secundários	Nome do teste	
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	Tetracaína, 0,5µL 2%	5 minutos antes do teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático de Morris (memória de trabalho e espacial)	Davoodi <i>et al</i> (2009)
Rato, Lister Hooded	M	NI	Farmacológica	Ibotenato 0,10µL, 10mg/mL, (10µg)*	2 semanas antes do teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático (memória de trabalho e espacial)	Van der Weel; Morris; Witter (2009)
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	NMDA, 0,15M	1 semana antes do teste	NS	Congelamento	Medo condicionado ao odor de predador	Carvalho-Netto <i>et al</i> (2010)
Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica	Tetracaína, 0,5µL 2%	5 minutos antes do teste	S	Entrada e tempo gasto no compartimento claro/escuro	Esquiva passiva	Davoodi <i>et al</i> (2011)
Rato, Long-Evans	M	7	Farmacológica	NMDA, 0,6µL 100mM	2 semanas antes do teste	S	Nose poke, escolha correta de alavanca, braços do labirinto e tempo de resposta	VSRT e labirinto radial	Hembrook; Mair (2011)
Rato, Long-Evans	M	24	Farmacológica	Muscimol, 0,5µL, 0,4nmol, (0,09 µg/µL)*, 1,0nmol, (0,23	10 minutos antes do teste	S	Escolha correta de alavanca, braços do labirinto e tempo de resposta	Discriminação espacial condicional com atraso	Hembrook; Onos; Mair (2012)

Rato, Long-Evans	M	12	Farmacológica	Lidocaína 0,3µL, 20µg	15 minutos antes do teste	NS	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático de Morris (memória de trabalho e espacial)	Loureiro <i>et al</i> (2012)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	Muscimol 0,5µL, 0,125µg, 0,25µg, 0,5µg	20 minutos antes do teste	S	Escolha do braço correto	Labirinto em T (memória de trabalho e espacial)	Hallock <i>et al</i> (2013)
Camundongo, C57BL/6	M	8	Quimiogenética	TetTox, 0,15µL	2 semanas antes do teste	NS	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto	Xu; Sudhof (2013)
Rato, Long-Evans	M	12	Farmacológica	Muscimol 0,3µL, 0,26nmol, (0,10 µg)*, 0,70nmol, (0,27µg)*	30 minutos antes do teste	S	Latência de escape, velocidade de nado, tempo gasto no quadrante alvo	Labirinto aquático de Morris e labirinto duplo H	Cholvin <i>et al</i> (2013)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	Muscimol, 0,125µg 0,25µg 0,5µg	20 minutos antes do teste	S	Escolha do braço correto	Labirinto em T (memória de trabalho e espacial)	Layfield <i>et al</i> (2015)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	NMDA 0,54µL, 0,09M	NI	S	Nose poke, escolha correta de alavanca, braços do labirinto e tempo de resposta ao estímulo	Labirinto radial, CAM, discriminação visual e reversão, tomada de decisão com atraso	Prasad; Abela; Chudasama (2016)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	Muscimol 0,3µl, 2,4mM, (0,27µg)*	15 minutos antes do teste	S	Localização de objeto no local, preferência por objeto novo	Reconhecimento associativo de objetos	Barker; Warburton (2018)
Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	Muscimol 0,5µL, 0,25mg/mL, (0,25µg)*, 0,50mg/mL, (0,50µg)*,	30 minutos e 5 minutos antes do teste	S	Escolha do braço correto	Labirinto em T (memória de trabalho e espacial)	Viena; Linley; Vertes (2018)

Rato, Long-Evans	12	Optogenética	Procaína, 0,5µL 20% AAV5-CAG- ArchT- tdTomato	Durante o teste	S	Escolha do braço correto	Labirinto em T (memória de trabalho e espacial)	Maisson; Gemzik; Griffin (2018)
			10 ¹² vg/mL 5µL 500nm					
Rato, Long-Evans	6	Farmacológica	Muscimol, 0,3µL 0,03µg	10 minutos antes do teste	NS	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto e aversivo ao som	Ramanathan <i>et al</i> (2018)
Rato, Sprague Dawley	NI	Farmacológica	Muscimol, 0,19µL 0,27µg	Antes do teste	S	Latência de tentativa, distância percorrida e número de erros	Crossword maze	Mei; Logothetis; Eschenko (2018)
Rato, Sprague- Dawley	NI	Farmacológica	Muscimol, 0,2µL 0,02µg	30 minutos antes do teste	S	Congelamento	Esquiva ativa sinalizada	Moscarello J.M (2020)
Rato, Long-Evans	NI	Quimiogenética	DREADD/CNO 2 × 0,4µL de 7,3 × 10 ⁹	45 minutos antes do teste	NS	Congelamento e distância de nado	Condicionamento aversivo ao contexto e labirinto duplo H	Quet <i>et al</i> (2020)
Rato, Long-Evans	9	Farmacológica	Muscimol, 0,5µl 0,1mg/mL (0,1 µg)*	NI	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao som	Wu; Chang (2022)

Legenda: NI = Não Informado, NS = Não Significativo, S = Significativo estatisticamente, F = fêmea, M= macho, VSRT = Tempo de reação visuoespacial, CAM = Tarefa combinada de memória e atenção, * = dose calculada em microgramas.

A tabela 3 resume 20 estudos publicados que avaliaram os efeitos da inativação ou lesão do NR sobre a etapa de evocação e expressão de memórias de curto ou longo prazo espacial (Davoodi *et al*, 2009; Van der Weel; Morris; Witter, 2009; Hembrook; Mair, 2011; Loureiro *et al*, 2012; Hembrook; Onos; Mair, 2012; Hallock *et al*, 2013; Cholvin *et al*, 2013; Layfield *et al*, 2015; Prasad; Abela; Chudasama, 2016; Barker; Warburton, 2018; Viena; Linley; Vertes, 2018; Maisson; Gemzik; Griffin, 2018; Mei; Logothetis; Eschenko, 2018) ou emocional (Carvalho-Netto *et al*, 2010; Davoodi *et al*, 2011; Xu; Sudhof, 2013; Ramanathan *et al*, 2018; Moscarello J.M, 2020; Quet *et al*, 2020; Wu; Chang, 2022). Quatorze trabalhos relataram diferenças significativas para pelo menos um dos desfechos comportamentais mensurados.

Davoodi (2009) e colaboradores relataram que os animais com inativação do NR por tetracaína cinco minutos antes do teste de evocação da tarefa do labirinto aquático de Morris passaram menos tempo no quadrante alvo quando comparado com os animais controles, indicando prejuízo na evocação da memória espacial de referência. Não houve diferenças em tarefas de discriminação visual não espacial onde a plataforma foi elevada acima do nível da água (Davoodi *et al*, 2009).

Van der Weel; Morris; Witter (2009) lesionaram o NR com ácido ibotênico e avaliaram a evocação de uma memória espacial na tarefa de labirinto aquático. Os animais com o NR lesionado continuaram nadando no quadrante alvo mesmo depois de não localizarem a plataforma quando comparado com o grupo controle, além de uma maior velocidade de nado. No teste da plataforma visível, o grupo de animais que receberam a intervenção tiveram uma latência de escape menor comparado com o grupo controle. Os autores argumentam que o NR inativo não interferiu diretamente na capacidade de evocação da memória de referência, porém afetou a flexibilidade de estratégia de busca e mudanças nas condições da tarefa (Van der Weel; Morris; Witter, 2009).

Hembrook; Mair (2011; 2012) investigaram em dois artigos distintos os efeitos da inativação do NR em tarefas relacionadas à memória espacial, sendo o primeiro trabalho por meio de lesão com NMDA e o segundo de forma farmacológica com muscimol. No primeiro os animais foram avaliados no labirinto radial, tendo como resultado um prejuízo no desempenho da atividade através da escolha e entrada nos braços do labirinto, onde lesões isoladas no

NR e também lesões combinadas (NR + núcleo intralaminar caudal e rostral do tálamo) foram estatisticamente significantes. Por outro lado, na tarefa VSRT, a lesão isolada do NR foi insuficiente para produzir diferenças significativas, sendo observado efeito somente com lesões combinadas (Hembrook; Mair, 2011). No segundo trabalho (2012), após a inativação com muscimol do NR, houve prejuízo no desempenho da tarefa inferido pelo aumento do tempo de resposta, escolha correta dos braços do labirinto radial e alavanca, sendo segundo os autores dose-dependente, sendo que a maior concentração utilizada (0,57 µg) causou um maior prejuízo observado quando comparado com as outras concentrações utilizadas (0,09 e 0,23 µg) e o grupo controle (Hembrook; Onos; Mair, 2012).

Cholvin (2013) *et al* mostraram que a inativação do NR com muscimol (0,10 e 0,27 µg) prejudicou o desempenho na tarefa do labirinto aquático de Morris. O grupo tratado com a maior concentração permaneceu mais tempo à procura pela plataforma quando comparado com o grupo de menor concentração e o controle. O mesmo resultado foi observado quando os animais foram testados na tarefa do labirinto duplo H, onde ratos com o NR inativo apresentaram uma piora no desempenho da tarefa, sendo significativamente estatístico no caso do tempo gasto em um braço específico do labirinto (NE) em comparação aos demais braços e ao grupo controle (Cholvin *et al*, 2013).

Hallock (2015) e colaboradores testaram animais no labirinto em T para tarefa de discriminação visual dependente de memória de trabalho e uma não dependente. A inativação do NR com muscimol (0,125; 0,25 e 0,5 µg) cerca de 20 minutos antes dos testes prejudicou o desempenho na tarefa de discriminação visual dependente de memória de trabalho, inferido por um maior tempo para realizar essa tarefa nos animais que receberam a droga em relação ao controle, havendo dificuldade de associação entre as pistas visuais e escolha do braço correto, mas os grupos não diferiram na tarefa de discriminação visual não dependente de memória de trabalho (Hallock *et al*, 2013).

Layfield *et al* (2015) usaram as mesmas concentrações de muscimol que o trabalho anterior e avaliaram os animais nas tarefas de alternância contínua e atrasada no labirinto em T. Os animais que tiveram o NR inativo apresentaram prejuízo na evocação da memória de trabalho, o que interferiu na precisão de escolha pelos braços corretos na tarefa de alternância com atraso de 5 e 30 segundos. Não houve diferenças significativas na tarefa de alternância

contínua. Vale ressaltar que somente a maior concentração de muscimol (0,5 µg) produziu efeitos significativos na tarefa de alternância com atraso de cinco segundos enquanto na versão da tarefa com atraso de trinta segundos todas as concentrações obtiveram efeitos significativos comparados ao grupo controle. Isso sugere que não só a atividade do NR é recrutada nas tarefas de memória espacial como nesse caso a dependência funcional dessa região aumenta como intervalos de atraso mais longos (Layfield *et al*, 2015).

Viena; Linley; Vertes (2018) também empregaram o labirinto em T para tarefas de memória espacial numa versão modificada da tarefa de alternância não correspondente à amostra com atrasos de 30, 60 ou 120 segundos. A inativação do NR com muscimol nas concentrações de 0,25 e 0,50 µg no NR antes do teste prejudicou a precisão de escolha e a capacidade de alternância entre os braços corretos do labirinto, mas para a versão da tarefa sem atraso não houve diferenças entre os grupos. Além disso, foi feita a inativação do NR com procaína 5 minutos antes do teste de alternância atrasada. Relativo ao grupo controle, os animais com o NR inativado tiveram prejuízo estatisticamente significativo no desempenho da tarefa somente com 120 segundos de atraso. Também foi mostrado que a inativação do NR com muscimol prejudicou o “win-shift”, que é definido como a falha ao alternar e/ou escolher o braço oposto depois de mudar para o braço correto (com recompensa alimentar) (Viena; Linley; Vertes, 2018).

Maisson; Gemzik; Griffin (2018) usaram a mesmo desenho experimental empregado por Hallock *et al* (2013) e Layfield *et al* (2015), mas tendo como intervenção a inativação do NR por via optogénica. Observou-se um prejuízo na precisão de escolha dos braços corretos do labirinto no grupo com NR inativo comparado com o controle. Para complementar os achados atuais e anteriores, foi feita a inativação do NR em cada fase da realização da tarefa de alternância e mostrou-se que há diferenças estatísticas somente no início da tarefa (chamada fase de “amostragem”) e não no período de atraso ou durante o percurso do trajeto escolhido (Maisson; Gemzik; Griffin, 2018).

Prasad; Abela; Chudasama (2016) (assim como Hembrook; Mair, 2011) lesionaram o NR com NMDA antes da realização de tarefas de atenção e memória espacial no labirinto radial. Animais com lesão no NR melhoraram o foco atencional para estímulos visuais na tarefa combinada de memória e

atenção, levando ao aumento do tempo de resposta, porém não diferiram dos do grupo controle na precisão de respostas atrasadas não correspondentes. Além disso, a lesão do NR no labirinto radial para tarefa de memória espacial produziu um déficit inicial e transitório na condição sem atraso da tarefa, ou seja, os animais com o NR lesado necessitaram do dobro de tempo para completar a primeira etapa da tarefa, porém nas etapas com o atraso não houve diferença estatística entre os grupos. Segundo os autores, isso reflete numa interferência na execução da tarefa afetada pela intervenção, porém não associada diretamente com uma perturbação da capacidade de recuperar a memória espacial.

Na tarefa de discriminação visual e reversão, os animais com o NR lesado apresentaram uma melhora estatisticamente significativa na execução da tarefa (menos tempo para executar a tarefa corretamente), além de melhor discriminação visual entre os estímulos táteis apresentados. Os animais também foram testados na tarefa de tomada de decisão com resultados atrasados e não diferiram estatisticamente do grupo controle, mantendo uma taxa de escolha entre as recompensas semelhantes, não diferindo entre imediata e tardia. Em conjunto, esses resultados sugerem uma melhora na função cognitivo-executiva após lesão do NR, e pouca interferência na recuperação da memória espacial (Prasad; Abela; Chudasama, 2016).

Barker; Warburton (2018) usaram a tarefa de reconhecimento associativo de objetos e mostraram que animais com inativação do NR com muscimol 15 minutos antes do teste apresentaram um aumento do tempo de exploração do objeto no local em relação ao grupo controle. Isso indicaria um prejuízo no desempenho na tarefa após um período de atraso, porém não houve influência da inativação em parâmetros como a capacidade de reconhecer um novo objeto ou a localização dele (Barker; Warburton, 2018).

Mei; Logothetis; Eschenko (2018) investigaram os efeitos da inativação do NR com muscimol na evocação da memória espacial na tarefa de *crossword maze*. Os animais com essa região inativa apresentaram um tempo de latência maior do que o grupo controle, inferida pela demora para achar o local com recompensa dentro do labirinto no tempo limite estipulado. A trajetória percorrida também foi maior nos ratos com o NR inativo. Esses foram persistentes, se

mantendo nas tentativas subsequentes onde a execução da tarefa foi mantida prejudicada (Mei; Logothetis; Eschenko, 2018).

Davoodi e colaboradores mostraram que a inativação do NR com tetracaína 5 minutos antes do teste da tarefa de esquiva passiva levou a um prejuízo na evocação da memória quando comparado com o grupo controle (Davoodi *et al*, 2011).

Moscarello J.M (2020) investigou os efeitos da inativação do NR com muscimol na evocação da memória da tarefa de esquiva ativa sinalizada e relataram que os animais com o NR inativo tiveram maior porcentagem de congelamento quando comparado ao grupo de animais controle. Os autores sugerem que a atividade do NR seria essencial para a supressão do medo condicionado (Moscarello J.M, 2020).

Wu; Chang (2022) inativaram o NR com muscimol e testaram os animais na tarefa de condicionamento aversivo ao som. Houve uma maior porcentagem de congelamento em relação ao grupo controle, sugerindo uma generalização do medo contextual. Também foi observado tal aumento no congelamento para estímulos sonoros subsequentes (Wu; Chang, 2022).

Cinco dos vinte trabalhos compilados na Tabela 3 não relataram diferenças significativas entre os grupos de animais experimentais. Carvalho-Netto (2010) e colaboradores usaram a tarefa de medo condicionado ao odor de predador. A lesão do NR com NMDA não alterou os parâmetros avaliados em relação ao controle, sugerindo que a intervenção não interferiu com o processo de evocação da memória aversiva. Esse trabalho também investigou os efeitos de lesões combinadas (bilaterais ou unilaterais) da parte ventral do núcleo anteromedial (AMV) com o NR. Neste caso, a inativação provocou mudanças nas respostas contextuais de medo, sugerindo a dependência da interação do NR com outras regiões cerebrais para o processo de evocação da memória aversiva (Carvalho-Netto *et al*, 2010).

Xu; Sudhof (2013) inativam o NR por meio quimiogênético antes do teste de condicionamento aversivo ao contexto. Não houve diferenças significativas em relação ao grupo controle, além de não haver generalização do medo (Xu; Sudhof, 2013).

Quet *et al* (2020) também realizaram a inativação do NR por via quimiogênética na tarefa de condicionamento aversivo ao contexto. Não houve

diferenças estatísticas entre os grupos, sugerindo que a atividade do NR não afetaria a evocação da memória aversiva contextual. A fim de confirmar que a inibição quimiogénica seria suficiente para produzir alterações comportamentais, os animais foram testados na tarefa de labirinto duplo H, tendo sido avaliada a flexibilidade cognitiva. Os resultados mostraram um déficit na realização da tarefa, indicando que a abordagem escolhida seria capaz de interferir na funcionalidade do NR, e que o resultado observado no condicionamento aversivo ao contexto não foi por uma ausência de efeito da intervenção escolhida (Quet *et al*, 2020).

Também com o teste de condicionamento aversivo ao contexto e ao som, Ramanathan (2018) e colaboradores mostraram que a inativação do NR antes do teste de recuperação para ambas as tarefas não prejudicou a evocação da memória, já que não houve diferenças estatísticas entre os grupos de animais testados (Ramanathan *et al*, 2018).

Usando tarefas que compreendem memória espacial (labirinto aquático de Morris), Loureiro (2012) e colaboradores mostraram que a inativação do NR com lidocaína não produziu diferenças significativas na evocação de memória recente (5 dias) ou remota (25 dias) (Loureiro *et al*, 2012).

Em resumo, podemos inferir que a atividade do NR contribui para a evocação da memória de referência espacial, reconhecimento associativo de objetos, tarefas de discriminação visual dependentes da memória de trabalho e alternância atrasada. Também parece que o NR está ligado à mudança de estratégia no desempenho de tarefas de memória espacial (flexibilidade comportamental), porém em tarefas não dependentes de atraso a inativação/lesão dessa região não produziu diferenças. Pela primeira vez foi possível ver a seletividade do NR por meio de optogenética para a tarefa de alternância contínua e com atraso, tendo influência na fase inicial da tarefa. Para memórias aversivas também se obteve dados implicando no aumento de comportamentos como congelamento quando o NR estava inativo, e o prejuízo no controle da resposta de esquiva. Por outro lado, a inativação do NR não prejudicou a evocação de memórias aversivas.

Vale ressaltar que nenhum dos trabalhos fez comparação direta entre machos e fêmeas (todos os trabalhos foram conduzidos em machos). Isso poderia ser uma variável a ser explorada em futuros trabalhos.

5.5 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A DESESTABILIZAÇÃO E RECONSOLIDAÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS

Tabela 4 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre desestabilização-reconsolidação de memórias incluídas na revisão

Animal		Intervenção				Desfechos		Referência
Espécie/ Linhagem	Sexo	Idade em semanas	Tipo	Droga, dose utilizada	Momento da administração	Significância estatística	Desfechos primários e secundários	Nome do teste
Rato, Wistar	M	14	Farmacológica	Muscimol, 0.22 µL 0.48 µg	10 minutos antes da reativação	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto
								Troyner; Bertoglio (2020)
Rato, Wistar	M	14	Farmacológica	Muscimol, 0.22 µL 0.48 µg	Imediatamente após a reativação	S	Congelamento	Condicionamento aversivo ao contexto
								Troyner; Bertoglio (2021)

Legenda: S = Significativo estatisticamente, M = macho.

A tabela 4 resume os dois trabalhos publicados que avaliaram os efeitos da inativação do NR no processo de desestabilização e reconsolidação (ou restabilização) da memória aversiva (Troyner; Bertoglio, 2020; Troyner; Bertoglio, 2021).

Em ambos os trabalhos foi utilizado o condicionamento aversivo contextual. No primeiro estudo, o NR foi inativado com muscimol 10 minutos antes da sessão de evocação e reativação da memória. Imediatamente após a sessão, a anisomicina ou a clonidina foram utilizados como controle positivo para a reconsolidação da memória aversiva. Nos dias posteriores, foram avaliadas a intensidade e a especificidade da memória.

Em outros grupos de animais foi realizado o condicionamento aversivo ao contexto, feito o tratamento intra-NR (veículo ou muscimol) 10 minutos antes da sessão de não-reativação (contexto C), o tratamento (anisomicina, clonidina ou veículo) imediatamente após à exposição ao contexto C e realizado nos dias subsequentes o teste A e B conforme descrito anteriormente.

O resultado do primeiro estudo mostrou que na sessão de reativação todos os grupos se comportaram de maneira semelhante, mantendo o mesmo perfil de congelamento, não havendo alterações induzidas pela inativação do NR na expressão da memória. Durante o teste A, os grupos de animais que tiveram o NR inativado no pré-tratamento, e receberam o tratamento com anisomicina ou clonidina não diferiram estatisticamente dos animais do grupo controle. Esses resultados sugerem que a reconsolidação não ocorre sem a desestabilização da memória aversiva adquirida pois foram prevenidos os efeitos da anisomicina e clonidina na reconsolidação devido a inativação do NR durante a desestabilização. Para o teste B, não foi encontrado nenhum efeito significativo, indicando que não houve nenhuma alteração na especificidade ou generalização da memória (Troyner; Bertoglio, 2020).

Também foi investigado se a ausência da reativação da memória adquirida interferiria com o processo de reconsolidação. Todos os grupos apresentaram comportamento semelhante na sessão de não reativação. No teste A, todos os grupos exibiram níveis mais altos de congelamento, em relação à sessão de não reativação, porém não houve diferença significativa entre eles. Isso sugere que os tratamentos não influenciaram o processo de desestabilização-reconsolidação da memória, pois ele não foi desencadeado nos animais expostos ao contexto C (Troyner; Bertoglio, 2020).

Em um segundo trabalho, também Troyner; Bertoglio (2021) avaliaram o processo de reconsolidação seguindo a metodologia anterior com algumas modificações: 1) foi feito o condicionamento aversivo ao contexto nos animais, sem nenhuma intervenção, seguido de uma sessão de reativação da memória adquirida e realizado o pré-tratamento com veículo ou muscimol intra-NR, seguido de um tratamento com drogas que perturbam o processo de consolidação (anisomicina e/ou clonidina) ou veículo 10 minutos depois, sendo avaliado os resultados nos dias seguintes no teste A (reexposição ao contexto de condicionamento) e teste B (exposição ao contexto B) que teve objetivo de

avaliar as mudanças na especificidade e generalização da memória. 2) Realizado o condicionamento aversivo ao contexto, feito o pré-tratamento intra-NR (veículo ou muscimol) imediatamente após a sessão de não-reativação (contexto C), o tratamento (anisomicina, clonidina ou veículo) 10 minutos depois e realizado nos dias subsequentes o teste A e B conforme descrito anteriormente.

Como resultado do primeiro experimento, foi visto que a inativação do NR após a reativação da memória aversiva adquirida previamente, causa prejuízo no processo de reconsolidação, onde o grupo que foi infundido com muscimol no pré-tratamento e no tratamento recebeu veículo apresentou níveis mais baixos de congelamento quando comparado com o grupo controle (veículo-veículo) no teste A. Porém os grupos muscimol-anisomicina e muscimol-clonidina não apresentaram diferença no comportamento de congelamento quando comparado com o grupo muscimol-veículo, veículo-anisomicina e veículo-clonidina. Esses achados sugerem que a inativação do NR logo após a reativação da memória aversiva prejudica a reconsolidação e que a associação do muscimol com drogas que perturbam o processo de reconsolidação não produz efeitos de adição ou sinergia no processo. Já para o teste B os resultados encontrados mostraram um comportamento semelhante para todos os grupos de animais testados, indicando que não houve mudanças na especificidade e generalização da memória.

No segundo experimento realizado, Troyner; Bertoglio (2021) investigaram além da inativação do NR no processo de reconsolidação, a ausência da reativação da memória aversiva adquirida e se isso também implica na perturbação do processo de reconsolidação. Os resultados do experimento foram que todos os grupos de animais testados na sessão de não reativação (contexto C) exibiram baixos níveis de congelamento. Já no teste A (contexto de condicionamento) todos os grupos de animais mostraram altos níveis de congelamento, onde numa comparação entre sessões (não reativação e teste A) alcançou diferença estatística, porém dentro do teste A não houve diferença estatística entre o pré-tratamento e tratamento entre os grupos testados, indicando que ambos não interferiram na reconsolidação nos animais expostos no contexto C pois não foi desencadeada a desestabilização da memória. Para o teste B não houve diferenças entre os grupos de pré-tratamento e tratamento

indicando que não houve mudanças na especificidade e generalização da memória (Troyner; Bertoglio 2021).

Em resumo, os resultados descritos acima indicam que a atividade do NR é importante para o processo de desestabilização e reconsolidação de memórias aversivas. Os dados indicam que essa região regula processos mnemônicos, mas mais estudos são necessários para aprofundar o conhecimento sobre a área. Nenhum dos trabalhos avaliou o possível efeito do sexo dos animais nas intervenções e a influência do ciclo estral.

5.6 EFEITOS DA INATIVAÇÃO OU LESÃO DO NÚCLEO REUNIENS DO TÁLAMO SOBRE A EXTINÇÃO DE MEMÓRIA EM RATOS E CAMUNDONGOS

Tabela 5 – Descrição da população, intervenção e desfechos das publicações sobre extinção de memórias incluídas na revisão

Tarefa	Animal	Intervenção		Memória Extinção	Referência				
	Espécie/ Linhagem	Sexo	Idade em semanas	Tipo	Droga, dose utilizada	Momento da administração	Desfecho	Variável mensurada	
Condicionamento aversivo ao som	Rato, Wistar	M	NI	Farmacológica e quimiogenética	Muscimol 0,3µL 0,1µg DREADD/CNO 1,0µL	10 minutos antes da sessão de extinção ou recuperação 30 minutos antes da extinção ou recuperação (CNO)	S	Congelamento	Ramanathan <i>et al</i> (2018)
Condicionamento aversivo ao contexto	Rato, Long-Evans	M	NI	Farmacológica	Muscimol 0,3µl 0,1µg	10 minutos antes da sessão de extinção	S	Congelamento	Ramanathan; Maren (2019)
Condicionamento aversivo ao contexto	Camundongo, C57BL/6JRj	M	13	Quimiogenética	DREADD/CNO 2 × 300nl 7,4x10 ¹²	7 dias após o condicionamento e 27 dias antes da sessão de extinção	S	Congelamento	Silva <i>et al</i> (2021)
Condicionamento aversivo ao som	Rato, Long-Evans	M/F	NI	Farmacológica	Muscimol 0,3µL 0,1µg	10 minutos após sessão de extinção e reativação	NS	Congelamento	Vasudevan et al (2022)

Legenda: NI = Não informado, NS = Não Significativo, S = Significativo estatisticamente, F= fêmea, M = macho.

A tabela 5 resume os 4 trabalhos publicados que avaliaram os efeitos da inativação do NR sobre a extinção de memórias aversivas (Ramanathan *et al*, 2018; Ramanathan; Maren, 2019; Silva *et al*, 2021; Vasudevan *et al*, 2022).

Três trabalhos relataram diferenças significantes. Ramanathan (2018) e colaboradores inativaram o NR com muscimol 10 minutos antes da sessão de extinção para avaliar a aquisição da memória na tarefa de condicionamento aversivo ao som. Foi observado que o grupo de animais com o NR inativo, manteve o comportamento de congelamento durante toda a sessão de extinção, quando comparado com o grupo controle. Somando a esse resultado observado, foi visto 24 horas depois que os animais submetidos ao processo de extinção sob efeito do muscimol apresentaram maiores níveis de congelamento induzido pelo som quando comparado com os animais do grupo controle dentro do contexto de extinção. Esses achados sugerem que a inativação do NR prejudica a aquisição da memória de extinção. Ainda no mesmo paradigma, os autores investigaram a influência da inativação do NR na evocação da memória de extinção. Foi observado que o grupo de animais que teve o NR inativo com muscimol exibiu um maior comportamento de congelamento dentro do contexto de extinção do que o grupo controle. Segundo autores, isso sugere que a inativação do NR promove um déficit na evocação de memórias de extinção (Ramanathan *et al*, 2018).

Para complementar esses dados encontrados com a inativação farmacológica do NR, os autores realizaram o silenciamento quimiogênético das projeções partindo do córtex pré-frontal medial (CPFm) para o NR a fim de investigar a comunicação e influência dessas áreas na aquisição e evocação da memória de extinção do medo. Os animais que tiveram as projeções silenciadas antes da extinção aumentaram o comportamento de congelamento induzido por estímulo condicionado dentro da sessão confirmando os achados anteriores. Quando investigada a evocação da memória de extinção, os autores relataram que o grupo de animais que sofreu o silenciamento aumentou o congelamento no contexto de extinção, indicando déficit na evocação da memória de extinção. Tais resultados dão suporte aos achados anteriores da inativação do NR com muscimol que não só ele está envolvido na aquisição e recuperação da memória de extinção como também nas projeções vindas do CPFm (Ramanathan *et al*, 2018).

Num segundo trabalho Ramanathan; Maren (2019) avaliaram se o resultado observado em Ramanathan et al (2018) é dependente do estado, ou seja, se o prejuízo na aquisição e evocação da memória de extinção está ligada ao momento da inativação. Nesse trabalho eles realizaram o condicionamento aversivo ao contexto e a inativação farmacológica do NR antes da sessão de extinção e antes da sessão de evocação. No primeiro experimento, os animais que receberam infusão de muscimol intra-NR mostraram um aumento no comportamento de congelamento durante a sessão de extinção, quando comparado com o grupo controle (salina), sugerindo, segundo autores, que a inativação do NR prejudicou a aquisição da memória dentro da sessão de extinção (Ramanathan; Maren, 2019). No segundo experimento, 24 horas depois, os animais receberam infusão de salina ou muscimol antes da sessão de evocação da extinção. Os animais que tiveram o NR inativo durante a extinção e receberam salina durante a evocação (MUS-SAL), apresentaram prejuízo na evocação no início da sessão, porém o congelamento foi diminuindo ao longo do teste. Os animais que tiveram o NR inativo somente antes da sessão de evocação (SAL-MUS), apresentaram aumento do comportamento de congelamento ao longo do teste. Animais que passaram pela extinção com o NR inativado e receberam infusão de muscimol antes da sessão de evocação (MUS-MUS) apresentaram um aumento dos níveis de congelamento ao longo do teste. Esses dados sugerem que o NR inativo prejudica a aquisição da memória de extinção e inibe o processo de evocação da memória de extinção, sendo esse resultado observado não dependente do estado (Ramanathan; Maren, 2019).

Silva (2021) e colaboradores inativaram o NR por meio da técnica de quimiogenética, relataram que os animais que tiveram o NR inativado antes da extinção exibiram níveis de congelamento significativamente mais altos do que os do grupo controle, sendo essa diferença também presente na sessão de recuperação espontânea da memória aversiva 14 dias depois, o que sugere um comprometimento na aquisição da memória de extinção. Por fim, foi testado se a inativação das projeções do NR para a amígdala basolateral (ABL) interferem com a extinção da memória aversiva. Foram feitos dois experimentos semelhantes aos relatados anteriormente: houve silenciamento das projeções antes da sessão de extinção ou antes da sessão de evocação da memória extinta após 48 dias. A inativação realizada antes da sessão de extinção fez com

que os animais apresentassem maior congelamento tanto na sessão de aquisição da extinção como na de evocação, corroborando achados anteriores indicando que há prejuízos no processo de aquisição e evocação da extinção de memória aversiva quando o NR está disfuncional (Silva *et al*, 2021).

Um dos quatro trabalhos não relataram diferenças estatísticas para nenhum parâmetro medido na extinção da memória aversiva. Vasudevan *et al* (2022) realizaram uma inativação do NR com muscimol para avaliar a consolidação e reconsolidação da memória de extinção no teste de condicionamento aversivo ao som. Os experimentos foram divididos da seguinte forma: 1) foi realizado o condicionamento aversivo (contexto A), extinção (contexto B) e infusão de muscimol ou salina 10 minutos e/ou 6 horas após a extinção e antes da renovação (contexto A) e os animais depois testados no contexto da extinção novamente (evocação). 2) foi realizado o condicionamento aversivo (contexto A), extinção com estímulo condicionado auditivo (contexto B), reativação da memória extinta com CS auditivo (contexto B), infusão de muscimol ou salina e evocação da memória extinta (contexto B). Também foi feita uma sessão de evocação no contexto B sob efeito da infusão de muscimol, para confirmar que a inativação do NR foi eficaz. Vale ressaltar que os autores mencionaram que foi realizado o teste de renovação devido à sugestão de que a inativação do NR pode afetar a especificidade da memória contextual.

O resultado do primeiro experimento, que visou avaliar o processo de consolidação de uma memória de extinção, não indicou diferenças significativas entre os dois grupos testados e o momento da infusão (10 minutos ou 6 horas), pois ambos os grupos mostraram um congelamento semelhante nos contextos de renovação e extinção (evocação), sugerindo que o NR não prejudica a consolidação de uma memória de extinção. O segundo experimento, que analisou os efeitos da inativação do NR no processo de reconsolidação de uma memória de extinção, também não apresentou diferenças entre os grupos testados, sugerindo a ausência da necessidade de atividade do NR durante a reconsolidação da memória de extinção. Para comprovar a eficácia da inativação do NR pelo muscimol, os animais que receberam a droga antes do teste de evocação da extinção exibiram um aumento no congelamento condicionado ao estímulo sonoro (CS) extinto, demonstrando que a ausência de diferença

observada nos resultados anteriores não é devida à uma falha da droga utilizada (Vasudevan *et al*, 2022).

Em resumo, os dados apresentados indicam a participação do NR nos processos de aquisição e evocação (mas não consolidação ou reconsolidação) da memória de extinção. Nenhum dos trabalhos fez comparação direta entre o sexo dos animais para as intervenções e a influência do mesmo. Porém Vasudevan *et al* (2022) utilizou machos e fêmeas em seu estudo, enquanto os demais utilizaram somente machos. A comparação de sexos deveria ser uma variável a ser explorada em futuros trabalhos envolvendo a inativação do NR. Não só foi visto que a inativação direta da área prejudica as etapas citadas anteriormente, mas também o aumento do comportamento aversivo, como foi demonstrado que o silenciamento das projeções do CPFm para o NR causa prejuízo na recuperação de memória extinta, além do prejuízo na etapa de aquisição. Isso mostra a interação e comunicação dessas áreas encefálicas no processo mnemônico, além de adicionar mais evidências que o NR é uma região que é responsável pela comunicação com outras áreas como o córtex pré-frontal medial e hipocampo.

Um dos trabalhos não apresentou diferença entre os grupos testados. Uma possível justificativa para essa ausência de diferença entre grupos pode estar relacionada à uma falha metodológica, onde no trabalho de Vasudevan *et al* (2022), foi utilizado uma apresentação de CS não reforçada (outra tentativa de extinção) para a reativação. O que leva à ausência de erro de previsão (surpresa), o que pode ter limitado a sensibilidade da memória evocada o que levou a inibição da reconsolidação. Isso pode ser corrigido apresentando um CS junto com um US não pareado ou um novo CS em um contexto novo causando uma desestabilização mais efetiva de memória extinta propiciando o processo de reconsolidação (Sinclair; Barense, 2019).

Vale falar que, o processo de consolidação requer síntese proteica, e que o uso de inibidores de síntese proteica como anisiomicina é utilizado nos trabalhos estudando consolidação e reconsolidação de memórias aversivas (Troyner; Bertoglio; 2020;2021). No caso do trabalho de Vasudevan *et al* (2022) foi usado somente o muscimol como fonte de interrupção desses processos, o que não descarta que a inibição da síntese proteica no NR resulte em prejuízos no processo de consolidação e desestabilização-reconsolidação, assim a adição

do uso de anisiomicina, em conjunto com muscimol num trabalho futuro para investigação dos processos de consolidação e desestabilização-reconsolidação da memória de extinção se faz necessário.

6 DISCUSSÃO

Na presente revisão de mapeamento realizamos uma análise dos artigos científicos que investigaram a importância da atividade do NR nas etapas do processo de aprendizagem e memória em ratos e camundongos de laboratório. Compreender as funções desempenhadas pelo NR, bem como sua interação com outras regiões encefálicas, é de grande valia para avançarmos no entendimento da neurobiologia da memória e da possível utilidade de intervenções experimentais para tratamentos de patologias relacionadas ao desenvolvimento e manutenção de memórias disfuncionais, tal como o estresse pós-traumático. A maioria dos estudos revisados relatou que a inativação ou lesão do NR foi capaz de prejudicar a aquisição, consolidação, evocação, desestabilização-reconsolidação e extinção de memórias (Tabelas 1 a 5).

Nos estudos que avaliaram a memória espacial, houve uma concordância de resultados, ou seja, há uma relação entre a inativação ou lesão do NR e o prejuízo em tarefas dependentes do HPC, visto que o NR e HPC interagem na passagem de informação, tendo projeções diretas em ambas as regiões (Vertes *et al*, 2006; Vertes *et al*, 2007). Outros achados que suportam que em tarefas não dependentes de memória espacial a inativação do NR não mostrou diferenças entre o grupo inativado ou lesado e o grupo controle (Hallock *et al*, 2013; Hallock; Wang; Griffin, 2016). Outros resultados que corroboram a ideia de que a atividade do NR possibilita a comunicação entre o CPFm e o HPC, são que animais que tiveram o NR inativo durante tarefas de alternância com atraso, labirinto radial ou discriminação espacial condicional (Tabela 3) diferiram do grupo controle, tendo prejuízo na evocação da respectiva memória, resultado que não foi observado na versão sem atraso das tarefas, que depende somente de HPC (Hembrook; Mair, 2011; Hembrook; Onos; Mair, 2012; Layfield *et al*, 2015). Segundo a literatura, é o tempo de atraso que determina se o HPC trabalha em conjunto ou não com o CPFm (Lee; Kesner, 2003; Churchwell; Kesner, 2011), sendo relatado que a inativação do NR interrompe oscilações

síncronas do HPC com o CPFm em tarefas de memória espacial com atraso (Hallock; Wang; Griffin, 2016), o que agrega mais evidências à hipótese do NR como um *hub* da comunicação entre essas regiões. Outro fator que suporta essa hipótese é que a consolidação da memória também envolve a comunicação do HPC com regiões corticais, onde inicialmente uma informação armazenada e dependente do HPC precisa passar para o córtex gradualmente até se tornar uma informação totalmente independente do HPC. Porém, até chegar nesse estágio, é feita continuamente a comunicação entre essas regiões (Dudai; Morris, 2013; Squire *et al*, 2015), suportando a hipótese de que uma das regiões envolvidas nessa troca de informações entre o córtex e o HPC é o NR. Também estão de acordo os resultados sugerindo que a inativação do NR prejudica o processo de consolidação (Davoodi *et al*, 2009; Troyner; Bicca; Bertoglio 2018; Schwabe *et al*, 2021), onde essa disfuncionalidade pode levar a perturbação da comunicação entre regiões importantes para a consolidação de memória e o NR.

Também foi possível observar que o NR modularia funções executivas como atenção e flexibilidade comportamental devido às projeções do NR para CPFm e o córtex orbitofrontal (COF) (Hoover; Vertes, 2011; Mathiasen *et al*, 2020), pois houve prejuízo na aquisição em tarefas de mudança de atenção (Linley; Gallo; Vertes, 2016) e evocação da memória na tarefa de labirinto em T desencadeado por inflexibilidade comportamental (Viena *et al*, 2018).

O HPC, CPFm e amígdala compõem o circuito neural responsável pela formação da memória no condicionamento contextual e comportamentos de esquiva inibitória (LeDoux J.E, 2000; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016). O CPFm é uma região essencial para a generalização da memória enquanto o HPC está associado com especificidade e formação da memória e a amígdala está envolvida no componente emocional (Frankland *et al*, 1998; Parkinson; Robbins; Everitt, 2000; Albuquerque; Silva, 2009; Wiltgen *et al*, 2010; Xu *et al*, 2012; Izquierdo; Furini; Myskiw, 2016). Como o NR possui conexões com estas áreas (Barker; Warburton, 2018; Mathiasen *et al*, 2020), não é surpresa que ele atue como um elo de passagem e module as informações mnemônicas aversivas. De fato, também se observou uma certa concordância entre os resultados de estudos que focaram em memórias aversivas. A inativação do NR aumentou o congelamento, generalização e expressão da memória de medo condicionado (Xu; Sudhof, 2013; Ramanathan *et al*, 2018; Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018;

Quet *et al*, 2020; Wu; Chang, 2022). Foi possível observar que o NR parece determinar a especificidade e generalização da memória em um contexto particular, devido ao processamento de informação do CPFm em rota para o HPC, isso refletiu no aumento da generalização da memória aversiva quando silenciadas as projeções do CPFm para o NR (Xu; Sudhorf, 2013). A inativação do NR também interferiu com tarefas envolvendo esquiva passiva (Davoodi *et al*, 2011) e ativa sinalizada (Moscarello J.M, 2020). Relatou-se que a inativação do NR influencia memórias contextuais recentes e remotas. Para as memórias recentes, quando o NR foi silenciado, houve um prejuízo na aquisição (Xu; Sudhof, 2013) e consolidação (Troyner; Bicca; Bertoglio, 2018) e uma falta de especificidade da memória ao contexto onde o condicionamento foi realizado. Troyner; Bicca; Bertoglio (2018) relataram um aumento do congelamento em animais que receberam muscimol, além da generalização da memória aversiva. Já Quet e colaboradores (2020), que lesionaram o NR com NMDA, os animais exibiram uma diminuição do congelamento. Essa diferença no desfecho comportamental pode estar associada com a método de intervenção usado: lesões por NMDA levam a um padrão inespecífico de perda celular, além da possibilidade de dano celular irreversível em regiões próximas ao NR (Andrade *et al*, 2009). Independente do caso, é possível observar que o NR alterou o congelamento nesses dois períodos (aquisição e consolidação) da memória aversiva.

O processo de extinção envolve um novo aprendizado neutro relacionando ao estímulo e contexto apresentados. Assim, a memória de extinção que é adquirida compete com a memória aversiva original (Bouton M.E, 2004). Foi identificada a participação da atividade do NR em algumas etapas da extinção da memória aversiva (Tabela 5). A inativação ou lesão do NR prejudicou a aquisição e evocação, já a consolidação e desestabilização-reconsolidação não foram alteradas.

Os trabalhos que focaram em investigar o processo de extinção de uma memória aversiva mostraram que tanto inativando o NR temporariamente farmacologicamente ou quimiogeneticamente os animais apresentaram maior comportamento de congelamento, independente do estímulo ser som ou choque (Ramanathan *et al*, 2018; 2019; Silva *et al*, 2021). Além desses resultados, Ramanathan (2018) e colaboradores ainda trouxeram o silenciamento das

projeções que partem do CPFm em direção ao NR, observando o aumento do congelamento nesse grupo de animais (Ramanathan *et al*, 2018). Isso corrobora com toda a teoria do NR está envolvido na passagem e modulação de informação entre o HPC – CPFm, com adição da amígdala nas memórias aversivas, e o processo adjacente de extinção.

Algo a ser levado em consideração é a ausência de trabalhos feitos comparando machos e fêmeas. Na literatura há relatos de diferenças de desempenho em tarefas como labirinto aquático de Morris quando se compara machos e fêmeas (Chow *et al*, 2013; O’Leary *et al*, 2022). Para memórias aversivas, no paradigma de condicionamento clássico de piscar os olhos, foi observada diferença, no qual machos demoram mais para adquirir a resposta condicionada, e as fêmeas atingem maior critério de aprendizagem quando comparado com machos, chegando à 60% (Waddell; Bangasser; Shors, 2008; Dalla *et al*, 2009). Para o condicionamento aversivo ao contexto, trabalhos que compararam machos e fêmeas observaram que fêmeas tendem a exibir um menor comportamento de congelamento durante a aquisição e maiores taxas de extinção (Maren; De Oca; Fanselow, 1994; Pryce; Lehmann; Feldon, 1999; Gupta *et al*, 2001; Barker; Galea, 2010; Velasco *et al*, 2019).

Em publicação recente, foi relatado que o padrão de ativação cerebral é diferente entre machos e fêmeas quando quantificados os níveis de expressão de cFos (gene de ativação imediata) na extinção de memória aversiva após o condicionamento aversivo ao som. Se observou que em fêmeas há um aumento de expressão de cFos no NR durante a extinção, algo que não foi observado em machos (Zhang *et al*, 2024). Isso indica uma lacuna com potencial de exploração em estudos futuros envolvendo aprendizagem, memória e o NR, visto que no campo da farmacologia e neurociência a maioria dos estudos (cerca de 5.5 para 1) são conduzidos em machos, enquanto, se olhar de forma translacional em mulheres são mais comuns problemas relacionados a ansiedade, fobias sociais, TEPT e depressão maior do que em homens (Kinrys; Wygant, 2005; Hyde; Mezulis; Abramson, 2008; Dalla; Shors, 2009; Beery; Zucker, 2011).

7 CONCLUSÃO

7.1 OBJETIVOS CUMPRIDOS

- Um protocolo de revisão de mapeamento foi elaborado e publicado na plataforma PROSPERO ([CRD42023399421](https://doi.org/10.21956/CRD42023399421)).
- Um banco de dados bibliográficos de acordo com os critérios estipulados no protocolo para realização da revisão sistemática e meta-análise foi criado.
- Extraíram-se os dados dos trabalhos incluídos para realização da revisão de mapeamento.
- Realizou-se uma revisão de mapeamento para responder à pergunta de pesquisa.

7.2 CONCLUSÃO GERAL

Os dados compilados nesta revisão de mapeamento indicam que o NR está envolvido nos processos de aprendizagem e memória e extinção, sendo sua participação e atividade necessários em maior ou menor grau dependendo da etapa e do tipo de memória que avaliamos. Alguns trabalhos não observaram diferenças entre os grupos testados, o que sugere que em tarefas específicas não há um envolvimento direto do NR. Também foi possível identificar as lacunas de conhecimento nos estudos publicados, onde a maioria dos trabalhos não realizou a comparação entre machos e fêmeas e/ou não testou memórias com idades diferentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABELA, A. R.; CHUDASAMA, Y. Dissociable contributions of the ventral hippocampus and orbitofrontal cortex to decision-making with a delayed or uncertain outcome. **The European journal of neuroscience**, v. 37, n. 4, p. 640–647, 2013.

AKBARI, E. *et al.* The effect of antagonization of orexin 1 receptors in CA1 and dentate gyrus regions on memory processing in passive avoidance task. **Behavioural brain research**, v. 187, n. 1, p. 172–177, 2008.

ALBERINI, C. M.; LEDOUX, J. E. Memory reconsolidation. **Current biology: CB**, v. 23, n. 17, p. R746–R750, 2013.

ALBUQUERQUE, F. DA S.; SILVA, R. H. A amígdala e a tênue fronteira entre memória e emoção. **Revista de Psiquiatria do Rio Grande do Sul**, v. 31, n. 3 suppl, 2009.

ALI, M. *et al.* Environmental enrichment enhances systems-level consolidation of a spatial memory after lesions of the ventral midline thalamus. **Neurobiology of learning and memory**, v. 141, p. 108–123, 2017.

BARKER, G. R. I.; WARBURTON, E. C. A critical role for the nucleus reuniens in long-term, but not short-term associative recognition memory formation. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 38, n. 13, p. 3208–3217, 2018.

BARKER, J. M.; GALEA, L. A. M. Males show stronger contextual fear conditioning than females after context pre-exposure. **Physiology & behavior**, v. 99, n. 1, p. 82–90, 2010.

BEERY, A. K.; ZUCKER, I. Sex bias in neuroscience and biomedical research. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 35, n. 3, p. 565–572, 2011.

BIRRELL, J. M.; BROWN, V. J. Medial frontal cortex mediates perceptual attentional set shifting in the rat. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 20, n. 11, p. 4320–4324, 2000.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. **Journal of comparative and physiological psychology**, v. 68, n. 1, Pt.1, p. 129–135, 1969.

BOUTON, M. E. Context and behavioral processes in extinction: Table 1. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 11, n. 5, p. 485–494, 2004.

BOYDEN, E. S. *et al.* Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. **Nature neuroscience**, v. 8, n. 9, p. 1263–1268, 2005.

CARVALHO-NETTO, E. F. *et al.* Evidence for the thalamic targets of the medial hypothalamic defensive system mediating emotional memory to predatory threats. **Neurobiology of learning and memory**, v. 93, n. 4, p. 479–486, 2010.

CHOLVIN, T. *et al.* The ventral Midline thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal cortical and hippocampal functions. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 20, p. 8772–8783, 2013.

CHOW, B. Y. *et al.* High-performance genetically targetable optical neural silencing by light-driven proton pumps. **Nature**, v. 463, n. 7277, p. 98–102, 2010.

CHOW, C. *et al.* Sex differences in neurogenesis and activation of new neurons in response to spatial learning and memory. **Psychoneuroendocrinology**, v. 38, n. 8, p. 1236–1250, 2013.

CHURCHWELL, J. C.; KESNER, R. P. Hippocampal-prefrontal dynamics in spatial working memory: interactions and independent parallel processing. **Behavioural brain research**, v. 225, n. 2, p. 389–395, 2011.

COOKE, A.; SMITH, D.; BOOTH, A. Beyond PICO: the SPIDER tool for qualitative evidence synthesis: The SPIDER tool for qualitative evidence synthesis. **Qualitative health research**, v. 22, n. 10, p. 1435–1443, 2012.

COVINO, B. G. Pharmacology of local anaesthetic agents. **British journal of anaesthesia**, v. 58, n. 7, p. 701–716, 1986.

COWAN, N. Chapter 20 What are the differences between long-term, short-term, and working memory? Em: **Progress in Brain Research**. [s.l.] Elsevier, 2008. p. 323–338.

DALLA, C. *et al.* Female rats learn trace memories better than male rats and consequently retain a greater proportion of new neurons in their hippocampi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 8, p. 2927–2932, 2009.

DALLA, C.; SHORS, T. J. Sex differences in learning processes of classical and operant conditioning. **Physiology & behavior**, v. 97, n. 2, p. 229–238, 2009.

DAVOODI, F. G. *et al.* Effect of reversible inactivation of the reuniens nucleus on spatial learning and memory in rats using Morris water maze task. **Behavioural brain research**, v. 198, n. 1, p. 130–135, 2009.

DAVOODI, F. G. *et al.* Effect of reversible inactivation of reuniens nucleus on memory processing in passive avoidance task. **Behavioural brain research**, v. 221, n. 1, p. 1–6, 2011.

DE LIMA, M. A. X. *et al.* The anterior cingulate cortex and its role in controlling contextual fear memory to predatory threats. **eLife**, v. 11, 2022.

DEFEUDIS, F. V. Physiological and behavioral studies with muscimol. **Neurochemical research**, v. 5, n. 10, p. 1047–1068, 1980.

DOLLEMAN-VAN DER WEEL, M. J.; MORRIS, R. G. M.; WITTER, M. P. Neurotoxic lesions of the thalamic reuniens or mediodorsal nucleus in rats affect non-mnemonic aspects of watermaze learning. **Brain structure & function**, v. 213, n. 3, p. 329–342, 2009.

DUDAI, Y.; KARNI, A.; BORN, J. The consolidation and transformation of memory. **Neuron**, v. 88, n. 1, p. 20–32, 2015.

DUDAI, Y.; MORRIS, R. G. M. Memorable trends. **Neuron**, v. 80, n. 3, p. 742–750, 2013.

ENNACEUR, A. *et al.* Detailed analysis of the behavior of Lister and Wistar rats in anxiety, object recognition and object location tasks. **Behavioural brain research**, v. 159, n. 2, p. 247–266, 2005.

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.

FRANKLAND, P. W. *et al.* The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning. **Behavioral neuroscience**, v. 112, n. 4, p. 863–874, 1998.

GALVAN, A.; CAIOLA, M. J.; ALBAUGH, D. L. Advances in optogenetic and chemogenetic methods to study brain circuits in non-human primates. **Journal of neural transmission (Vienna, Austria)**, v. 125, n. 3, p. 547–563, 2018.

GRADINARU, V.; THOMPSON, K. R.; DEISSEROTH, K. eNpHR: a Natronomonas halorhodopsin enhanced for optogenetic applications. **Brain cell biology**, v. 36, n. 1–4, p. 129–139, 2008.

GRANT, M. J.; BOOTH, A. A typology of reviews: an analysis of 14 review types and associated methodologies: A typology of reviews, Maria J. Grant & Andrew Booth. **Health information and libraries journal**, v. 26, n. 2, p. 91–108, 2009.

GUPTA, R. R. *et al.* Estrogen modulates sexually dimorphic contextual fear conditioning and hippocampal long-term potentiation (LTP) in rats¹¹Published on

the World Wide Web on 1 December 2000. **Brain research**, v. 888, n. 2, p. 356–365, 2001.

HALLOCK, H. L. *et al.* Dissociable roles of the dorsal striatum and dorsal hippocampus in conditional discrimination and spatial alternation T-maze tasks. **Neurobiology of learning and memory**, v. 100, p. 108–116, 2013a.

HALLOCK, H. L. *et al.* Transient inactivation of the thalamic nucleus reuniens and rhomboid nucleus produces deficits of a working-memory dependent tactile-visual conditional discrimination task. **Behavioral neuroscience**, v. 127, n. 6, p. 860–866, 2013b.

HEAVNER, J. E. Local anesthetics. **Current opinion in anaesthesiology**, v. 20, n. 4, p. 336–342, 2007.

HEMBROOK, J. R.; MAIR, R. G. Lesions of reuniens and rhomboid thalamic nuclei impair radial maze win-shift performance. **Hippocampus**, v. 21, n. 8, p. 815–826, 2011.

HEMBROOK, J. R.; ONOS, K. D.; MAIR, R. G. Inactivation of ventral midline thalamus produces selective spatial delayed conditional discrimination impairment in the rat. **Hippocampus**, v. 22, n. 4, p. 853–860, 2012.

HOOVER, W. B.; VERTES, R. P. Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. **The Journal of comparative neurology**, v. 519, n. 18, p. 3766–3801, 2011.

HYDE, J. S.; MEZULIS, A. H.; ABRAMSON, L. Y. The ABCs of depression: integrating affective, biological, and cognitive models to explain the emergence of the gender difference in depression. **Psychological review**, v. 115, n. 2, p. 291–313, 2008.

IZQUIERDO, I.; FURINI, C. R. G.; MYSKIW, J. C. Fear memory. **Physiological reviews**, v. 96, n. 2, p. 695–750, 2016.

JAMES, K. L.; RANDALL, N. P.; HADDAWAY, N. R. A methodology for systematic mapping in environmental sciences. **Environmental evidence**, v. 5, n. 1, 2016.

JARRARD, L. E. Use of excitotoxins to lesion the hippocampus: Update. **Hippocampus**, v. 12, n. 3, p. 405–414, 2002.

JOHNSTON, G. A. R. Muscimol as an ionotropic GABA receptor agonist. **Neurochemical research**, v. 39, n. 10, p. 1942–1947, 2014.

JUNG, D.; HUH, Y.; CHO, J. The ventral Midline thalamus mediates hippocampal spatial information processes upon spatial cue changes. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 39, n. 12, p. 2276–2290, 2019.

KENSINGER, E. A.; FORD, J. H. Retrieval of emotional events from memory. **Annual review of psychology**, v. 71, n. 1, p. 251–272, 2020.

KIDA, S. Reconsolidation/destabilization, extinction and forgetting of fear memory as therapeutic targets for PTSD. **Psychopharmacology**, v. 236, n. 1, p. 49–57, 2019.

KINRYS, G.; WYGANT, L. E. Anxiety disorders in women: does gender matter to treatment? **Revista brasileira de psiquiatria (Sao Paulo, Brazil: 1999)**, v. 27, n. suppl 2, p. s43–s50, 2005.

KIRCH, R. D. *et al.* The double-H maze: A robust behavioral test for learning and memory in rodents. **Journal of visualized experiments: JoVE**, n. 101, 2015.

KLEIN, M. M. *et al.* Ventral midline thalamus lesion prevents persistence of new (learning-triggered) hippocampal spines, delayed neocortical spinogenesis, and spatial memory durability. **Brain structure & function**, v. 224, n. 4, p. 1659–1676, 2019.

KRAEUTER, A.-K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. Em: **Methods in Molecular Biology**. New York, NY: Springer New York, 2019. p. 69–74.

LAYFIELD, D. M. *et al.* Inactivation of the nucleus reuniens/rhomboid causes a delay-dependent impairment of spatial working memory. **Neurobiology of learning and memory**, v. 125, p. 163–167, 2015.

LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. **Annual review of neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 155–184, 2000.

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

LEDOUX, J. E. *et al.* The birth, death and resurrection of avoidance: a reconceptualization of a troubled paradigm. **Molecular psychiatry**, v. 22, n. 1, p. 24–36, 2017.

LEE, I.; KESNER, R. P. Time-dependent relationship between the dorsal hippocampus and the prefrontal cortex in spatial memory. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 23, n. 4, p. 1517–1523, 2003.

LEE, J. L. C.; NADER, K.; SCHILLER, D. An update on memory reconsolidation updating. **Trends in cognitive sciences**, v. 21, n. 7, p. 531–545, 2017.

LEENAARS, C. *et al.* Reviewing the animal literature: how to describe and choose between different types of literature reviews. **Laboratory animals**, v. 55, n. 2, p. 129–141, 2021.

LINLEY, S. B. *et al.* Role of the reuniens and rhomboid thalamic nuclei in anxiety-like avoidance behavior in the rat. **Hippocampus**, v. 31, n. 7, p. 756–769, 2021.

LINLEY, S. B.; GALLO, M. M.; VERTES, R. P. Lesions of the ventral midline thalamus produce deficits in reversal learning and attention on an odor texture set shifting task. **Brain research**, v. 1649, p. 110–122, 2016.

LOUREIRO, M. *et al.* The ventral Midline thalamus (reuniens and rhomboid nuclei) contributes to the persistence of spatial memory in rats. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 32, n. 29, p. 9947–9959, 2012.

MAISSON, D. J.-N.; GEMZIK, Z. M.; GRIFFIN, A. L. Optogenetic suppression of the nucleus reuniens selectively impairs encoding during spatial working memory. **Neurobiology of learning and memory**, v. 155, p. 78–85, 2018.

MAREN, S.; DE OCA, B.; FANSELOW, M. S. Sex differences in hippocampal long-term potentiation (LTP) and Pavlovian fear conditioning in rats: positive correlation between LTP and contextual learning. **Brain research**, v. 661, n. 1–2, p. 25–34, 1994.

MARR, D. Simple memory: a theory for archicortex. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, v. 262, n. 841, p. 23–81, 1971.

MATHIASSEN, M. L.; O'MARA, S. M.; AGGLETON, J. P. The anterior thalamic nuclei and nucleus reuniens: So similar but so different. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 119, p. 268–280, 2020.

MATTHEWS, B. R. Memory dysfunction. **Continuum (Minneapolis, Minn.)**, v. 21, p. 613–626, 2015.

MCNAMARA, C. G. *et al.* Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. **Nature neuroscience**, v. 17, n. 12, p. 1658–1660, 2014.

MEI, H.; LOGOTHETIS, N. K.; ESCHENKO, O. The activity of thalamic nucleus reuniens is critical for memory retrieval, but not essential for the early phase of “off-line” consolidation. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 25, n. 3, p. 129–137, 2018.

MILLER, G. A.; GALANTER, E.; PRIBRAM, K. H. **Plans and the structure of behavior**. New York: Henry Holt and Co, 1960.

MORRIS, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 11, n. 1, p. 47–60, 1984.

MORRIS, R. G. M. Spatial localization does not require the presence of local cues. **Learning and motivation**, v. 12, n. 2, p. 239–260, 1981.

MOSCARELLO, J. M. Prefrontal cortex projections to the nucleus reuniens suppress freezing following two-way signaled avoidance training. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 27, n. 3, p. 119–123, 2020.

MOSER, M.-B.; ROWLAND, D. C.; MOSER, E. I. Place cells, grid cells, and memory. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 7, n. 2, p. a021808, 2015.

O'LEARY, T. P. *et al.* Sex differences in the spatial behavior functions of adult-born neurons in rats. **eNeuro**, v. 9, n. 3, p. ENEURO.0054-22.2022, 2022.

ORNELAS, L. C.; VAN VOORHIES, K.; BESHEER, J. The role of the nucleus reuniens in regulating contextual conditioning with the predator odor TMT in female rats. **Psychopharmacology**, v. 238, n. 12, p. 3411–3421, 2021.

PARKINSON, J. A.; ROBBINS, T. W.; EVERITT, B. J. Dissociable roles of the central and basolateral amygdala in appetitive emotional learning: Limbic lesions and autoshaping. **The European journal of neuroscience**, v. 12, n. 1, p. 405–413, 2000.

PAUL, C.-M.; MAGDA, G.; ABEL, S. Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. **Behavioural brain research**, v. 203, n. 2, p. 151–164, 2009.

POL-BODETTO, S. *et al.* The double-H maze test, a novel, simple, water-escape memory task: Acquisition, recall of recent and remote memory, and effects of systemic muscarinic or NMDA receptor blockade during training. **Behavioural brain research**, v. 218, n. 1, p. 138–151, 2011.

PORTER, M. C.; BURK, J. A.; MAIR, R. G. A comparison of the effects of hippocampal or prefrontal cortical lesions on three versions of delayed non-matching-to-sample based on positional or spatial cues. **Behavioural brain research**, v. 109, n. 1, p. 69–81, 2000.

PRASAD, J. A.; ABELA, A. R.; CHUDASAMA, Y. Midline thalamic reuniens lesions improve executive behaviors. **Neuroscience**, v. 345, p. 77–88, 2017.

PRESTON, A. R.; EICHENBAUM, H. Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. **Current biology: CB**, v. 23, n. 17, p. R764–R773, 2013.

PRYCE, C. R.; LEHMANN, J.; FELDON, J. Effect of sex on fear conditioning is similar for context and discrete CS in wistar, Lewis and Fischer rat strains. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 64, n. 4, p. 753–759, 1999.

QUET, E. *et al.* The reuniens and rhomboid nuclei are necessary for contextual fear memory persistence in rats. **Brain structure & function**, v. 225, n. 3, p. 955–968, 2020a.

QUET, E. *et al.* Ventral midline thalamus is not necessary for systemic consolidation of a social memory in the rat. **Brain and neuroscience advances**, v. 4, p. 239821282093973, 2020b.

RAMANATHAN, K. R. *et al.* Nucleus reuniens is required for encoding and retrieving precise, hippocampal-dependent contextual fear memories in rats. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 38, n. 46, p. 9925–9933, 2018a.

RAMANATHAN, K. R. *et al.* Prefrontal projections to the thalamic nucleus reuniens mediate fear extinction. **Nature communications**, v. 9, n. 1, 2018b.

RAMANATHAN, K. R.; MAREN, S. Nucleus reuniens mediates the extinction of contextual fear conditioning. **Behavioural brain research**, v. 374, n. 112114, p. 112114, 2019.

ROTH, B. L. DREADDs for neuroscientists. **Neuron**, v. 89, n. 4, p. 683–694, 2016.

SCHEEL, N.; WULFF, P.; DE MOOIJ-VAN MALSEN, J. G. Afferent connections of the thalamic nucleus reuniens in the mouse. **The Journal of comparative neurology**, v. 528, n. 7, p. 1189–1202, 2020.

SCHWABE, M. R. *et al.* Chemogenetic inactivation of the nucleus reuniens impairs object placement memory in female mice. **Neurobiology of learning and memory**, v. 185, n. 107521, p. 107521, 2021.

SILVA, B. A. *et al.* A thalamo-amygdalar circuit underlying the extinction of remote fear memories. **Nature neuroscience**, v. 24, n. 7, p. 964–974, 2021.

SINCLAIR, A. H.; BARENSE, M. D. Prediction error and memory reactivation: How incomplete reminders drive reconsolidation. **Trends in neurosciences**, v. 42, n. 10, p. 727–739, 2019.

SQUIRE, L. R. *et al.* Memory consolidation. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, v. 7, n. 8, p. a021766, 2015.

STERNSON, S. M.; ROTH, B. L. Chemogenetic tools to interrogate brain functions. **Annual review of neuroscience**, v. 37, n. 1, p. 387–407, 2014.

TAYLOR, J. R.; TORREGROSSA, M. M. Pharmacological disruption of maladaptive memory. Em: **Cognitive Enhancement**. Cham: Springer International Publishing, 2015. p. 381–415.

TROYNER, F.; BERTOGLIO, L. J. Thalamic nucleus reuniens regulates fear memory destabilization upon retrieval. **Neurobiology of learning and memory**, v. 175, n. 107313, p. 107313, 2020.

TROYNER, F.; BERTOGLIO, L. J. Nucleus reuniens of the thalamus controls fear memory reconsolidation. **Neurobiology of learning and memory**, v. 177, n. 107343, p. 107343, 2021.

TROYNER, F.; BICCA, M. A.; BERTOGLIO, L. J. Nucleus reuniens of the thalamus controls fear memory intensity, specificity and long-term maintenance during consolidation. **Hippocampus**, v. 28, n. 8, p. 602–616, 2018.

VARELA, C. *et al.* Anatomical substrates for direct interactions between hippocampus, medial prefrontal cortex, and the thalamic nucleus reuniens. **Brain structure & function**, v. 219, n. 3, p. 911–929, 2014.

VASUDEVAN, K. *et al.* Nucleus reuniens inactivation does not impair consolidation or reconsolidation of fear extinction. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 29, n. 8, p. 216–222, 2022.

VELASCO, E. R. *et al.* Sex differences in fear extinction. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 103, p. 81–108, 2019.

VERTES, R. P. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. **Synapse (New York, N.Y.)**, v. 51, n. 1, p. 32–58, 2004.

VERTES, R. P. *et al.* Efferent projections of reuniens and rhomboid nuclei of the thalamus in the rat. **The Journal of comparative neurology**, v. 499, n. 5, p. 768–796, 2006.

VERTES, R. P. *et al.* Nucleus reuniens of the midline thalamus: Link between the medial prefrontal cortex and the hippocampus. **Brain research bulletin**, v. 71, n. 6, p. 601–609, 2007.

VIENA, T. D.; LINLEY, S. B.; VERTES, R. P. Inactivation of nucleus reuniens impairs spatial working memory and behavioral flexibility in the rat. **Hippocampus**, v. 28, n. 4, p. 297–311, 2018.

WADDELL, J.; BANGASSER, D. A.; SHORS, T. J. The basolateral nucleus of the amygdala is necessary to induce the opposing effects of stressful experience on

learning in males and females. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 28, n. 20, p. 5290–5294, 2008.

WILTGEN, B. J. *et al.* The hippocampus plays a selective role in the retrieval of detailed contextual memories. **Current biology: CB**, v. 20, n. 15, p. 1336–1344, 2010.

WU, Y.-T.; CHANG, C.-H. Functional reuniens and rhomboid nuclei are required for proper acquisition and expression of cued and contextual fear in trace fear conditioning. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 4, p. 319–327, 2022.

XU, W. *et al.* Distinct neuronal coding schemes in memory revealed by selective erasure of fast synchronous synaptic transmission. **Neuron**, v. 73, n. 5, p. 990–1001, 2012.

XU, W.; SÜDHOF, T. C. A neural circuit for memory specificity and generalization. **Science (New York, N.Y.)**, v. 339, n. 6125, p. 1290–1295, 2013.

ZHANG, K. *et al.* The sexually divergent cFos activation map of fear extinction. **Heliyon**, v. 10, n. 1, p. e23748, 2024.

7.3 ANEXOS

Disponível em [Material Suplementar](#)