



Carolina Macêdo de Souza

**Condicionamento ao medo específico nas linhagens dos
Cariocas de alto (CAC) e baixo congelamento (CBC)**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós – Graduação em Psicologia (Psicologia Clínica) do Departamento de Psicologia da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Jesus Landeira-Fernandez
Co-orientador: Prof. Thomas Eichenberg Krahe

Rio de Janeiro
Fevereiro 2019

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização do autor, do orientador e da universidade.

Carolina Macêdo de Souza

Graduou-se em psicologia pela Pontifícia Universidade Católica do Rio em janeiro de 2014. Atua na área de neurociências e clínica. Possui interesse nos seguintes temas: neurobiologia dos processos psicológicos básicos, memória implícita, transtornos de ansiedade, pesquisas comportamentais, psicofarmacológicas e psicoterapêuticas.

Ficha Catalográfica

Souza, Carolina Macêdo de

Condicionamento ao medo específico nas linhagens dos Cariocas de Alto (CAC) e Baixo Congelamento (CBC) / Carolina Macêdo de Souza ; orientador: Jesus Landeira-Fernandez ; co-orientador: Thomas Eichenberg Krahe. – 2019.

61 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Psicologia, 2019.

Inclui bibliografia

1. Psicologia – Teses. 2. Transtornos de ansiedade. 3. Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG). 4. Fobia específica. 5. Memória implícita. 6. Aprendizagem do medo. I. Landeira-Fernandez, Jesus. II. Krahe, Thomas Eichenberg. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Psicologia. IV. Título.

CDD:150

Aos meus pais, Miriam e Silas,
por todo apoio e confiança.

Agradecimentos

A Deus, por ser a força motriz de toda Existência.

Ao meu orientador Professor J. Landeira-Fernandez pelo estímulo, parceria, aprendizado e confiança depositada em mim para a realização deste trabalho. Mesmo encoberto de uma série de responsabilidades sempre esteve atento, impulsionando os meus passos, sendo a engrenagem do meu conhecimento científico.

Ao meu co-orientador Professor Thomas E. Krahe pela parceria e pelos conhecimentos direcionados à minha produção científica. Sempre demonstrando um exemplo de conduta ética e íntegra, valorizando a formação especializada de um profissional no campo científico e reconhecendo o engajamento de seus alunos. Agradeço pela frase: “The devil is in the details”.

Ao CNPq, ao CAPES, e à PUC-Rio, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado. O investimento na educação é o condutor primordial da construção de uma sociedade mais forte e amadurecida.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Aos Professores Silvia Maisonnette, Flávia Rosseti, e Bruno Galvão por todo aprendizado e amizade. Vocês sempre estiveram presentes em todos os momentos me fornecendo suporte. Ensinarão-me as técnicas laboratoriais e contribuirão na formação do meu “pensar” científico. A experiência forma o que somos. Produzir ciência junto a uma equipe contagiante, alegre e fraterna, faz todos os dias serem mais produtivos e leves.

A dedicação dos ICs que estiveram pontualmente presentes ao longo dos experimentos e congressos científicos. Em especial Ariadne Fantasia e Thalys Martins.

A equipe de estagiários, colegas e amigos do LANEK/PUC-Rio que sempre me forneceram auxílio durante minha trajetória. Em especial Matheus Macêdo, Yury Lages e André Senna.

Aos meus pais, Miriam e Silas, pela educação, atenção e carinho de todas as horas. São meus maiores exemplos de persistência, fé e amor. Aos meus irmãos, Silas e Bruno, por estarem sempre presentes com palavras de motivação, força e carinho. Graças a minha família eu compreendo as palavras de Charles Chaplin: “A beleza é a única coisa preciosa na vida. É difícil encontrá-la, mas quem consegue descobre tudo”.

Aos professores que participaram da Comissão examinadora, que agregaram conhecimentos ao trabalho que foi realizado. A todos os professores e funcionários do Departamento de Psicologia pelos ensinamentos e pela ajuda, em especial Juliane Borsa, Daniel Mograbi, Verinha, Marcelina e Fernando.

A todos os amigos e familiares que estavam presentes. Em especial àqueles amigos de “longa data” que zelam por minha felicidade e bem-estar com ações de gentileza, amor, paciência e infinita sabedoria. Em especial, a Casa de Recuperação e Benefícios Bezerra de Menezes e a Dra. Maria Ignez Elsas.

Resumo

Souza, Carolina Macêdo; Fernandez, Jesus Landeira. **Condicionamento ao medo específico nas linhagens dos Cariocas de alto (CAC) e baixo congelamento (CBC)** Rio de Janeiro, 2019. 61p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

Os distúrbios de ansiedade compreendem uma ampla gama de condições psiquiátricas, incluindo transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e fobia específica. Nas últimas décadas, o uso de modelos animais de ansiedade ofereceu importantes *insights* sobre a interação dessas psicopatologias. Aqui nós investigamos se os ratos Cariocas de alto e baixo congelamento (CAC e CBC, respectivamente), um modelo animal de TAG, mostram fenótipos comportamentais de alto e baixo congelamento similar no condicionamento de medo ao som. Ratos adultos das linhagens CAC (n = 16), CBC (n = 16) e ratos Wistar normais (controle, CTL) foram testados em um paradigma de condicionamento clássico de medo ao som durante 3 dias. Respostas de congelamento foram medidas e usadas como evidência de condicionamento de medo. No geral, os ratos CAC e CBC, bem como os animais CTL, apresentaram um condicionamento de medo ao estímulo condicionado auditivo. No entanto, os animais CBC também mostraram uma rápida extinção ao estímulo condicionado auditivo. Discutimos esses resultados de acordo com dados comportamentais e neuronais observados em linhagens de roedores de alta e baixa ansiedade.

Palavras-chave

Transtornos de ansiedade; transtorno de ansiedade generalizada (TAG); fobias específicas; memória implícita; aprendizagem do medo; aprendizagem aversiva; modelos animais de ansiedade; Cariocas de alto e baixo congelamento.

Abstract

Souza, Carolina Macêdo; Landeira-Fernandez, Jesus (Advisor). **Specific fear conditioning in Carioca High-and Low-conditioned Freezing rats.** Rio de Janeiro, 2019. 61p. Dissertação de Mestrado – Departamento de Psicologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Anxiety disorders comprise a broad range of psychiatric conditions, including general anxiety (GAD) and specific phobias. For the last decades the use of animal models of anxiety has offered important insights into the understanding of the association between these psychopathologies. Here we investigate whether Carioca high and low conditioned freezing rats (CHF and CLF, respectively), a GAD animal model of anxiety, show similar high and low freezing behavioral phenotypes for cued auditory fear conditioning. Adult CHF (n = 16), CLF (n = 16) and normal age-matched Wistar rats (control, CTL) were tested in a classical auditory cued fear conditioning paradigm over 3 days. Freezing responses were measured and used as evidence of fear conditioning. Overall, both CHF and CLF rats as well as CTL animals displayed fear conditioning to the auditory CS. However, CLF animals showed a rapid extinction to the auditory conditioned stimulus compared to CHF and CTL rats. We discuss these findings in the context of the behavioural and neuronal differences observed in rodent lines of high and low anxiety traits.

Keywords

Anxiety disorders; generalized anxiety disorder (GAD); specific phobias; implicit memory; learning of fear; aversive learning; animal models of anxiety; Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines.

Sumário

Introdução	11
1. Capítulo I: O papel da memória implícita na aprendizagem do medo em modelos animais de ansiedade	14
1.1 Breve histórico sobre memória	15
1.2 Aprendizagem do medo em ratos e modelos animais de ansiedade	20
1.3 Considerações finais	25
2. Capítulo II: Condicionamento ao medo de estímulo específico nos ratos cariocas de alto e baixo congelamento	27
2.1 Material e métodos	29
2.1.1 Animais	29
2.1.2 Condicionamento ao medo específico	29
2.1.3 Análise estatística	32
2.2 Resultados	32
2.3 Discussão	35
3. Conclusões	39
4. Referências bibliográficas	40
Anexos	56

Lista de Figuras

Figura 1 – Teoria do “U” invertido de Yerkes-Dodson (<i>performance</i> x ansiedade/tensão)	12
Figura 2 – Delineamento experimental do condicionamento ao medo de estímulo específico	31
Figura 3 – Gráfico experimental do dia 1 (composto por figuras 3A e 3B)	33
Figura 4 – Gráfico experimental do dia 2 (composto por figuras 4A e 4B)	34
Figura 5 – Gráfico experimental do dia 3 (composto por figuras 5A, 5B e 5C)	35

Convite a Felicidade

“Desnecessária a fortuna a fim de fruí-la.

Secundária a juventude de modo a gozá-la.

Dispensável o poder para experimentá-la.

A felicidade independe dos valores externos, sempre transitórios, sem maior significação, além daquela que se lhes atribuem.

(...)

Realiza o teu quinhão de dever com devotamento e faça sempre o melhor a fim de que o aplauso da consciência tranquila te conduza ao pórtico da felicidade real.

Não te exaspere face à desdita aparente. Nem te apegues ao júbilo momentâneo também ilusório.

De tudo e todos os estados retira o proveito da aprendizagem e, assim fazendo, a pouco e pouco perceberás que a felicidade é consequência da auto iluminação libertadora, como decorrência do amor exercido em plenitude fraternal”.

Joanna de Ângelis

1

Introdução

Medo e ansiedade são conceitos que se sobrepõem. O primeiro pode ser explicado por uma ameaça real ao passo que o segundo se refere a uma ameaça antecipada/potencial (American Psychiatric Association, 2013; Blanchard & Blanchard, 1988). De acordo com estudos genéticos (Gordon & Hen, 2004), pode-se dizer que a ansiedade possui suas raízes genéticas no medo. Através da teoria evolutiva, Darwin (1859) concluiu que o fator condicionante da sobrevivência é a capacidade das espécies se adaptarem ao meio. Além disso, em 1872, Darwin acrescentou a esta teoria o fato de que certas emoções são compartilhadas nos homens e nos animais neste processo evolutivo, sendo o medo uma das emoções mais primitivas (Darwin, 1872; Gazzaniga, Ivry, & Mangum, 2009). Durante uma situação de perigo o organismo se prepara para lutar ou fugir (respostas defensivas) ativando assim as bases neurofisiológicas relacionadas ao medo (**para uma abordagem mais detalhada sobre o tópico - ver manuscrito, Capítulo I**). Deste modo, os mecanismos associados à resposta defensiva são ativados automaticamente pelo organismo perante uma situação de ameaça, seja ela “real” ou “potencial” (Blanchard & Blanchard, 1988; Brandão & Graeff, 2014).

Ao longo da evolução, diversas estruturas do sistema nervoso foram sofrendo alterações durante o processo de adaptação das espécies (LeDoux, 2012; Mobbs & Kim, 2015). Durante os séculos XIX e XX foram surgindo uma série de teorias acerca do sistema nervoso que tinham como objetivo investigar quais os substratos neurais responsáveis pela emoção (Dalglish, 2004; Gazzaniga et al., 2009). Na tentativa de explicar a evolução do cérebro emocional entre os animais a teoria do cérebro trino de Mac Lean apresenta um modelo que acompanha a evolução. Esta teoria considera a existência de sistemas neurais hierarquicamente organizados por três cérebros que compõem um só. Em todos os vertebrados está presente o cérebro reptílico (instintivo), nos mamíferos está o reptílico e o cérebro paleomamífero (emocional) ao passo que nos seres humanos, alguns primatas e mamíferos evoluídos, coexistem a estes dois cérebros o cérebro neomamífero (racional). A partir desta teoria sobre o cérebro emocional, mais conhecido como sistema

límbico, foi possível investigar as estruturas relacionadas as reações comportamentais e fisiológicas no medo e outras emoções (LeDoux, 1998).

Nesta perspectiva evolutiva, inclui-se ao papel da ansiedade um valor adaptativo e motivacional intrínseco ao comportamento (Bendesky & Bargmann, 2011). A teoria do “U” invertido de Yerkes–Dodson retrata estes valores ao demonstrar que a ansiedade está relacionada à qualidade do desempenho. Para auxiliar a compreensão desta interação, o gráfico (**figura 1, abaixo**) mostra que se a quantidade de ansiedade for adequada à dificuldade de determinada tarefa o resultado será de um bom desempenho (*performance*), enquanto que por outro lado se a quantidade de ansiedade depositada for inadequada haverá um prejuízo na execução da tarefa. Entende-se que a ansiedade é importante para a realização das atividades rotineiras seja elas do âmbito familiar, escolar, ou profissional, e sua desregulação pode se tornar disfuncional na vida do indivíduo se tornando patológica (Cruz & Landeira-Fernandez, 2007). A ansiedade patológica se expressa em vários níveis: cognitivo (preocupação excessiva), afetivo (sentimento característico), comportamental (tendência a evitação) e fisiológico (manifestações neurovegetativas, hormonais, musculares) (Brandão & Graeff, 2014; Landeira-Fernandez, 2011).

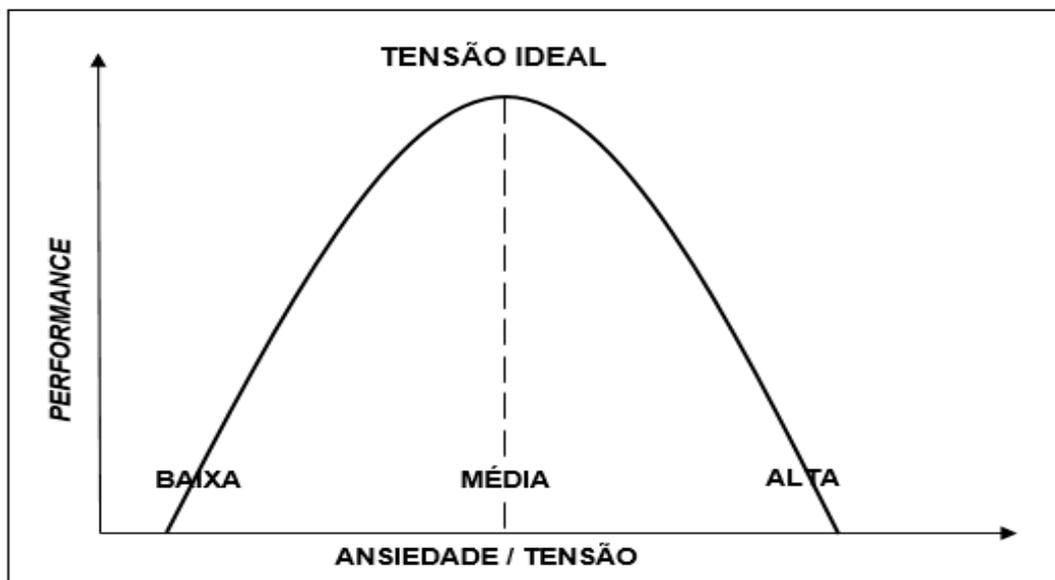


Figura 1 - Teoria do “U” invertido de Yerkes-Dodson (*performance* x ansiedade/tensão).

De acordo com os dados estatísticos da *World Health Organization* (2017), os transtornos de ansiedade estão entre as doenças psiquiátricas mais debilitantes no

mundo. Um meio de se estudar estes transtornos se dá pela seleção bidirecional de roedores com traços de alta e baixa ansiedade. Modelos animais de alta e baixa ansiedade têm sido usados com sucesso para investigar os mecanismos fisiopatológicos básicos envolvidos nos transtornos de ansiedade (Belzung & Lemoine, 2011; Lang, Davis, & Ohman, 2000; Willner & Mitchell, 2002). Com o uso de pesquisas experimentais em modelos animais observou-se que determinadas estruturas influenciam a aquisição, o armazenamento e/ou a evocação da memória implícita envolvida na aprendizagem por condicionamento, ao mesmo passo que também foi observado que estes resultados corroboravam com os dados de pesquisas clínicas com pacientes amnésicos (**para uma abordagem mais detalhada sobre o tópico - ver manuscrito, Capítulo I**).

Os transtornos de ansiedade incluem várias condições psiquiátricas, como o transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e a fobia específica (**ver manuscrito, capítulo 2**). Estudos epidemiológicos mostram que existe uma alta comorbidade entre os transtornos de ansiedade, entretanto pouco se sabe sobre a interação entre TAG e fobia específica. A seleção bidirecional de roedores para traços de ansiedade tem sido usada para investigar a relação entre diferentes transtornos de ansiedade, tanto no nível neural como comportamental. Nosso objetivo foi avaliar o congelamento condicionado a um estímulo específico nos ratos Cariocas de alto e baixo congelamento, criados há 15 anos na Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (CAC e CBC, respectivamente), uma linhagem de ratos cuja seleção bidirecional foi baseada no condicionamento ao contexto, um modelo animal de TAG (**para uma abordagem mais detalhada sobre o tópico – ver versão traduzida do manuscrito “Cued fear conditioning in Carioca High- and Low-conditioned freezing rats”, Capítulo II. O manuscrito em inglês foi submetido como um *brief report*, em fase “*under review*” – ver Anexo II**).

Capítulo I: O papel da memória implícita na aprendizagem do medo em modelos animais de ansiedade.

Em muito se discute sobre a aprendizagem, como quais são as formas mais assertivas para identificá-la, sua ocorrência, as maneiras em que pode ser acessada e, portanto, avaliada com validade e confiabilidade, assim como também os diferentes meios de sua manutenção e a importância do estar ciente ou não neste processo (McGuigan, 1997; Schacter, 1998; Shimizu, 2017). Ao conhecer, analisar e utilizar diversos instrumentos metodológicos para avaliar este processo, a área psicológica entende a memória como sendo intrínseca ao aprender (Anderson, 2000). Para entender estes processos, a observação de casos clínicos de pacientes amnésicos e a pesquisa com animais produziram uma série de informações que contribuíram para o surgimento de diversas teorias sobre a memória (Murray, Wise, e Graham, 2017).

Neste cenário, emergiu a noção de “sistemas de memória”, em que a memória é caracterizada por seus tipos fenomenologicamente diferentes que resultam da atividade de módulos (sistemas de memória distintos), cada qual com seu próprio tipo de processamento (Ferbinteanu, 2018). Para tais sistemas, a consciência na codificação e evocação de uma memória é um fator importante. Para tanto, questiona-se o que “estar consciente” pode influenciar na absorção de informações durante a aprendizagem e como estas informações são apresentadas pelo indivíduo, visto que muitas de nossas memórias são armazenadas embora não tenhamos consciência deste processo. Sendo através do processo de aprendizagem que ocorre a absorção de informações, a aprendizagem e a memória são processos psicológicos básicos que funcionam de maneira sobreposta (I. A. Izquierdo, Myskiw, Benetti, & Furini, 2013).

Diversos estudos utilizam a teoria de “sistemas de memória”, entre outras teorias da memória das quais não abordaremos neste artigo, para a compreensão de determinados aspectos da aprendizagem (Murray et al., 2017; Yates, 2017). Nestes “sistemas de memória” a memória pode ser implícita envolvendo processos

automáticos dos quais são pesquisados em estudos com animais (Petri & Mishkin, 1994). A memória implícita é amplamente pesquisada através das circuitarias neurais envolvidas na aprendizagem do medo (LeDoux & Daw, 2018). Sendo amplamente estudadas em modelos animais de ansiedade com a finalidade de promover avanços no campo clínico dos transtornos de ansiedade (Cruz & Landeira-Fernandez, 2012). Em particular, este artigo tem por objetivo apresentar um breve histórico sobre a memória abordando os tipos de memória implícita, principalmente no que concerne os estudos que utilizam o condicionamento de medo em ratos. Esta linha investigativa possui muitas pesquisas em vista de sua alta validade e fidedignidade a respeito da conservação das reações defensivas entre os mamíferos (Shuhama, Blanchard, Graeff, & Del-Ben, 2017; Paul Willner, 1984).

1.1 Breve histórico sobre memória

A aprendizagem não se dá sem a memória e vice-versa. Muitos autores unem estes dois princípios psicológicos básicos no mesmo processo por serem intrínsecos um ao outro. Se o indivíduo aprende uma nova informação, ele realiza a aquisição de uma nova memória (Yates, 2017). Portanto, todo novo aprendizado envolve hipoteticamente três estágios de memorização. De acordo com Gazzaniga e cols. (2009) estes estágios são compostos por: codificação, armazenamento, recuperação. O primeiro pode ser explicado por uma codificação no processamento da informação que chega, posteriormente direcionando estas informações para as próximas duas fases. Processa-se então uma representação deste conteúdo adquirido, e no segundo estágio ocorre o armazenamento da informação. No terceiro, ocorre a ação de recuperar o conteúdo que fora antes armazenado. Este último estágio possui mais de uma forma de expressão, podendo ser uma representação consciente ou simplesmente um comportamento motor a ser executado.

Existem várias teorias sobre a memória (Izquierdo, Barros, Souza, Souza, & Izquierdo, 1998; Murray et al., 2017). Dentre elas, a teoria de “sistemas de memória” (Ferbinteanu, 2018; Murray et al., 2017; Yates, 2017) classifica a memória em dois tipos: de longa duração e de curta duração. A memória de longa duração pode ser subdividida em explícita ou implícita. A primeira pode ser

subdividida em episódica (eventos) e semântica (fatos), e a segunda em: *priming*; procedural; memória não-associativa; e memória associativa (Gazzaniga et al., 2009). Nesta classificação muito se discute sobre o papel da “percepção consciente” (do inglês, *conscious awareness*) na aprendizagem e seus correlatos neurais (Reder, Park, & Kieffaber, 2009).

Distanciando-se da presença de consciência, a memória implícita acontece independente de o sujeito estar ciente de seu processo. Para Tulving & Schacter (1992) a memória implícita é a base da pirâmide dos tipos de memória, consistindo em capacidades perceptivas e motoras que, ao longo do tempo e através da prática, transformam-se em rotinas, hábitos e habilidades motoras que pouco ou nada são conscientes. Woodruff-Pak (1993) diz que ela consiste em múltiplos processos dissociáveis. Dentre estes, a memória implícita pode ser expressa através do sistema de representação de percepção (do inglês, *priming*), procedimentos, aprendizagem não associativa e aprendizagem associativa (Gazzaniga et al., 2009).

O *priming* refere-se à exposição a um estímulo prévio afetando a resposta subsequente, sem que o sujeito tenha consciência da relação entre o estímulo e a resposta. A memória elicia uma resposta desencadeada por um mesmo estímulo numa experiência anterior. Por exemplo, pode-se identificar a imagem de uma bola de futebol rapidamente quando se viu previamente essa mesma imagem, tratando-se de uma preparação perceptual. Assim como, também pode-se identificar a palavra “futebol” mais rapidamente depois de ver a palavra “esportes”, neste caso trata-se de um *priming* conceitual. Nestes exemplos, demonstra-se que o *priming* caracteriza-se por uma fluência em que o processamento é facilitado, indicado por reduções na latência de resposta para se dizer a palavra em questão ou se fazer uma classificação desta palavra/não palavra (Hayes, Fortier, Levine, Milberg, & McGlinchey, 2012; Whittlesea & Leboe, 2003).

A memória procedural corresponde a ações e rotinas motoras. Como por exemplo, estão as ações diárias corriqueiras como dirigir um automóvel, amarrar os sapatos, escovar os dentes, andar, entre outras (Gazzaniga et al., 2009). Pacientes amnésicos aprendem tarefas motoras, o que sugere que esta forma de memória não é declarativa (Greenwald & Banaji, 2017; Ries, 2018).

Na aprendizagem não-associativa, ocorre a repetição da exposição de um estímulo que pode levar a habituação (diminuição da resposta) ou sensibilização (aumento da resposta) (Brandão, 2004). Ela é vital para a sobrevivência das espécies, no qual o comportamento sofre modificação em resposta a um único evento (Rahn, Guzman-karlsson, Sweatt, & Sweatt, 2013; Sato, 1995).

A aprendizagem associativa tem como característica a aprendizagem que ocorre pela associação de estímulos (Eelen, 2018; Brandão, 2004). Um estudo pioneiro é o de condicionamento clássico de Pavlov, também conhecido como respondente ou reflexo (Woodruff-Pak, 2010). Este consiste na associação de dois estímulos: um estímulo incondicionado (do inglês, *unconditioned stimulus* - US) e um estímulo discreto (do inglês, *discrete stimulus*) que ao passo que são associados, o estímulo discreto se torna um estímulo condicionado (do inglês, *conditioned stimulus* - CS). Pavlov descobriu o gatilho associativo entre a apresentação dos estímulos provindos do meio externo e sua ligação com os recursos de cunho interno, sendo biológicos, psicológicos e comportamentais.

Estudando a secreção salivar em cães, Pavlov percebeu que cães alimentados rotineiramente no mesmo horário e local passavam, após alguns dias, a salivar antes mesmo da apresentação do alimento. Este dado demonstrou que de alguma forma, o organismo já tinha aquela resposta interiorizada tal qual um reflexo, assim como o tempo oportuno de salivar para receber o alimento que se seguiria (tempo de reação). A salivação foi interpretada como a resposta incondicionada (resposta incondicionada, do inglês, *unconditioned response* - UR) ao estímulo “alimento”, visto que intrinsecamente induz o efeito fisiológico (reflexo) de salivação. Para testar esta hipótese, Pavlov introduziu um sinal sonoro que era apresentado conjuntamente com o alimento toda vez que fornecesse comida ao animal. Após repetir esse procedimento inúmeras vezes (CS-US), o cão passou a receber apenas o sinal sonoro (CS) e, mesmo sem receber comida (US), apresentou salivação (resposta condicionada, do inglês, *conditioned response* - CR), tornando assim o sinal sonoro num estímulo condicionado (CS). Em outras palavras, o estímulo antes discreto passou a ser um gerador da CR (salivação) que antes era somente eliciada

pelo US (alimento). Constatou-se que o condicionamento clássico desencadeia um US significativamente biológico (Pavlov, 1927, 1932, 1976).

Dando continuidade ao que concerne os experimentos sobre aprendizagem associativa, Skinner foi propulsor desta escola na Psicologia trazendo o conceito de condicionamento operante ao investigar as relações entre o comportamento (fator interno) e o meio ambiente (fator externo) de humanos e animais (Zusne, 1984). Skinner defende o “Behaviorismo radical”, ao sugerir que estados internos, como pensamentos e sentimentos, são também comportamentos. Esta abordagem abrange o reforço de um comportamento a partir de um estímulo externo reforçador, o qual envolve o sistema de recompensa. Sendo o comportamento modulado pelas consequências, ele caracterizou este condicionamento em tipos diferentes de operação, dentre elas: o reforço positivo, o reforço negativo, a punição positiva e a punição negativa (Catania, 1999; McLeod, 2007; Myers, 1998; Skinner, 1938; Zusne, 1984)

Atualmente existem muitas contribuições sobre a memória implícita no condicionamento. Por exemplo, um intervalo mais longo entre estímulo condicionado e incondicionado (CS-US) proporciona uma produção maior de resposta condicionada (Blanchard, Yudko, Rodgers, & Blanchard, 1993; Finkbiner & Woodruff-Pak, 1991; Solomon, Blanchard, Levine, Velazquez, & Groccia-Ellison, 1991). Este e outros dados colaboraram para um maior entendimento quanto ao mecanismo deste tipo de aprendizagem. Por ser implícita, a memória ligada ao condicionamento está disponível de forma automática e inconsciente (Squire & Dede, 2015).

Vista a enorme gama de tipos de memória é evidente que tais processos envolvem a ativação de circuitarias neurais selecionadas para a sua efetivação. De um modo geral, isso se dá através de processos adaptativos do organismo ao meio, que por sua vez promovem alterações na eficiência sináptica e conseqüentemente na modulação do comportamento (Brandão, 2004; Gazzaniga 2009), e que ocorrem a partir da ativação de múltiplas regiões cerebrais, assim como complexos processos de plasticidade neural (Cruz & Landeira – Fernandez, 2012).

Muito se sabe a respeito dos “sistemas de memória” e sobre as circuitarias neurais envolvidas neste processo pelos estudos de casos clínicos e pesquisas com animais. Entre os casos mais conhecidos está o de H.M., um clássico caso relatado por Scoville & Milner (Scoville & Milner, 1957) de um paciente portador de epilepsia, potencialmente decorrente de uma lesão cerebral causada em um atropelamento por uma bicicleta aos nove anos de idade. Submetido a uma cirurgia que removeu bilateralmente o hipocampo, a amígdala e partes da área de associação do córtex temporal, H.M. teve como resultado a melhora das crises epiléticas, mas também sérios distúrbios de memória. Apesar de possuir boa capacidade de memória para eventos ocorridos antes da cirurgia (memória retrógrada), ele tinha uma amnésia gravíssima da memória anterógrada, não conseguindo reter informações novas por mais do que poucos minutos. Posteriormente verificou-se que esta dificuldade estava associada principalmente a lesões do hipocampo (Winocur, McDonald, & Moscovitch, 2001; Squire, 2009). Ademais, estudos com H.M. também revelaram que ele ainda era capaz de aprender tarefas motoras simples (como capacidade de adquirir habilidades viso-motoras na reprodução de um desenho), ainda que tivesse amnésia global (Scoville & Milner, 1957). Estas atividades rotineiras estão relacionadas a ativação do corpo estriado (Salat et al., 2006) e cerebelo (Squire, 2009).

Outro caso clínico que teve grande repercussão foi o de R.B., que apresentou comprometimento severo da memória retrógrada após sofrer uma isquemia (Rempel-Clower, Zola, Squire, & Amaral, 1996; Zola-Morgan, Squire, & Amaral, 1986). Exames histológicos post-mortem revelaram que, apesar de apresentar uma lesão confinada apenas a área CA1 do hipocampo, um pequeno dano cerebral em uma região específica pode causar um déficit significativo nas capacidades de memória (Squire & Wixted, 2011).

Estudos realizados em primatas durante a década de 1980 também foram importantes para a compreensão de quais estruturas são inerentes aos “sistemas de memória”. Nestes modelos animais de amnésia foram realizadas lesões cerebrais em regiões cerebrais específicas e posteriormente a avaliação dos déficits de memória através de testes comportamentais (Mishkin, 1982). Dentre as estruturas lesionadas, estão o hipocampo, o córtex entorrinal, o córtex perirrinal e os córtices

para-hipocampais, que compõem grande parte do giro para-hipocampal (Mishkin, 1982; Squire & Wixted, 2011; Zola-Morgan & Squire, 1991; Zola-Morgan, Squire, & Ramus, 1994). Ao longo dos últimos anos, pesquisas com animais utilizam o condicionamento de medo para investigar quais estruturas cerebrais estão envolvidas na aprendizagem aversiva (Ledoux & Daw, 2018b). De acordo com estas pesquisas, o condicionamento clássico está relacionado à memória implícita e tem um papel importante em muitas psicopatologias, incluindo os transtornos de ansiedade (Cruz & Landeira-Fernandez, 2012; Hugdahl, 1995). As teorias sobre a aprendizagem aversiva constantemente avaliam os padrões de reações defensivas como comportamentos automáticos eliciados pelo estímulo ameaçador (US ou CS) no condicionamento de medo (Ledoux & Daw, 2018b).

1.2

Aprendizagem do medo em ratos e modelos animais de ansiedade

O estudo das emoções e os distúrbios relacionados a ela existem desde a antiguidade. Dentre os estudiosos, Hipócrates (406-377 a.C.) descrito por Adams (1849), relata em seus pensamentos que "os homens deveriam saber que é do cérebro, e de nenhum outro lugar, que vêm as alegrias, as delícias, o riso e as diversões, e tristezas, desânimos e lamentações" (p. 854).

Tal visão cefalocentrista desencadeou diversos estudos até Charles Darwin (1859/2014), que trouxe valiosas observações e estabeleceu a seleção natural como princípio da evolução, sugerindo que todas as espécies possuem um ancestral comum específico e que mudanças que promovem adaptação ao meio são selecionadas e propagadas. Posteriormente, Darwin (1872/2000) sugeriu que não só as estruturas anatômicas passaram por um processo evolutivo, como também alguns comportamentos e emoções eram compartilhados por diversas espécies, sendo o medo e as reações de defesa um dos primeiros a serem elaborados no processo evolutivo (Darwin, 1839/2009, 1859/2014, 1872/2000). No sistema de defesa, a ativação pode acontecer por duas maneiras: estímulos naturalmente ameaçadores (US), que são reconhecidos de maneira inata por todos os indivíduos de uma determinada espécie através do processo de evolução filogenética; e os estímulos condicionados (CS), adquiridos através de processos de aprendizagem ao

longo do desenvolvimento ontogenético de cada organismo (Callegaro & Landeira-Fernandez, 2015; Gomes & Landeira-Fernandez, 2008).

As definições de medo e ansiedade se entrelaçam (Gray & McNaughton, 2000; Perusini & Fanselow, 2015). O medo refere-se ao “perigo real” iminente, enquanto que a ansiedade ao “perigo antecipado ou potencial” (Sylvers, Lilienfeld, & LaPrairie, 2011). Como exemplo do primeiro, imagine que um homem ao passear numa floresta se depare com um tigre, sua reação inconsciente imediata é de ficar imóvel frente tal ameaça e, dependendo da distância do qual se encontre do perigo, decidir correr ou enfrentá-lo. Já como exemplo de ansiedade, imagine que o mesmo homem durante o seu passeio na floresta escute barulhos entre os galhos sem saber a causa destes. Embora inicialmente, semelhante à reação de medo, o indivíduo possa ficar imóvel, sua atitude passa a ser de constante avaliação de um perigo em potencial. Além disso, em ambos os casos o indivíduo apresentará respostas simpáticas semelhantes, tais como palpitação, sudorese, boca seca, tremores musculares, entre outras (Graeff, 1994). Analogamente em ratos, estudos demonstram uma resposta de “congelamento” (ausência de movimentos corporais, do inglês, *freezing*) frente à exposição a um predador ou a um perigo em potencial (Blanchard & Blanchard, 1989). Esta resposta também é acompanhada de tremores, irregularidade na respiração, piloereção, micção, defecação e exoftalmia (Brandão & Graeff, 2014; Davies & Morris, 1993).

Cabe mencionar que grande parte dos estudos com modelos animais de alta e baixa ansiedade são realizados em roedores, sejam estes camundongos ou ratos (Steimer, 2011). Rodgers (1997) relata que na literatura há mais de trinta procedimentos (protocolos) de condicionamento de medo com roedores. Vale dizer, também, que diversos estudos de aprendizagem de condicionamento ao medo utilizam a medida de “congelamento”, por ser uma resposta defensiva de alta conservação entre os mamíferos (Shuhama, Del-Ben, Loureiro, & Graeff, 2007). O “congelamento” é uma resposta facilmente condicionada (Blanchard & Blanchard, 1969; Brandão 2004; Gomes & Landeira-Fernandez, 2008; Fanselow, 1980;), considerada uma medida preditiva da reação defensiva tanto em humanos quanto em animais (Gladwin, Hashemi, van Ast, & Roelofs, 2016), possuindo relevância nos estudos sobre psicopatologias relacionadas ao estresse e a ansiedade.

Deste modo, os modelos animais de ansiedade baseados nos experimentos realizados com a indução ao medo, podem ser divididos em modelos animais de medo inato ou modelos animais de medo aprendido. Dentre estes modelos de medo aprendido se tem os modelos de “medo associado ao contexto” e os de “medo associado ao estímulo discreto” (Gomes, Silva, & Landeira-Fernandez, 2011; Gordon & Hen, 2004). Estudos que utilizam modelos animais condicionados ao medo contextual são considerados modelos válidos e confiáveis para o estudo dos mecanismos biológicos e comportamentais do transtorno de ansiedade generalizada (Andreatta et al., 2015; Dias, Bevilaqua, Da Luz, et al., 2014; V. D. C. Gomes et al., 2011; Huckleberry, Ferguson, & Drew, 2016; Landeira-Fernandez, 1996; Luyten, Vansteenwegen, Van Kuyck, Gabriels, & Nuttin, 2011). Por outro lado, modelos animais condicionados ao medo de estímulo discreto são considerados válidos para o estudo de fobia específica (Garcia, 2017; Grillon, 2002)

Segundo Landeira-Fernandez (Landeira-Fernandez, 1996), o medo condicionado ao contexto representa uma das formas mais simples e rápidas de produzir a aprendizagem aversiva. É um dos modelos mais utilizados de medo aprendido, pois condiz ao processo pelo qual contextos neutros passam a evocar medo por meio de sua associação prévia a estímulos aversivos, ao passo que o medo condicionado ao estímulo discreto associa um estímulo discreto de luz ou de som a um estímulo aversivo. Em ambos os condicionamentos, os estímulos neutros quando condicionados, passam a evocar medo e respostas defensivas. Apesar de terem semelhanças, o medo condicionado ao estímulo discreto tem como característica diferencial um CS que é adicionado ao contexto (Anagnostaras, 2010), utilizando protocolos de pré-exposição ao contexto ou de troca de contexto com a finalidade de controlar que a associação aversiva seja ao estímulo discreto e não ao contexto (Curzon, Rustay, & Browman, 2011). Ainda, dentre as características que os diferem, o medo contextual envolve múltiplos estímulos sensoriais sendo conhecido como “polimodal”, enquanto que o medo de estímulo discreto envolve apenas um estímulo sensorial em específico sendo “unimodal” (Anagnostaras, 2010). Nestes condicionamentos pode ocorrer o fenômeno de “generalização”. Segundo Huckleberry et al. (2016), ocorre o processo de generalização quando a resposta aprendida é evocada por estímulos semelhantes aqueles do CS original, ou

seja, este fenômeno ocorre quando a resposta condicionada por determinado estímulo é acionada por outro estímulo semelhante a ele.

Tendo em vista estes modelos de condicionamento ao medo, estudos realizados com modelos animais de ansiedade em ratos demonstraram que as principais áreas envolvidas na circuitaria neural da aprendizagem aversiva incluem a amígdala, o hipocampo (LeDoux, 1998; LeDoux & Phillips, 1992; Kim, Rison, & Fanselow, 1993), a matéria cinzenta periaquedutal (Ballesteros, Galvão, Maisonette, & Landeira-Fernandez, 2014; Santos, Brandão, Vianna, & Masson, 2003), e os córtices frontal, ventromedial e cingulado (Curzon et al., 2011). Dentre estas estruturas, a amígdala é responsável pela percepção da qualidade aversiva do estímulo e está relacionada à memória implícita (Blair & LeDoux, 2005; LeDoux, 1998, 2012; LeDoux & Daw, 2018). Estudos com estimulação elétrica ou química nesta estrutura podem induzir o comportamento defensivo de “congelamento” (Al Maskati & Zbrozyna, 1989; Kapp, Gallagher, Applegate, e Frysinger, 1974), assim como o aumento das respostas simpáticas (Davis, 1992). Alguns experimentos de lesões na amígdala antes da aquisição do medo sugerem que o complexo basolateral é um local importante para o condicionamento de medo (Curzon et al., 2011). Entretanto, há controvérsias de sua importância no condicionamento de medo contextual. Experimentos que utilizaram como instrumento de condicionamento contextual o labirinto em Y revelaram que a amígdala não é essencial para o aprendizado do medo contextual (Vazdarjanova & McGaugh, 1998), enquanto que experimentos que realizaram condicionamento do medo contextual em caixa/câmara evidenciaram que lesões na amígdala reduzem, mas não impedem a resposta de “congelamento” no medo contextual (Gomes & Landeira-Fernandez, 2008).

Já em experimentos realizados por Kim & Fanselow (1993), lesões no hipocampo de ratos que foram condicionados no medo contextual e ratos condicionados no medo a estímulos discretos (como a luz ou o som), demonstraram que o hipocampo é uma estrutura crucial para a aquisição do medo contextual desempenhando um papel temporário nestas memórias, enquanto que o mesmo não o é para a aquisição do medo condicionado ao estímulo discreto (LeDoux & Phillips, 1992). De acordo com estes estudos conclui-se que a circuitaria neural responsável pela aquisição do

medo ao estímulo discreto não utiliza diretamente os substratos neurais do hipocampo, sendo mediados pela amígdala (LeDoux, 2012). Ainda acerca do hipocampo, experimentos que tiveram como medida o ato reflexo de piscar os olhos no medo ao estímulo discreto evidenciaram que a lesão do hipocampo compromete a memória implícita quando a associação dos estímulos é de “atraso” (o CS é apresentado um pouco antes do US, e ambos terminam concomitantemente), enquanto que não compromete a associação de estímulos de “traço” (quando um intervalo curto é interposto entre o deslocamento do CS e o início dos US). Estes últimos dados concluem hipoteticamente que o condicionamento de traço pode envolver um instante de consciência entre o CS e o US, e por este motivo envolveria o hipocampo (Clark & Squire, 1998).

Estudos realizados por Chaaya, Battle e Johnson (2018) sobre a memória do medo contextual relatam que tanto o hipocampo quanto a amígdala são importantes para a aquisição e consolidação do medo contextual, e outros estudos de Tovote, Fadok, e Lüthi (2015) acrescentam que vias adicionais no condicionamento de medo auditivo fundamentam o papel da plasticidade dependente da atividade das diferentes regiões da amígdala, podendo esta estrutura estar relacionada não só à consolidação como à extinção de medos condicionados. Apesar da hipótese do hipocampo ser uma estrutura essencial para a aprendizagem do medo contextual e dos estudos que sugerem que a amígdala seja importante para a aquisição, o armazenamento, a consolidação e a expressão da memória de medo condicionado (Kim & Jung, 2006), ainda são escassas as informações quanto ao papel do hipocampo e da amígdala nestes condicionamentos.

Em relação à matéria cinzenta periaquedutal (MCP), o comportamento defensivo de “congelamento” é interrompido quando são realizadas lesões na sua região ventral, ao passo que ocorre o oposto quando as lesões são na região dorsal (De Oca, DeCola, Maren, & Fanselo, 1998). A região ventral está relacionada ao medo ao CS enquanto que a região dorsal é ativada no medo ao US. Esta informação é relevante por sua região ventral também ser ativada no sistema de dor (LeDoux, 2012). A dor e as respostas defensivas possuem forte interação, embora tenham identidades próprias (Brandão, 2004). Apesar destes estudos inicialmente já sugerirem que a partir da MCP ocorre uma interação entre ansiedade e dor (DeOca

et al., 1998; LeDoux, 2012), ainda são necessários estudos que investiguem as modulações de sensibilidade dolorosa, dor aversiva e dor afetiva em modelos animais de ansiedade. Estudos com modelo animal de medo contextual (Ballesteros, et al., 2014) indicaram que a região ventral do hipotálamo desempenha um papel importante no comportamento defensivo induzido pela estimulação elétrica da matéria cinzenta periaquedutal dorsal.

Estudos sobre os córtices frontais, ventromedial e cingulado na aprendizagem do medo mostraram que estas áreas quando lesionadas ou inativadas por indução farmacológica comprometem a aquisição de memórias porque são áreas da aprendizagem atencional (Curzon et al., 2011). Lesões nessas áreas podem causar déficits no condicionamento de medo contextual (Curzon et al., 2011; Pezze & Feldon, 2004). Considerando estes estudos com modelos animais de ansiedade acerca de estudos por lesões, inativação, estimulação elétrica ou química conclui-se que mais investigações são necessárias para verificar a circuitaria do medo condicionado ao contexto e do medo condicionado ao estímulo discreto.

1.3

Considerações Finais

A partir de um levantamento realizado em 2017 pela Organização Mundial de Saúde (OMS), foi estabelecido que 3,4% da população mundial sofre com os distúrbios de ansiedade, estando no ranking mundial em sexto lugar como doença debilitante. Frente a estes dados, a manifestação da ansiedade disfuncional na vida moderna continua requisitando atenção das pesquisas em saúde mental. Desta forma, estudos em modelos animais realizados a partir de lesões, estimulação elétrica, química, manipulação genética e por inativação de determinadas áreas cerebrais relacionadas à aprendizagem do medo são fundamentais para o nosso entendimento dos processos neurais envolvidos nos transtornos de ansiedade (Carvalho, Santos, & Brandão, 2015; Bortoli, Yamashita, & Zangrossi, 2013; Gomes & Landeira-Fernandez, 2008; Engin et al., 2016; Korn et al., 2017; Luyck et al., 2017; Matthiesen, Spiacci, & Zangrossi, 2017; Riaz, Schumacher, Sivagurunathan, Van Der Meer, & Ito, 2017; Zhuo, 2016). Além disso, entender como funciona a memória implícita, como se dá a aprendizagem associativa durante os processos de condicionamento de medo, e como ocorre a partir de mecanismos

psicobiológico pode trazer maiores conhecimentos acerca da ansiedade disfuncional, se faz importante para a constante formação dos profissionais da área da saúde mental. Os experimentos com animais são a base para posteriores pesquisas que visam aperfeiçoar estratégias a serem utilizadas no manejo clínico dos transtornos de ansiedade e no desenvolvimento de novas psicofarmacoterapias no tratamento destes transtornos (Harro, 2018).

2

Capítulo II: Condicionamento ao medo de estímulo específico nos ratos Cariocas de alto e baixo congelamento

Os transtornos de ansiedade estão entre as condições psiquiátricas mais prevalentes e debilitantes (Baxter, Scott, Vos, & Whiteford, 2013), atingindo mais de 250 milhões de pessoas no mundo (World Health Organization, 2017). Os transtornos de ansiedade apresentam importantes problemas econômicos, sociais e emocionais, pois leva à redução da produtividade, baixo desempenho acadêmico, aumento dos tratamentos de saúde, estresse e dificuldades familiares (Tyrrer & Baldwin, 2006). As estimativas atuais dos encargos financeiros para a sociedade relacionados aos transtornos de ansiedade excedem US \$ 3 bilhões por ano (Chisholm et al., 2016). Além disso, dados longitudinais indicam que indivíduos com estes transtornos estão ligados a uma maior chance de desenvolver depressão, que por sua vez está associada a um aumento do risco de morte por suicídio (Meier et al., 2016; Sareen, Houlihan, Cox, & Asmundson, 2005; Simon, 2009). Transtorno de ansiedade generalizada (GAD; Tyrrer & Baldwin, 2006) e fobia específica (Eaton, Bienvenu, & Miloyan, 2018) são dois dos transtornos de ansiedade mais comuns (Steel et al., 2014; Wolitzky-Taylor, Castriotta, Lenze, Stanley, & Craske, 2010). O primeiro é caracterizado principalmente por um estado persistente e excessivo de preocupação, enquanto o segundo é marcado por uma apreensão e medo persistente em relação a objetos ou situações (American Psychiatric Association, 2013). Embora estudos epidemiológicos forneçam ampla evidência de comorbidade entre diferentes tipos de transtornos de ansiedade (Bandelow & Michaelis, 2015; Michael & Margraf, 2004), a interação entre TAG e fobia específica não é muito clara (Grillon, 2002; Lang et al., 2000; Watson, 2005). A compreensão da relação entre o TAG e a fobia específica nos níveis neural e comportamental pode fornecer mais informações sobre os fundamentos neurobiológicos desses transtornos.

A seleção bidirecional de roedores para traços de ansiedade tem sido usada com sucesso para investigar os mecanismos fisiopatológicos básicos envolvidos nos transtornos de ansiedade (Belzung & Lemoine, 2011; Lang et al., 2000; Willner & Mitchell, 2002). Até agora, uma série de linhas de ratos selecionadas seletivamente para comportamentos relacionados a alta e baixa ansiedade foram criados (Gomes

etal., 2013). Entre essas linhas estão os ratos Romanos de Alta e Baixa Esquiva, os ratos de Comportamento de Alta e Baixa Ansiedade (HAB e LAB, respectivamente) e os ratos Cariocas de Alto e Baixo Congelamento Condicionado (Liebsch, Montkowski, Holsboer, & Landgraf, 1998; Río-Álamos et al., 2017). Curiosamente, embora os traços de alta e baixa ansiedade de cada uma dessas linhagens tenham sido baseados em uma resposta comportamental específica (isto é, aprendido em uma tarefa de esquiva de duas vias, tempo gasto no braço aberto do labirinto em cruz elevado e congelamento condicionado ao medo contextual por choque nas patas), ratos de diferentes linhas frequentemente exibem fenótipos comportamentais similares de alta e baixa ansiedade quando testados em outros paradigmas aversivos de aprendizagem e condicionamento (Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Por exemplo, diferenças comportamentais comparáveis entre ratos HAB e LAB foram observadas nos testes de interação social, campo aberto e caixa claro-escuro (Gomes et al., 2013). No entanto, essa generalização não é observada em todas as linhagens (Gomes et al., 2013b), indicando possíveis interações de traço e estado únicas. Particularmente, quando se trata de estudos que comparam respostas de ansiedade condicionada a estímulos contextuais (modelo GAD) e estímulos específicos (como em fobia específica), os resultados foram, até agora, inconclusivos (Curzon et al., 2011; Graeff & Zangrossi, 1994; Lang et al., 2000; Tovote et al., 2015). Uma possível razão para essa inconsistência é que as linhagens de animais usadas em estudos anteriores não foram criadas seletivamente com base em respostas comportamentais a estímulos contextuais nem específicas. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o congelamento condicionado pelo estímulo específico dos ratos Carioca de Alto e Baixo Congelamento Condicionado (CAC e CBC, respectivamente), linhagens de ratos seletivamente criados para respostas de alto e baixo congelamento a estímulos contextuais previamente associadas com um estímulo aversivo (Gomes et al., 2011).

2.1 Material e métodos

2.1.1 Animais

Neste estudo foram utilizados ratos machos adultos CAC (n = 16) e CBC (n = 16) (13 - 17 semanas de idade) obtidos em um segundo cruzamento da 28^a geração das linhagens CAC e CBC, conforme descrito anteriormente (Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Ratos Wistar normais da mesma idade foram usados como controles (CTL, n = 16). Todos os animais foram criados e mantidos no biotério do Laboratório de Neurociência Comportamental (LANEC) da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro e mantidos em ciclo claro / escuro de 12:12 horas (luzes acesas: 7:00 hr, luzes off: 19:00 hr) em temperatura controlada (24 ± 1 ° C), com livre acesso a alimento e água. No desmame (dia 21 pós-natal), ratos do mesmo grupo foram alojados juntos (6 animais por gaiola). Antes do início dos testes comportamentais, o número de animais por gaiola foi reduzido para quatro ratos e foi manipulado uma vez por dia (2 minutos) durante cinco dias. O teste comportamental foi realizado durante o período claro do ciclo claro-escuro e realizado em 3 dias consecutivos. Todos os procedimentos experimentais foram realizados em conformidade com o Comitê de Cuidado e Uso Animal da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, de acordo com a Declaração de Helsinki e com o Guia de Cuidado e Uso de Animais de Laboratório adotado e promulgado pelos Institutos Nacionais de Saúde.

2.1.2 Condicionamento ao medo específico

Diferentes câmaras foram utilizadas para estudar o condicionamento do medo ao estímulo específico de som (quatro câmaras A e quatro B). Uma vez que as linhagens dos Cariocas foram selecionadas através de respostas de alto e baixo congelamento condicionado ao medo contextual (Gomes & Landeira-Fernandez, 2008) os estímulos visuais, tácteis e olfativos entre as câmaras de A e B eram diferentes, a fim de reduzir a influência do contexto ao medo auditivo condicionado. Câmaras A foram constituídas de caixas de *plexiglass* (25 × 20 × 20 cm, do Insight; Ribeirão Preto) com piso de grade de metal, iluminada por luz vermelha de 25 W, ao passo que as câmaras B eram gaiolas de alojamento padrão de policarbonato (18

x 31 x 38 cm), com pisos lisos, iluminada por luz branca de 25 W. Ambos os conjuntos de câmaras estavam localizados dentro de caixas de atenuação de som e, antes e depois de cada uso, as câmaras A foram limpas com uma solução de amônia (5%) e as câmaras B foram limpas com uma solução de álcool isopropílico (70%). Além disso, antes de testar os animais para o medo condicionado ao som, todos os grupos experimentais foram habituados ao novo contexto da câmara B por 8 minutos, 24 hr após a sessão de aquisição do medo ao som (dia 1). A avaliação do medo auditivo condicionado só ocorreu no dia seguinte na sessão de teste, quando os animais foram colocados novamente na câmara B. Câmeras de vídeo localizadas dentro das caixas de atenuação do som registraram o comportamento dos animais continuamente durante todas as sessões de teste. Por vez, para uma sessão, quatro animais foram testados ao mesmo tempo. Um observador treinado, cego para o grupo experimental do animal, quantificou os episódios de congelamento em um intervalo de 2 s durante períodos específicos de cada sessão de teste. O congelamento, uma medida clássica de medo (Fanselow, 1980), foi definido como uma completa ausência de movimentos, exceto aqueles relacionados à respiração. Um computador desencadeou os choques nos pés (estímulos incondicionados, US) que foram entregues através de uma interface de ligação com um gerador de choques (insight; Ribeirão Preto) para a rede metálica no interior das câmaras. Um tom puro (1000 kHz, 67 dB) como estímulo auditivo (estímulo condicionado, CS), foi entregue através de um alto-falante (Coulbourn Instruments) localizado acima de cada câmara (A e B). Os estímulos auditivos e os choques foram pareados durante as sessões de aquisição realizadas nas câmaras A, enquanto o mesmo estímulo auditivo foi apresentado sozinho durante as sessões de teste usando câmaras B (veja abaixo).

Dia 1: No dia do condicionamento (aquisição), os ratos CAC, CTL e CBC foram uniformemente atribuídos às condições de Choque + som (n = 24) e Só som (n = 24). Os animais foram colocados individualmente nas câmaras A (4 animais testados de uma vez) e habituados durante 3 minutos (baseline). A aquisição do medo foi em seguida eliciada nos grupos Choque + som administrando-se 3 choques nas patas não sinalizados de 1 mA cada e 1s de duração, enquanto apresentava um CS de 30 s, composto por um tom puro de 1000 kHz de 67 dB. Este procedimento foi repetido 3 vezes com intervalos de 2 minutos entre as séries. No

final da última apresentação de CS (som), o congelamento foi medido por um período de 5 minutos. Os grupos Só som passaram pelo mesmo protocolo, com a diferença de que não receberam choques nas patas. Os animais foram então devolvidos às suas gaiolas e levados de volta para o biotério.

Dia 2 e 3: Como mencionado acima, para reduzir a influência do contexto no condicionamento do medo ao estímulo específico de som, 24 hr após a aquisição do medo, todos os animais foram colocados individualmente em um novo contexto (câmara B) por 8 minutos. O congelamento foi pontuado por um período de 5 minutos imediatamente após os animais serem colocados na câmara. No final da sessão, os animais voltaram para suas gaiolas e foram transferidos de volta para o biotério dos animais. Vinte e quatro horas depois, os animais passaram pelo mesmo protocolo, exceto que desta vez, ao final de um período de 3 minutos de habituação (baseline), o mesmo tom puro (som) apresentado no dia 1 (CS) foi apresentado durante 5 minutos. O congelamento foi marcado para ambos os períodos de baseline e apresentação de CS (teste).

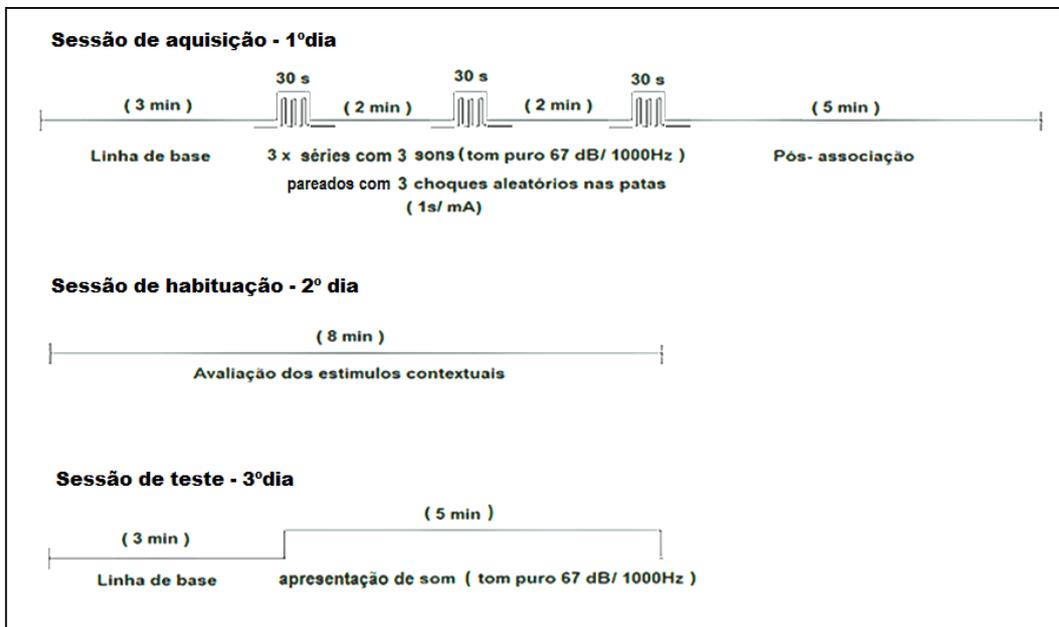


Figura 2 – Delineamento experimental do condicionamento ao medo de estímulo específico.

2.1.3 Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas usando o software IBM SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). As comparações foram realizadas utilizando análises de variância de uma via, de duas vias ou repetidas (uANOVA, ANOVA de duas vias ou rANOVA, respectivamente) sempre que apropriado. A linhagem (CAC, CTL e CBC) e o tratamento (Só som e Choque + som) foram considerados como fatores entre os indivíduos. Para o dia 3, um total de cinco intervalos iguais de um minuto (intervalo de tempo) foi considerado como fatores intra-sujeitos. Quando efeitos significativos de linhagem, tratamento e intervalo de tempo, ou interações entre estes foram detectados em uANOVA, ANOVA de duas vias ou rANOVAS, foram realizadas ANOVAs de ordem inferior apropriadas, seguidas por testes post hoc (FPLSD). Para todos os testes estatísticos, a significância foi estabelecida em $P < 0,05$ (bicaudal).

2.2 Resultados

No dia 1, todos os animais que receberam os choques pareados com o estímulo auditivo apresentaram tempo de congelamento significativamente maior do que aqueles que não receberam os choques e foram apresentados somente ao estímulo auditivo (Figura 3A; ANOVA de duas vias: tratamento, $F(1,48) = 379,52$, $P < 0,001$). Além disso, os ratos CAC e CTL que receberam choques nas patas (Choque + som) exibiram significativamente mais congelamento que os CBC na mesma condição experimental (Figura 3A; linhagem, $F(2,48) = 26,61$, $P < 0,001$; tratamento de linhagem, $F(2,48) = 20,23$, $P < 0,001$). Como esperado, não houve diferenças ou interações significativas quanto à quantidade de congelamento entre todos os grupos experimentais antes da aquisição/treino de CS (Figura 3B; baseline; ANOVA de duas vias: tratamento, $F(1,48) = 0,30$, $P = 0,59$, linhagem, $F(2,48) = 0,83$, $P = 0,44$, linhagem x tratamento, $F(2,48) = 0,42$, $P = 0,66$).

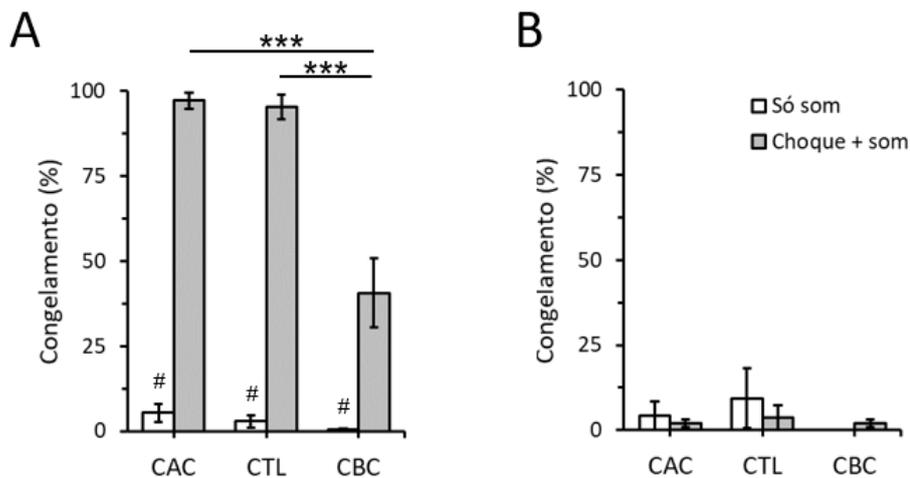


Figura 3 - Condicionamento do medo nos animais CAC, CBC e controle (CTL). A e B, são os gráficos representando as médias das respostas de congelamento (em%) após (A) e antes do teste de condicionamento do medo (B, ver métodos). Note que enquanto o condicionamento de congelamento foi observado para todos os grupos expostos aos estímulos de choque nas patas e som (grupo Choque + som) quando comparado aos grupos Só som, os animais CBC Choque + som apresentaram significativamente menos congelamento que os demais grupos Choque + som. Não foram encontradas diferenças nas respostas de congelamento entre os grupos nos três minutos da *baseline* da fase de aquisição do condicionamento (B). $n = 8$ animais para todos os grupos experimentais. Barras são médias \pm SEM. FPLSD: *** $P < 0,001$; Choque + som vs. Só som, # $P < 0,001$ para todas as comparações.

Como as linhagens dos Cariocas foram seletivamente criadas para respostas altas e baixas de congelamento condicionado ao contexto (Gomes et al., 2008), decidimos expor todos os animais dos diferentes grupos experimentais a um novo contexto (dia 2) para reduzir a possível influência do contexto no condicionamento de estímulo específico de som (ver métodos). A avaliação da resposta ao medo condicionado foi feita apenas 24 hr depois (dia 3). A Figura 4A mostra que, mesmo em um novo contexto, os animais CAC apresentaram significativamente mais congelamento que os demais grupos (ANOVA de duas vias: tratamento, $F(1,48) = 7,31$, $P < 0,05$; linhagem $F(2,48) = 9,19$, $P < 0,001$; linhagem x tratamento, $F(2,48) = 3,27$, $P = 0,05$). No dia seguinte, quando os animais foram reexpostos ao mesmo contexto, tais diferenças foram muito menores (Figura 4B; dia 3, linha de base) e não apresentaram diferença significativa (ANOVA de duas vias: tratamento, $F(1,48) = 0,02$, $P = 0,88$, linhagem, $F(2,48) = 2,87$, $P = 0,07$). No entanto, houve significância em linhagem (isto é, os ratos CAC congelaram mais do que os CBC). Assim, a análise das respostas de congelamento ao estímulo condicionado foram feitas usando Δ de congelamento (ou seja, a resposta média de congelamento ao estímulo auditivo menos o congelamento médio inicial).

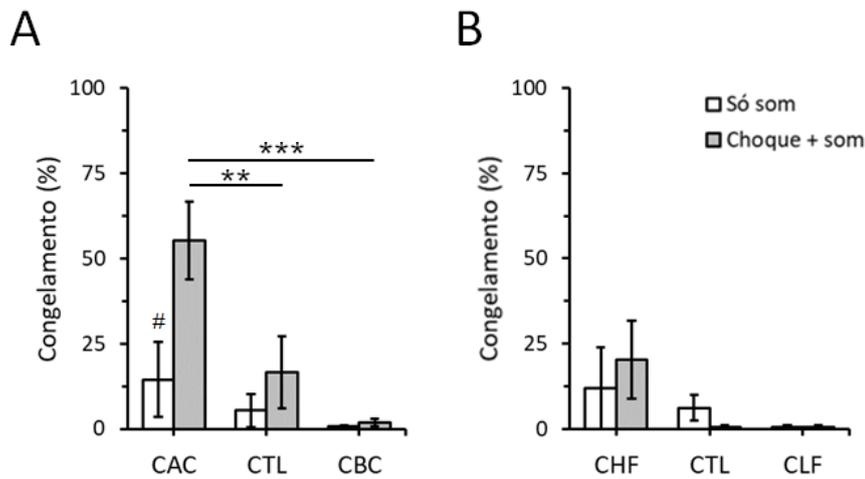


Figura 4 - Respostas de congelamento contextual dos animais CAC, CBC e controle (CTL), 24hr (A) e 48 hr (B) após condicionamento ao medo (dia 1). $n = 8$ animais para todos os grupos experimentais. Barras são médias \pm SEM. FPLSD: ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$; CAC Choque + som vs. CAC Só som, FPLSD, # $P < 0,001$.

A Figura 5A ilustra que todos os grupos de Choque + som foram condicionados ao estímulo auditivo que foi apresentado no dia 1 (ANOVA de duas vias: tratamento, $F(1,48) = 22,10$, $P < 0,001$; linhagem, $F(2,48) = 4,13$, $P < 0,05$). No entanto, assim como no dia 1, os animais do grupo CBC Choque + som exibiram significativamente menos congelamento do que os CAC e CTL na condição experimental do dia 3 (Figura 5A). Isso pode ser explicado pelo fato de que, quando examinamos o Δ da média congelamento dos grupos Choque + som durante a apresentação do CS (Figura 5B), a quantidade de congelamento dos animais CBC diminuiu significativamente ao longo do tempo (rANOVA: linhagem x intervalo de tempo, $F(1,21) = 11,34$, $P < 0,05$). Curiosamente, no entanto, no primeiro minuto da sessão de teste, não foram observadas diferenças significativas no Δ de congelamento entre os diferentes grupos de Choque + som (Figura 5C; uANOVA: $F(2,21) = 0,32$, $P = 0,73$).

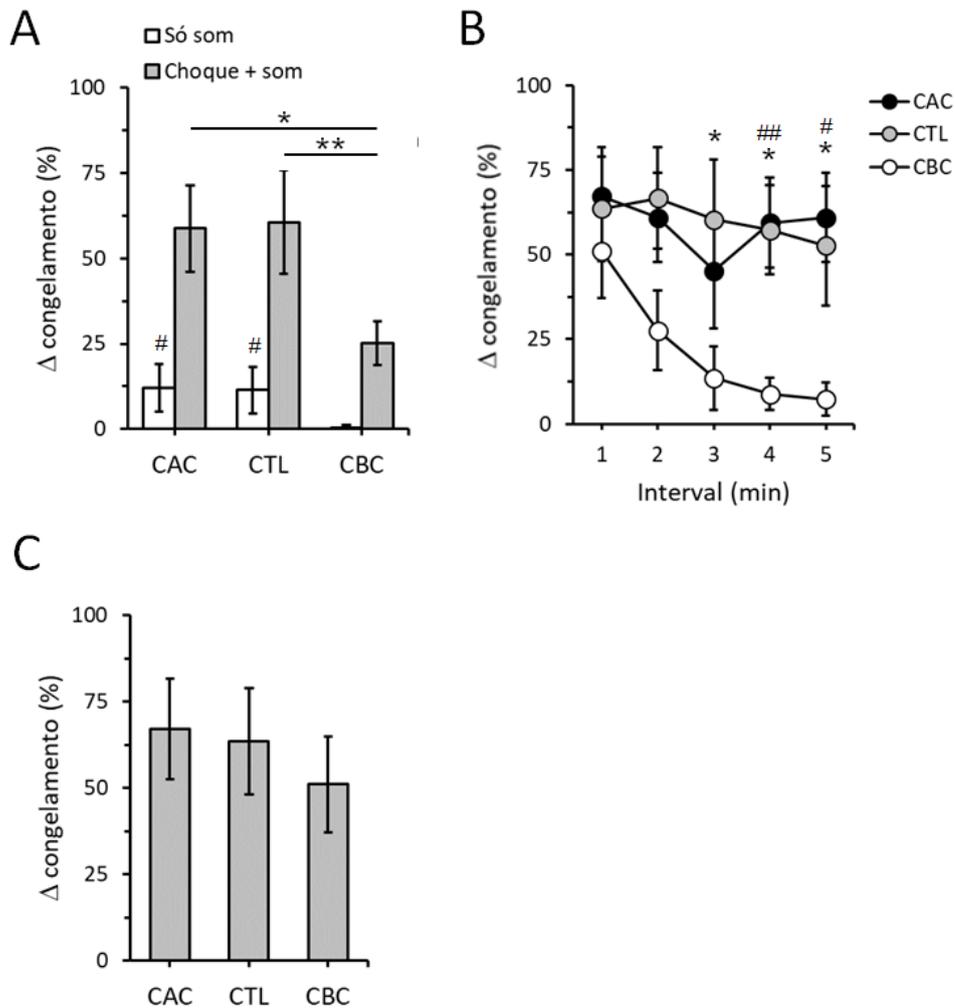


Figura 5 – Delta (Δ) da resposta de congelamento dos animais CAC, CBC e controle (CTL) ao estímulo específico auditivo. A e B, média do percentual de respostas de congelamento para os diferentes grupos experimentais durante todo o teste de CS (A) e durante a sessão de teste (B). Não foram observadas diferenças entre as respostas de congelamento dos grupos Choque + som CAC e CTL (A e B). Curiosamente, não foram encontradas diferenças significativas nas respostas de congelamento entre todos os grupos de Choque + som no primeiro minuto do teste de condicionamento ao estímulo específico (B e C). $n = 8$ animais para todos os grupos experimentais. Barras e símbolos são médias \pm SEM. Em A, FPLSD, * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$; Choque + som vs. Só som, # $P < 0,001$ para ambas as comparações. Em B, CBC vs. CTL, * $P < 0,05$; CBC vs. CAC, # $P < 0,05$, ## $P < 0,01$.

2.3 Discussão

Aqui nós mostramos que os ratos Cariocas, assim como os animais do grupo controle, exibiram condicionamento do medo para um CS auditivo. Embora para o grupo CBC, esse condicionamento tenha sido rapidamente extinto. Apesar da curta duração, a quantidade de congelamento do grupo CBC Choque + som no condicionamento de medo ao estímulo auditivo foi muito maior do que a apresentada no dia 2, quando esses animais foram expostos apenas a um novo contexto (ver Figuras 4A e 5A).

Em comparação com achados prévios de medo contextual em ratos CAC e CBC (Gomes et al., 2011; Hassan, Gomes, Pinton, Rocha, & Landeira-Fernandez, 2013a; Hassan, Silva, Rocha, & Landeira-Fernandez, 2015; León et al., 2017), os resultados atuais mostram claramente um padrão de condicionamento diferente nas linhagens dos Cariocas no condicionamento do medo auditivo. No medo contextual, os animais CAC congelam mais que os ratos CTL e estes mais do que os CBC quando retornam ao mesmo contexto usado para aquisição do medo (Gomes et al., 2011). Em vez disso, no condicionamento de medo auditivo, não foram observadas diferenças na quantidade de congelamento entre os grupos CAC e CTL durante a apresentação auditiva e, no primeiro minuto da sessão de teste, os ratos CBC também apresentaram valores similares de congelamento. Esse padrão é semelhante ao observado em um estudo anterior usando outra linha de ratos com alta e baixa ansiedade. Muigg e colaboradores (2008) mostraram que ratos HAB / LAB se comportam igualmente com relação ao condicionamento de medo específico ao som, mas apresentam diferenças marcantes (HAB > LAB) no labirinto em cruz elevado. Uma explicação possível para a falta de generalização (isto é, fenótipos comportamentais de alta e baixa ansiedade semelhantes) entre os dois tipos de condicionamento (contexto vs. medo específico) é que as vias neurais envolvidas nesses dois tipos de paradigma são distintas. De fato, um corpo substancial de evidências de estudos neuroquímicos, farmacológicos, de lesão cerebral e estimulação elétrica apoia essa ideia (para uma revisão, ver Tovote et al., 2015). Por exemplo, o hipocampo desempenha um papel crítico no condicionamento do medo contextual e não está necessariamente associado ao medo de estímulo específico (Chaaya et al., 2018; Corcoran, 2005; Corcoran & Maren, 2001b; Anagnostaras, Gale, & Fanselow, 2001; Kim et al., 1993; LeDoux & Phillips, 1992; Sanders, Wiltgen, & Fanselow, 2003; Young, Fox, & Eichenbaum, 1994). Por outro lado, a amígdala é essencial para o medo ao estímulo específico e pode não ser tão importante no condicionamento do medo contextual (LeDoux & Phillips, 1992; Vazdarjanova & McGaugh, 1998). De acordo com essa dicotomia, estudos neuroquímicos prévios do nosso laboratório demonstraram que os ratos CAC e CBC diferem na quantidade de liberação de GABA no hipocampo (Dias, et al., 2014), enquanto lesões eletrolíticas da amígdala reduzem significativamente, mas não impedem o congelamento condicionado ao medo

contextual em animais CAC e CBC (Gomes & Landeira-Fernandez, 2008). Assim, nossos achados corroboram com a hipótese de que as respostas de ansiedade condicionada ao contexto e ao medo específico (auditivo) englobam diferentes traços de ansiedade e diferentes substratos neuronais. Além disso, nossos resultados sugerem que mudanças neurais específicas estão envolvidas na seleção bidirecional da linhagem dos Cariocas para o medo contextual.

Em contraste com o que observamos para ratos CAC e CTL, os animais CBC no grupo Choque + som mostraram uma redução significativa da quantidade de congelamento ao longo do tempo durante a apresentação do som (dia 3). Este resultado aponta claramente para uma extinção mais rápida do medo auditivo condicionado em ratos CBC e está de acordo com um estudo anterior mostrando que os ratos LAB também exibem rápida extinção ao condicionamento de medo auditivo (Muigg et al., 2008). Uma interpretação possível para esses achados é que animais com um baixo traço de ansiedade se comportam de maneira mais hiperativa do que seus correspondentes com alta ansiedade e, assim, se engajam rapidamente em comportamentos mais ativos. Em um estudo recente, Yen e colaboradores (2013) observaram que camundongos seletivamente criados para níveis baixos de ansiedade mostraram níveis elevados de locomoção e déficits de habituação no teste de campo aberto em comparação com camundongos criados para comportamento normal e relacionado à alta ansiedade. Da mesma forma, dados não publicados de nosso laboratório também mostram que os ratos CBC têm maior atividade locomotora no campo aberto em comparação aos animais CAC e CTL. Embora a avaliação da atividade locomotora dentro das câmaras de condicionamento não seja viável, os animais CBC exibem claramente muita agitação durante as sessões de teste. Outra possibilidade para explicar a rápida e progressiva diminuição do medo condicionado em ratos com CBC é que, para esses animais, os processos de aprendizagem inibitória que permitem a extinção de respostas condicionadas de medo ocorrem rapidamente (Herry et al., 2010). Uma terceira possibilidade é que os ratos CBC têm um limiar mais alto para a dor, que por sua vez pode levar a uma extinção mais rápida, pois existe uma relação direta entre a intensidade do choque e a força do condicionamento do medo, quanto maior a intensidade do choque (US), mais forte a força e a quantidade de resposta ao medo (Fanselow, 1980). Em outras palavras, durante a aquisição (dia 1), a sensação de dor experimentada em ratos

CBC pode estar diminuída devido a um aumento do limiar de dor, permitindo uma extinção mais rápida da resposta de medo condicionada. Note-se, no entanto, que, apesar das diferenças no limiar da dor, os ratos CBC, como os animais CAC e CTL, apresentaram uma resposta de medo condicionada ao CS auditivo. Em suma, mais estudos são necessários para investigar se uma ou mais dessas possibilidades podem explicar a rápida extinção do medo auditivo condicionado visto em ratos CBC.

3 Conclusões

No geral, a literatura evidência que existem claras diferenças entre o TAG e a fobia específica. Nossos resultados corroboram com esta distinção mostrando que não há generalização das respostas ao medo no CAC em comparação com animais CTL e CBC, o que está de acordo com estudos pré-clínicos e epidemiológicos (Bandelow & Michaelis, 2015; Gomes et al., 2013; Muigg et al., 2008). Esta observação, juntamente com o estudo sistemático do condicionamento do medo em linhagens normais e bidirecionais de traços de alta e baixa ansiedade, pode ajudar na compreensão dos diferentes tipos de transtornos de ansiedade.

4 Referências bibliográficas

- Adams, F. (1849) *The genuine works of Hippocrates ; translated from the Greek with a preliminary discourse and annotations -New York : W. Wood, [1886?]), also by Hippocrates.*
- Al Maskati, H. A., & Zbrozyna, A. W. (1989). Stimulation in prefrontal cortex area inhibits cardiovascular and motor components of the defence reaction in rats. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 28(2), 117–125. [https://doi.org/10.1016/0165-1838\(89\)90084-2](https://doi.org/10.1016/0165-1838(89)90084-2)
- American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (V. : A. Arligton, Ed.) (5th ed.).
- Anagnostaras, S. G. (2010). Automated assessment of Pavlovian conditioned freezing and shock reactivity in mice using the VideoFreeze system. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4(September), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2010.00158>
- Anderson, J. R. (2000). *Learning and memory: An integrated approach* (2nd ed.). Hoboken, N.J., US: John Wiley & Sons Inc.
- Andreatta, M., Glotzbach-Schoon, E., Mühlberger, A., Schulz, S. M., Wiemer, J., & Pauli, P. (2015). Initial and sustained brain responses to contextual conditioned anxiety in humans. *Cortex*, 63, 352–363. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2014.09.014>
- Ballesteros, C. I., De Oliveira Galvão, B., Maisonette, S., & Landeira-Fernandez, J. (2014). Effect of dorsal and ventral hippocampal lesions on contextual fear conditioning and unconditioned defensive behavior induced by electrical stimulation of the dorsal periaqueductal gray. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083342>
- Bandelow, B., & Michaelis, S. (2015). Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 17(3), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2015.10.004>
- Baxter, A. J., Scott, K. M., Vos, T., & Whiteford, H. A. (2013). Global prevalence

- of anxiety disorders: A systematic review and meta-regression. *Psychological Medicine*, 43(5), 897–910. <https://doi.org/10.1017/S003329171200147X>
- Belzung, C., & Lemoine, M. (2011). Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biology of Mood & Anxiety Disorders*, 1(1), 9. <https://doi.org/10.1186/2045-5380-1-9>
- Bendesky, A., & Bargmann, C. I. (2011). Genetic contributions to behavioural diversity at the gene-environment interface. *Nature Reviews Genetics*, 12(12), 809–820. <https://doi.org/10.1038/nrg3065>
- Blair, H.T., Sotres-Bayon, F., Moita, M.A.P., & LeDoux, J.E. (2005). The lateral amygdala processes the value of conditioned and unconditioned aversive stimuli. - *Neuroscience*.2005;133(2):561-9.
- Blanchard, R.J, Blanchard, D.C. (1969). Passive and active reactions to fear-eliciting stimuli. *J Comp Physiol Psychol* 68: 129-135
- Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1988). Ethoexperimental Approaches. *Annual Review of Psychology*, 39, 43–68.
- Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1989). Attack and defense in rodents as ethoexperimental models for the study of emotion. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 13(SUPPL. 1). [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(89\)90105-X](https://doi.org/10.1016/0278-5846(89)90105-X)
- Blanchard, R. J., Yudko, E. B., Rodgers, R. J., & Blanchard, D. C. (1993). Defense system psychopharmacology: An ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. *Behavioural Brain Research*, 58(1–2), 155–165. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90100-5](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90100-5)
- Bortoli, V. C., Yamashita, P. S. D. M., & Zangrossi, H. (2013). 5-HT1A and 5-HT2A receptor control of a panic-like defensive response in the rat dorsomedial hypothalamic nucleus. *Journal of Psychopharmacology*, 27(12), 1116–1123. <https://doi.org/10.1177/0269881113492900>
- Brandão, M. L. (2004). *As bases biológicas do comportamento: Introdução a Neurociência*- São Paulo: EPU.
- Brandão, M.L., e Graeff., F.G. (2014). *Neurobiologia dos Transtornos Mentais –*

São Paulo: Editora Atheneu.

Callegaro, M. M., & Landeira-Fernandez, J. (2015). Pesquisas em neurociência e suas implicações na prática psicoterápica. *Stages Questionnaire-Brazil View*, (June), 851–872.

Carvalho, M. C., Santos, J. M., & Brandão, M. L. (2015). Dorsal periaqueductal gray post-stimulation freezing is counteracted by neurokinin-1 receptor antagonism in the central nucleus of the amygdala in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, *121*, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.04.001>

Catania, A. C. (1999). Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição (4ªed). Porto Alegre: artmed. (trabalho original publicado em 1998).

Chaaya, N., Battle, A. R., & Luke, R. (2018). An Update on Contextual Fear Memory Mechanisms: Transition between Amygdala and Hippocampus. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.05.013>

Chisholm, D., Sweeny, K., Sheehan, P., Rasmussen, B., Smit, F., Cuijpers, P., & Saxena, S. (2016). Scaling-up treatment of depression and anxiety: A global return on investment analysis. *The Lancet Psychiatry*, *3*(5), 415–424. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)30024-4](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)30024-4)

Clark, R. E., Squire, L. R. (1998). Classical conditioning and brain systems: the role of awareness. *Science*. Apr 3;280(5360):77-81.

Corcoran, K. A. (2005). Hippocampal Inactivation Disrupts the Acquisition and Contextual Encoding of Fear Extinction. *Journal of Neuroscience*, *25*(39), 8978–8987. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2246-05.2005>

Corcoran, K. A., Desmond, T. J., Frey, K. A., & Maren, S. (2005). Hippocampal Inactivation Disrupts the Acquisition and Contextual Encoding of Fear Extinction, *25*(39), 8978–8987. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2246-05.2005>

Corcoran, K. A., & Maren, S. (2001a). Hippocampal inactivation disrupts contextual retrieval of fear memory after extinction. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *21*(5), 1720–1726. <https://doi.org/21/5/1720> [pii]

- Corcoran, K. A., & Maren, S. (2001b). Hippocampal Inactivation Disrupts Contextual Retrieval of Fear Memory after Extinction, *21(5)*, 1720–1726.
- Cruz, A. P. M., & Landeira-Fernandez, J. (2007). Medo e dor e a origem da ansiedade e do pânico. *Intersecções entre psicologia e neurociências*, 217-239.
- Cruz, A. P. M., & Landeira-Fernandez, J. (2012). Modelos animais de ansiedade e o estudo experimental de drogas serotoninérgicas. *Métodos Em Neurociência*, 192–217.
- Curzon, P., Nr, R., & Ke, B. (2014). Chapter 2 Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents 2 . 2 . CONTEXTUAL / CUED FEAR CONDITIONING : OVERVIEW. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*, 1–11. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5223/?report=classic>
- Curzon, P., Rustay, N. R., & Browman, K. E. (2011). Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents - Method ... Chapter 2 Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents - Method ..., 1–17.
- Dalgleish, T. (2004). DAGLEISH 2004 The emotional brain. Overview., *5(July)*, 252–256.
- Darwin, C. (2014). A origem das espécies. Tradução: Soraya Freitas. - São Paulo: Madras.
- Darwin, C. (2000). A expressão das emoções no homem e nos animais – Editora: Companhia das Letras. Brasil.
- Darwin, C (2009). A Viagem do Beagle. Editora: Relógio d'água. Portugal: Lisboa.
- Davis, M. (1992). The Role of the Amygdala in Fear and Anxiety. *Annual Review of Neuroscience*, *15(1)*, 353–375. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.15.1.353>
- DeOca, B. M., DeCola, J. P., Maren, S., & Fanselow, M. S. (1998). Distinct region of the periaqueductal gray are involved in the acquisition and expression of defensive responses. *The Journal of Neuroscience*, *18(9)*, 3426–3432.

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-09-03426.1998>

Dias, G., et al.(2001). Hippocampus and contextual fear conditioning: Recent controversies and advances. *Hippocampus*, *11*(1), 8–17. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2001\)11:1<8::AID-HIPO1015>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2001)11:1<8::AID-HIPO1015>3.0.CO;2-7)

Dias, G. P., Bevilaqua, M. C. N., Luz, A. C. D. S., Fleming, R. L., Carvalho, L. A., Cocks, G., ... Gardino, P. F. (2014). Hippocampal biomarkers of fear memory in an animal model of generalized anxiety disorder. *Behavioural Brain Research*, *263*, 34–45. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2014.01.012>

Eaton, W. W., Bienvenu, O. J., & Miloyan, B. (2018). Specific phobias. *The Lancet Psychiatry*, *5*(8), 678–686. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(18\)30169-X](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(18)30169-X)

Eelen, P. (2018). Classical Conditioning: Classical Yet Modern. *Psychologica Belgica*, *58*(1), 196–211. <https://doi.org/10.5334/pb.451>

Engin, E., Smith, K. S., Gao, Y., Nagy, D., Foster, R. A., Tsvetkov, E., ... Rudolph, U. (2016). Modulation of anxiety and fear via distinct intrahippocampal circuits. *ELife*, *5*(MARCH2016), 1–23. <https://doi.org/10.7554/eLife.14120.001>

Fanselow, M. S. (1980). Conditional and Unconditional Components of Post-Shock Freezing. *Pavlovian Journal of Biological Science*, *15*, 177–182.

Fanselow, M. S., DeCola, J. P., & Young, S. L. (1993). Mechanisms responsible for reduced contextual conditioning with massed unsigned unconditional stimuli. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, *19*(2), 121–137.

Ferbinteanu, J. (2018). Memory systems 2018 – towards a new paradigm. *Neurobiology of Learning and Memory*, *157*(October 2018), 61–78. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.11.005>

Finkbiner, R. G., & Woodruff-Pak, D. S. (1991). Classical eyeblink conditioning in adulthood: effects of age and interstimulus interval on acquisition in the trace paradigm. *Psychology and Aging*, *6*(1), 109–117.

<https://doi.org/10.1037//0882-7974.6.1.109>

- Garcia, R. (2017). Neurobiology of fear and specific phobias. *Learning and Memory*, 24(9), 462–471. <https://doi.org/10.1101/lm.044115.116>
- Gazzaniga, M. S., Ivry, R. B., Mangun G. R. (2009). *Cognitive Neuroscience: the biology of the mind.*—3rd ed. - Rio de Janeiro: Artmed.
- Gladwin, T. E., Hashemi, M. M., van Ast, V., & Roelofs, K. (2016). Ready and waiting: Freezing as active action preparation under threat. *Neuroscience Letters*, 619, 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.03.027>
- Gomes, V., & Landeira-Fernandez, J. (2008). Amygdaloid lesions produced similar contextual fear conditioning disruption in the Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1233, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.07.044>
- Gomes, V. D. C., Silva, C. E. B., & Landeira-Fernandez, J. (2011). The Carioca High and Low Conditioned Freezing Lines: A New Animal Model of Generalized Anxiety Disorder. *Anxiety Disorders*, 1(April).
- Gomes, V. de C., Hassan, W., Maisonnette, S., Johnson, L. R., Ramos, A., & Landeira-Fernandez, J. (2013a). Behavioral evaluation of eight rat lines selected for high and low anxiety-related responses. *Behavioural Brain Research*, 257, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.028>
- Gomes, V. de C., Hassan, W., Maisonnette, S., Johnson, L. R., Ramos, A., & Landeira-Fernandez, J. (2013b). Behavioral evaluation of eight rat lines selected for high and low anxiety-related responses. *Behavioural Brain Research*, 257, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.09.028>
- Gordon, J. A., & Hen, R. (2004). Genetic Approaches To the Study of Anxiety. *Annual Review of Neuroscience*, 27(1), 193–222. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.27.070203.144212>
- Graeff, F. G., & Zangrossi, J. (1994). *Anxiety Disorders Animal Models of Anxiety Disorders.*
- Gray, J. A., & McNaughton, N. (2000). Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety.

Journal of Affective Disorders, 61, 161–176.

- Greenwald, A. G., & Banaji, M. R. (2017). The implicit revolution: Reconceiving the relation between conscious and unconscious. *American Psychologist*, 72(9), 861–871. <https://doi.org/10.1037/amp0000238>
- Grillon, C. (2002). Startle Reactivity and Anxiety Disorders : Aversive. *Biological Psychiatry*, 52(10), 958–975. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(02\)01665-7](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01665-7)
- Harro, J. (2018). Animals, anxiety, and anxiety disorders: How to measure anxiety in rodents and why. *Behavioural Brain Research*, 352(October 2017), 81–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.10.016>
- Hassan, W., De Castro Gomes, V., Pinton, S., Batista Teixeira Da Rocha, J., & Landeira-Fernandez, J. (2013a). Association between oxidative stress and contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1512, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.03.039>
- Hassan, W., De Castro Gomes, V., Pinton, S., Rocha, J., & Landeira-Fernandez, J. (2013b). Association between oxidative stress and contextual fear conditioning in Carioca high- and low-conditioned freezing rats. *Brain Research*, 1512, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.03.039>
- Hassan, W., Silva, C. E. B., Rocha, J. B. T., & Landeira-Fernandez, J. (2015). Modulatory effect of diphenyl diselenide in Carioca High- and Low-conditioned Freezing rats. *European Journal of Pharmacology*, 761, 341–344. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.05.069>
- Hayes, S. M., Fortier, C. B., Levine, A., Milberg, W. P., & McGlinchey, R. (2012). Implicit memory in Korsakoff's syndrome: A review of procedural learning and priming studies. *Neuropsychology Review*, 22(2), 132–153. <https://doi.org/10.1007/s11065-012-9204-3>
- Herry, C., Ferraguti, F., Singewald, N., Letzkus, J. J., Ehrlich, I., & Lüthi, A. (2010). Neuronal circuits of fear extinction. *European Journal of Neuroscience*, 31(4), 599–612. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07101.x>

- Huckleberry, K. A., Ferguson, L. B., & Drew, M. R. (2016). Behavioral mechanisms of context fear generalization in mice. *Learning and Memory*, 23(12), 703–709. <https://doi.org/10.1101/lm.042374.116>
- Hugdahl, K. (1995). Classical conditioning and implicit learning: The right hemisphere hypothesis. In R.J. Davidson & K. Hugdahl (Eds.), *Brain Asymmetry* (pp. 235– 267). Cambridge, MA: MIT Press
- Izquierdo, I. A., Myskiw, J. D. C., Benetti, F., & Furini, C. R. G. (2013). Memória: tipos e mecanismos – achados recentes. *Revista USP*, 0(98), 9. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9036.v0i98p9-16>
- Izquierdo, I., Barros, D. M., Souza, T. M., Souza, M. M., & Izquierdo, L. A. (1998). Mechanisms for memory types differ [8]. *Nature*, 393(6686), 635–636. <https://doi.org/10.1038/31371>
- Kapp, B. S., Gallagher, M., Applegate, C. D., e Frysinger, C. (1974). A review of electrical stimulation of the brain in context of learning and retention. *Behav. Biol.* 10: 259-293
- Kim, J. J., & Jung, M. W. (2006). Neural circuits and mechanisms involved in Pavlovian fear conditioning: A critical review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(2), 188–202. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.06.005>
- Kim, J. J., Rison, R. A., & Fanselow, M. S. (1993). Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. *Behavioral Neuroscience*, 107(6), 1093–1098. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.107.6.1093>
- Korn, C. W., Vunder, J., Miró, J., Fuentemilla, L., Hurlemann, R., & Bach, D. R. (2017). Amygdala Lesions Reduce Anxiety-like Behavior in a Human Benzodiazepine-Sensitive Approach–Avoidance Conflict Test. *Biological Psychiatry*, 82(7), 522–531. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.01.018>
- Ladeira-Fernandez, J. (1996). Context and Pavlovian conditioning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(2), 149–173.
- Ladeira-Fernandez, J. (2011). Neurobiologia dos transtornos de ansiedade. *Revista*

Brasileira de Terapias Cognitivas, 68–81. [https://doi.org/10.1016/0278-4327\(88\)90009-0](https://doi.org/10.1016/0278-4327(88)90009-0)

Lang, P. J., Davis, M., & Ohman, A. (2000). Lang,+Davis,+Ohman_2000.pdf, 61, 137–159. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(00\)00343-8](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(00)00343-8)

LeDoux, J. (1998). O cérebro emocional. Os misteriosos alicerces da vida emocional. Rio de Janeiro: Objetiva.

LeDoux, J., & Daw, N. D. (2018a). Surviving threats: Neural circuit and computational implications of a new taxonomy of defensive behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(5), 269–282. <https://doi.org/10.1038/nrn.2018.22>

LeDoux, J., & Daw, N. D. (2018b). Surviving threats: Neural circuit and computational implications of a new taxonomy of defensive behaviour. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(5), 269–282. <https://doi.org/10.1038/nrn.2018.22>

LeDoux, J. E. (2012). Rethinking the Emotional Brain. *Neuron*, 73(4), 653–676. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.004>

LeDoux, J. E., & Phillips, R. (1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. *Behavioral Neuroscience*, 106(2), 274–285. Retrieved from <http://psycnet.apa.org/journals/bne/106/2/274.html>

León, L. A., Castro-Gomes, V., Zárata-Guerrero, S., Corredor, K., Mello Cruz, A. P., Brandão, M. L., ... Landeira-Fernandez, J. (2017). Behavioral Effects of Systemic, Infralimbic and Prelimbic Injections of a Serotonin 5-HT_{2A} Antagonist in Carioca High- and Low-Conditioned Freezing Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11(July), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00117>

Liebsch, G., Montkowski, A., Holsboer, F., & Landgraf, R. (1998). Behavioral profiles of two Wistar rat lines selectively bred for high or low anxiety-related behaviour. *Behavioural Brain Research*, 94(2), 301–310. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)00198-8](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(97)00198-8)

Luyck, K., Tambuyzer, T., Deprez, M., Rangarajan, J., Nuttin, B., & Luyten, L. (2017). Electrical stimulation of the bed nucleus of the stria terminalis reduces

anxiety in a rat model. *Translational Psychiatry*, 7(2).
<https://doi.org/10.1038/tp.2017.2>

Luyten, L., Vansteenwegen, D., Van Kuyck, K., Gabriels, L., & Nuttin, B. (2011). Contextual conditioning in rats as an animal model for generalized anxiety disorder. *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, 11(2), 228–244.
<https://doi.org/10.3758/s13415-011-0021-6>

Matthiesen, M., Spiacci, A., & Zangrossi, H. (2017). Effects of chemical stimulation of the lateral wings of the dorsal raphe nucleus on panic-like defensive behaviors and Fos protein expression in rats. *Behavioural Brain Research*, 326, 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.03.006>

McGuigan, F. J. (1997). *Experimental psychology: Methods of research* (7th ed.). Englewood Cliffs, NJ, US: Prentice-Hall, Inc.

McLeod, S. A. (2007). B. F. Skinner operant conditioning. Retrieved August 2, 2013, from <<http://www.simplypsychology.org/operant-conditioning.html>>.

Meier, S. M., Mattheisen, M., Mors, O., Mortensen, P. B., Laursen, T. M., & Penninx, B. W. (2016). Increased mortality among people with anxiety disorders: Total population study. *British Journal of Psychiatry*, 209(3), 216–221. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.115.171975>

Michael, T., & Margraf, J. (2004). Epidemiology of anxiety disorders. *Psychiatry*, 3(4), 2–6. <https://doi.org/10.1383/psyt.3.4.2.32909>

Mishkin, M. (1982). A memory system in the monkey. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 298(1089), 83–95. <https://doi.org/10.1098/rstb.1982.0074>

Mobbs, D., & Kim, J. J. (2015). Neuroethological studies of fear, anxiety, and risky decision-making in rodents and humans. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 5, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2015.06.005>

Muigg, P., Hetzenauer, A., Hauer, G., Hauschild, M., Gaburro, S., Frank, E., ... Singewald, N. (2008). Impaired extinction of learned fear in rats selectively bred for high anxiety - Evidence of altered neuronal processing in prefrontal-amygdala pathways. *European Journal of Neuroscience*, 28(11), 2299–2309.

<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06511.x>

- Murray, E., Wise, S., e Graham, K. (2017). *The Evolution of Memory Systems. Ancestors, Anatomy, and Adaptations*. Oxford University Press, Oxford.
- Myers, D. G. (1998). *Psychology*. 5ª edição – New York: Worth Publishers.
- Perusini, J. N., & Fanselow, M. S. (2015). Neurobehavioral perspectives on the distinction between fear and anxiety. *Learning and Memory*.
- Pavlov I. (1927). *Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex*. Oxford University Press; London.
- Pavlov I. (1932). The reply of a physiologist to psychologists. *Psychol Rev.* 1932;39:91–127.
- Pavlov, I.P. (1976). Resposta de um fisiologista aos psicólogos. 1932 in: ALVAREZ,
- Petri, H., & Mishkin, M. (1994). Behaviorism, Cognitivism and the Neuropsychology of Memory. *American Scientist*, 82(1), 30-37. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/29775098>
- Pezze, M. A., & Feldon, J. (2004). Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Progress in Neurobiology*, 74(5), 301–320. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.09.004>
- Rahn, E. J., Guzman-karlsson, M. C., Sweatt, J. D., & Sweatt, J. D. (2013). * Corresponding Author : 1825 University Blvd.
- Reder, L. M., Park, H., & Kieffaber, P. D. (2009). Memory Systems Do Not Divide on Consciousness: Reinterpreting Memory in Terms of Activation and Binding. *Psychological Bulletin*, 135(1), 23–49. <https://doi.org/10.1037/a0013974>
- Rempel-Clower, N. L., Zola, S. M., Squire, L. R., & Amaral, D. G. (1996). Three Cases of Enduring Memory Impairment after Bilateral Damage Limited to the Hippocampal Formation. *The Journal of Neuroscience*, 16(16), 5233–5255. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-16-05233.1996>
- Riaz, S., Schumacher, A., Sivagurunathan, S., Van Der Meer, M., & Ito, R. (2017).

Ventral, but not dorsal, hippocampus inactivation impairs reward memory expression and retrieval in contexts defined by proximal cues. *Hippocampus*, 27(7), 822–836. <https://doi.org/10.1002/hipo.22734>

Ries, J. D. (2018). Rehabilitation for Individuals with Dementia: Facilitating Success. *Current Geriatrics Reports*, 7(1), 59–70. <https://doi.org/10.1007/s13670-018-0237-1>

Río-Álamos, C., Gerbolés, C., Tapias-Espinosa, C., Sampedro-Viana, D., Oliveras, I., Sánchez-González, A., ... Fernández-Teruel, A. (2017). Conservation of Phenotypes in the Roman High- and Low-Avoidance Rat Strains After Embryo Transfer. *Behavior Genetics*, 47(5), 537–551. <https://doi.org/10.1007/s10519-017-9854-2>

Salat, D. H., van der Kouwe, A. J. W., Tuch, D. S., Quinn, B. T., Fischl, B., Dale, A. M., & Sato, T. (1995). Habituação e sensibilização comportamental. Behavioral habituation and sensitization. *Psicol. USP* v.6 n.1 São Paulo.

Sanders, M. J., Wiltgen, B. J., & Fanselow, M. S. (2003). The place of the hippocampus in fear conditioning. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 217–223. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01283-4](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01283-4)

Santos, J., Brandão, M. L., Vianna, D. M., & Masson, S. (2003). Organização neural de diferentes tipos de medo e suas implicações na ansiedade. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 25(Supl II), 36–41.

Sareen, J., Houlahan, T., Cox, B. J., & Asmundson, G. J. G. (2005). Anxiety disorders associated with suicidal ideation and suicide attempts in the national comorbidity survey. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 193(7), 450–454. <https://doi.org/10.1097/01.nmd.0000168263.89652.6b>

Sato, T. (1995). Habituação e sensibilização comportamental. *Psicologia USP*. <https://doi.org/10.1590/S1678-51771995000100011>

Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 20(1), 11–21. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>

Schacter, D. L. (1998). NEUROSCIENCE: Memory and Awareness. *Science*,

280(5360), 59–60. doi:10.1126/science.280.5360.59

- Shimizu H. (2017) Experimental Psychology Approaches to Human Memory. In: Tsukiura T., Umeda S. (eds) *Memory in a Social Context*. Springer, Tokyo
- Shuhama, R., Blanchard, D. C., Graeff, F. G., & Del-Ben, C. M. (2017). What we imagine is what we do? A critical overview about mental imagery as a strategy to study human defensive responses. *Behavioural Brain Research*, (July). <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.07.012>
- Shuhama, R., Del-Ben, C. M., Loureiro, S. R., & Graeff, F. G. (2007). Animal defense strategies and anxiety disorders. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 79(1), 97–109. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652007000100012>
- Simon, N. M. (2009). Generalized anxiety disorder and psychiatric comorbidities such as depression, bipolar disorder, and substance abuse. *Journal of Clinical Psychiatry*, 70(SUPPL. 2), 10–14. <https://doi.org/10.4088/JCP.s.7002.02>
- Skinner, F.B. (1938) *The Behavior of Organisms*.- Editora: D. Appleton & Company.
- Solomon, P. R., Blanchard, S., Levine, E., Velazquez, E., & Groccia-Ellison, M. (1991). Attenuation of age-related conditioning deficits in humans by extension of the interstimulus interval. *Psychology and Aging*, 6(1), 36–42. <https://doi.org/10.1037//0882-7974.6.1.36>
- Squire, L. R. (2009). The Legacy of Patient H.M. for Neuroscience. *Neuron*, 61(1), 6–9. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.12.023>
- Squire, L. R., & Dede, A. J. O. (2015). Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(1). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021667>
- Squire, L. R., & Wixted, J. T. (2011). The Cognitive Neuroscience of Human Memory Since H.M. *Annual Review of Neuroscience*, 34(1), 259–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113720>
- Steel, Z., Marnane, C., Iranpour, C., Chey, T., Jackson, J. W., Patel, V., & Silove, D. (2014). The global prevalence of common mental disorders: A systematic review and meta-analysis 1980-2013. *International Journal of Epidemiology*,

43(2), 476–493. <https://doi.org/10.1093/ije/dyu038>

Steimer, T. (2011). *Translational research*, 495–506.

Sylvers, P., Lilienfeld, S. O., & LaPrairie, J. L. (2011). Differences between trait fear and trait anxiety: Implications for psychopathology. *Clinical Psychology Review*, 31(1), 122–137. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2010.08.004>

Tovote, P., Fadok, J. P., & Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 317–331. <https://doi.org/10.1038/nrn3945>

Tulving, E., & Schacter, D. L. (1987). Priming and Human Memory Systems. *Science*, 247(1985), 301–306. <https://doi.org/10.1126/science.2296719>

Tulving, E., & Schacter, D. L. (1992). Priming and memory systems. *Neuroscience Year: Supplement 2 to the Encyclopedia of Neuroscience*, 130–133. Retrieved from <http://alicekim.ca/TulvingSchacter92.pdf>

Tyrer, P., & Baldwin, D. (2006). Generalised anxiety disorder. *Lancet*, 368(9553), 2156–2166. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69865-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69865-6)

Vazdarjanova, A., & McGaugh, J. L. (1998). Basolateral amygdala is not critical for cognitive memory of contextual fear conditioning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(25), 15003–15007. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.25.15003>

Watson, D. (2005). Rethinking the mood and anxiety disorders: A quantitative hierarchical model for DSM-V. *Journal of Abnormal Psychology*, 114(4), 522–536. <https://doi.org/10.1037/0021-843X.114.4.522>

Whittlesea, B. W. A., & Leboe, J. P. (2003). Two fluency heuristics (and how to tell them apart). *Journal of Memory & Language*, 49, 62–79

World Health Organization. (2017). *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*.

Willner, P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, 83(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/BF00427414>

Willner, P., & Mitchell, P. J. (2002). The validity of animal models of depression.

Behavioral Pharmacology, 13, 169–188.
<https://doi.org/10.1042/BST0371378>

Winocur, G., McDonald, R. M., & Moscovitch, M. (2001). Anterograde and retrograde amnesia in rats with large hippocampal lesions. *Hippocampus*, 11(1), 18–26. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2001\)11:1<18::AID-HIPO1016>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2001)11:1<18::AID-HIPO1016>3.0.CO;2-5)

Wolitzky-Taylor, K. B., Castriotta, N., Lenze, E. J., Stanley, M. A., & Craske, M. G. (2010). Anxiety disorders in older adults: A comprehensive review. *Depression and Anxiety*, 27(2), 190–211. <https://doi.org/10.1002/da.20653>

Woodruff-Pak, D. S. (1993). Eyeblink classical conditioning in H.M.: Delay and trace paradigms. *Behavioral Neuroscience*, 107(6), 911–925. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.107.6.911>

Woodruff-Pak, D. S. (2010). Conditioned Reflex. *Encyclopedia of Neuroscience*, 29–34. <https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.00110-8>

Yates, D. (2017). Learning and memory: Consolidation circuitry. *Nature Reviews Neuroscience*, 18(6), 321–321. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.58>

Yen, Y.-C., Anderzhanova, E., Bunck, M., Schuller, J., Landgraf, R., & Wotjak, C. T. (2013). Co-segregation of hyperactivity, active coping styles, and cognitive dysfunction in mice selectively bred for low levels of anxiety. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7(August), 1–19. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00103>

Young, B. J., Fox, G. D., & Eichenbaum, H. B. (1994). Correlates of hippocampal complex-spike cell activity in rats performing a nonspatial radial maze task. *Journal of Neuroscience*, 14(11 Pt 1), 6553–6563. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80909-5](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80909-5)

Zhuo, M. (2016). Neural Mechanisms Underlying Anxiety-Chronic Pain Interactions. *Trends in Neurosciences*, 39(3), 136–145. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.01.006>

Zola-Morgan, S., Squire, L., & Amaral, D. (1986). Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion

limited to field CA1 of the hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 6(10), 2950–2967. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.06-10-02950.1986>

Zola-Morgan, S., & Squire, L. R. (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science*, 253(5026), 1380–1386. Retrieved from <http://www.sciencemag.org/content/253/5026/1380.full.pdf>

Zola-Morgan, S., Squire, L. R., & Ramus, S. J. (1994). Severity of memory impairment in monkeys as a function of locus and extent of damage within the medial temporal lobe memory system. *Hippocampus*, 4(4), 483–495. <https://doi.org/10.1002/hipo.450040410>

Zusne, L. (1984). *Biographical dictionary of psychology*. Greenwood Pub Group.

Anexo I

28/12/2018

ScholarOne Manuscripts



Psicologia USP

[Home](#)[Author](#)

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to
Psicologia USP

Manuscript ID
PUSP-2018-0212

Title
O papel da memória implícita na aprendizagem do medo em modelos animais de ansiedade.

Authors
de Souza, Carolina
Krahe, Thomas
Mograbi, Daniel
Landeira-Fernandez, J.

Date Submitted
28-Dec-2018

[Author Dashboard](#)

© Clarivate Analytics | © ScholarOne, Inc., 2018. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.
ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.

[@ScholarOneNews](#) | [System Requirements](#) | [Privacy Statement](#) | [Terms of Use](#)

<https://mc04.manuscriptcentral.com/psusp-scielo>

1/2

13/02/2019

Gmail - Psicologia USP - Manuscript ID PUSP-2019-0004



Carolina Macedo <carolinamacedos@gmail.com>

Psicologia USP - Manuscript ID PUSP-2019-0004

1 mensagem

Psicologia USP <onbehalf@manuscriptcentral.com>

11 de janeiro de 2019 14:40

Responder a: revpsico@usp.br

Para: carolinamacedos@gmail.com

Cc: carolinamacedos@gmail.com, tekrahe@puc-rio.br, danielmograbi@puc-rio.br, landeira@puc-rio.br

11-Jan-2019

Dear Miss Macêdo-Souza:

Your manuscript entitled "O papel da memória implícita na aprendizagem do medo em modelos animais de ansiedade." has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Psicologia USP.

Your manuscript ID is PUSP-2019-0004.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc04.manuscriptcentral.com/pusp-scielo> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc04.manuscriptcentral.com/pusp-scielo>.

Thank you for submitting your manuscript to the Psicologia USP.

Sincerely,
Psicologia USP Editorial Office

Anexo II

O manuscrito “*Cued fear conditioning in Carioca High- and Low-conditioned freezing rats*” foi submetido como um *brief report* e está em “*under review*”.

Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition
Cued fear conditioning in Carioca High- and Low-conditioned freezing rats
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	XAN-2019-0006
Full Title:	Cued fear conditioning in Carioca High- and Low-conditioned freezing rats
Article Type:	Brief Report
Abstract:	Anxiety disorders comprise a broad range of psychiatric conditions, including general anxiety (GAD) and specific phobias. For the last decades the use of animal models of anxiety has offered important insights into the understanding of the association between these psychopathologies. Here we investigate whether Carioca high and low conditioned freezing rats (CHF and CLF, respectively), a GAD animal model of anxiety, show similar high and low freezing behavioral phenotypes for cued auditory fear conditioning. Adult CHF (n = 16), CLF (n = 16) and normal age-matched Wistar rats (control, CTL) were tested in a classical auditory cued fear conditioning paradigm over 3 days. Freezing responses were measured and used as evidence of fear conditioning. Overall, both CHF and CLF rats as well as CTL animals displayed fear conditioning to the auditory CS. However, CLF animals showed a rapid extinction to the auditory conditioned stimulus compared to CHF and CTL rats. We discuss these findings in the context of the behavioral and neuronal differences observed in rodent lines of high and low anxiety traits.
Corresponding Author:	Thomas Eichenberg Krahe, Ph.D. Pontificia Universidade Catolica do Rio de Janeiro Rio de Janeiro, RJ BRAZIL
Corresponding Author E-Mail:	tekrahe@puc-rio.br
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Pontificia Universidade Catolica do Rio de Janeiro
Other Authors:	Carolina Macêdo-Souza, MSc. Sílvia S. Maissonette, Ph.D. J. Landeira-Fernandez, Ph.D.
Author Comments:	
Corresponding Author's Secondary Institution:	
Order of Authors:	Carolina Macêdo-Souza, MSc. Sílvia S. Maissonette, Ph.D. Thomas Eichenberg Krahe, Ph.D. J. Landeira-Fernandez, Ph.D.
First Author:	Carolina Macêdo-Souza, MSc.
Order of Authors Secondary Information:	
Opposed Reviewers:	

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links	XAN-2019-0006	Cued fear conditioning in Cansica High- and Low-conditioned freezing rats	02/24/2019	02/27/2019	Under Review

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page.

[<< Author Main Menu](#)

