



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

EDSON LIMA SANTOS

**PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX DORSAL REPTILIANO NOS
PROCESSOS DE AQUISIÇÃO, CONSOLIDAÇÃO E
EVOCAÇÃO DA MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO**

Tropidurus hispidus (Spix, 1825)

SÃO CRISTOVÃO

2018

EDSON LIMA SANTOS

**PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX DORSAL REPTILIANO
NOS PROCESSOS DE AQUISIÇÃO, CONSOLIDAÇÃO
E EVOCAÇÃO DA MEMÓRIA AVERSIVA NO
LAGARTO *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Ronaldo Dos Santos

SÃO CRISTOVÃO

2018

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

S237p Santos, Edson Lima
Participação do córtex dorsal reptiliano nos processos de aquisição, consolidação e evocação da memória aversiva no lagarto *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) / Edson Lima Santos ; orientador José Ronaldo dos Santos. – São Cristóvão, SE, 2018.
75 f.

Dissertação (mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, 2018.

1. Sistema nervoso – Evolução. 2. Hipocampo. 3. Répteis. 4. Córtex. 5. Memória. I. Santos, José Ronaldo dos, orient. II. Título.

CDU 612.821.2/.3:598.1

EDSON LIMA SANTOS

**PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX DORSAL REPTILIANO
NOS PROCESSOS DE AQUISIÇÃO, CONSOLIDAÇÃO
E EVOCAÇÃO DA MEMÓRIA AVERSIVA NO
LAGARTO *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825)**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Orientador: Prof. Dr. José Ronaldo Dos Santos

Orientador: Prof. Dr. José Ronaldo dos Santos

1º Examinador: Prof. Dr. Eduardo José dos Reis Dias

2º Examinador: Prof. Dr. Luís Felipe Souza da Silva

Dedico este trabalho aos meus pais, Silvaneide e José Antônio, que nunca mediram esforços para proporcionar a melhor educação e bem-estar para seus filhos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por permitir-me concluir mais uma etapa da minha vida. Gratidão, aos meus pais, Silvaneide e José Antônio, por serem exemplos de pessoas determinadas e lutadoras, os quais nunca mediram esforços para me proporcionar o melhor crescimento pessoal, profissional e bem-estar. Muitas vezes abdicando os seus sonhos.

Ao meu irmão, Elisson agradeço, por toda ajuda e apoio nos momentos de estresse. Obrigado por me animar nos momentos difíceis.

Ao meu orientador e amigo, Dr. José Ronaldo dos Santos pela oportunidade, confiança, ensinamentos, paciência e perseverança ao longo desses dois anos. Obrigado, por toda inspiração do saber, da ciência e conhecimentos científicos que me levaram ao amadurecimento e conclusão deste trabalho. Um exemplo de pessoa e profissional. Obrigado, pela amizade dentro e fora do ambiente de laboratório. Sou e serei muito grato por tudo!

Ao Prof. Dr. Murilo Machioro, por todo o seu apoio, bom humor, sugestões e questionamentos enriquecedores.

À Prof. Dra. Deise Maria Furtado de Mendonça por ter-me dado a primeira oportunidade de contato com a pesquisa em laboratório.

Aos integrantes da família LNFS e LaNCE, onde cresci pessoalmente e profissionalmente e fiz grandes amigos, os quais foram de grande importância na minha trajetória: Edson Rezende, Thassya Fernanda, Auderlan Mendonça, Pollyana Leal, Lívia Lins, João Melo, Karenine Holanda, Luciano Gois em especial à Katty Anne Medeiros, Rodolfo Silva, Heitor Franco, Milena Monteiro, Marcos Menezes e Marina Sousa, por todo apoio e ajuda na realização dos experimentos.

Ao LaFICO, em especial a Thiago Henrique por toda ajuda e cordialidade.

Aos IC's e amigos, Leila Barros, Rayr Antônio, Mylaine Mendonça e Wesley Santos, por todos os momentos de risos e descontrações.

Aos meus grandes amigos da graduação, Leila Menezes, Myrela Santos e Edson Rezende, pela amizade e apoio, vocês foram peças importantes nessa minha trajetória.

À Dayana Mara, por todo carinho, conselhos e apoio durante essa fase da minha vida. Por aturar, os meus momentos de estresses e “paranoias”. Obrigado por tudo!

À banca PROASA, pelo acompanhamento e sugestões, para um melhor desempenho e realização do presente estudo.

Aos professores, Carla Vasconcelos, Luís Felipe e Ricardo Guimarães, pelas contribuições e questionamentos dados, contribuindo, assim, para um melhor trabalho.

A todos professores, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas pelos ensinamentos, que contribuíram para a minha formação.

Ao secretário do Procfis, Renivan, por toda ajuda, cordialidade e paciência para resolver todas as burocracias.

À Universidade Federal de Sergipe, pela disponibilidade do ambiente físico.

À CAPES, FAPITEC/CNPq, pelo apoio financeiro.

Por fim, durante todo o momento em que escrevia esses agradecimentos, fiquei com medo de esquecer e ser injusto com alguém. Então, agradeço a todos os amigos e colegas que “ganhei” durante a trajetória da minha vida (Ensino Fundamental e Médio, Graduação e Mestrado) os quais fazem parte e que de alguma forma me ajudou, torceu ou apoiou durante esses dois anos, sou muito grato a vocês!

***“A vida não é o que a gente viveu, e sim a
que a gente recorda, e como recorda para
contá-la.”***

Gabriel Garcia Márquez

RESUMO

PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX DORSAL REPTILIANO NOS PROCESSOS DE AQUISIÇÃO, CONSOLIDAÇÃO E EVOCÇÃO DA MEMÓRIA AVERSIVA NO LAGARTO *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825), Edson Lima Santos, São Cristóvão, 2018.

As memórias de contexto aversivo são extremamente importantes para a sobrevivência dos animais no ambiente. Em mamíferos, por exemplo, sabe-se que regiões encefálicas como a amígdala e o hipocampo possuem papéis fundamentais na formação de memórias aversivas. Porém, no grupo dos répteis, mesmo havendo homologias cerebrais com os mamíferos, pouco se sabe sobre os processos de formação desse tipo de memória. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a participação do córtex dorsal reptiliano na memória aversiva do lagarto *Tropidurus hispidus*. Foram utilizados 36 lagartos machos adultos. Os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guias na região do córtex dorsal. Sete dias após, os animais foram separados em dois grupos: Controle (CTR) e Muscimol (MUS), os quais foram distribuídos em três experimentos: Experimento I - aquisição de memória aversiva (1 microinjeção de MUS (n=6) ou salina (n=6), 15' antes do treino); Experimento II - consolidação de memória aversiva (1 microinjeção de MUS (n=7) ou salina (n=7), logo após sessão de treino); e Experimento III - evocção da memória aversiva (1 microinjeção de MUS (n=5) ou salina (n=5), 15' antes da sessão teste). Os animais foram submetidos a uma tarefa em campo aberto quadrado, dividida em duas sessões: treino e teste, com intervalo de 24 h. Para cada sessão, os animais passaram pelas fases de habituação e exposição (10' cada). No treino, a fase de habituação correspondeu ao tempo de exploração do animal ao aparato, enquanto que a fase de exposição caracterizou-se pela apresentação de uma gaiola gradeada contendo um gato doméstico. No teste, os procedimentos foram semelhantes ao dia 1, porém, na fase de exposição, os animais foram apresentados somente à gaiola vazia. Nos Experimentos I e II, metodologicamente distintos, os resultados foram semelhantes. Foi observado que os animais do grupo MUS, de ambos os experimentos, apresentaram maior tempo de congelamento ($p<0,05$) e latência ($p<0,05$) para realização do primeiro movimento na fase de exposição em comparação à habituação do treino. Já na fase de exposição do teste, não houve diferença entre os respectivos grupos MUS ou CTR para o congelamento ($p=0,125$; $p=0,375$, I e II, respectivamente) e latência ($p=0,437$; $p=0,187$, I e II, respectivamente). No Experimento III, verificamos que os animais do grupo MUS, durante a fase de exposição do treino, apresentaram maior tempo de congelamento ($p<0,05$), menor número de quadrantes visitados ($p<0,05$) e deslocamentos iniciados ($p<0,05$) quando comparado com a fase de habituação. Na fase de exposição do teste, os animais não apresentaram esse aumento ($p=0,312$, $p=0,250$ e $p=0,315$, respectivamente). Diante disso, o presente estudo mostrou indícios de que a região do córtex dorsal reptiliano do *T. hispidus* influencia nos processos de aquisição, consolidação e evocção da memória aversiva, mas essa estrutura não é necessária para que os animais apresentem respostas aversivas.

Palavras-chave: Sistema nervoso - Evolução; Hipocampo; Répteis; Córtex; Memória.

ABSTRACT

REPTILIAN DORSAL CORTEX PARTICIPATION IN THE PROCESSES OF ACQUISITION, CONSOLIDATION AND EVOCATION OF AVERSIVE MEMORY IN THE LIZARD *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825), Edson Lima Santos, São Cristóvão, 2018.

The aversive memories context are extremely important for animal survival in the environment. In mammals, for example, encephalic regions such as the amygdala and hippocampus have essential role in aversive memory formation. However, in reptiles group, even with brain homologies to mammals, there are few studies about this type of memory formation processes. The aim of the present study was to evaluate the reptilian dorsal cortex involvement in the aversive memory of lizard *Tropidurus hispidus*. Thirty-six adult male lizards were used. The animals were submitted to stereotaxic surgery for guide cannulas implantation in the region of dorsal cortex. Seven days later, the animals were separated into two groups: Control (CTR) and Muscimol (MUS), which were distributed in three experiments: Experiment I - aversive memory acquisition (1 microinjection of MUS (n = 6) or saline (n = 6), 15 'before training) ; Experiment II - aversive memory consolidation (1 microinjection of MUS (n = 7) or saline (n = 7) soon after training session); and Experiment III - aversive memory evocation (1 microinjection of MUS (n = 5) or saline (n = 5), 15 'before the test session). The animals were submitted to a square open field task, divided into two sessions: training and test, with a 24 h interval. For each session, the animals passed through the habituation and exposure phases (10' each). On training, the habituation phase corresponded to the animal's exploration time in the apparatus, while the exposure phase was characterized by the presentation of a barred cage containing a domestic cat. On test, the procedures were similar to training, however, in the exposure phase, the animals were presented only to the empty cage. The results were similar in the both experiments. It was observed that the animals of MUS group from both experiments showed higher freezing time ($p < 0.05$) and latency ($P < 0.05$) for performing movement in the first exposure phase compared to the training habituation. In the test exposure, there was no difference between MUS or CTR groups for freezing ($p = 0.125$, $p = 0.375$, I and II, respectively) and latency ($p = 0.437$, $p = 0.187$, I and II, respectively). In experiment III, we observed that the animals of MUS group, during training exposition phase, showed higher freezing time ($p < 0.05$), lower visited quadrants number ($p < 0.05$) and higher and initiated displacements ($p < 0.05$) when compared to the habituation phase. In the exposure phase of test, the animals did not show this increase ($p = 0.312$, $p = 0.250$ e $p = 0.315$, respectively). Therefore, the present study showed evidences that the reptilian dorsal cortex of *T. hispidus* influenced the acquisition, consolidation and evocation of aversive memory processes, but it seems that did not interfere in the animals present with aversive responses process.

Keywords: Nervous system - Evolution; Hippocampus; Reptiles; Cortex; Memory.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Homologias cerebrais entre os grupos dos mamíferos e répteis.	8
Figura 2: Lagarto <i>Tropidurus hispidus</i> (Spix, 1825; Squamata: Tropiduridae).	12
Figura 3: Esquema ilustrativo do delineamento experimental.	18
Figura 4: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e Muscimol na sessão de teste.	22
Figura 5: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.....	24
Figura 6: Tempo total de congelamento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.	26
Figura 7: Tempo de latência para realização do primeiro movimento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, a latência para o primeiro movimento apresentada pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, a latência para o primeiro movimento apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.	28
Figura 8: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em A, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em	

B, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e Muscimol na sessão teste.30

Figura 9: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em A, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.....32

Figura 10: Tempo total de congelamento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em A, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.34

Figura 11: Tempo de latência para realização do primeiro movimento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em A, a latência para o primeiro movimento apresentada pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, a latência para o primeiro movimento apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.36

Figura 12: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em A, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e Muscimol na sessão teste.38

Figura 13: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em A, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.....40

Figura 14: Tempo total de congelamento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em A, o

congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.42

Figura 15: Tempo de latência para realização do primeiro movimento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em A, a latência para o primeiro movimento apresentada pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, a latência para o primeiro movimento apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste.44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPA - Alfa-Amino-3-Hidroxi-Metil-5-4-Isoxazolpropiónico

AP - Anteroposterior

BrdU - Bromodesoxiuridina

CA1 - Corno de Ammon área 1

CA3 - Corno de Ammon área 2

CaMKII - Cálcio-Calmodulina dependente de cinase

CEPA - Comitê de Ética em Pesquisa Animal

CTR - Grupo Controle

DV - Dorsoventral

GABA-A - Receptor ácido gama-aminobutírico tipo A

H.M - Henry Molaison

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente

LTP - (do inglês *Long-Term Potentiation*) Potenciação de Longa Duração

ML - Mesolateral

mTOR - (do inglês *Mammalian target of rapamycin*) Regulador de tradução

MUS - Grupo Muscimol

NMDA - Receptor N-Metil-D-Aspartato

PKA - Proteína cinase

Q1 - 1º Intervalo Interquartis

Q3 - 3º Intervalo Interquartis

SC - Subcutânea

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Memória	3
2.2. Memória Aversiva/Medo	4
2.3. Homologias Cerebrais e a Memória Aversiva.....	7
2.4. Memória em Répteis	10
2.5. <i>Tropidurus hispidus</i> como Modelo Experimental em Neurobiologia.....	12
3. OBJETIVOS.....	13
3.1. Objetivo Geral.....	13
3.2. Objetivos Específicos	14
4. MATERIAL E MÉTODO	15
4.1. Aspectos Éticos	15
4.2. Animais	15
4.3. Delineamento Experimental	16
4.4. Cirurgia Estereotáxica	18
4.5. Microinjeção	18
4.6. Drogas.....	19
4.7. Perfusão dos Animais e Processamento dos Cérebros	19
4.8. Avaliação Comportamental e Processamentos de Dados	19

4.9. Análise Estatística	20
5. RESULTADOS.....	21
5.1. Experimento I: Aquisição da memória aversiva.....	21
5.2. Experimento II: Consolidação da memória aversiva.	29
5.3. Experimento III: Evocação da memória aversiva.	37
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXO I - Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais	59

1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a neurobiologia da memória aversiva tem sido estudada por vários pesquisadores (MAREN, 2001; MYERS; DAVIS, 2007), com o objetivo de melhor compreensão dos aspectos e mecanismos mnemônicos envolvidos na aquisição, consolidação e evocação de memória aversiva em vertebrados, especialmente em mamíferos (ABEL; LATTAL, 2001; SCHMIDT et al., 2017). Esse tipo de memória é de suma importância para a manutenção da vida de qualquer indivíduo no ambiente. Entretanto, os estudos da memória aversiva em outros grupos de vertebrados não mamíferos são escassos. Entre eles, os lagartos.

Na neurobiologia evolutiva/comparativa, os estudos com lagartos estão sendo cada vez mais utilizados. Nesses, algumas espécies como *Gallotia galloti* (DELGADO-GONZALEZ et al., 2011), *Tarentola mauritanica* (PÉREZ-CAÑELLAS; GARCÍA-VERDUGO, 1996), *Podarcis siculus* (FAVORITO et al., 2017), *Podarcis hispanicus* (MOLOWNY; NACHER; LOPEZ-GARCIA, 1995), *Gekko gecko* (SMEETS; HOOGLAND; LOHMAN, 1986), *Uta stansburiana* (LADAGE et al., 2017) e *Tropidurus hispidus* (DE CARVALHO-PIMENTEL et al., 2011; MARCHIORO et al., 2005; SANTOS, 2010; SANTOS, 2016; MÂCEDO-LIMA, 2013), vêm sendo utilizadas para a melhor compreensão dos processos evolutivos do cérebro. Entre eles, os mecanismos de memórias.

Há mais de 10 anos, nosso grupo de pesquisa em Ciências Fisiológicas vem realizando diversos estudos no campo da neurobiologia evolutiva, em busca de um modelo animal filogeneticamente menos derivado na cadeia evolutiva quando comparado aos mamíferos, com a finalidade de desenvolver o enriquecimento teórico sobre os mecanismos mnemônicos em lagartos. Nessa linha de pesquisa existem lacunas, devido a maioria dos estudos estarem voltados para grupos de vertebrados como os mamíferos, os quais apresentam conexões neuronais muito mais densas e complexas que os grupos de vertebrados considerados filogeneticamente menos derivados, como os répteis.

Em um dos trabalhos mais recentes do nosso grupo de pesquisa, Santos (2016), tentando desenvolver um novo paradigma de avaliação comportamental frente aos estímulos aversivos, utilizado como modelo animal o lagarto *Tropidurus hispidus*

(Spix, 1825), demonstrou um aumento significativo da expressão de ZIF268 (um indicador de plasticidade neural) em regiões encefálicas do hipocampo reptiliano desses animais, 24 horas após a apresentação de um estímulo de perigo. Entretanto, o papel do córtex dorsal reptiliano nos processos específicos de formação, consolidação e evocação da memória permanece desconhecido.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a participação do córtex dorsal reptiliano na memória aversiva do lagarto *Tropidurus hispidus*. Estudos como esse, poderão contribuir para um maior esclarecimento sobre os mecanismos neurobiológicos envolvidos no processo de formação, consolidação e evocação de memórias aversivas em um grupo de vertebrados menos derivados. Além disso, a presente investigação contribui para a compreensão, de como os processos de memória evoluíram ao longo das espécies de vertebrados. Por apresentarem homologias micro e macroestruturais entre o córtex reptiliano e o hipocampo de mamíferos, será que essas mesmas estruturas compartilham entres sim homologias funcionais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Memória

Durante a passagem e permanência dos seres vivos em um ambiente, eles são expostos a diversos acontecimentos e fatores que, de alguma forma, influenciam em seu modo de viver e de se manter no meio. Esses acontecimentos podem ser armazenados e recuperados ao longo de sua vida, influenciando no comportamento individual e em grupo (ABEL; LATTAL, 2001; BLANCHARD; BLANCHARD, 2008; OKUYAMA, 2018; STEIMER, 2002; SZAPIRO et al., 2002).

Os estudos relacionados à neurobiologia evolutiva das espécies vêm tentando, no último século, esclarecer os processos relacionados à formação das memórias e como elas influenciam na vida de certos organismos. Essa busca realizada por diversos pesquisadores, ano após ano, tem como finalidade elucidar os mecanismos mnemônicos sobre a formação das memórias em diferentes grupos de animais e, deste modo, contribuir para o esclarecimento das lacunas do processo evolutivo desses mecanismos nos diferentes grupos (BOSMAN; ABOITIZ, 2015; MEDINA; ABELLÁN, 2009; MEDINA; ABELLÁN; DESFILIS, 2013; MONTIEL; ABOITIZ, 2018; TOSCHES et al., 2018; VAN STRIEN; CAPPAERT; WITTER, 2009). Não obstante, mesmo com o crescente número de estudos relacionados à memória, muito de seus mecanismos, em alguns grupos de vertebrados, ainda não estão totalmente esclarecidos.

A memória é definida como a capacidade que os organismos possuem de reter e reconstruir conhecimentos vividos, bem como aqueles adquiridos ao longo do tempo. Enquanto a aprendizagem é o processo de aquisição de novas informações. Portanto, a memória é uma das mais complexas funções relacionadas ao sistema nervoso central, pois, envolve uma gama de estruturas, bem como mecanismos moleculares que atuam em conjunto na realização desse processo. Muito do que é conhecido desses mecanismos são provenientes de estudos em invertebrados e em alguns mamíferos, que ao serem comparados aos humanos possuem morfologia neural menos complexa (KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014).

A memória pode ser classificada quanto ao tempo de retenção (curto, médio e longo prazo) e quanto à natureza (declarativa ou explícita e não declarativa ou

implícita). A memória declarativa compreende fatos, acontecimentos e locais, ou seja, uma memória que pode ser relatada. Esse tipo de memória tem como substrato áreas como o hipocampo e áreas corticais proximais. Já as memórias não declarativas envolvem habilidades motoras e sensoriais, possuindo como principais áreas de recrutamento, o cerebelo, o corpo amigdalóide (amígdala) e o estriado (SQUIRE, 2004). A memória aversiva é um tipo de memória não declarativa e está envolvida com processos de estímulos ou recompensas, ligados fortemente a componentes emocionais (ESPERIDIAO-ANTONIO et al., 2008).

2.2. Memória Aversiva/Medo

Durante o processo de formação de memórias, em especial a aversiva, a ansiedade/medo desempenha papel importante no mecanismo de manutenção dessa atividade cerebral (BLANCHARD; BLANCHARD, 2008; ESPERIDIAO-ANTONIO et al., 2008; TOVOTE; FADOK; LÜTHI, 2015). Em geral, as pesquisas que envolvem memórias aversivas também contribuem para a compreensão do papel do medo nesse processo. Nesse sentido, tem sido crescente o número de trabalhos que se propõem investigar como ocorre a aquisição e expressão do comportamento de medo. Entretanto, a maioria dos estudos se baseiam em modelos que utilizam os métodos de condicionamento pavloviano, em ratos e camundongos (MAREN, 2001; CRISANTO et al., 2015; ISAACS; MACGREGOR; ANNETT, 2015; MYERS; VIANNA et al., 2003). Estes trabalhos contribuíram significativamente para a compreensão de como se processa o comportamento de medo.

Entre as estruturas que possuem envolvimento com memória, expressão de medo e extinção (ressignificação) de memórias aversivas, destaca-se a substância cinza periaquedutal (OLIVEIRA et al., 2004; VIANNA et al., 2001), córtex pré-frontal (CANTO-DE-SOUZA; MATTIOLI, 2016; GEORGE; KOOB, 2011; PENNINGTON; ANDERSON; FANSELOW, 2017; PETERS; KALIVAS; QUIRK, 2009), amígdala/complexo amigdalóide (ISAACS; MACGREGOR; ANNETT, 2015; JANAK; TYE, 2015; OLIVEIRA et al., 2004; ROOZENDAAL; MCEWEN; CHATTARJI, 2009; SEIDENBECHER et al., 2003; TSVETKOV et al., 2015; WELLMAN et al., 2017) e o hipocampo (DAUMAS et al., 2005; DE OLIVEIRA CRISANTO et al., 2015; ISAACS;

MACGREGOR; ANNETT, 2015; JI; MAREN, 2008; LEE; KESNER, 2004; MCEOWN; TREIT, 2010; SEIDENBECHER et al., 2003).

Essas regiões demonstram estarem envolvidas com processos de formação de memórias ligados ao medo ou estímulos aversivos. Lesões na região ventral da substância cinzenta periaquedutal é capaz de reduzir o congelamento induzido por estímulo de choque em patas de ratos durante experimentos de medo condicionado, mas essas lesões não foram capazes de alterar o congelamento induzido após a estimulação da porção dorsal da substância cinza periaquedutal (VIANNA et al., 2001). Estimulações na porção dorsal da substância cinza periaquedutal também são capazes de gerar comportamento de congelamento e fuga, mas lesões na região da amígdala não mostraram afetar o surgimento desses comportamentos, indicando que os comportamentos defensivos gerados pela porção dorsal da substância cinza periaquedutal não são dependentes da função amigdalár (OLIVEIRA et al., 2004).

Injeções de anisomicina (inibidor de síntese proteica), uma hora antes da sessão de treino diretamente no córtex pré-frontal medial prejudica a consolidação de memória de estímulo aversivo em camundongos apresentados ao protocolo de esquiva inibitória, mostrando o papel dessa estrutura no processo de consolidação da memória (CANTO-DE-SOUZA; MATTIOLI, 2016). Em ratos, lesões na região ventromedial do córtex pré-frontal não alteram a experiência traumática de um choque e a lembrança associativa do trauma ocorrido no dia anterior, embora essas lesões não tenham causado um impacto na aquisição e nem na expressão do medo. Segundo os autores desse último estudo (PENNINGTON; ANDERSON; FANSELOW, 2017), essa região pode ser responsável pela regulação do medo contextual quando se tenta dar um novo contexto a esse trauma causado pelo choque.

Em ratos, injeções de anisomicina na amígdala são capazes de prejudicar a consolidação da memória de estímulos aversivos intensos, no momento em que os animais são reexpostos ao contexto aversivo do dia anterior. O mesmo ocorre quando essas injeções ocorrem na região do hipocampo dorsal (CANTO-DE-SOUZA; MATTIOLI, 2016). O medo condicionado tanto em roedores como em humanos compartilham semelhanças nos processos de formação de memória de longo prazo. Entre elas, a relação do medo com a ativação do núcleo amigdalóide e as interconexões entre os núcleos existentes na amígdala e entre outras regiões corticais

e subcorticais (JANAK; TYE, 2015). Vale ressaltar ainda, que além de ter papel na expressão de medo, a amígdala também desempenha papel na relação de condicionamento a drogas, juntamente com o núcleo accumbens e córtex pré-frontal (PETERS; KALIVAS; QUIRK, 2009).

Apesar da vasta literatura de estudos relacionados a neurobiologia de memória de caráter aversivo, estes estudos são, na maioria, relacionados a animais pertencentes ao grupo dos mamíferos. Nos répteis, esses mecanismos, funções e áreas cerebrais envolvidas não estão totalmente elucidados. Apesar de possuir vários estudos na literatura, muitos desses trabalhos realizados com espécies pertencentes a esse grupo, envolve questões de ecologia comportamental em ambientes naturais (HAWLENA; PÉREZ-MELLADO, 2009), comportamento sexual e territorial (GOLINSKI; JOHN-ALDER; KRATOCHVÍL, 2011; HOOPS et al., 2017; JOSSERAND et al., 2017; NEUMAN-LEE et al., 2017), diferenças comportamentais e biológicas entre sexos (BAECKENS; DRIESSENS; VAN DAMME, 2016; COHEN; ROACH; WADE, 2012; COHEN; WADE, 2011; HEWS; HARA; ANDERSON, 2012), evolução e variação morfológica (GARCÍA-ROA et al., 2017; METZGER; HERREL, 2005; PYRON; BURBRINK; WIENS, 2013; VITT et al., 1997), processo de miogênese (RUPIK et al., 2012), avaliação de comportamentos a agentes estressores em ambientes naturais ou seminaturais (ARAGÓN; LÓPEZ; MARTÍN, 2008; HAWLENA; PÉREZ-MELLADO, 2009; NOBLE; CARAZO; WHITING, 2012), técnicas de perfusão e cirurgias estereotáxicas (GREENBERG, 1982; HOOPS, 2015; SMEETS; HOOGLAND; LOHMAN, 1986), anatomia, histologia e caracterização de estruturas encefálicas (DE CARVALHO-PIMENTEL et al., 2011; FAVORITO et al., 2017; HOOPS et al., 2017; IGLESIA; LOPEZ-GARCIA, 1997; LADAGE et al., 2017; LANUZA et al., 1998; LOPEZ-GARCIA et al., 2002; MACEDO-LIMA et al., 2017; MARCHIORO et al., 2005, 2012; MARTINEZ-GARCIA et al., 1986; MOLOWNY et al., 1987; RAMIREZ et al., 1997; SMEETS; HOOGLAND; LOHMAN, 1986; VONEIDA; SLIGAR, 1979), expressão de genes durante o desenvolvimento embrionário neuronal (DESFILIS et al., 2018), alimentação, parasitas e canibalismo entre espécies (ANJOS et al., 2013; DA SILVA et al., 2013; FILHO et al., 2017; HAWLENA; PÉREZ-MELLADO, 2009; METZGER; HERREL, 2005; PASSOS; MONTEIRO; NOGUEIRA, 2016; ROCHA et al., 2008), expressão de genes de plasticidade neuronal (SANTOS, 2010), neurogênese (DELGADO-GONZALEZ et al., 2011; LADAGE et al., 2017; LOPEZ-

GARCIA et al., 1988; LOPEZ-GARCIA et al., 2002; MARCHIORO et al., 2005; MOLOWNY; NACHER; LOPEZ-GARCIA, 1995; PÉREZ-CAÑELLAS; GARCÍA-VERDUGO, 1996), aprendizado e formação de memória de contexto visuo-espacial (DAY, B. L.; CREWS; WILCZYNSKI, 2001; DAY, L. B.; CREWS; WILCZYNSKI, 1999; FOA et al., 2009; GAALEMA, 2011; LADAGE, L. D. et al., 2012; NOBLE; CARAZO; WHITING, 2012).

Santos (2016), desenvolveu um modelo animal na espécie de lagarto *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825), para estudar a memória aversiva e seus aspectos neurobiológicos. O modelo consiste em apresentar um gato doméstico durante 10 minutos, como forma de estímulo aversivo. A tarefa é repetida no dia seguinte e, quando apresentados à gaiola, mesmo na ausência do gato, os lagartos apresentam comportamento de congelamento. Além disso, o mesmo autor verificou aumento da imunorreatividade para a proteína Zif268 em áreas como o córtex dorsal e a amígdala, mostrando o possível envolvimento dessas áreas com a expressão do medo e ou aspectos de memórias aversivas.

2.3. Homologias Cerebrais e a Memória Aversiva

Durante o processo de evolução do sistema nervoso em diferentes espécies, o surgimento de novas estruturas pode ter possibilitado a origem de novas funções, ou até mesmo, o aperfeiçoamento de funções já existentes. Hartley e Phelps (2010), mostraram que não só a amígdala está envolvida no mecanismo de modulação e expressões comportamentais relacionados ao medo, mas uma rede de integração que envolve outras estruturas na modulação dessa emoção, como: o hipocampo, o núcleo estriatal, o córtex pré-frontal ventromedial e dorsolateral. Além disso, a amígdala também se associa ao córtex motor, modulando a resposta ao medo condicionado (ESPERIDIAO-ANTONIO et al., 2008). As projeções do núcleo central da amígdala para outras regiões cerebrais podem ter função de modular o comportamento do animal de acordo com repetitivos estímulos aversivos (ABRAHAM; NEVE; LATTAL, 2015).

Já é conhecido que em mamíferos, o comportamento relacionado ao medo é modulado por áreas cerebrais primitivas, tais como a corpo amigdalóide/amígdala e o

hipocampo reptiliano, as quais formam a maior parte do cérebro dos répteis. Além disso, o hipocampo de mamíferos, que está intimamente relacionado aos processos de formação de memória, apresenta-se como estrutura homóloga ao córtex reptiliano. Por exemplo, o córtex medial dos répteis é considerado homólogo ao giro denteado de mamíferos, por apresentarem neurônios glutamatérgicos reativos ao zinco que estão presentes nesta área e se projetam para o córtex dorso-medial o qual é homólogo ao Corno de Ammon área 3 (CA3). Células do córtex dorso-medial projetam-se para o córtex dorsal, uma região homóloga ao Corno de Ammon área 1 (CA1) em mamíferos (MOLOWNY et al., 1987). Essas homologias mostram que modelos animais com lagartos podem ser promissores nas investigações da neurobiologia comparativa, no âmbito dos processos mnemônicos.

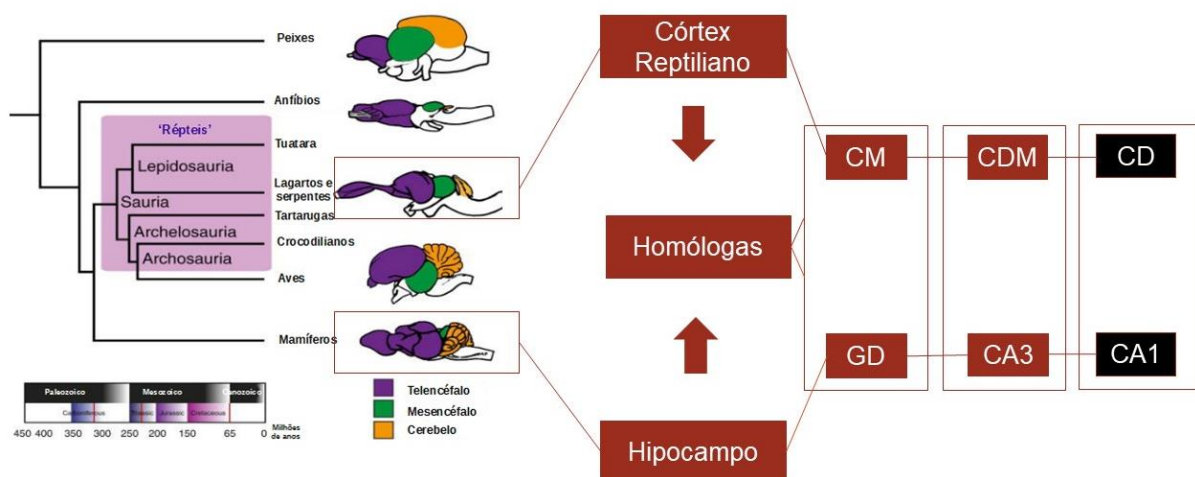


Figura 1: Homologias cerebrais entre os grupos dos mamíferos e répteis. Fonte: Adaptado de NAUMANN, et al. (2015).

Estudos com humanos e modelos animais, vêm mostrando a importância e participação do hipocampo em relação a diversos comportamentos e relação com a formação dos diversos tipos de memórias, mas em particular a função das diferentes sub-regiões do hipocampo como as regiões CA1 e CA3 em contextos de sua participação na memória (DAUMAS et al., 2005; FAROVIK; DUPONT; EICHENBAUM, 2010; GRUART; MUÑOZ; DELGADO-GARCÍA, 2006; JAVAD-MOOSAVI et al., 2017; TRIMPER et al., 2017).

Sabe-se que a região CA1 em mamíferos é a única via de saída do hipocampo para o córtex (VAN STRIEN; CAPPAERT; WITTER, 2009), sendo assim lesões nessa área acarretam numa difusão na comunicação entre o hipocampo e áreas corticais e

subcorticais, como a amígdala, interferindo na formação de alguns tipos de memórias, tais como as memórias de contextos emocionais (OCAMPO; SQUIRE; CLARK, 2017).

Diversos são os estudos de investigação da sub-região CA1 do hipocampo e sua relação como os processos de formação de memórias. Injeções intra-CA1 de inibidores de transcrição gênica são capazes de inibir a extinção de memórias de contexto aversivo do protocolo de esquia inibitória em ratos (VIANNA, M. R. et al., 2003). A inibição da cascata de sinalização da proteína cinase mTOR na região CA1 do hipocampo dorsal é capaz de prejudicar a consolidação de memórias de contexto aversivo, mostrando que a sinalização de mTOR é necessária para a formação da memória de medo (BEKINSCHTEIN et al., 2007). mTOR também possui envolvimento na recuperação de memória de esquia inibitória em ratos (PEREYRA et al., 2018).

Os receptores NMDA de glutamato e as vias de sinalização da PKA e da CaMKII, nas regiões da amígdala basolateral e hipocampo dorsal na sub-região em CA1 são necessários para que ocorra extinção de memória na esquia inibitória, isso quando ocorre injeções de antagonistas dos receptores NMDA ou inibidores da sinalização de PKA e CaMKII (MYSKIW et al., 2010).

Microinjeção encefálica de Muscimol, uma agonista seletivo GABAérgico na sub-região CA1 do hipocampo dorsal, demonstram afetar a consolidação e reconsolidação da memória aversiva de ratos que foram expostos a tarefa de esquia inibitória, mostrando que o agonismo dos receptores GABA-A do sistema GABAérgico é capaz de influenciar a formação de memórias (AMARAL et al., 2007).

As sub-regiões CA1 e CA3 do hipocampo dorsal de ratos, possuem e desempenham papéis importantes e diferentes na aquisição e consolidação de memória de medo ao contexto, enquanto CA3 é responsável por unificar uma resposta contextual a região CA1 e bastante envolvida com a consolidação no processo de consolidação do contexto (DAUMAS et al., 2005).

Hall; Thomas; Everitt (2001), mostraram através da expressão da proteína Zif268, que durante a recuperação da memória de medo contextual em ratos, os núcleos da amígdala e a região CA1 hipocampal apresentam aumento da sua expressão, mostrando que os neurônios dessa região também são ativados no momento da recuperação da memória de medo.

Como apresentado anteriormente, o envolvimento da região hipocampal CA1 em processos de medo e memórias aversivas é bem conhecido. Entretanto, pouco se sabe sobre esses mecanismos em grupos menos derivados do que os mamíferos possuem áreas homólogas a essa região. Esse é o caso dos lagartos. Investigações nesse sentido podem ajudar a preencher lacunas evolutivas sobre o surgimento, características e especializações de funções atribuídas a esse núcleo em diversos grupos de vertebrados.

2.4. Memória em Répteis

Neurocientistas vêm utilizando e buscando novos modelos experimentais como forma de abranger e tentar elucidar questões comportamentais evolutivas entre as diferentes espécies, esses estudos abrangem invertebrados e vertebrados. No grupo dos vertebrados os animais mais utilizados são mamíferos e, atualmente, os répteis vêm sendo utilizados como possíveis modelos para investigar mecanismos neurobiológicos, dentre eles os que envolvem processos de memórias (DAY; CREWS; WILCZYNSKI, 2001; LADAGE et al., 2012; SANTOS, 2016; STRIEDTER, 2016).

Algumas espécies de répteis vêm sendo utilizadas como modelo experimental, tais como, *Tupinambis teguixin* (VONEIDA; SLIGAR, 1979), *Iguana iguana* (BUTLER; NORTHCUTT, 1899), *Gallotia galloti* (MOLOWNY et al., 1987; DELGADO-GONZALEZ et al., 2011), *Tarentola mauritanica* (PÉREZ-CAÑELLAS; GARCÍA-VERDUGO, 1996), *Podarcis siculus* (FAVORITO et al., 2017), *Podarcis hispanicus* (MOLOWNY; NACHER; LOPEZ-GARCIA, 1995; MOLOWNY et al., 1987; MARTINEZ-GARCIA et al., 1986; LOPEZ-GARCIA et al., 1988), *Gekko gecko* (SMEETS; HOOGLAND; LOHMAN, 1986), *Anolis carolinensis* (GREENBERG, 1982), *Uta stansburiana* (LADAGE; COBB IRVIN; GOULD, 2017) e *Tropidurus hispidus* (DE CARVALHO-PIMENTEL et al., 2011; MARCHIORO et al., 2005; SANTOS, 2010; SANTOS, 2016; MÂCEDO-LIMA, 2013), mostrando a viabilidade e importância do estudo envolvendo répteis, principalmente os lagartos como modelos animais na neurobiologia comparativa/evolutiva.

Memórias de contextos espaciais vem sendo relacionadas a comportamentos ecológicos importantes, tais como escolha de parceiros, territorialidade, navegação

no ambiente, busca e aquisição de alimentos. Essas habilidades em aves e mamíferos demandam uma grande participação do hipocampo desses animais. Entretanto em répteis, estudos realizados em machos da espécie *Uta stansburiana*, os quais apresentam três distintos tipos de morfos em diferentes nichos espaciais, esse trabalho mostrou que machos que possuíam grande território apresentavam também um maior volume do córtex dorsal, sub-região do córtex reptiliano, homologa ao hipocampo de mamíferos, quando se comparado ao que possuíam territórios menores ou nenhum território (LADAGE et al., 2009).

Experimentos realizados com a mesma espécie de lagarto, em laboratório, utilizando o labirinto de Barnes, um paradigma muito utilizado para avaliar a presença e desempenho de memória espacial em mamíferos, mostraram que essa espécie possui memória espacial, uma vez que o animal conseguiu seguir e traçar uma trilha para exploração de um objeto no local correto (LADAGE et al., 2012; LADAGE; IRVIN; GLOUD, 2017).

Lesões na região do córtex dorsal e medial de lagartos da espécie *Aspiloscelis inornatus*, são capazes de causar um déficit na aquisição de memórias espaciais. Os animais de lesão na região dorsal apresentaram um aprendizado lento na aquisição da memória. Essa lesão também interfere na tentativa para uma solução da tarefa, enquanto que lesões na região medial interferem na aquisição e prejudicam severamente a navegação do animal (DAY; CREWS; WILCZYNSKI, 2001).

Apesar do grande número de trabalhos apontarem para uma possível ocorrência de memórias espaciais em lagartos, alguns autores defendem a teoria de que esses animais não possuem memória espacial (DAY; CREWS; WILCZYNSKI, 1999). Possivelmente, o uso de metodologias e delineamentos experimentais distintos sejam responsáveis pelos resultados controversos apresentados na literatura. Um outro ponto importante a ser destacado, é que outros tipos de memória são pouco explorados nesse grupo de vertebrados, o que prejudica na compreensão dos mecanismos evolutivos envolvidos nos processos de memórias aversivas.

2.5. *Tropidurus hispidus* como Modelo Experimental em Neurobiologia

O Lagarto *Tropidurus hispidus*, pertence a ordem Squamata, a subordem Sauria e a família Tropiduridae. Possui comprimento rostro-cloaca de 7-13 cm quando adultos e sua distribuição vai desde a Amazônia até a Argentina, sendo no Brasil, encontrado principalmente na região Nordeste (ABREU et al., 2002). O principal ecossistema em que esse lagarto vive é a caatinga, mas também esse animal pode ser encontrando em diversos habitat, entre eles ambientes antropizados (VANZOLINI et al., 1980; VITT et al., 1997).



Figura 2: Lagarto *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825; Squamata: Tropiduridae). Foto: Rony P.S. Almeida/UFS.

O primeiro estudo de neurociência com essa espécie foi desenvolvido por Marchioro et al. (2005), indicando que ocorre neurogênese pós-natal, principalmente na vida adulta, através da visualização de células progenitoras marcadas nuclearmente com BrdU, localizadas subjacente ao córtex medial, córtex dorsomedial, córtex dorsal e córtex lateral. Outro trabalho realizado pelo mesmo grupo de pesquisa mostra a ativação de genes de expressão imediata (ZIF268), um indicador de plasticidade neuronal na área ocupada pelo corpo amigdalóide/amígdala e hipocampo reptiliano, após a exploração de ambiente enriquecido (SANTOS, 2010).

Segundo De Carvalho-Pimentel et al. (2011), o telencéfalo do *Tropidurus hispidus* segue um padrão decorrentes dos Squamatas que mostra a distribuição de terminais neurais enriquecidos com zinco no telencéfalo desse animal, tais como, partes do córtex, septo, striatum e corpo amigdalóide/amígdala, seguindo padrões encontrados em outras famílias de lagartos. Ademais, todas as áreas do córtex desse lagarto apresentaram marcação positiva de neurônios NADPH-diaforase, exceto na camada celular do córtex medial (MÂCEDO-LIMA, 2013).

Santos (2016), demonstrou que o *Tropidurus hispidus* possui aumento da expressão de ZIF268 nas regiões do hipocampo reptiliano, principalmente na região do córtex dorsal reptiliano, como também na região do corpo amigdalóide/amígdala, após serem apresentados a um estímulo aversivo, um gato doméstico (*Felis catus*). Seus resultados demonstram um possível envolvimento dessas estruturas nos processos mnemônicos de formação desse tipo de memória, mas o papel que o córtex dorsal reptiliano desempenha nos processos de formação das memórias aversivas neste grupo ainda não está totalmente elucidado.

Estes trabalhos, tomados em conjunto, colaboram ao demonstrar a viabilidade do uso do *Tropidurus hispidus* como um modelo da família Tropiduridae nos estudos da neurobiologia evolutiva comparativa. Uma análise mais aprofundada do envolvimento do córtex dorsal reptiliano em aspectos comportamentais relacionados aos componentes de aquisição, consolidação e evocação de memórias aversivas, contribuirá para a compreensão de mecanismos envolvidos nas bases biológicas-evolutivas do comportamento animal, não somente no grupo dos répteis, mais também entre diferentes grupos de vertebrados, esclarecendo aspectos envolvidos com os processos mnemônicos de formação de memórias, principalmente as memórias aversivas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a participação do córtex dorsal reptiliano na memória aversiva do lagarto *Tropidurus hispidus*.

3.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o papel do córtex dorsal reptiliano no processo de aquisição da memória aversiva no lagarto *Tropidurus hispidus*;
- Avaliar o papel do córtex dorsal reptiliano no processo de consolidação da memória aversiva no lagarto *Tropidurus hispidus*;
- Avaliar o papel do córtex dorsal reptiliano no processo de evocação da memória aversiva no lagarto *Tropidurus hispidus*.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. Aspectos Éticos

Todos os procedimentos experimentais, foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Sergipe (CEPA - UFS) sob número de protocolo 42/2017 (Anexo I) e com autorização de captura e experimentação de animais da fauna silvestre, pertencentes a espécie *Tropidurus hispidus*, emitida pelo IBAMA sob número de protocolo ICMBio/SISBio 5857-5.

4.2. Animais

Foram utilizados 36 lagartos adultos da espécie *Tropidurus hispidus*, machos com tamanho rostro-coacla entre 9-13 cm de comprimento e pesando entre 40-60g. Todos os animais foram capturados utilizando uma vara contendo um laço na ponta, uma adaptação do método de Strong; Leatherman; Brattstrom (1993). Os animais foram capturados aos arredores da Universidade Federal de Sergipe (UFS), Cidade Universitária Professor José Aloísio de Campos (10° 55' 30" S e 37° 05' 59" W) e mantidos em terrários de acomodação, um aquário de vidro com dimensões 80 x 60 x 50 cm (comprimento, largura e altura, respectivamente), em temperatura ambiente. Cada terrário possuía uma tampa de vidro perfurada para permitir a livre circulação de ar e equipado com uma lâmpada de calor, com a finalidade de mimetizar o ambiente natural do animal e permitir a termorregulação. Essa lâmpada permaneceu ligada por 12 horas/dia, coincidindo com a fase de claro do animal. Os animais foram alojados em 5 animais por terrário e com livre acesso a água (pequenos vasos no solo simulando pequenas "poças de água") e comida (Adultos/jovens de formigas do gênero *Atta* e larvas da espécie do coleóptero *Tenebrio molitor*). O assoalho do terrário era composto por uma camada de 5 cm contendo areia, cascalhos e matéria orgânica (raízes e folhas), onde os animais poderiam se enterrar durante o dia e noite.

Durante os três experimentos foi utilizado um gato doméstico (espécie *Felis catus*), esse animal foi utilizado como um possível estímulo aversivo por em ambientes antropizados ser encontrado como lagartos da espécie *Tropidurus hispidus*. O gato utilizado nos testes teve livre acesso à água e ração entre cada intervalo do teste.

Quando não estava participando dos testes, o gato permanecia em sua casa de acomodação.

4.3. Delineamento Experimental

O presente estudo foi dividido em 3 experimentos: Experimento I – Aquisição da memória aversiva; Experimento II – Consolidação da memória aversiva; Experimento III – Evocação da memória aversiva. Os animais foram divididos em $n = 10-14$ por experimento. Por sua vez, cada experimento foi constituído de dois grupos experimentais (Controle e Muscimol, $n = 5-7$ por grupo).

Após 4 dias no terrário de acomodação, os animais de todos os experimentos e grupos foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implantação de cânulas guias na região do córtex dorsal. Sete dias após a cirurgia os animais de cada experimento foram divididos aleatoriamente em 2 grupos: Controle (CTR) e Muscimol (MUS), quando foram submetidos à tarefa experimental.

A tarefa era dividida em duas sessões: treino e teste, com intervalo de 24 h. As sessões de treino e teste foram divididas em duas fases: **habituação** e **exposição**. Ambas as fases foram realizadas em um campo aberto quadrado, medindo 80 x 80 x 60 cm (comprimento, largura e altura, respectivamente). Após os animais serem colocados no centro exato do interior do campo aberto, eles passaram por um período de habituação de 10 minutos (fase de habituação) e logo após esse tempo, foi colocada no campo aberto uma gaiola gradeada, contendo um gato doméstico (fase de exposição) durante um período de 10 minutos. Após o período de exposição, os animais foram devolvidos aos seus terrários de origem, onde permaneceram até o dia seguinte. Na sessão de teste, os animais novamente foram submetidos a fase de habituação (10 minutos), seguida da fase de exposição. Entretanto, na fase de exposição (10 minutos), os animais foram apresentados somente à gaiola vazia (**Figura 3**). Após os experimentos, os animais foram perfundidos com a finalidade de avaliar o sítio de injeção. Após cada sessão, as paredes internas do campo foram higienizadas com uma solução de álcool a 10%. As fases de habituação e exposição foram filmadas e posteriormente analisadas quanto ao número de quadrantes

cruzados; número de comportamentos de deslocamento iniciados; tempo total de congelamento e tempo de latência para a realização do primeiro movimento.

O delineamento dos três experimentos é semelhante, variando apenas o momento da microinjeção encefálica de salina (Grupo Controle – CTR, que receberam microinjeção de salina 0,9%) ou Muscimol (Grupo Muscimol – MUS, tratado com 0,25µg/µl de Muscimol). No Experimento I, os animais receberam uma única microinjeção encefálica, diretamente no córtex dorsal, de salina ou Muscimol, 15 minutos antes do treino. No Experimento II, os animais foram injetados, unicamente, após a sessão de treino. Enquanto que, no Experimento III, os animais foram injetados, unicamente, 15 minutos antes da sessão de teste (Figura 3).

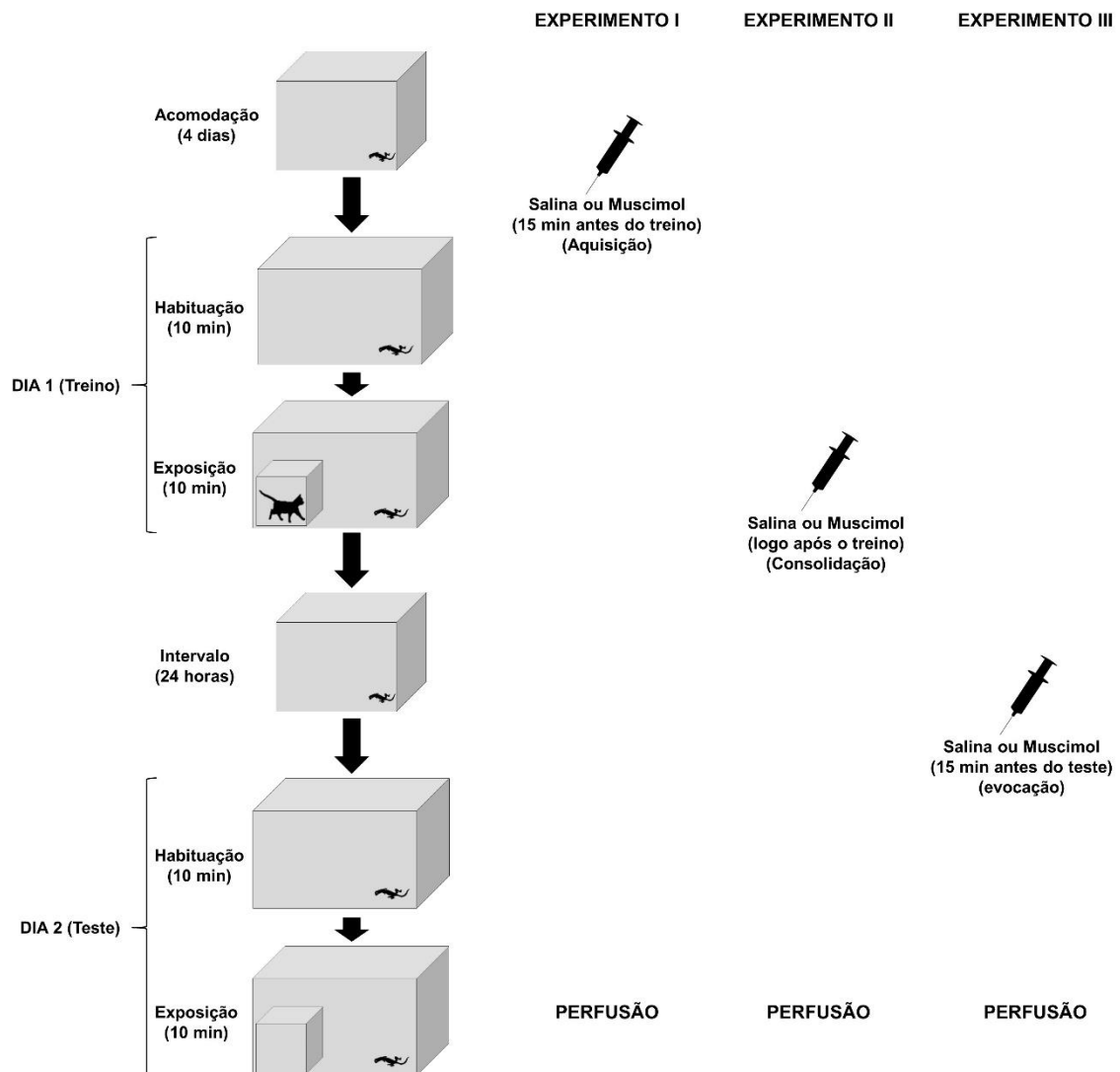


Figura 3: Esquema ilustrativo do delineamento experimental.

4.4. Cirurgia Estereotáxica

Para a realização das cirurgias estereotáxicas, foram utilizadas as coordenadas do A Forebrain Atlas of the Lizard *Gekko gecko* (SMEETS; HOOGLAND; LOHMAN, 1986), para a localização correta para aplicação das injeções intra-córtex dorsal de salina ou Muscimol. Os animais foram anestesiados com cloridrato de ketamina (Ketamina®, Agener União) e cloridrato de xilazina (Calmun®, Agener União) por via subcutânea (SC) nas doses (20 mg/kg e 2 mg/kg, respectivamente). Após a retirada das escamas e limpeza da superfície do crânio, os animais foram fixados à um aparelho estereotáxico (Insight, Brasil), e como o auxílio de um bisturi as escamas foram removidas e partes moles afastadas, para a exposição dos ossos da caixa craniana. A torre do estereotáxico foi angulada a 20°, as coordenadas foram determinadas utilizando-se a glândula pineal do animal (conhecida também como, “o terceiro olho” dos lagartos) como referência: anteroposterior (AP), + 2,0 mm e mesolateral (ML), $\pm 1,3$ mm. Em seguida, foram realizadas duas perfurações no crânio dos animais (uma de cada lado), com uma broca odontológica. Após as perfurações do crânio, foram inseridas duas cânulas guias intra-córtex dorsal (coordenada dorsoventral – DV de -1,0 mm) de 10 mm e fixadas ao crânio com acrílico odontológico.

4.5. Microinjeção

As microinjeções intra-córtex dorsal de solução salina ou Muscimol nos animais foram realizadas de forma intercalada com o auxílio de agulhas gengivais (30 gauges), conectadas a um tubo de polietileno (1mm de diâmetro), conectados a uma microseringa de 10 μ L (Hamilton, EUA). Foi utilizada uma bomba de infusão (Insight, Brasil) com um fluxo de 0,20 μ L/min. Após o período de cada microinjeção, as agulhas foram mantidas no interior do cérebro por mais 1 min com a finalidade de evitar o refluxo das substâncias injetadas.

4.6. Drogas

No presente estudo foram utilizadas as seguintes drogas: Muscimol agonista GABAérgico (Sigma, EUA), Cloridrato de ketamina (Ketamina®, Agener União) e Cloridrato de xilazina (Calmiun®, Agener União).

4.7. Perfusão dos Animais e Processamento dos Cérebros

Após o período de realização do teste de campo aberto, ao final da sessão teste de cada experimento, os animais foram anestesiados com ketamina e xilazina subcutânea (SC). Com o animal completamente anestesiado foi realizado um acesso à cavidade torácica seccionando-se a pele e parte moles, expondo a cavidade e feita a retirada da caixa torácica para a exposição do coração. Posteriormente, realizada uma inserção de uma agulha no ventrículo do animal, através do ápice do coração, e um volume de 150 ml de solução salina 0,9% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, heparinizada, foi injetado com auxílio de uma bomba peristáltica durante 10 minutos. Em seguida, foram injetados 300 ml de uma solução fixadora de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4, durante 20 minutos. Após a perfusão, os cérebros foram removidos e mergulhados em uma solução de paraformaldeído + sacarose a 30% à 4°C, por 24h. Depois de permanecerem nessa solução, os cérebros foram retirados e armazenados em uma solução de sacarose 30%, em ambiente ao abrigo da luz, também à 4°C. Para passar por análise do local da injeção atingiu a área de desejada.

4.8. Avaliação Comportamental e Processamentos de Dados

Todos os vídeos foram gravados com a utilização de uma câmera acoplada no teto sobre a região onde se encontrava a aparato do campo aberto e os parâmetros comportamentais quantificados por um software de rastreamento animal (Any-maze, Stoelting, EUA) e também foram quantificados manualmente pelo pesquisador.

Após a finalização dos três experimentos, Experimento I: Aquisição da memória aversiva; Experimento II: Consolidação da memória aversiva e Experimento III:

Evocação da memória aversiva, em ambos os dias de sessão treino e sessão teste, foram analisados os seguintes parâmetros comportamentais: número de quadrantes visitados; número de comportamentos de deslocamento iniciados; tempo total de congelamento e tempo de latência para a realização do primeiro movimento. Para avaliar o número de quadrantes visitados por cada lagarto durante os experimentos, os vídeos obtidos durante as gravações, foram divididos virtualmente em 16 quadrantes de mesmo tamanho, onde foram contabilizados a cada visita e onde o primeiro quadrante visitado era aquele onde o animal era posto pelo pesquisador na hora do início de cada fase do experimento comportamental. Também, foram contabilizados o número de vezes que o animal realizava um movimento que resultaria em um deslocamento, mesmo que, o animal não cruzasse outro quadrante. No dado comportamental de tempo total de congelamento do animal, foi o medido o tempo que o animal se mantia totalmente imóvel sem esboçar nenhum movimento voluntário, onde só foram considerados tempos de imobilidade maiores de 20 segundos. Por fim, foram contabilizados o tempo gasto para que o animal realizasse seu primeiro movimento de deslocamento, tomando como base o início de cada fase dos experimentos, obtendo assim a latência para que esse movimento ocorresse. Os dados obtidos de ambos os experimentos foram processados e analisados pelo software estatístico Prism 6.0 (Graphpad Software Inc, EUA).

4.9. Análise Estatística

Para se comparar os valores obtidos em todos os parâmetros comportamentais entre os grupos durante os períodos de habituação e exposição, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O teste de Wilcoxon, foi utilizado para se comparar os dados obtidos no mesmo grupo durante os períodos de habituação e exposição que os animais foram apresentados. Os dados de todos os três experimentos foram expressos com mediana e intervalos interquartis (Q1 e Q3). Os testes com valores de $p < 0,05$, foram considerados significativos.

5. RESULTADOS

5.1. Experimento I: Aquisição da memória aversiva.

Para o número de quadrantes visitados, o teste de Wilcoxon mostrou uma redução significativa da atividade locomotora dos lagartos do grupo Controle ($p < 0,05$) durante a sessão de treino, na exposição (Mediana = 1,00; $Q1 = 1,00 - Q3 = 1,00$) em relação a habituação (3,50; 23,75 – 1,25) (**Figura 4A**). Porém, nos animais do grupo Muscimol essa diferença entre os períodos de habituação (1,00; 7,00 - 1,00) e exposição (1,00; 1,00 – 1,00), não foi encontrada ($p = 0,375$).

Durante o período de habituação, foi mostrado pelo teste de Mann-Whitney que também não houve diferença ($p = 0,1500$) no número de quadrantes visitados pelo grupo Controle habituação (3,50; 23,75 - 1,25) em comparação ao grupo Muscimol habituação (1,00; 7,00 - 1,00). No período de exposição essa diferença no número de quadrantes visitados pelo grupo Controle (1,00; 1,00 - 1,00) e grupo Muscimol (1,00; 1,000 - 1,000), também não foi considerada estatisticamente significativa ($p = 0,500$) (**Figura 4A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon mostrou uma redução significativa ($p < 0,05$), entre os valores encontrados para o número de quadrantes visitados para o grupo Controle, na exposição (1,00; 9,00 – 1,00) em relação a habituação (6,00; 34,00 – 3,00) (**Figura 4B**). Mas, quando comparados os valores encontrados entre o grupo Muscimol habituação (1,00; 2,00 – 1,00) e Muscimol exposição (3,00; 3,00 – 1,00), não foi encontrada diferença significativa ($p = 0,375$).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos Muscimol (1,00: 2,00 – 1,00) e Controle (6,00; 34,00 – 3,00), demonstrando uma redução no número de quadrantes visitados pelo grupo Muscimol, quando comparado ao grupo Controle. Entretanto, na exposição não foi observada diferença estatisticamente significativa ($p = 0,408$), quando comparados aos valores apresentados pelos grupos Controle (1,00; 9,00 – 1,00) e Muscimol (3,00; 3,00 – 1,00) (**Figura 4B**).

Quadrantes visitados

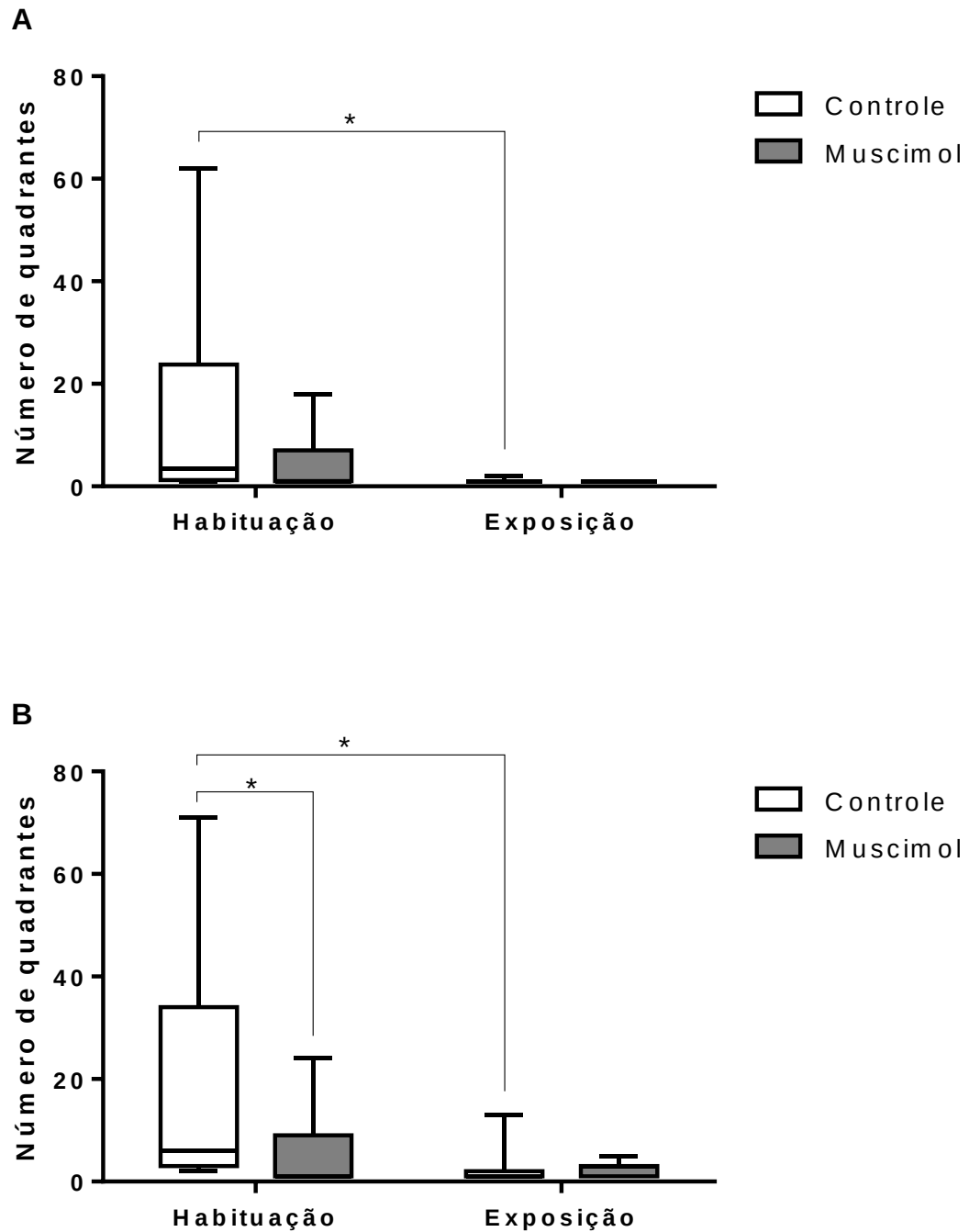


Figura 4: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e Muscimol na sessão de teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram uma redução da atividade locomotora, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Quanto ao número de comportamento de deslocamentos realizados durante a sessão de treino, o teste de Wilcoxon demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,125$), quando comparados os dados encontrados no grupo Controle entre habituação (5,50; 16,00 – 0,50) e exposição (0,0; 0,0 – 0,0). Resultado semelhante é observado, quando comparados os dados no grupo Muscimol na habituação (1,00; 4,00 – 0,0) e na exposição (0,0; 0,0 – 0,0) ($p=0,125$; **Figura 5A**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou ausência de diferença estatisticamente significativa ($p=0,076$), entre os grupos Controle (5,50; 16,00 – 0,50) e Muscimol (0,0; 0,0 – 0,0). Igualmente, o teste revelou ausência de diferença ($p=0,999$) durante a exposição entre os grupos Controle (0,0; 0,0 – 0,0) e Muscimol (0,0; 0,0 – 0,0) (**Figura 5A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon demonstrou uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$) no número de comportamentos de deslocamento dos animais, quando comparados os dados entre grupo Controle comparando a exposição (0,0; 15,00 – 0,0) e a habituação (16,50; 31,75 – 1,25). Mas, não foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($p=0,0625$), quando comparados os dados apresentados durante a habituação (0,0; 2,00 – 0,0) e exposição (2,00; 4,00 – 0,0), do grupo Muscimol (**Figura 5B**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$), entre os grupos Muscimol (0,0; 2,00 – 0,0) e o Controle (16,50; 31,75 – 1,25). Entretanto essa diferença não foi observada ($p=0,398$) entre os grupos Controle (0,0; 15,00 – 0,0) e Muscimol (2,00; 4,00 – 0,0), durante a exposição (**Figura 5B**).

Deslocamentos

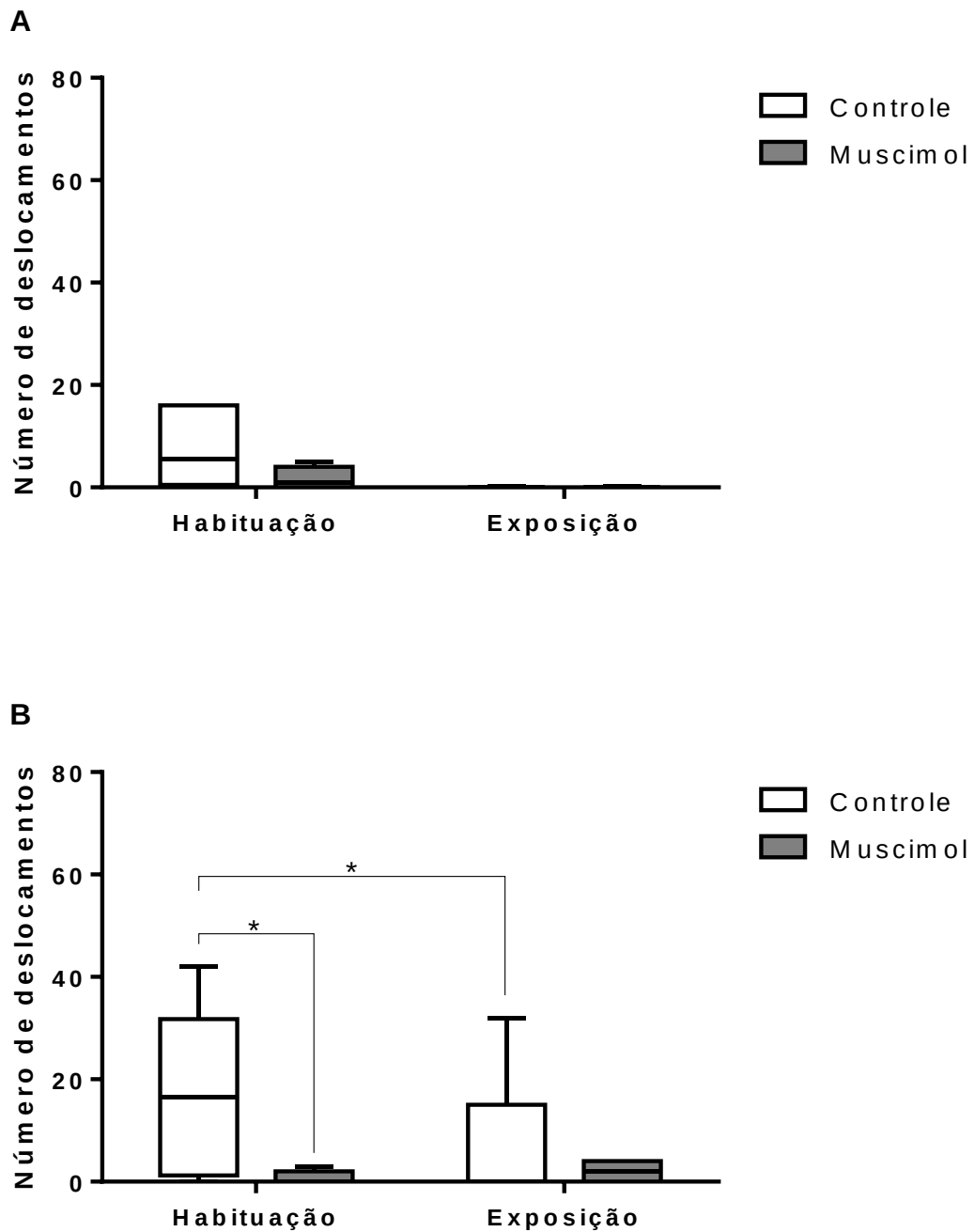


Figura 5: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram uma redução do número de deslocamentos iniciados, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Para o tempo de congelamento total, o teste de Wilcoxon mostrou que não houve diferença no congelamento dos animais do grupo Controle ($p=0,312$) durante a sessão de treino, na habituação (593,0; 600,0 – 466,0) e na exposição (600,0; 600,0 – 594,0) (**Figura 6A**). Porém, nos animais do grupo Muscimol houve aumento significativo ($p<0,05$) no tempo de congelamento, entre os períodos de exposição (600,0; 600,0 – 600,0) e a habituação (562,0; 600,0 – 509,0).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou que não houve diferença ($p=0,412$), no tempo total de congelamento dos animais quando comparados os grupos Controle (593,0; 600,0 – 466,0) e Muscimol (562,0; 600,0 – 509,0). Resultado semelhante é observado quando comparados os dados dos grupos Controle (600,0; 600,0 – 594,0) e Muscimol (600,00; 600,0 – 600,0), no período de exposição ($p=0,230$) (**Figura 6A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon demonstrou que não houve diferença significativa ($p=0,1250$), no tempo total de congelamento dos animais, quando comparados os dados do grupo Controle durante a habituação (421,0; 590,3 – 248,0) com os dados do período de exposição (584,5; 600,0 – 415,3). Resultado semelhante é observado, no grupo Muscimol entre dados obtidos na habituação (597,0; 600,0 – 560,0) e na exposição (499,0; 600,0 – 471,0), também não apresentou diferença significativa ($p=0,125$; **Figura 6B**).

No período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou um aumento significativo ($p<0,05$), no tempo de congelamento dos animais do grupo Muscimol (597,00; 600,0 – 560,0) quando comparados os dados do grupo Controle (421,0; 590 – 248,0). Entretanto, na exposição não foi demonstrada diferença significativa ($p=0,494$), entre os grupos Controle (584,5; 600,0 – 415,3) e Muscimol (597,0; 600,0 – 560,0) (**Figura 6B**).

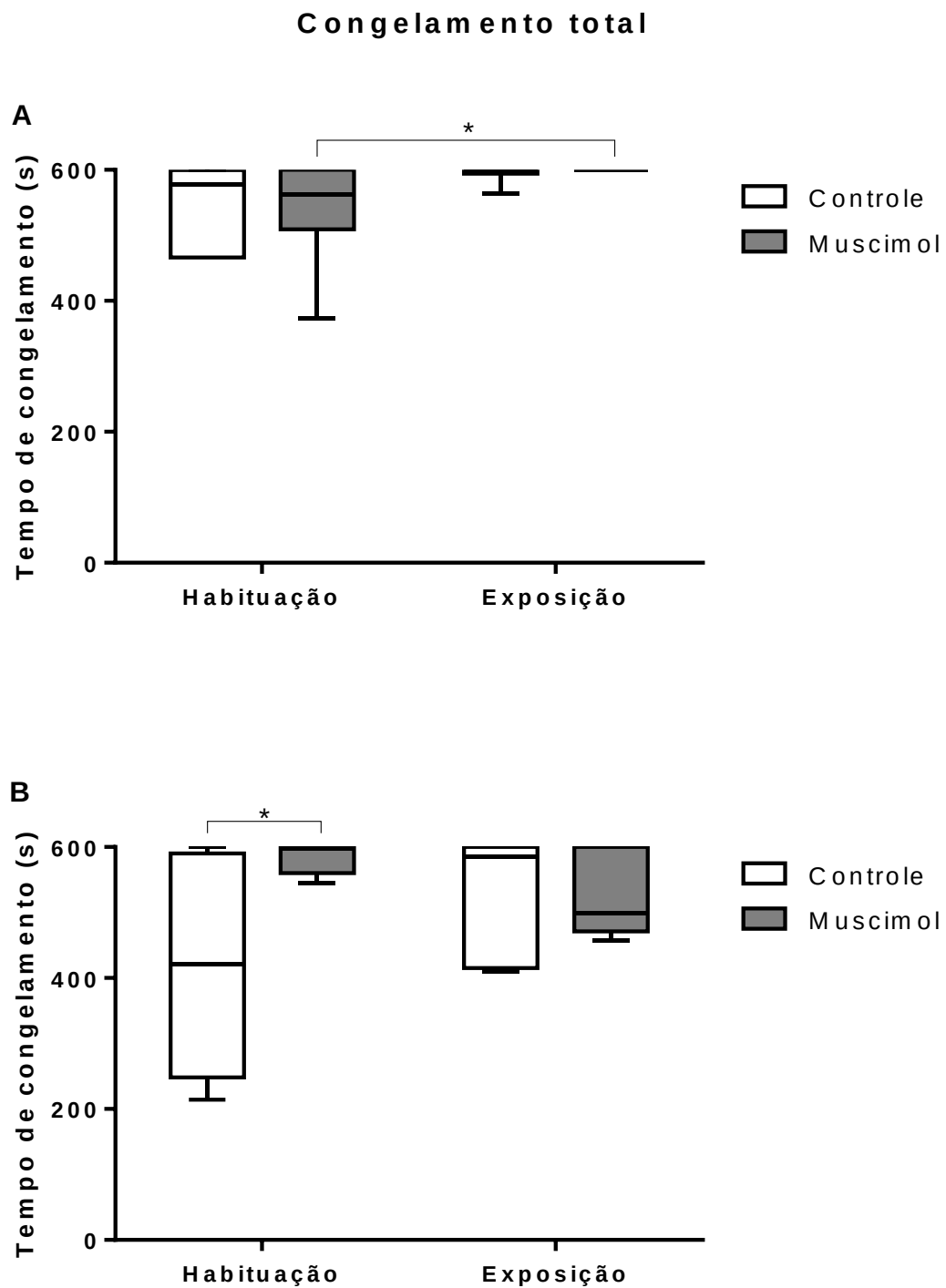


Figura 6: Tempo total de congelamento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram um aumento no tempo total de congelamento, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Quanto a latência para a realização do primeiro movimento, o teste Wilcoxon demonstrou um aumento significativo ($p < 0,05$) no tempo de latência na sessão de treino, no momento da exposição (600,0; 600,0 – 438,0) e relação a habituação (79,50; 500,5 – 22,75) no grupo Controle (**Figura 7A**). Resultado semelhante foi observado no grupo Muscimol ($p < 0,05$), na exposição (600,0; 600,0 – 600,0) em relação a habituação (228,0; 600,0 – 30,00).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença ($p = 0,2214$), entre os grupos Controle (79,50; 500,5 – 22,75) e Muscimol (228,0; 600,0 – 30,00). Resultado semelhante foi observado na exposição ($p = 0,230$), entre os grupos Controle (600,0; 600,0 – 438,0) e Muscimol (600,0; 600,0 – 600,0) (**Figura 7A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon mostrou um aumento significativo ($p < 0,05$), na latência para realização do primeiro movimento do animal, no grupo Controle na exposição (378,0; 600,0 – 83,00) em relação a habituação (78,50; 500,0 – 14,00) (**Figura 7B**). Porém, no grupo Muscimol não houve diferença significativa ($p = 0,437$) durante a habituação (517,0; 600,0 – 175,0) e exposição (278,0; 600,0 – 132,0).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney revelou que houve um aumento no tempo de latência, entres os grupos, Muscimol (517,0; 600,0 – 175,0) e Controle (78,50; 500,0 – 14,00), porém esse aumento não foi significativo ($p = 0,072$). Entretanto, na exposição não houve diferença significativa ($p = 0,467$), entre os grupos Controle (378,0; 600,0 – 83,00) e Muscimol (278,0; 600,0 – 132,0) (**Figura 7B**).

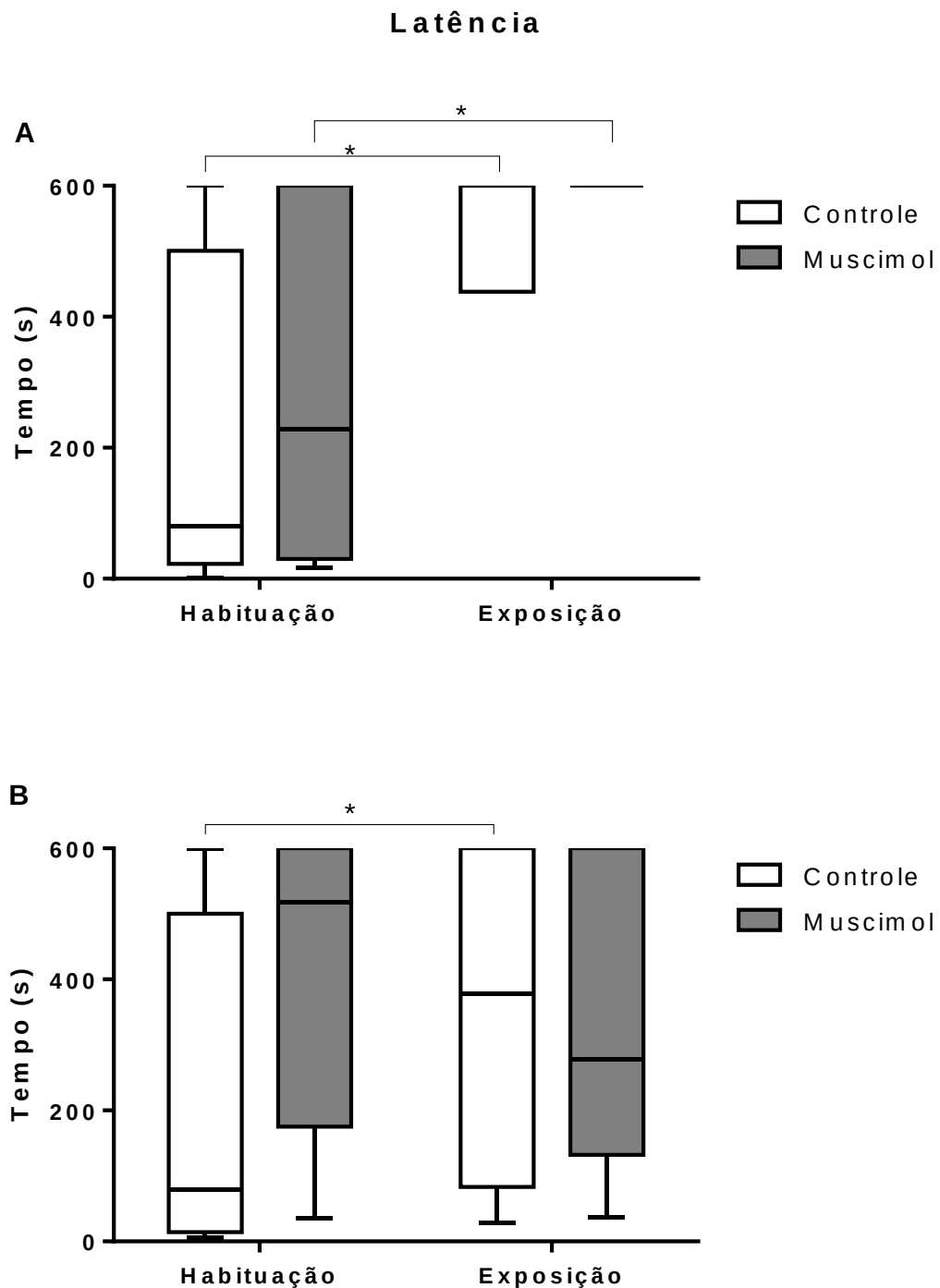


Figura 7: Tempo de latência para realização do primeiro movimento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de aquisição da memória aversiva. Em A, a latência para o primeiro movimento apresentada pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, a latência para o primeiro movimento apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram um aumento no tempo de latência para realizar seu primeiro movimento, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5.2. Experimento II: Consolidação da memória aversiva.

Para o número de quadrantes visitados, o teste de Wilcoxon demonstrou que não houve diferença na atividade locomotora dos lagartos do grupo Controle ($p=0,062$), durante a sessão de treino, comparando a habituação (Mediana = 2,00; $Q1 = 2,50 - Q3 = 1,00$) com a exposição (1,00; 1,00 - 1,00). Resultado semelhante nos animais do grupo Muscimol, entre os períodos de habituação (1,50; 3,00 - 1,00) e exposição (1,00; 1,00 - 1,00) foram observados ($p=0,125$) (**Figura 8A**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que também não houve diferença ($p=0,445$) no número de quadrantes visitados pelo grupo Controle habituação (2,00; 2,50 - 1,00), em comparação ao grupo Muscimol habituação (1,50; 3,00 - 1,00). No período de exposição, essa diferença no número de quadrantes visitados pelo grupo Controle (1,00; 1,00 - 1,00) e grupo Muscimol (1,00; 1,00 - 1,00), também não foi considerada estatisticamente significativa ($p=0,999$) (**Figura 8A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon mostrou uma redução significativa ($p<0,05$), entre os valores encontrados para o número de quadrantes visitados no grupo Controle, na exposição (2,00; 3,25 - 1,00) e habituação (7,50; 16,00 - 4,00) (**Figura 8B**). Mas, quando comparados os valores encontrados entre o grupo Muscimol habituação (1,00; 1,25 - 1,00) e Muscimol exposição (1,00; 3,00 - 1,00), não foi encontrada diferença significativa ($p=0,250$).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou uma diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos Controle (7,50; 16,00 - 4,00) e Muscimol (1,00; 1,25 - 1,00), demonstrando uma redução no número de quadrantes visitados pelo grupo Muscimol quando se comparado ao grupo Controle. Entretanto, na exposição não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,238$), quando comparados os valores apresentados pelos grupos Controle (2,00; 3,25 - 1,00) e Muscimol (1,00; 3,00 - 1,00) (**Figura 8B**).

Quadrantes visitados

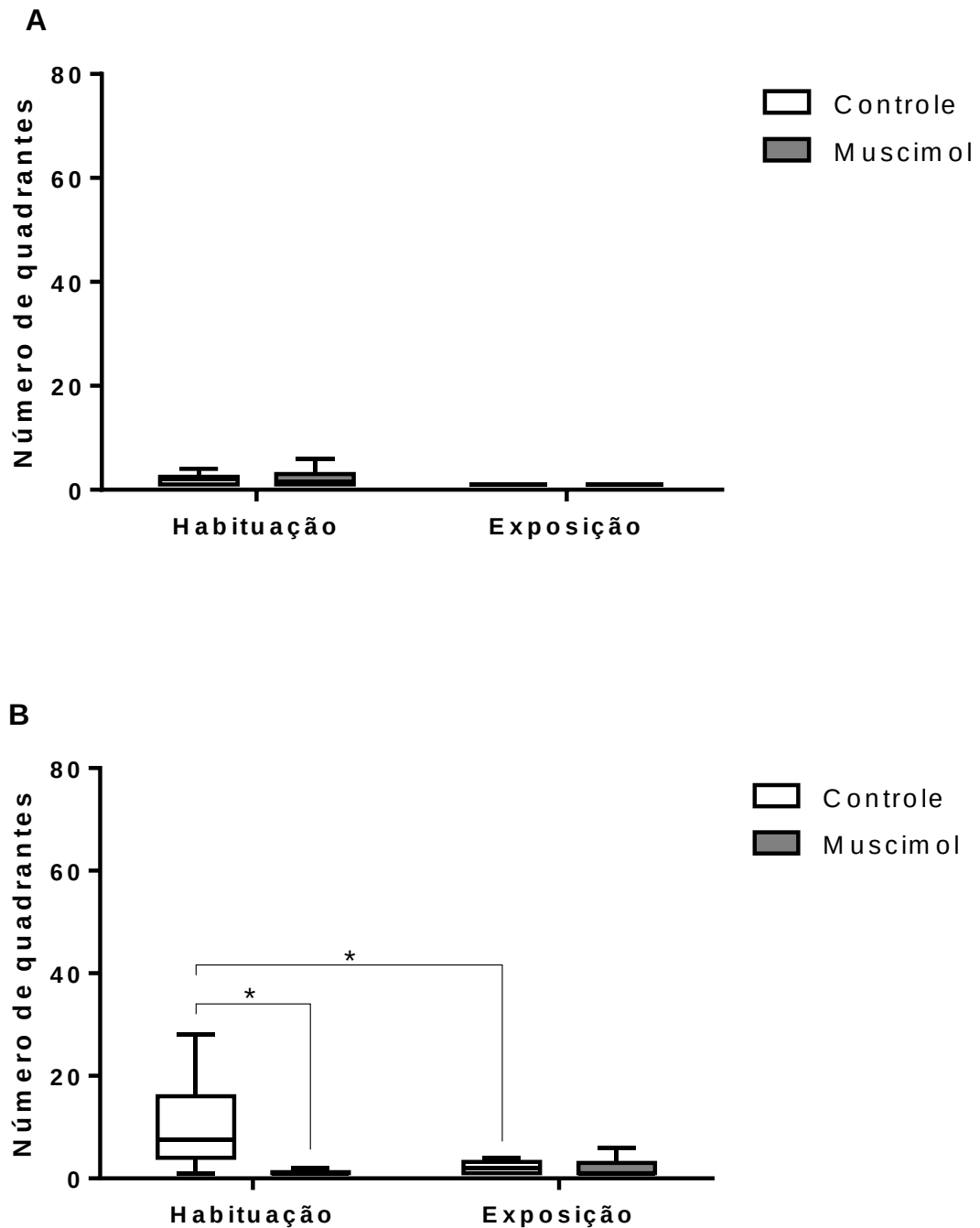


Figura 8: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em **A**, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram uma redução da atividade locomotora, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Quanto ao número de comportamento de deslocamentos realizados durante a sessão de treino, o teste de Wilcoxon demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,125$), quando comparados os dados encontrados no grupo Controle, na habituação (1,00; 3,25 – 0,0) e na exposição (0,0; 0,0 – 0,0). Resultado semelhante foi encontrado, quando comparados os dados do grupo Muscimol, na habituação (0,0; 2,25 – 0,0) e na exposição (0,0; 0,0 – 0,0), que também não foi significativo ($p=0,250$; **Figura 9A**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou ausência de diferença estatisticamente significativa ($p=0,310$), entre os grupos, Controle (1,00; 3,25 – 0,0) e Muscimol (0,0; 2,25 – 0,0). Igualmente, o teste revelou ausência de diferença ($p=0,999$) durante a exposição entre os grupos Controle (0,0; 0,0 – 0,0) e Muscimol (0,0; 0,0 – 0,0) (**Figura 9A**).

Na sessão de teste, o teste Wilcoxon demonstrou que não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,093$) no número de comportamentos de deslocamento dos animais, quando comparados os dados entre o grupo Controle durante a habituação (9,00; 29,50 – 2,25) e exposição (4,00; 8,25 – 1,75). Resultado semelhante foi observado no grupo Muscimol, onde não houve diferença significativa ($p=0,500$), quando comparados os dados apresentados durante a habituação (0,500; 2,00 – 0,0) e exposição (0,0; 3,00 – 0,0) (**Figura 9B**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$), entre os grupos Controle (9,00; 29,50 – 2,25) e Muscimol (0,500; 2,00 – 0,0). Essa redução significativa ($p<0,05$), também foi encontrada quando comparado o grupo Controle (4,00; 8,25 – 1,75) e Muscimol (0,0; 3,00 – 0,0) na exposição (**Figura 9B**).

Deslocamentos

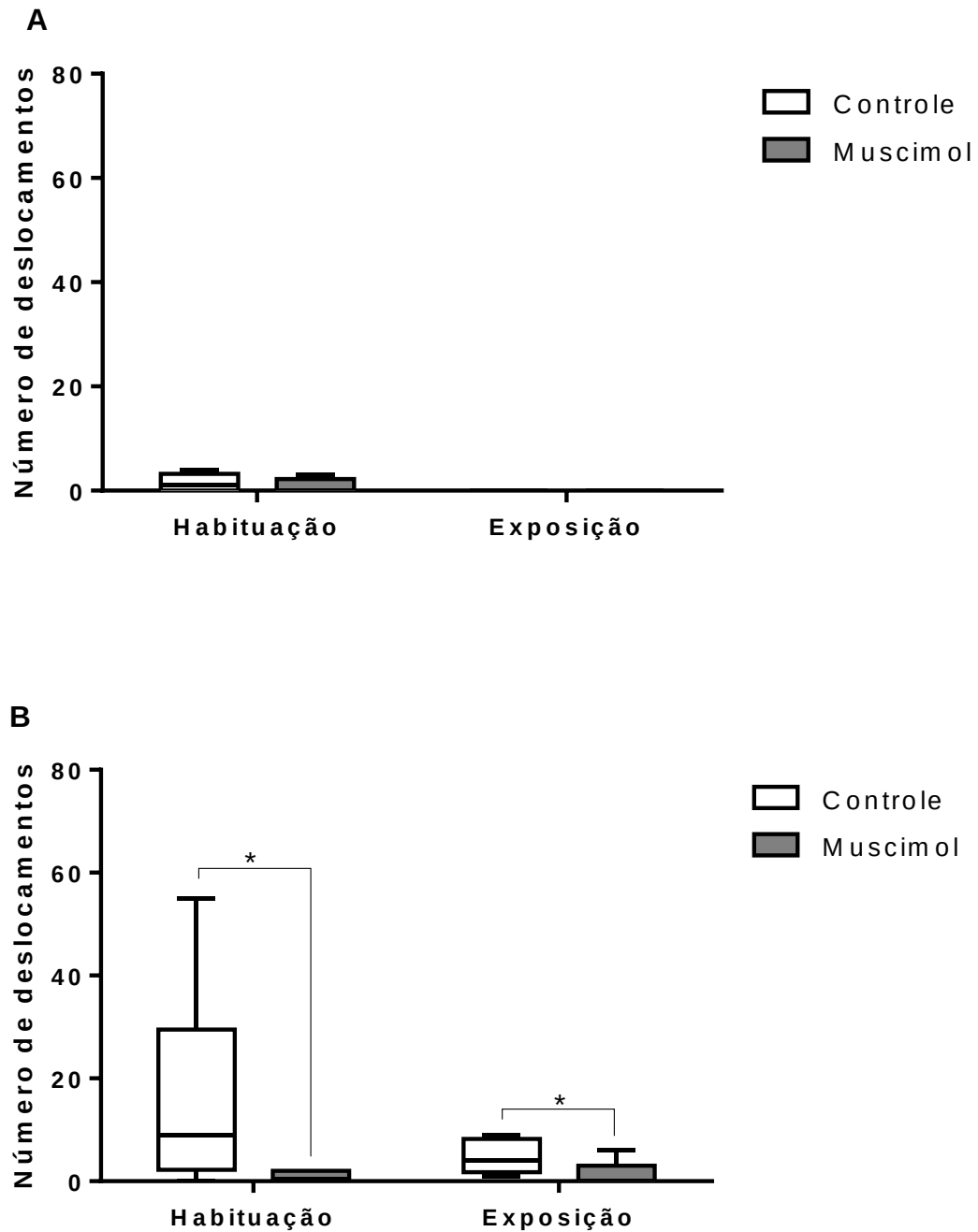


Figura 9: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em A, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em B, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram uma redução do número de deslocamentos iniciados, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon e Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Para o tempo de congelamento total, o teste de Wilcoxon mostrou que não houve diferença no congelamento dos animais do grupo Controle ($p=0,125$), durante a sessão de treino entre a exposição (600,0; 600,0 – 592,0) e na habituação (583,0; 600,0 – 541,3) (**Figura 10A**). Diferentemente, nos animais do grupo Muscimol, o teste demonstrou que houve um aumento no tempo de congelamento entre a exposição (600,0; 600,0 – 590,8) e habituação (576,0; 597,8 – 527,5), considerado estatisticamente significativo ($p<0,05$).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou que não houve diferença ($p=0,248$), no tempo total de congelamento dos animais quando comparados os grupos Controle (583,0; 600,0 – 541,3) e Muscimol (583,0; 600,0 – 541,3). Resultado semelhante foi observado quando comparados os dados dos grupos Controle (600,0; 600,0 – 592,0) e Muscimol (600,0; 600,0 – 590,8) durante a exposição ($p=0,424$) (**Figura 10A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon demonstrou que não houve diferença significativa ($p=0,093$) no tempo total de congelamento dos animais, quando comparados os dados do grupo Controle durante a habituação (490,0; 536,3 – 348,0) com os dados do período de exposição (559,0; 594,8 – 471,5). Resultado semelhante é observado, no grupo Muscimol entre dados obtidos na habituação (595,5; 600,0 – 575,0) e na exposição (598,5; 600,0 – 559,5), em que não apresentou diferença significativa ($p=0,375$; **Figura 10B**).

No período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou um aumento significativo ($p<0,05$), no tempo de congelamento dos animais do grupo Muscimol (595,5; 600,0 – 575,0), quando comparados os dados dos grupos Controle (490,0; 536,3 – 348,0). Entretanto, na exposição não foi demonstrada diferença significativa ($p=0,071$) entre os grupos Controle (559,0; 594,8 – 471,5) e Muscimol (598,5; 600,0 – 559,5) (**Figura 10B**).

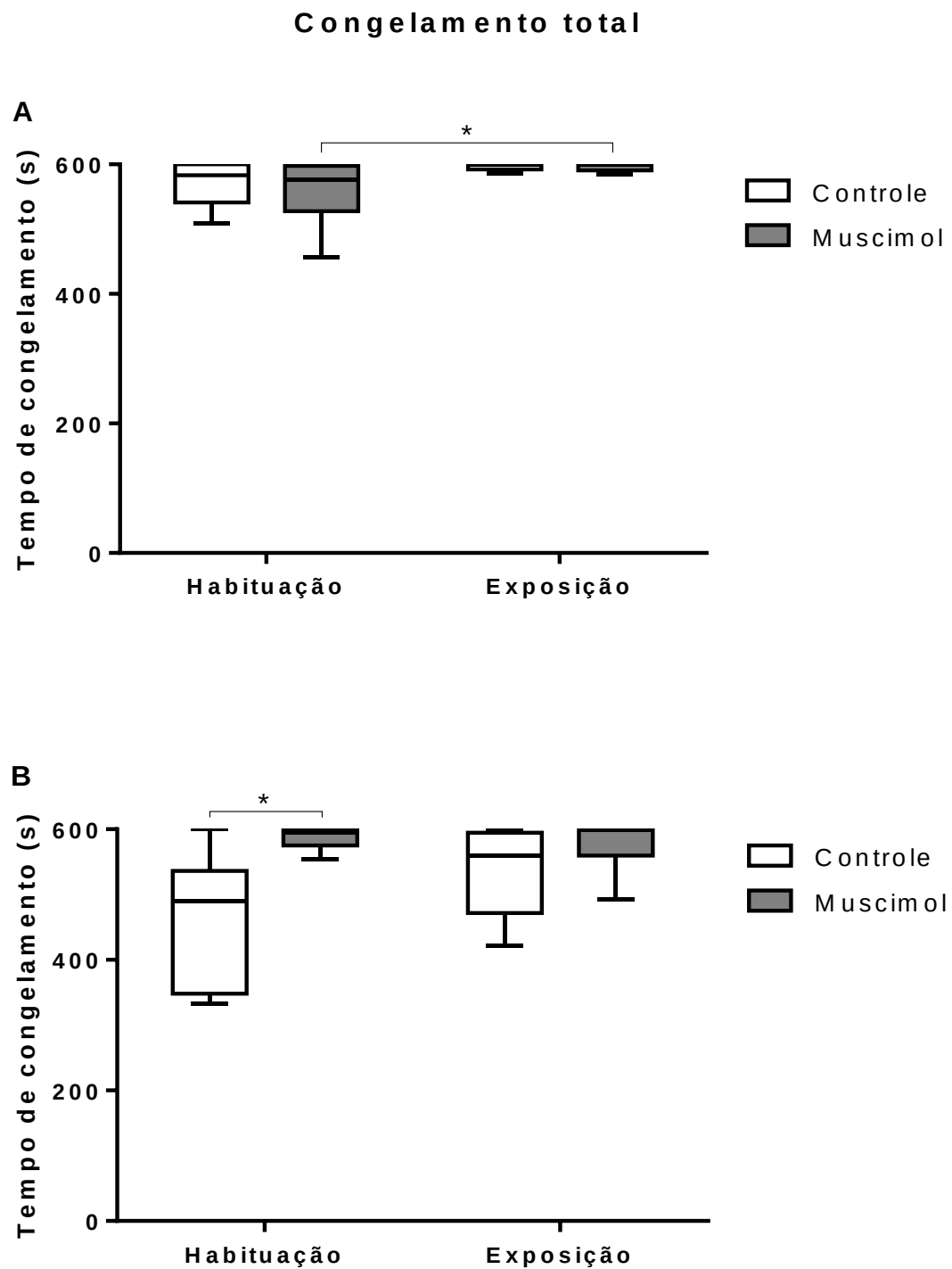


Figura 10: Tempo total de congelamento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em **A**, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram um aumento no tempo total de congelamento, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Quanto a latência para a realização do primeiro movimento, o teste Wilcoxon demonstrou um aumento significativo ($p < 0,05$) no tempo de latência na sessão de treino, no momento da exposição (600,0; 600,0 – 577,5) em relação habituação (552,0; 596,3 – 426,3), no grupo Controle. Resultado semelhante foi observado no grupo Muscimol ($p < 0,05$) na exposição (600,0; 600,0 – 435,5) em relação habituação (303,0; 597,0 – 144,0) (**Figura 11A**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença ($p = 0,208$), entre os grupos Controle (490,0; 536,3 – 348,0) e Muscimol (490,0; 536,3 – 348,0). Resultado semelhante é observado na exposição ($p = 0,363$) entre os grupos Controle (600,0; 600,0 – 577,5) e Muscimol (600,0; 600,0 – 435,5) (**Figura 11A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon mostrou um aumento significativo ($p < 0,05$) na latência para realização do primeiro movimento do animal, no grupo Controle na exposição (514,5; 600,0 – 381,3) em relação a habituação (290,0; 365,5 – 195,5) (**Figura 11B**). Porém, no grupo Muscimol não houve diferença significativa ($p = 0,187$), entre a exposição (512,0; 600,0 – 317,8) e habituação (374,5; 600,0 – 93,00).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney revelou que não houve diferença significativa ($p = 0,456$), entre os grupos Controle (290,0; 365,5 – 195,5) e Muscimol (374,5; 600,0 – 93,00). Resultado semelhante foi observado na exposição, quando não houve diferença significativa ($p = 0,435$) entre os grupos Controle (514,5; 600,0 – 381,3) e Muscimol (512,0; 600,0 – 317,8) (**Figura 11B**).

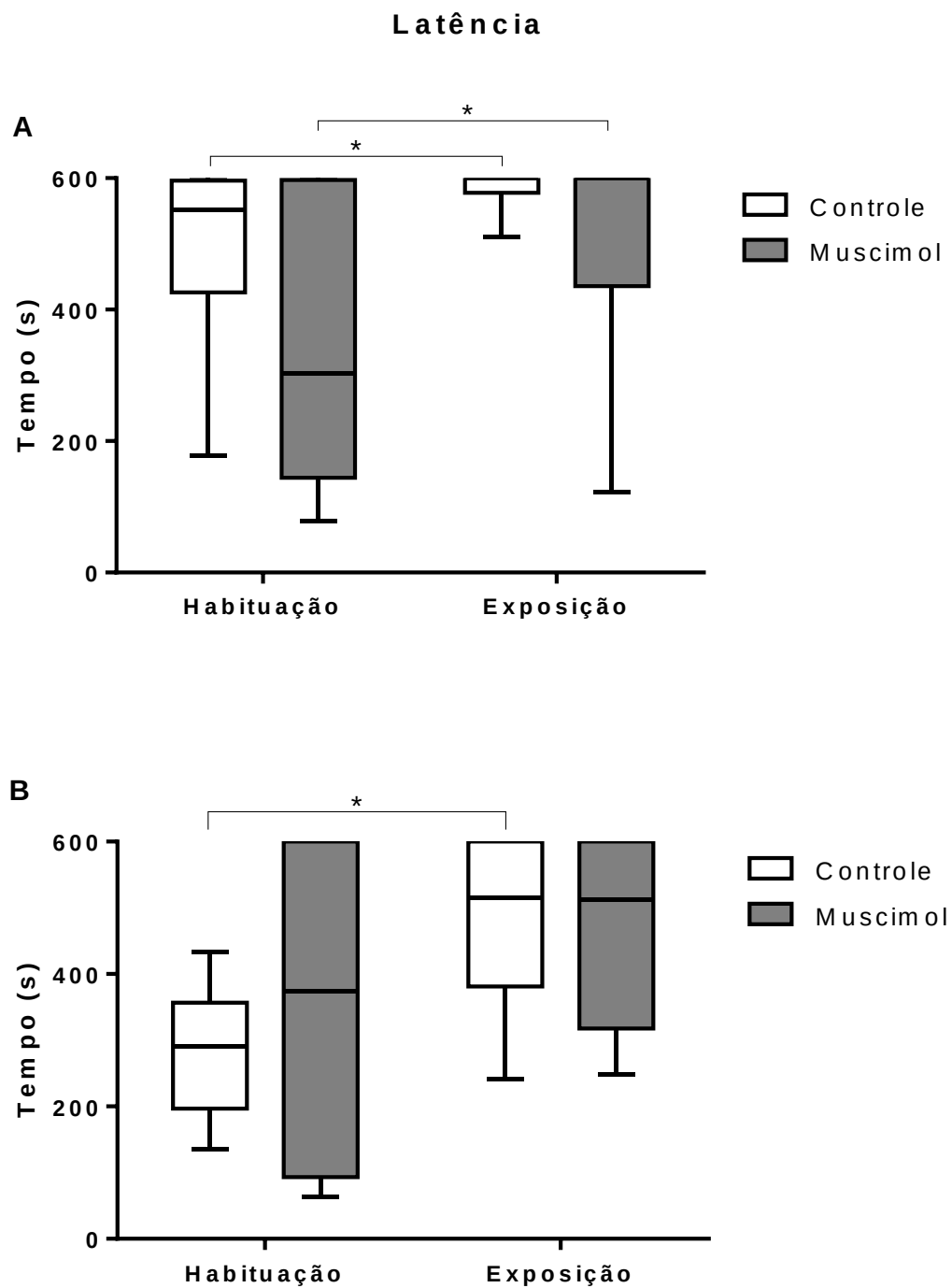


Figura 11: Tempo de latência para realização do primeiro movimento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de consolidação da memória aversiva. Em **A**, a latência para o primeiro movimento apresentada pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, a latência para o primeiro movimento apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram um aumento no tempo de latência para realizar seu primeiro movimento, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

5.3. Experimento III: Evocação da memória aversiva.

Para o número de quadrantes visitados, o teste de Wilcoxon mostrou uma redução significativa da atividade locomotora dos lagartos do grupo Controle ($p < 0,05$), durante a sessão de treino na exposição (Mediana = 1,00; $Q1 = 1,00 - Q3 = 1,00$) em relação a habituação (2,00; 4,50 – 1,50). Resultado semelhante foi demonstrado pelo teste na atividade locomotora dos animais do grupo Muscimol ($p < 0,05$), na exposição (1,00; 2,50 – 1,00) e relação a habituação (4,00; 34,50 – 2,00) (**Figura 12A**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney revelou que não houve diferença ($p = 0,082$) no número de quadrantes visitados pelo grupo Controle na habituação (2,00; 4,50 – 1,50), quando comparado com grupo Muscimol (4,00; 34,50 – 2,00). No momento da exposição, o teste também mostrou que não houve diferença significativa ($p = 0,277$), entre os grupos Controle (1,00; 1,00 – 1,00) e Muscimol (1,00; 2,50 – 1,00) (**Figura 12A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon mostrou uma redução significativa ($p < 0,05$), entre os valores encontrados para o número de quadrantes visitados para o grupo Controle, na exposição (2,00; 5,00 – 1,00) e durante a habituação (6,00; 22,50 – 4,00) (**Figura 12B**). Mas, quando comparados os valores encontrados entre o grupo Muscimol, na habituação (1,00; 16,50 – 1,00) e na exposição (2,00; 4,00 – 1,00), não houve diferença significativa ($p = 0,250$).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença significativa ($p = 0,116$) entre os grupos, Controle (6,00; 22,50 – 4,00) e Muscimol (1,00; 16,50 – 1,00). Na exposição, o teste também não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p = 0,480$), quando comparados os valores apresentados pelos grupos Controle (2,00; 5,00 – 1,00) e Muscimol (2,00; 4,00 – 1,00) (**Figura 12B**).

Quadrantes visitados

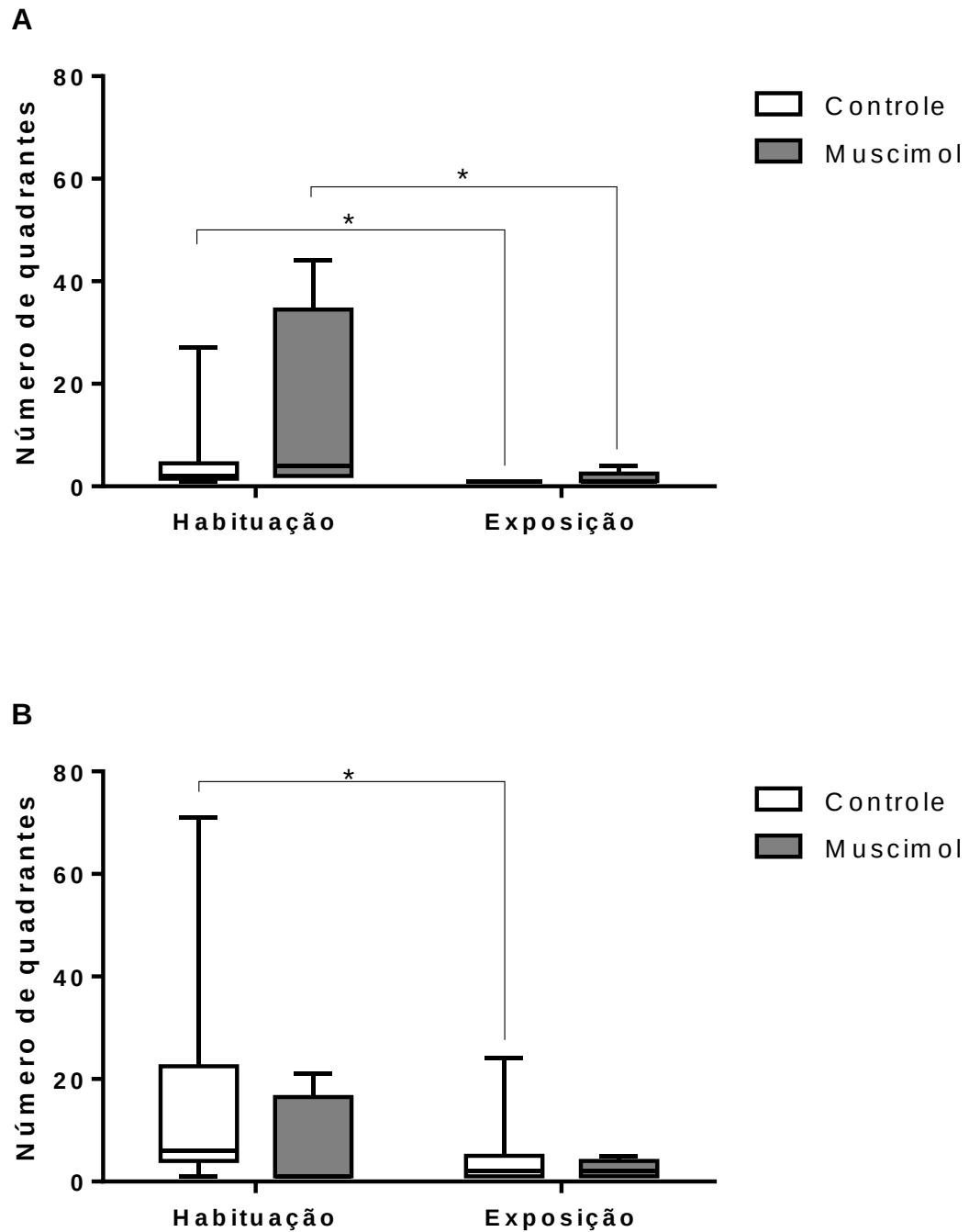


Figura 12: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em **A**, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, número de quadrantes visitados pelos animais do grupo Controle e Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram uma redução da atividade locomotora, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Quanto ao número de comportamento de deslocamentos realizados durante a sessão de treino, o teste de Wilcoxon demonstrou uma redução significativa ($p < 0,05$), quando comparados os dados encontrados no grupo Controle na exposição (0,0; 0,0 – 0,0) entre a habituação (3,00; 12,00 – 0,0). Resultado semelhante é observado quando comparados os dados no grupo Muscimol ($p < 0,05$), na exposição (0,0; 0,0 – 0,0) entre a habituação (2,00; 46,50 – 1,00) (**Figura 13A**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou ausência de diferença estatisticamente significativa ($p = 0,271$), entre os grupos Controle (3,00; 12,00 – 0,0) e Muscimol (3,00; 12,00 – 0,0). Igualmente, o teste revelou ausência de diferença ($p = 0,277$) durante a exposição entre os grupos Controle (0,0; 0,0 – 0,0) e Muscimol (0,0; 3,00 – 0,0) (**Figura 13A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon demonstrou uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no número de comportamentos de deslocamento dos animais, quando comparados os dados entre grupo Controle na exposição (4,00; 10,50 – 0,0) e na habituação (14,00; 24,75 – 2,25). Mas, não foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0,315$), quando comparados os dados apresentados durante a habituação (0,0; 25,00 – 0,0) e exposição (5,00; 15,00 – 0,500), no grupo Muscimol (**Figura 13B**).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença significativa ($p = 0,223$), entre os grupos Controle (14,00; 24,75 – 2,25) e Muscimol (0,0; 25,00 – 0,0). Resultado semelhante foi observado quando comparados os dados do período de exposição dos grupos Controle (4,00; 10,50 – 0,0) e Muscimol (5,00; 15,00 – 0,500), também não houve diferença significativa ($p = 0,411$) (**Figura 13B**).

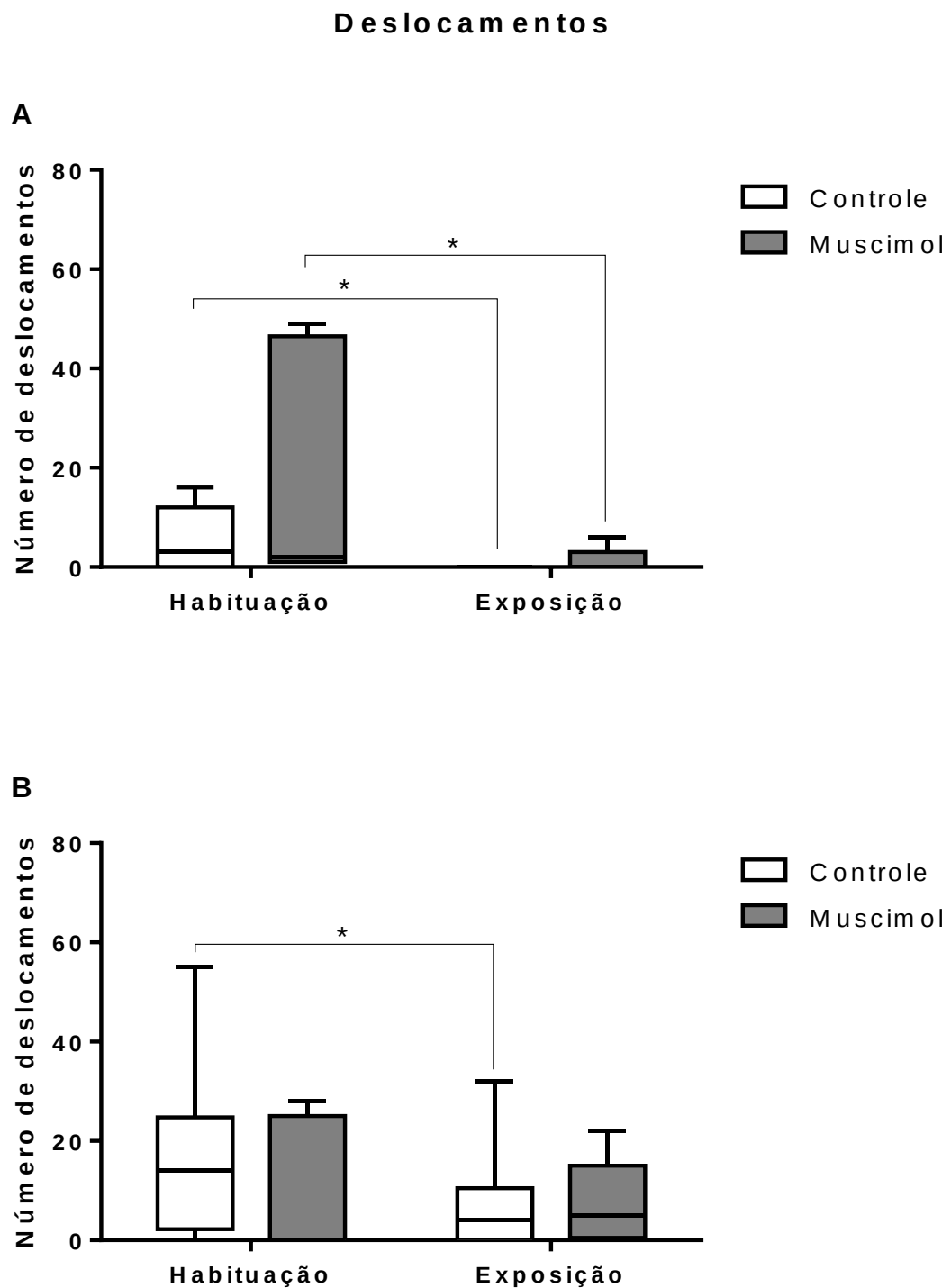


Figura 13: Atividade locomotora apresentada pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em **A**, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, número de comportamentos de deslocamento iniciados pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram uma redução do número de deslocamentos iniciados, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Para o tempo de congelamento total, o teste de Wilcoxon demonstrou um aumento significativo no congelamento entre os animais do grupo Controle ($p < 0,05$) durante a sessão treino (Dia 1), na exposição (600,0; 600,0 – 594,0) e na habituação (593,0; 600,0 – 530,5) e (**Figura 14A**). Resultado semelhante, foi demonstrado nos animais do grupo Muscimol ($p < 0,05$), em que houve aumento do tempo de *freezing*, entre os períodos de exposição (600,0; 600,0 – 528,5) e a habituação (563,0; 582,5 – 215,0).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney mostrou que não houve diferença ($p = 0,079$), no tempo total de congelamento dos animais quando comparados os grupos Controle (593,0; 600,0 – 530,5) e Muscimol (563,0; 582,5 – 215,0). Resultado semelhante é observado quando comparados os dados dos grupos Controle (600,0; 600,0 – 594,0) e Muscimol (600,0; 600,0 – 528,5), no período de exposição ($p = 0,381$) (**Figura 14A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon demonstrou aumento significativo ($p < 0,05$), no tempo total de congelamento dos animais, quando comparados os dados entre o grupo Controle durante a exposição (569,0; 600,0 – 438,5) com os dados do período de habituação (421,0; 549,5 – 294,0). Porém, não houve diferença significativa ($p = 0,312$) para o grupo Muscimol entre dados obtidos na habituação (600,0; 600 – 340,0) e na exposição (583,0; 597,0 – 478,5) (**Figura 14B**).

No período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença significativa ($p = 0,160$), no tempo de congelamento dos animais do grupo Muscimol (600,0; 600 – 340,0), quando comparados os dados do grupo Controle (421,0; 549,5 – 294,0). Na exposição também não foi demonstrado diferença significativa ($p = 0,430$) entre os grupos Controle (569,0; 600,0 – 438,5) e Muscimol (583,0; 597,0 – 478,5) (**Figura 14B**).

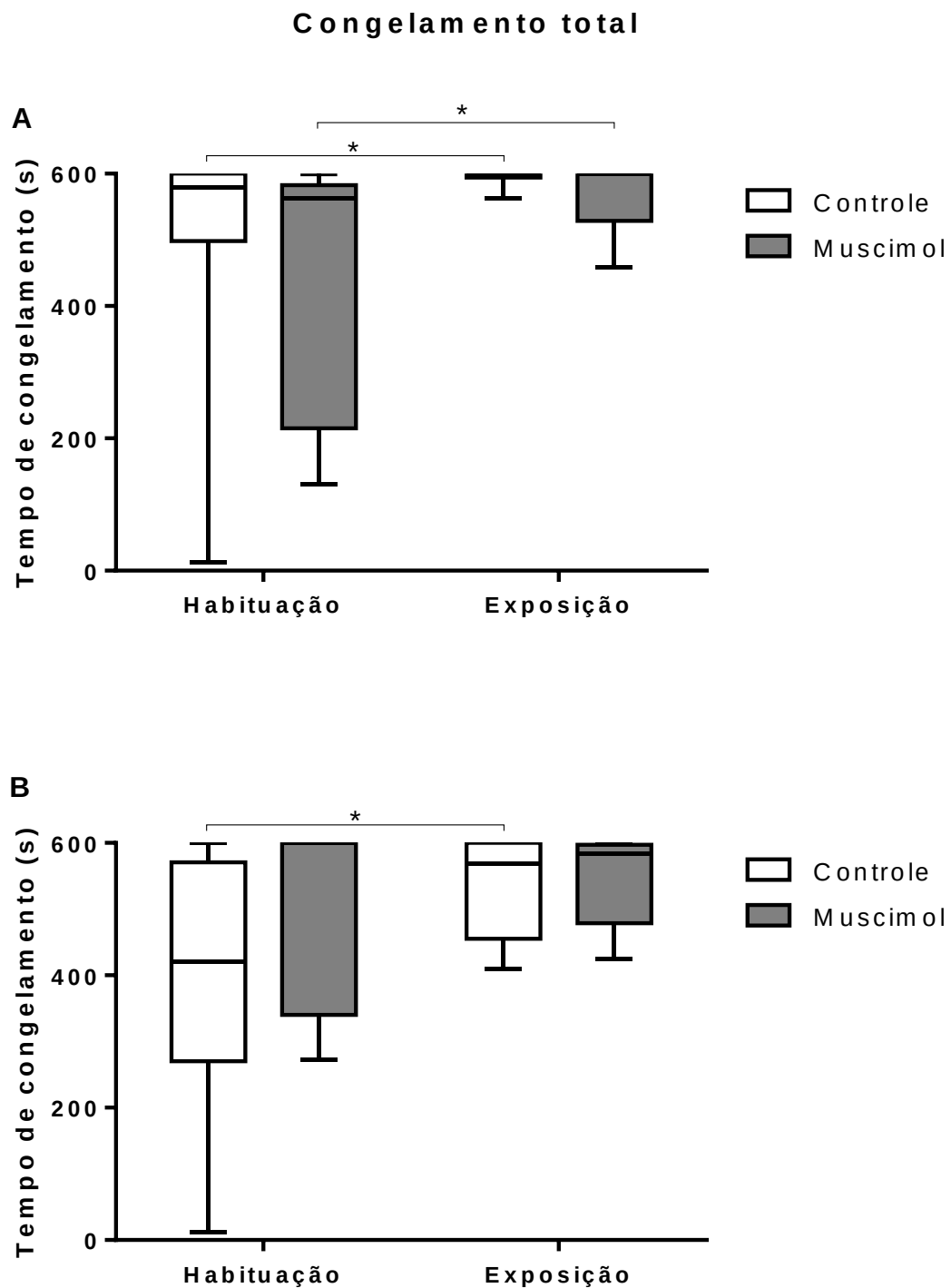


Figura 14: Tempo total de congelamento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em **A**, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, o congelamento total apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram um aumento no tempo total de congelamento, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Quanto a latência para a realização do primeiro movimento, o teste Wilcoxon demonstrou um aumento significativo ($p < 0,05$) entre o tempo de latência na sessão de treino, no momento da exposição (600,0; 600,0 – 555,0) e em relação a habituação (355,5; 596,3 – 67,00) no grupo Controle (**Figura 15A**). Porém, não houve diferença significativa ($p = 0,062$) para o grupo Muscimol na habituação (409,0; 570,0 – 166,5) e na exposição (600,0; 600,0 – 338,5).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença ($p = 0,387$), entre os grupos Controle (355,5; 596,3 – 67,00) e Muscimol (409,0; 570,0 – 166,5). Resultado semelhante é observado na exposição ($p = 0,232$) entre os grupos Controle (600,0; 600,0 – 555,0) e Muscimol (600,0; 600,0 – 338,5) (**Figura 15A**).

Na sessão de teste, o teste de Wilcoxon mostrou um aumento significativo ($p < 0,05$) na latência para realização do primeiro movimento do animal, no grupo Controle entre a exposição (429,0; 600,0 – 193,0) e na habituação (208,5; 356,5 – 59,75) e (**Figura 15B**). Porém, no grupo Muscimol não houve diferença significativa ($p = 0,312$), na exposição (389,0; 536,5 – 145,5), quando comparado ao período de habituação (600,0; 600,0 – 111,5).

Durante o período de habituação, o teste de Mann-Whitney demonstrou que não houve diferença significativa ($p = 0,142$) no tempo de latência entre os grupos Controle (208,5; 356,5 – 59,75) e Muscimol (600,0; 600,0 – 111,5). Resultado semelhante foi encontrado na exposição ($p = 0,308$) entre os grupos Controle (429,0; 600,0 – 193,0) e Muscimol (389,0; 536,5 – 145,5) (**Figura 15B**).

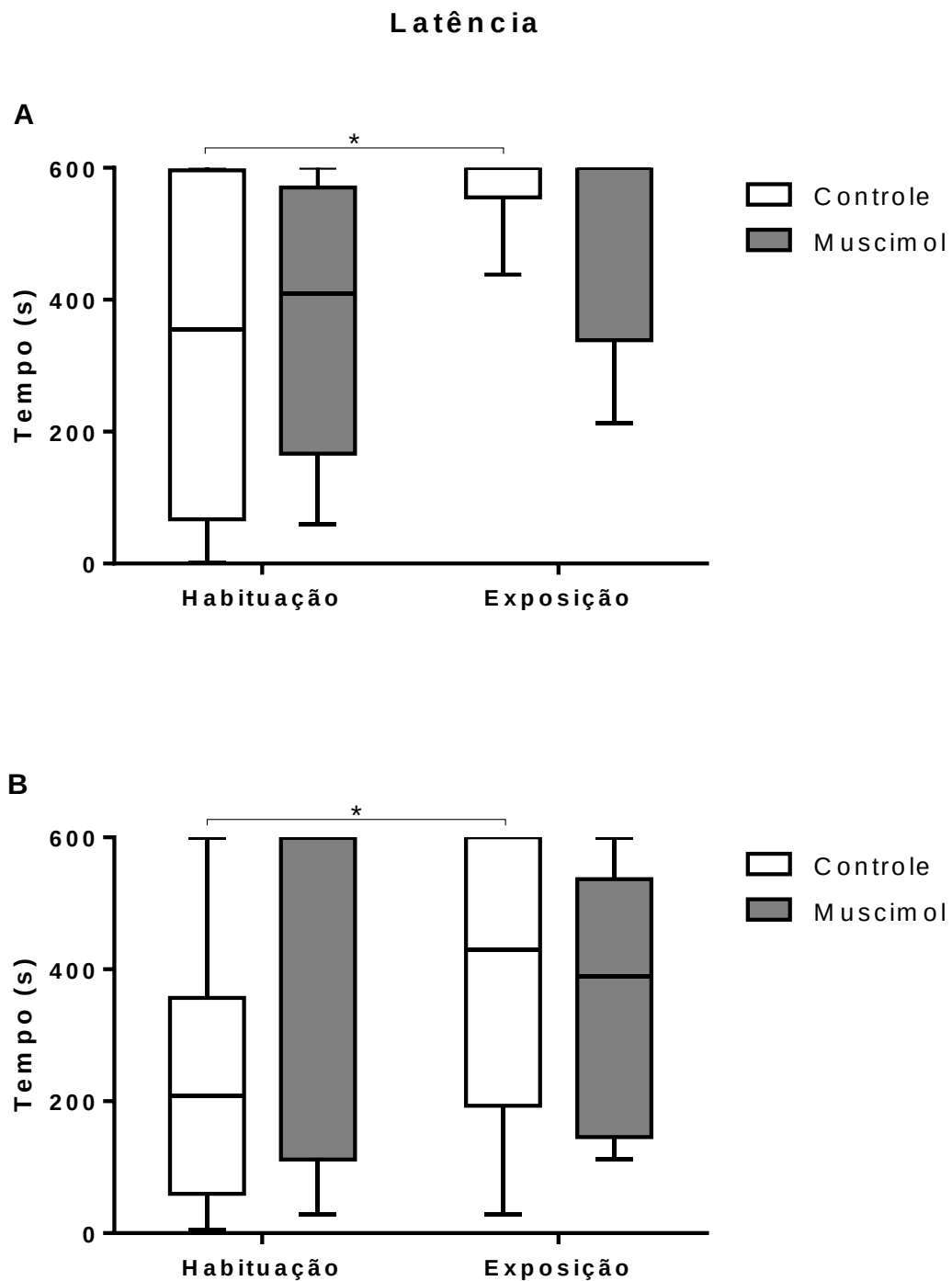


Figura 15: Tempo de latência para realização do primeiro movimento apresentado pelos lagartos na sessão de treino e de teste no Experimento de evocação da memória aversiva. Em **A**, a latência para o primeiro movimento apresentada pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol no treino. Em **B**, a latência para o primeiro movimento apresentado pelos animais do grupo Controle e grupo Muscimol na sessão teste. Durante os períodos de exposição os animais de ambos grupos Controle e Muscimol, apresentaram um aumento no tempo de latência para realizar seu primeiro movimento, quando comparados aos períodos de habituação. Os dados foram representados com mediana e intervalos interquartis. Foram utilizados os testes de Wilcoxon ou Mann-Whitney e valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6. DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram, durante a sessão de treino do Experimento I, que mesmo após o bloqueio do córtex dorsal com Muscimol, os animais foram capazes de responder ao estímulo aversivo, semelhante ao grupo Controle (**Figuras 4A, 5A, 6A e 7A**). Na sessão de teste, os animais do grupo Muscimol apresentam um prejuízo na memória, que é observado pela diminuição da latência para realizar o primeiro movimento (**Figura 7B**). Na sessão de teste do Experimento II, os animais que tiveram o bloqueio do córtex dorsal com Muscimol, logo após o estímulo aversivo no dia do treino, apresentaram um prejuízo na consolidação da memória aversiva, uma vez que, ao entrar no aparato pareciam não recordar da tarefa (**Figuras 8B, 9B, 10B e 11B**). O bloqueio do córtex dorsal minutos antes da sessão de teste do Experimento III, foi capaz de causar um prejuízo no processo de evocação da memória aversiva (**Figuras 12B, 13B, 14B e 15B**).

Há mais de cinquenta anos, Brenda Milner, através dos seus estudos relacionados ao paciente H.M (Henry Molaison), que teve remoção bilateral do lobo temporal, demonstrou que essa estrutura (hipocampo) desempenha um papel importante na formação de novas memórias de caráter declarativo (explícita), mas não em memórias de caráter não-declarativo (implícita), como memórias de aprendizado motor (SCOVILLE; MILNER, 1957; KANDEL; DUDAI; MAYFORD, 2014; KANDEL, b2012). Desde então, o número de estudos relacionados ao hipocampo e seu papel na formação dos diferentes tipos de memórias vem crescendo e tomando grande importância na neurobiologia da memória.

Na literatura já está bem estabelecido que o hipocampo, mais especificamente a sub-região CA1, seja o responsável pelo processamento do engrama (rede responsável pelo processamento e codificações de informações) da memória social. A memória social é um dos componentes cruciais das memórias episódicas. Animais sociais exibem esse tipo de memória ao desempenharem atividades comportamentais relacionadas a agressividade e evitação (OKUYAMA, 2018).

Embora apresentem diferenças macro anatômicas entre os grupos de vertebrados, a nível micro anatômico e funcionalmente o hipocampo mantém homologias importantes, entre elas, seu envolvimento nos processos mnemônicos da

memória (COLOMBO; BROADBENT, 2000; STRIEDTER, 2016). Entre essas homologias, destacam-se as que ocorrem entre as principais áreas do Hipocampo. Através de técnicas de biologia molecular, celular e histológicas, tem sido demonstrado que o hipocampo de mamíferos possui homologias com áreas corticais do cérebro reptiliano: (1) o giro denteado de mamíferos é homólogo ao córtex medial dos répteis, por apresentarem neurônios microgranulares glutamatérgicos, reativos ao zinco, que estão presentes nesta área e se projetam para o córtex dorso-medial; a área CA3 dos mamíferos é homóloga ao córtex dorsal dos répteis, por apresentarem interneurônios piramidais que projetam para o corte dorsal e (3) a área CA1 é homóloga ao córtex dorsal do hipocampo reptiliano, área de saída de informações do hipocampo, nos mamíferos e nos répteis (MOLOWNY et al., 1987). Essas homologias mostram que modelos animais com lagartos podem ser promissores nas investigações da neurobiologia comparativa, no âmbito dos processos mnemônicos da memória.

Nesse sentido, pesquisas mostram que lesões no hipocampo reptiliano são capazes de provocar prejuízos na memória destes animais (DAY; CREWS; WILCZYNSKI, 2001; DAVIS; BURGHARDT, 2007; LOPEZ et al., 2013a; LOPEZ et al., 2013b), da mesma forma que, em mamíferos, lesões (FROUDIST-WALSH et al., 2018; HUCKLEBERRY et al., 2018; OPRISAN; BUHUSI; BUHUSI, 2018; SCOVILLE; MILNER, 1957) ou um bloqueio (LEÃO et al., 2016) da ação do hipocampo são capazes de causar prejuízos na memória. Além disso, Santos (2016), utilizando protocolo similar ao aplicado no presente estudo, demonstrou que lagartos apresentam um aumento da imunorreatividade da proteína Zif268 no córtex dorsal reptiliano, após a exposição e evocação do estímulo aversivo, indicando um aumento da atividade dessa área hipocampal durante a formação e evocação da memória. Para confirmar essa ideia, no presente estudo, a atividade do córtex dorsal foi bloqueada com o Muscimol em momentos distintos da tarefa. Tomados em conjunto, nossos resultados corroboram a hipótese defendida por Santos (2016), sendo o hipocampo reptiliano uma das áreas envolvidas com os diferentes processos de memórias.

Leão et al. (2016) avaliaram a participação da área CA1 do hipocampo dorsal de ratos, através do bloqueio por Muscimol dessa estrutura, em uma tarefa de esquila discriminativa do labirinto em cruz, uma modificação do labirinto em cruz elevado, que utiliza um estímulo aversivo como pista. Os autores demonstraram que os animais

eram capazes de aprender a tarefa no dia treino. O comportamento entre o grupo controle e tratado com Muscimol não se diferiam no dia do treino. Por um outro lado, no dia do teste os animais do grupo Muscimol apresentam prejuízo na evocação da memória aversiva, indicando a participação da região CA1 como componente essencial no processo de consolidação de memórias do tipo aversiva. Nossos resultados corroboram esse estudo, uma vez que, demonstramos que mesmo sob uma condição de bloqueio do córtex dorsal, os lagartos *T. hispidus*, foram capazes de aprender a tarefa no dia do treino (**Figuras 4A, 5A, 6A e 7A**), uma vez que responderam de forma semelhante ao grupo controle, mas não foram capazes de recordar a tarefa durante a fase de teste (**Figuras 4B, 5B, 6B e 7B**).

Vale ressaltar, que apesar de CA1 estar envolvida nos processos de memórias, essa mesma estrutura parece não participar da expressão de respostas aversivas. Lesões realizadas na área CA1, antes dos animais serem apresentados a estímulos aversivos, são capazes de prejudicar a memória aversiva de ratos Wistar na tarefa de esquivas discriminativas do labirinto em cruz. Mas, essa lesão não é capaz de impedir que o animal responda aversivamente ao estímulo negativo (GUIMARÃES MARQUES et al., 2018). Nossos dados também corroboram essa ideia, quando no dia do treino, mesmo após bloqueio do córtex dorsal, os lagartos *T. hispidus* apresentam comportamentos aversivos.

Descartamos a possibilidade do congelamento apresentado pelos lagartos, no experimento II, durante a sessão de teste, ser resultante de uma hipolocomoção dos animais sob efeito do Muscimol no hipocampo. Corroborando essa ideia, em um estudo realizado com ratos, injeções bilaterais do Muscimol em CA1 foram capazes de prejudicar a consolidação da memória aversiva sem prejudicar a atividade locomotora do animal durante a tarefa, no dia do teste de evocação da memória aversiva (NASEHI et al., 2016).

Em roedores, o bloqueio de estruturas como hipocampo dorsal, prejudica na aprendizagem e consolidação de memória de contexto aversivo (CANTO-DE-SOUZA; MATTIOLI, 2016). Acredita-se que esses eventos sejam mediados através da participação do sistema serotoninérgico na região CA1 (SCHMIDT et al., 2017). Além disso, a dificuldade em aprender ou de recuperar memórias em experimentos de condicionamento clássico realizados com ratos, está relacionada ao bloqueio ou

inibição da LTP (*Long-term potentiation*) em regiões hipocâmpais como CA1 e CA3 (GRUART; MUÑOZ; DELGADO-GARCÍA, 2006). Sendo assim, acreditamos que, possivelmente, o fenômeno de LTP nos lagartos, esteja sendo boqueado após a microinjeção de Muscimol, sendo esse um dos principais fatores para a ocorrência dos déficits observados na evocação da memória aversiva.

Dentre todos os processos de memórias, a capacidade de recordar as informações obtidas em eventos do passado, sem dúvidas é uma das principais funções neurobiológicas que determinam o comportamento de sobrevivência em várias espécies (SZAPIRO et al., 2002). Em roedores, sabe-se que a área CA1 está envolvida nesse processo. Quando essa estrutura é inativada através da microinjeção de deca-hidroisoquinolina, um antagonista dos receptores AMPA/cainato, os animais são impossibilitados de recuperar a memória espacial (RIEDEL et al., 1999). Nessa mesma linha, algo semelhante acontece em nossos resultados com a utilização de Muscimol no córtex dorsal do lagarto, quando os animais apresentam alterações nos parâmetros comportamentais, que se configuram como um déficit na capacidade de evocar.

O presente estudo mostra que além das homologias de natureza morfológica, existem homologias relacionadas a mecanismos funcionais precisos entre a área CA1 dos mamíferos e o córtex dorsal em lagartos. Além disso, observa-se que essa mesma área mantém preservada, sua participação, nos diferentes processos de memórias. Uma vez que, na espécie de lagarto *T. hispidus* o córtex dorsal parece estar envolvido na aquisição, consolidação e evocação de memórias aversivas e, em roedores, o mesmo é observado (ABEL; LATTAL, 2001; NYBERG et al., 2000).

7. CONCLUSÃO

O córtex dorsal dos lagartos tem papel importante nos processos de aquisição, consolidação e evocação de memórias aversivas, mas essa mesma estrutura não é necessária para que os animais apresentem respostas aversivas. Evolutivamente, o papel do córtex dorsal nos processos de memória parece estar preservado. O presente estudo contribui para um melhor esclarecimento sobre os aspectos evolutivos envolvidos nos processos de memória.

REFERÊNCIAS

- ABEL, T.; LATTAL, K. M. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. **Cognitive Neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 180–187, 2001.
- ABRAHAM, A. D.; NEVE, K. A.; LATTAL, K. M. Dopamine and extinction: A convergence of theory with fear and reward circuitry. **Neurobiol Learn Mem**, p. 1–21, 2015.
- AMARAL, O. B.; LUFT, T.; CAMMAROTA, M.; IZQUIERDO, I.; ROESLER, R. Temporary inactivation of the dorsal hippocampus induces a transient impairment in retrieval of aversive memory. **Behavioural Brain Research**, v. 180, n. 2, p. 113–118, 2007.
- ANJOS, L. A.; ÁVILA, R. W.; RIBEIRO, S. C.; ALMEIDA, W. O.; SILVA, R. J. DA. Gastrointestinal nematodes of the lizard *Tropidurus hispidus* (Squamata: Tropiduridae) from a semi-arid region of north-eastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 87, n. 4, p. 443–449, 2013.
- ARAGÓN, P.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J. Increased predation risk modifies lizard scent-mark chemicals. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, v. 309, n. 7, p. 427–433, 2008.
- BAECKENS, S.; DRIESSENS, T.; DAMME, R. VAN. Intersexual chemo-sensation in a “visually-oriented” lizard, *Anolis sagrei*. **PeerJ**, v. 4, p. 1–14, 2016.
- BEKINSCHTEIN, P.; KATCHE, C.; SLIPCZUK, L. N.; IGAZ, L. M.; CAMMAROTA, M.; IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. mTOR signaling in the hippocampus is necessary for memory formation. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 87, n. 2, p. 303–307, 2007.
- BLANCHARD, D. C.; BLANCHARD, R. J. Chapter 2.4 Defensive behaviors, fear, and anxiety. **Handbook of Behavioral Neuroscience**, v. 17, n. 07, p. 63–79, 2008.
- BOSMAN, C. A.; ABOITIZ, F. Functional constraints in the evolution of brain circuits. **Frontiers in Neuroscience**, v. 9, p. 1–14, 2015.
- BUTLER, A. N. N. B.; NORTHCUTT, R. G. Architectonic Studies of the Diencephalon of *Iguana iguana* (Linnaeus). **World**, v. 149, p. 439–462, 1899.
- CANTO-DE-SOUZA, L.; MATTIOLI, R. The consolidation of inhibitory avoidance memory in mice depends on the intensity of the aversive stimulus: The involvement of the amygdala, dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 130, p. 44–51, 2016.
- CARVALHO PIMENTEL, H. DE; SANTOS, J. R. DOS; MACÊDO-LIMA, M.; ALMEIDA, F. T. C. DE; SANTOS, M. L.; MOLOWNY, A.; PONSODA, X.; LOPEZ-GARCIA, C.; MARCHIORO, M. Structural organization of the cerebral cortex of the neotropical lizard *Tropidurus hispidus*. **Cell and Tissue Research**, v. 343, n. 2, p. 319–330, 2011.
- COHEN, R. E.; ROACH, J.; WADE, J. The distribution of estrogen receptor β mRNA

in male and female green anole lizards. **Brain Research**, v. 1430, p. 43–51, 2012.

COHEN, R. E.; WADE, J. Distribution of two isozymes of 5 α -reductase in the brains of adult male and female green anole lizards. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 76, n. 3–4, p. 279–288, 2011.

DAUMAS, S.; HALLEY, H.; FRANCÉS, B.; LASSALLE, J. M. Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: Differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions. **Learning and Memory**, v. 12, n. 4, p. 375–382, 2005.

DAY, B. L.; CREWS, D.; WILCZYNSKI, W. Effects of medial and dorsal cortex lesions on spatial memory in lizards. **Behavioural Brain Research**, v. 118, n. 1, p. 27–42, 2001.

DAY, L. B.; CREWS, D.; WILCZYNSKI, W. Spatial and reversal learning in congeneric lizards with different foraging strategies. **Animal Behaviour**, v. 57, n. 2, p. 393–407, 1999.

DELGADO-GONZALEZ, F. J.; GONZALEZ-GRANERO, S.; TRUJILLO-TRUJILLO, C. M.; GARCÍA-VERDUGO, J. M.; DAMAS-HERNANDEZ, M. C. Study of adult neurogenesis in the gallotia galloti lizard during different seasons. **Brain Research**, v. 1390, p. 50–58, 2011.

DESFILIS, E.; ABELLÁN, A.; SENTANDREU, V.; MEDINA, L. Expression of regulatory genes in the embryonic brain of a lizard and implications for understanding pallial organization and evolution. **Journal of Comparative Neurology**, v. 526, n. 1, p. 166–202, 2018.

ESPERIDIAO-ANTONIO, V.; MAJESKI-COLOMBO, M.; TOLEDO-MONTEVERDE, D.; MORAES-MARTINS, G.; FERNANDES, J. J.; ASSIS, M. B. DE; SIQUEIRA-BATISTA, R. Neurobiology of the emotions. **Revista De Psiquiatria Clinica**, v. 35, n. 2, p. 55–65, 2008.

FAROVIK, A.; DUPONT, L. M.; EICHENBAUM, H. Distinct roles for dorsal CA3 and CA1 in memory for sequential nonspatial events. **Learning and Memory**, v. 17, n. 1, p. 801–806, 2010.

FAVORITO, R.; MONACO, A.; GRIMALDI, M. C.; FERRANDINO, I. Effects of cadmium on the glial architecture in lizard brain. **European journal of histochemistry**, v. 61, n. 1, p. 2734, 2017.

FILHO, J. A. A.; BRITO, S. V.; LIMA, V. F.; PEREIRA, A. M. A.; MESQUITA, D. O.; ALBUQUERQUE, R. L.; ALMEIDA, W. O. Influence of temporal variation and host condition on helminth abundance in the lizard *Tropidurus hispidus* from north-eastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 91, n. 3, p. 312–319, 2017.

FOA, A.; BASAGLIA, F.; BELTRAMI, G.; CARNACINA, M.; MORETTO, E.; BERTOLUCCI, C. Orientation of lizards in a Morris water-maze: roles of the sun compass and the parietal eye. **Journal of Experimental Biology**, v. 212, n. 18, p. 2918–2924, 2009.

FROUDIST-WALSH, S.; BROWNING, P. G. F.; CROXSON, P. L.; MURPHY, K. L.;

LEA SHAMY, J.; VEUTHEY, T. L.; WILSON, C. R. E.; BAXTER, M. G. The rhesus monkey hippocampus critically contributes to scene memory retrieval, but not new learning. **The Journal of Neuroscience**, 2018.

GAALEMA, D. E. Visual Discrimination and Reversal Learning in Rough-Necked Monitor Lizards (*Varanus rudicollis*). **Journal of Comparative Psychology**, v. 125, n. 2, p. 246–249, 2011.

GARCÍA-ROA, R.; JARA, M.; LÓPEZ, P.; MARTÍN, J.; PINCHEIRA-DONOSO, D. Heterogeneous tempo and mode of evolutionary diversification of compounds in lizard chemical signals. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 4, p. 1286–1296, 2017.

GEORGE, O.; KOOB, G. F. Individual Differences in Prefrontal Cortex Function and their Transition from Drug Use to Drug Dependence. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 35, n. 2, p. 232–247, 2011.

GOLINSKI, A.; JOHN-ALDER, H.; KRATOCHVÍL, L. Male sexual behavior does not require elevated testosterone in a lizard (*Coleonyx elegans*, Eublepharidae). **Hormones and Behavior**, v. 59, n. 1, p. 144–150, 2011.

GREENBERG, N. A forebrain atlas and stereotaxic technique for the lizard, *Anolis carolinensis*. **Journal of Morphology**, v. 174, n. 2, p. 217–236, 1982.

GRUART, A.; MUÑOZ, M. D.; DELGADO-GARCÍA, J. M. Involvement of the CA3-CA1 Synapse in the Acquisition of Associative Learning in Behaving Mice. **Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 4, p. 1077–1087, 2006.

GUIMARÃES MARQUES, M. J.; REYES-GARCIA, S. Z.; MARQUES-CARNEIRO, J. E.; LOPES-SILVA, L. B.; ANDERSEN, M. L.; CAVALHEIRO, E. A.; SCORZA, F. A.; SCORZA, C. A. Long-term Potentiation Decay and Poor Long-lasting Memory Process in the Wild Rodents *Proechimys* from Brazil's Amazon Rainforest. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**, v. 12, n. January, p. 1–8, 2018.

HALL, J.; THOMAS, K. L.; EVERITT, B. J. **Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories** *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 2001. Disponível em: <papers3://publication/uuid/70E9318C-A8EB-4DD3-9A05-83746673CDA2>

HARTLEY, C. A.; PHELPS, E. A. Changing fear: The neurocircuitry of emotion regulation. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 136–146, 2010.

HAWLENA, D.; PÉREZ-MELLADO, V. Change your diet or die: predator-induced shifts in insectivorous lizard feeding ecology. **Oecologia**, v. 161, n. 1, p. 15–24, 2009.

HEWS, D. K.; HARA, E.; ANDERSON, M. C. Sex and species differences in plasma testosterone and in counts of androgen receptor-positive cells in key brain regions of *Sceloporus* lizard species that differ in aggression. **General and Comparative Endocrinology**, v. 176, n. 3, p. 493–499, 2012.

HOOPS, D. A perfusion protocol for lizards, including a method for brain removal.

MethodsX, v. 2, p. 165–173, 2015.

HOOPS, D.; ULLMANN, J. F. P.; JANKE, A. L.; VIDAL-GARCIA, M.; STAIT-GARDNER, T.; DWIHAPSARI, Y.; MERKLING, T.; PRICE, W. S.; ENDLER, J. A.; WHITING, M. J.; KEOGH, J. S. Sexual selection predicts brain structure in dragon lizards. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 30, n. 2, p. 244–256, 2017.

HUCKLEBERRY, K. A.; SHUE, F.; COPELAND, T.; CHITWOOD, R. A.; YIN, W.; DREW, M. R. Dorsal and ventral hippocampal adult-born neurons contribute to context fear memory. **Neuropsychopharmacology**, p. 1–10, 2018.

ISAACS, S.; MACGREGOR, O.; ANNETT, J. The Roles of the Amygdala and the Hippocampus in Fear Conditioning. p. 1–51, 2015.

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

JAVAD-MOOSAVI, B. Z.; VAEZI, G.; NASEHI, M.; HAERI-ROUHANI, S. A.; ZARRINDAST, M. R. Critical role of CA1 muscarinic receptors on memory acquisition deficit induced by total (TSD) and REM sleep deprivation (RSD). **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 79, p. 128–135, 2017.

Jl, J.; MAREN, S. Differential roles for hippocampal areas CA1 and CA3 in the contextual encoding and retrieval of extinguished fear. **Learning and Memory**, v. 15, n. 4, p. 244–251, 2008.

JOSSERAND, R.; DUPOUÉ, A.; AGOSTINI, S.; HAUSSY, C.; GALLIARD, J. F. LE; MEYLAN, S. Habitat degradation increases stress-hormone levels during the breeding season, and decreases survival and reproduction in adult common lizards. **Oecologia**, v. 184, n. 1, p. 75–86, 2017.

KANDEL, E. R. The molecular biology of memory: CAMP, PKA, CRE, CREB-1, CREB-2, and CPEB. **Molecular Brain**, v. 5, n. 1, p. 1–12, 2012.

KANDEL, E. R.; DUDAI, Y.; MAYFORD, M. R. The molecular and systems biology of memory. **Cell**, v. 157, n. 1, p. 163–186, 2014.

LA IGLESIA, J. A. L. DE; LOPEZ-GARCIA, C. A Golgi study of the principal projection neurons of the medial cortex of the lizard *Podarcis hispanica*. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 385, n. 4, p. 528–564, 1997.

LADAGE, L. D.; COBB IRVIN, T. E.; GOULD, V. A. Assessing Spatial Learning and Memory in Small Squamate Reptiles. **Journal of Visualized Experiments**, n. 119, p. 1–6, 2017.

LADAGE, L. D.; RIGGS, B. J.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Dorsal cortex volume in male side-blotched lizards (*Uta stansburiana*) is associated with different space use strategies. **Animal Behaviour**, v. 78, n. 1, p. 91–96, 2009.

LADAGE, L. D.; ROTH, T. C.; CERJANIC, A. M.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Spatial memory: Are lizards really deficient? **Biology Letters**, v. 8, n. 6, p. 939–941, 2012.

LADAGE, L. D.; ROTH, T. C.; DOWNS, C. J.; SINERVO, B.; PRAVOSUDOV, V. V. Increased testosterone decreases medial cortical volume and neurogenesis in territorial side-blotched lizards (*Uta stansburiana*). **Frontiers in Neuroscience**, v. 11, p. 1–14, 2017.

LANUZA, E.; BELEKHOVA, M.; MARTÍNEZ-MARCOS, A.; FONT, C.; MARTÍNEZ-GARCÍA, F. Identification of the reptilian basolateral amygdala: An anatomical investigation of the afferents to the posterior dorsal ventricular ridge of the lizard *Podarcis hispanica*. **European Journal of Neuroscience**, v. 10, n. 11, p. 3517–3534, 1998.

LEÃO, A. H. F. F.; MEDEIROS, A. M.; APOLINÁRIO, G. K. S.; CABRAL, A.; RIBEIRO, A. M.; BARBOSA, F. F.; SILVA, R. H. Hippocampal-dependent memory in the plus-maze discriminative avoidance task: The role of spatial cues and CA1 activity. **Behavioural Brain Research**, v. 304, p. 24–33, 2016.

LEE, I.; KESNER, R. P. Differential contributions of dorsal hippocampal subregions to memory acquisition and retrieval in contextual fear-conditioning. **Hippocampus**, v. 14, n. 3, p. 301–310, 2004.

LOPEZ-GARCIA, C.; MOLOWNY, A.; GARCIA-VERDUGO, J. M.; FERRER, I. Delayed postnatal neurogenesis in the cerebral cortex of lizards. **Developmental Brain Research**, v. 43, n. 2, p. 167–174, 1988.

LOPEZ-GARCIA, C.; MOLOWNY, A.; NACHER, J.; PONSODA, X.; SANCHO-BIELSA, F.; ALONSO-LLOSA, G. The lizard cerebral cortex as a model to study neuronal regeneration. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 74, n. 1, p. 85–104, 2002.

MACEDO-LIMA, M.; FREIRE, M. A. M.; CARVALHO PIMENTEL, H. DE; RODRIGUES FERREIRA LINS, L. C.; AMADOR DE LUCENA MEDEIROS, K. A.; VIOLA, G. G.; SANTOS, J. R. DOS; MARCHIORO, M. Characterization of NADPH Diaphorase- and Doublecortin-Positive Neurons in the Lizard Hippocampal Formation. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 88, n. 3–4, p. 222–234, 2017.

MARCHIORO, M.; AZEVEDO MOTA NUNES, J. M. DE; RABELO RAMALHO, A. M.; MOLOWNY, A.; PEREZ-MARTINEZ, E.; PONSODA, X.; LOPEZ-GARCIA, C. Postnatal neurogenesis in the medial cortex of the tropical lizard *Tropidurus hispidus*. **Neuroscience**, v. 134, n. 2, p. 407–413, 2005.

MARCHIORO, M.; CARVALHO PIMENTEL, H. DE; LEITE SANTOS, M.; MACÊDO-LIMA, M.; SANTOS, J. R. DOS; PONSODA, X.; MOLOWNY, A.; LOPEZ-GARCIA, C. Low temperature-acclimation impairs cellular migration in the adult cerebral cortex of the tropical lizard, *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) (Squamata: Tropiduridae). **Archives Italiennes de Biologie**, v. 150, n. 1, p. 22–30, 2012.

MAREN, S. NEUROBIOLOGY OF PAVLOVIAN FEAR CONDITIONING. **Rev. Neurosci.**, v. 24, p. 897–931, 2001.

MARTINEZ-GARCIA, F.; AMIGUET, M.; OLUCHA, F.; LOPEZ-GARCIA, C. Connections of the lateral cortex in the lizard *Podarcis hispanica*. **Neuroscience Letters**, v. 63, n. 1, p. 39–44, 1986.

MCEOWN, K.; TREIT, D. Inactivation of the dorsal or ventral hippocampus with muscimol differentially affects fear and memory. **Brain Research**, v. 1353, p. 145–151, 2010.

MEDINA, L.; ABELLÁN, A. Development and evolution of the pallium. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, v. 20, n. 6, p. 698–711, 2009.

MEDINA, L.; ABELLÁN, A.; DESFILIS, E. A never-ending search for the evolutionary origin of the neocortex: Rethinking the homology concept. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 81, n. 3, p. 150–153, 2013.

METZGER, K. A.; HERREL, A. Correlations between lizard cranial shape and diet: A quantitative, phylogenetically informed analysis. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 86, n. 4, p. 433–466, 2005.

MOLOWNY, A.; MARTINEZ-CALATAYUD, J.; JUAN, M. J.; MARTINEZ-GUIJARRO, F. J.; LOPEZ-GARCIA, C. Zinc accumulation in the telencephalon of lizards. **Histochemistry**, v. 86, n. 3, p. 311–314, 1987.

MOLOWNY, A.; NACHER, J.; LOPEZ-GARCIA, C. Reactive neurogenesis during regeneration of the lesioned medial cerebral cortex of lizards. **Neuroscience**, v. 68, n. 3, p. 823–836, 1995.

MONTIEL, J. F.; ABOITIZ, F. Homology in Amniote Brain Evolution: The Rise of Molecular Evidence. **Brain, Behavior and Evolution**, v. 1, p. 1–6, 2018.

MYERS, K. M.; DAVIS, M. Mechanisms of fear extinction. **Molecular Psychiatry**, v. 12, n. 2, p. 120–150, 2007.

MYSKIW, J. C.; FIORENZA, N. G.; IZQUIERDO, L. A.; IZQUIERDO, I. Molecular mechanisms in hippocampus and basolateral amygdala but not in parietal or cingulate cortex are involved in extinction of one-trial avoidance learning. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 94, n. 2, p. 285–291, 2010.

NASEHI, M.; MORTEZA-ZADEH, P.; KHAKPAI, F.; ZARRINDAST, M. R. Additive effect of harmane and muscimol for memory consolidation impairment in inhibitory avoidance task. **Neuroscience**, v. 339, p. 287–295, 2016.

NEUMAN-LEE, L.; GRIEVES, T.; HOPKINS, G. R.; FRENCH, S. S. The role of the kisspeptin system in regulation of the reproductive endocrine axis and territorial behavior in male side-blotched lizards (*Uta stansburiana*). **Hormones and Behavior**, v. 89, p. 48–54, 2017.

NOBLE, D. W. A.; CARAZO, P.; WHITING, M. J. Learning outdoors: Male lizards show flexible spatial learning under semi-natural conditions. **Biology Letters**, v. 8, n. 6, p. 946–948, 2012.

NYBERG, L.; HABIB, R.; MCINTOSH, A. R.; TULVING, E. Reactivation of encoding-related brain activity during memory retrieval. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 20, p. 11120–11124, 2000.

OCAMPO, A. C.; SQUIRE, L. R.; CLARK, R. E. Hippocampal area CA1 and remote

memory in rats. **Learning & Memory**, v. 24, p. 563–569, 2017.

OKUYAMA, T. Social memory engram in the hippocampus. **Neuroscience Research**, v. 129, p. 17–23, 2018.

OLIVEIRA CRISANTO, K. DE; ANDRADE, W. M. G. DE; AZEVEDO SILVA, K. D. DE; LIMA, R. H.; OLIVEIRA COSTA, M. S. M. DE; SOUZA CAVALCANTE, J. DE; LIMA, R. R. M. DE; NASCIMENTO, E. S. DO; CAVALCANTE, J. C. The differential mice response to cat and snake odor. **Physiology and Behavior**, v. 152, p. 272–279, 2015.

OLIVEIRA, L. C.; NOBRE, M. J.; BRANDÃO, M. L.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Role of amygdala in conditioned and unconditioned fear generated in the periaqueductal gray. **NeuroReport**, v. 15, n. 14, p. 2281–2285, 2004.

OPRISAN, S. A.; BUHUSI, M.; BUHUSI, C. V. A Population-Based Model of the Temporal Memory in the Hippocampus. **Frontiers in Neuroscience**, v. 12, n. August, p. 1–11, 2018.

PASSOS, D. C.; MONTEIRO, F. A. C.; NOGUEIRA, C. H. O. Dangerous neighborhood. saurophagy between syntopic *Tropidurus* lizards. **Biota Neotropica**, v. 16, n. 1, p. 1–5, 2016.

PENNINGTON, Z. T.; ANDERSON, A. S.; FANSELOW, M. S. The ventromedial prefrontal cortex in a model of traumatic stress: Fear inhibition or contextual processing? **Learning and Memory**, v. 24, n. 9, p. 400–406, 2017.

PEREYRA, M.; KATCHE, C.; LANDETA, A. B. DE; MEDINA, J. H. mTORC1 controls long-term memory retrieval. **Scientific Reports**, v. 8759, n. 8, p. 1–10, 2018.

PÉREZ-CAÑELLAS, M. M.; GARCÍA-VERDUGO, J. M. Adult neurogenesis in the telencephalon of a lizard: A [3H]thymidine autoradiographic and bromodeoxyuridine immunocytochemical study. **Developmental Brain Research**, v. 93, n. 1–2, p. 49–61, 1996.

PETERS, J.; KALIVAS, P. W.; QUIRK, G. J. Extinction circuits for fear and addiction overlap in prefrontal cortex. **Learning and Memory**, v. 16, n. 5, p. 279–288, 2009.

PETRILLO, M.; RITTER, C. A.; POWERS, A. S. A role for acetylcholine in spatial memory in turtles. **Physiology and Behavior**, v. 56, n. 1, p. 135–141, 1994.

PYRON, R. A.; BURBRINK, F. T.; WIENS, J. J. A phylogeny and revised classification of Squamata, including 4161 species of lizards and snakes. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, n. 1, p. 1–78, 2013.

RAMIREZ, C.; NACHER, J.; MOLOWNY, A.; SANCHEZ-SANCHEZ, F.; IRURZUN, A.; LOPEZ-GARCIA, C. Photoperiod temperature and neuroblast proliferation migration in the adult lizard cortex. **NeuroReport**, v. 8, n. 9–10, p. 2337–2342, 1997.

RIEDEL, G.; MICHEAU, J.; LAM, A. G. M.; ROLOFF, E. V. L.; MARTIN, S. J.; BRIDGE, H.; HOZ, L. DE; POESCHEL, B.; MCCULLOCH, J.; MORRIS, R. G. M. Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. **Nature Neuroscience**, v. 2, n. 10, p. 898–905, 1999.

ROCHA, C. F. D.; CUNHA-BARROS, M.; MENEZES, V. A.; FONTES, A. F.; VRCIBRADIC, D.; SLUYS, M. VAN. Patterns of infestation by the Trombiculid mite *Eutrombicula alfreddugesi* in four sympatric lizard species (genus *Tropidurus*) in Northeastern Brazil. **Parasite**, v. 15, p. 1–7, 2008.

ROOZENDAAL, B.; MCEWEN, B. S.; CHATTARJI, S. Stress, memory and the amygdala. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 423–433, 2009.

ROTH, T. C.; KROCHMAL, A. R. Pharmacological evidence is consistent with a prominent role of spatial memory in complex navigation. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1824, p. 1–8, 2016.

RUPIK, W.; SWADŹBA, E.; DUBIŃSKA-MAGIERA, M.; JEDRZEJOWSKA, I.; DACZEWSKA, M. Reptilian myotomal myogenesis-lessons from the sand lizard *Lacerta agilis* L. (Reptilia, Lacertidae). **Zoology**, v. 115, n. 5, p. 330–338, 2012.

SANTOS, J. DOS. Expressão de zif268 no cérebro do lagarto *Tropidurus Hispidus* após exploração de um ambiente enriquecido. p. 65, 2010.

SANTOS, L. G. Avaliação comportamental e neurobiológica da memória no lagarto *Tropidurus hispidus*. p. 1–104, 2016.

SCHMIDT, S. D.; FURINI, C. R. G.; ZINN, C. G.; CAVALCANTE, L. E.; FERREIRA, F. F.; BEHLING, J. A. K.; MYSKIW, J. C.; IZQUIERDO, I. Modulation of the consolidation and reconsolidation of fear memory by three different serotonin receptors in hippocampus. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 142, p. 48–54, 2017.

SCOVILLE, W. B.; MILNER, B. Loss of Recent Memory After Bilateral Hippocampal Lesions. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 20, n. 1, p. 11–21, 1957.

SEIDENBECHER, T.; LAXMI, T. R.; STORK, O.; PAPE, H. C. Amygdalar and Hippocampal Theta Rhythm Synchronization During Fear Memory Retrieval. **Science**, v. 301, n. 5634, p. 846–850, 2003.

SILVA, E. A. P. DA; SANTOS, T. D.; LEITE, G. N.; RIBEIRO, L. B. *Tropidurus hispidus* (Squamata: Tropiduridae) and *Leptodactylus* cf. *fuscus* (Anura: Leptodactylidae) as prey of the teiid lizards *Salvator merianae* and *Ameiva ameiva*. **Herpetology Notes**, v. 6, n. 1, p. 51–53, 2013.

SMEETS, W. J. A. J.; HOOGLAND, P. V.; LOHMAN, A. H. M. A forebrain atlas of the lizard gekko gekko. **Journal of Comparative Neurology**, v. 254, n. 1, p. 1–19, 1986.

SPIGEL, I. M. Learning, retention, and disruption of detour behavior in the turtle. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, v. 57, n. 1, p. 108–112, 1964.

SQUIRE, L. R. Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 82, n. 3, p. 171–177, 2004.

STEIMER, T. The biology of fear- and anxiety-related behaviors. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 4, n. 3, p. 231–249, 2002.

STRIEDTER, G. F. Evolution of the hippocampus in reptiles and birds. **Journal of Comparative Neurology**, v. 524, n. 3, p. 496–517, 2016.

STRIEN, N. M. VAN; CAPPAERT, N. L. M.; WITTER, M. P. The anatomy of memory: An interactive overview of the parahippocampal- hippocampal network. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 4, p. 272–282, 2009.

SZAPIRO, G.; GALANTE, J. M.; BARROS, D. M.; LEVI DE STEIN, M.; VIANNA, M. R. M.; IZQUIERDO, L. A.; IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Molecular mechanisms of memory retrieval. **Neurochem Res**, v. 27, n. 11, p. 1491–1498, 2002.

TOSCHES, M. A.; YAMAWAKI, T. M.; NAUMANN, R. K.; JACOBI, A. A.; TUSHEV, G.; LAURENT, G. Evolution of pallium, hippocampus, and cortical cell types revealed by single-cell transcriptomics in reptiles. **Science**, v. 360, n. 6391, p. 881–888, 2018.

TOVOTE, P.; FADOK, J. P.; LÜTHI, A. Neuronal circuits for fear and anxiety. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 16, n. 6, p. 317–331, 2015.

TRIMPER, J. B.; GALLOWAY, C. R.; JONES, A. C.; MANDI, K.; MANNS, J. R. Gamma Oscillations in Rat Hippocampal Subregions Dentate Gyrus, CA3, CA1, and Subiculum Underlie Associative Memory Encoding. **Cell Reports**, v. 21, n. 9, p. 2419–2432, 2017.

TSVETKOV, E. A.; KRASNOSHCHKOVA, E. I.; VESSELKIN, N. P.; KHARAZOVA, A. D. Amygdala: Neuroanatomy and Neurophysiology of Fear. **Journal of evolutionary biochemistry and physiology**, v. 51, n. 6, p. 406–418, 2015.

VIANNA, D. M. L.; GRAEFF, F. G.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; BRANDÃO, M. L. Lesion of the Ventral Periaqueductal Gray Reduces Conditioned Fear but Does Not Change Freezing Induced by Stimulation of the Dorsal Periaqueductal Gray Lesion of the Ventral Periaqueductal Gray Reduces Conditioned Fear but Does Not Change Freezing Induce. **Learning & Memory**, v. 8, p. 164–169, 2001.

VIANNA, M. R.; IGAZ, L. M.; COITINHO, A. S.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I. Memory extinction requires gene expression in rat hippocampus. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 79, n. 3, p. 199–203, 2003.

VITT, L. J.; CALDWELL, J. P.; ZANI, P. A.; TITUS, T. A. The role of habitat shift in the evolution of lizard morphology: evidence from tropical *Tropidurus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 94, n. April, p. 3828–3832, 1997.

VONEIDA, T. J.; SLIGAR, C. M. Efferent projections of the dorsal ventricular ridge and the striatum in the Tegu lizard, *Tupinambis nigropunctatus*. **Journal of Comparative Neurology**, v. 186, n. 1, p. 43–64, 1979.

WELLMAN, L. L.; FITZPATRICK, M. E.; HALLUM, O. Y.; SUTTON, A. M.; WILLIAMS, B. L.; SANFORD, L. D. The basolateral amygdala can mediate the effects of fear memory on sleep independently of fear behavior and the peripheral stress response. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 137, p. 27–35, 2017.

ANEXO I - Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais

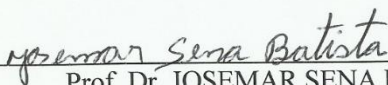


**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM ANIMAIS (CEPA)**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “Envolvimento do corpo amigdalóide/amígdala nos processos de aquisição, consolidação e evocação da memória eversiva no lagarto da espécie *Tropidurus hispidus*”, registrada com o nº 42/2017, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Murilo Marchioro que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Sergipe, em reunião de **05/03/2018**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 01/05/2018, Término: 30/06/2018
Espécie/linhagem/raca	<i>Tropidurus hispidus</i>
Nº de animais	30
Peso/Idade	25-45g / 1 ano
Sexo	M
Origem	Ambiente silvestre.



Prof. Dr. JOSEMAR SENA BATISTA
Coordenador do CEPA/UFS

Cidade Universitária “Prof. Aloísio de Campos”
Jardim Rosa Elze – São Cristóvão – SE
49100-000
Fones: 3212 6661/6606