



IDENTIFICAÇÃO DAS RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS DO MEDO NOS TESTES AO SOM E AO CONTEXTO AVERSIVO

Lygia Fernanda Ferreira⁽¹⁾; Renato Augusto Passos⁽²⁾; Rodolfo Souza de Faria⁽³⁾

¹Discente do 8º período do curso de enfermagem da Escola de Enfermagem Wenceslau Braz, EEWB, Itajubá. E-mail: lygia_fernanda@hotmail.com. ²Orientador. Biólogo. Doutorando em Saúde Global pela Universidade de São Paulo – USP. Mestre em Desenvolvimento, tecnologias e sociedade, pela Universidade Federal de Itajubá – UNIFEI. Docente da Escola de Enfermagem Wenceslau Braz – EEWB. E-mail: renatoapassos@hotmail.com. ³Coorientador. Enfermeiro. Doutor em Fisiologia pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Docente da Faculdade de Medicina de Itajubá – FMI. E-mail: rodolfo_sfaria@yahoo.com.br.

RESUMO

Estudo descritivo e transversal de abordagem quantitativa, com o objetivo de descrever os comportamentos apresentados pelo pombo da espécie *Columba livia*, após o treino de condicionamento clássico aversivo (aquisição da memória), teste ao som e teste ao contexto. Nesta pesquisa foram utilizados e analisados dados comportamentais de 25 animais, pombos machos, adultos, que, primeiramente, passaram pelo treino e, sete dias depois, foram submetidos ao teste ao som e ao teste ao contexto. Os resultados apontaram que o comportamento de congelamento nos animais obteve um maior valor percentual durante o treino, quando comparado ao teste ao contexto e teste ao som. O comportamento de vigilância prevaleceu nos pombos durante o teste ao som, quando comparados ao treino e teste ao contexto. O comportamento de exploração cautelosa nos animais apresentou maior valor percentual durante o teste ao contexto, quando comparados ao treino e teste ao som. Já o comportamento de exploração predominou nos animais durante o teste ao som, quando comparado ao treino e teste ao contexto. Estas diferenças comportamentais expressas no teste ao contexto e no teste ao som podem ter acontecido por mudanças plásticas em determinadas estruturas encefálicas.

Palavras-chave: Comportamento. Condicionamento Clássico aversivo. Memória. Aprendizagem.

INTRODUÇÃO

O medo condicionado é um ótimo modelo para estudar os processos neurais que envolvem a aquisição, consolidação e evocação da memória, considerando que a aprendizagem ocorre em uma única sessão de treino e perdura por horas ou até meses (KUNICKI, 2011). O modelo de Condicionamento Clássico Aversivo promove uma associação de um estímulo incondicionado (EI), como um choque elétrico, com um estímulo condicionado (EC), como um som. A partir dessa associação de estímulos, o segundo torna-se capaz de emitir respostas incondicionadas. No condicionamento ao contexto, o choque elétrico pode associar-se ao ambiente, passando a emitir respostas aversivas (RA) (CANOVA; FARIA, 2014). Conforme descrito em estudos, o sistema hipocampal de aves participa dos processos cognitivos e comportamentais (EICHENBAUM,

1999). Além disso, outros estudos demonstraram a similaridade do hipocampo de aves ao hipocampo de mamíferos (ROSINHA, 2003). A espécie *Columba livia*, popularmente conhecida como pombo-correio, apresenta grande capacidade de se localizar no espaço, e conduzir mensagens por longas distâncias, principalmente devido à grande memória visual, e ainda à circunstância na qual foi submetida anteriormente (treino) (GALLO NETTO, 2014).

Durante o Condicionamento Clássico Aversivo, os animais podem apresentar os seguintes comportamentos: Congelamento (CONG), Exploração (EXP), Exploração Cautelosa (ECA), Locomoção (LOC), Manutenção (MAN), Movimentos Isolados (MOV), Parado (PAR), Pré-Exploratórios (PRE), Vigilância (VIG) (REIS et al., 1999).

O objetivo deste estudo foi descrever os comportamentos apresentados pelo pombo da espécie *Columba livia* após o treino de condicionamento clássico aversivo (aquisição



da memória), após o teste ao som e ao contexto que aconteceram 07 dias após o treino (persistência da memória).

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados os dados comportamentais coletados do projeto de doutorado intitulado: Investigação sobre as relações entre a persistência da memória do medo após condicionamento clássico aversivo e a expressão do BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro) no hipocampo e na amígdala. Os dados não utilizados na realização da referida tese foram armazenados e cedidos pelo autor para esta pesquisa de iniciação científica. O presente estudo seguiu os preceitos estabelecidos na Lei N° 11.794, de 08 de Outubro de 2008, e está de acordo com os Princípios Médicos utilizados na Experimentação Animal, adotados pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório. Trata-se de um estudo descritivo e transversal de abordagem quantitativa.

Foram utilizados dados comportamentais não analisados de 25 animais, pombos machos, adultos, derivação não controlada da espécie *Columba livia*. Estes animais, primeiramente, passaram pelo Treino em condicionamento som-choque. Após 7 dias do treino, os animais passaram pelo Teste ao contexto e uma hora depois foram submetidos ao teste ao som. As gravações das sessões de treino e teste dos animais foram armazenadas em computador e transcritas para registros dos comportamentos, usando-se o programa EthoLog 2.2 (OTTONI, 2000). O registro dos comportamentos foi baseado na descrição contida no catálogo de comportamentos de pombos (REIS et al., 1999).

A análise dos dados foi feita com uma ANOVA one-way. Foi utilizado o teste de Tukey-Kramer para comparações múltiplas post hoc, quando apropriado. As diferenças estatísticas foram consideradas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os dados obtidos, os comportamentos identificados nos 25 pombos após o treino de condicionamento clássico aversivo, teste ao contexto e teste ao som

foram de congelamento, vigilância, exploração cautelosa e exploração. O comportamento de congelamento foi mais expresso pelos animais durante o treino (61,24%), quando comparado no teste ao contexto e teste ao som. A vigilância foi mais evidenciada no teste ao som, com predomínio de 58,10% dos animais, quando comparados ao treino e teste ao contexto. O comportamento de exploração cautelosa foi mais evidenciado no teste ao contexto (20,35%), quando comparado ao treino e ao teste ao som. O comportamento de exploração ficou em evidência no teste ao som, onde houve uma predominância de 33,04%, quando comparado ao treino e ao teste ao contexto.

Durante o condicionamento clássico aversivo, a presença de um estímulo como a luz ou som, seguido por um estímulo aversivo, como o choque elétrico, exerce o controle sobre as respostas do organismo (RESCORLA, 1968; CATANIA, 1999; KANDEL, 2001; BAST; ZHANG; FELDON, 2003; BRITO; BRITTO, FERRARI, 2006). Estas respostas condicionadas ao estímulo intitulam-se medo ou medo condicionado (LANDEIRA-FERNANDEZ, 1996; MAREN; AHARONOV; FANSELOW, 1997; FANSELOW, 2010). A amígdala e o hipocampo são as estruturas neurais envolvidas nos processos de memória do medo condicionado e aprendizagem. O principal componente neural do medo é a amígdala, encarregada pela formação da memória emocional. Por outro lado, a estrutura mais relacionada com os mecanismos de memória contextual aversiva é o hipocampo, sendo ele essencial para manter estável a representação cognitiva e sensorial contextual (KIM; FANSELOW, 1992; CANTERAS; MOTA-ORTIZ; MOTTA, 2012; WANG, 2013).

O congelamento é caracterizado pela postura imóvel e contração dos músculos do animal. É a ausência total de movimento, exceto os necessários para a respiração (SHUHAMA et al., 2007; BLANCHARD; BLANCHARD, 1988). Neste trabalho é possível evidenciar que a resposta de congelamento no pombo foi mais expressa no treino e no teste ao contexto, sendo pouco expressa no teste ao som. Esse dado se difere de estudos comportamentais realizados com outros animais, como os roedores, que apresentam um alto grau de congelamento no treino e no teste ao som (OU; YE; GEAN, 2010; BEKINSCHTEIN et al., 2007). Esta diferença comportamental



pode ser explicada pelo fato de que o pombo é um animal com a acuidade visual muito aguçada (CANTERAS; MOTA-ORTIZ; MOTTA, 2012).

No teste ao contexto, o que favorece a resposta comportamental são as características visuais do cenário, de modo que o pombo responde melhor a este teste, recordando-se do mesmo contexto no qual ele recebeu o choque há sete dias. Já no teste ao som, o contexto é diferente do treino e a única pista na qual o animal pode lembrar-se é o mesmo som que ele recebeu há sete dias. As aves não emitem uma resposta precisa ao som como os roedores. Desta forma, o estímulo sonoro pode não ter estabelecido mudanças neuronais necessárias para a formação da memória sonora, ao contrário do que acontece com os roedores quando testados ao som (OU; YEH; GEAN, 2010).

A vigilância é uma tática de defesa que ocorre com espécies socialmente organizadas. (SHUHAMA et al., 2007; BLANCHARD; BLANCHARD, 1988). É uma resposta não tão forte quanto o congelamento. Quando apresenta o comportamento de vigilância, o animal permanece imóvel, porém, há momentos em que ele procura escanear o ambiente sem sair de uma postura defensiva. Neste trabalho, observa-se que os pombos tiveram um aumento da vigilância no teste ao som. Este resultado pode ser explicado pelo fato de que o congelamento não foi muito presente no teste, mesmo assim, o animal continua a expressar uma resposta de defesa quando escuta o mesmo estímulo sonoro do treino, revelando que ele ainda guarda traços da memória sonora, embora não sejam tão intensos a ponto de expressar o comportamento mais rigoroso como o de congelamento, o que ocorre em roedores.

A exploração cautelosa é a avaliação do risco que o ambiente oferece. É o primeiro nível de defesa, e ocorre quando o ambiente é novo, aumentando o estado de alerta do animal, pois o ambiente pode oferecer recompensas ou ameaças potenciais. Percepções do olfato, visuais e auditivas são utilizadas na avaliação destes riscos (SHUHAMA et al., 2007; BLANCHARD; BLANCHARD, 1988). No caso da exploração cautelosa, sua ocorrência foi mais evidente no treino e teste ao contexto. Este resultado pode ser interpretado pelos mesmos fatores que influenciaram a resposta de congelamento, sendo o pombo um animal que utiliza da percepção visual para interagir

com o contexto, de modo que na exploração cautelosa o animal utiliza do recurso visual para exploração do ambiente de forma intensificada.

Estas diferenças comportamentais expressas no teste ao contexto e no teste ao som podem ter acontecido por mudanças plásticas em determinadas estruturas encefálicas. A participação essencial do hipocampo na memória de medo contextual em ratos foi demonstrada pelo trabalho pioneiro de Kim e Fanselow (1992), que evidenciou uma dissociação nas vias de processamento das informações contextuais e sonoras no medo condicionado, e que o hipocampo pode ter um papel limitado no tempo em memórias do medo contextual, mas não a estímulos discretos, como o som.

CONCLUSÃO

É possível concluir que o pombo apresenta comportamentos defensivos que se referem ao treino principalmente em testes contextuais, onde exigem uma habilidade visual aguçada, dependente do hipocampo. Já em testes sonoros, o pombo parece não sofrer as mesmas mudanças plásticas em circuitos que determinam a resposta comportamental sonora (amígdala).

REFERÊNCIAS

- BAST, T.; ZHANG, W. N.; FELDON, J. Dorsal hippocampus and classical fear conditioning to tone and context in rats: effects of local NMDA-receptor blockade and stimulation. **Hippocampus**, New York, v. 13, n. 6, p. 657-675, 2003.
- BLANCHARD, D. C.; BLANCHARD, R. J. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. **Annual Review of Psychology**, United States, v. 39, p. 43-68, 1988.
- BRITO, I.; BRITTO, L. R. G.; FERRARI, E. A. M. Classical tone-shock conditioning induces Zenk expression in the pigeon (*Columba livia*) hippocampus. **Behavioral Neuroscience**, [S.l.], v. 120, n. 2, p. 353-361, 2006.
- CANOVA, F.; FARIA, R. S. de. Proteína Zenk e o condicionamento clássico do medo. **Neurociências**, São Paulo, v. 10, n.1, p. 37-48, jan./mar. 2014.



CANTERAS, N. S.; MOTA-ORTIZ, S. R.; MOTTA, S. C. What ethologically based models have taught us about the neural systems underlying fear and anxiety. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v, 45, n. 4, p. 321-327, 2012.

CATANIA, A. C. **Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 1999.

CUNHA, C.; BRAMBILLA, R. L.; THOMAS, L. K. A simple role for BDNF in learning and memory? **Frontiers in Molecular Neuroscience**, Switzerland, v. 3, p. 1-14, Feb. 2010.

DALMAZ, C.; ALEXANDRE NETTO, C. A memória. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 56, n. 1, p. 30-31, jan./mar. 2004.

EICHENBAUM, H. The hippocampus and mechanisms of declarative memory. **Behavioral Brain Research**, Amsterdam, v. 103, n. 2, p.123-133, sep. 1999.

FANSELOW, M. S. From contextual fear to a dynamic view of memory systems. **Trends in Cognitive Sciences**, England, v. 14, n. 1, p. 7-15, jan. 2010.

GALLO-NETTO, C. No pombo-correio, os gatilhos da memória. **Jornal da Unicamp**, Campinas, n. 595, abr./maio, 2014.

KANDEL, E. R. The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. **Science**, Washington, v. 294, n. 5544, p. 1030-1038, nov. 2001.

KIM, J. J.; FANSELOW, M. S. Modality-specific retrograde amnesia of fear. **Science**, Washington, v. 256, n. 5057, p. 675-677, 1992.

KUNICKI, A. C. B. **Dinâmica do sistema córtico-hipocampal durante o condicionamento contextual de medo**. 2011. 132 f. Tese (Doutorado em Ciências)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Context and Pavlovian conditioning. **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 149-173, feb. 1996.

LOMBROSO, P. Aprendizado e memória. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 207-210, set. 2004.

MAREN, S.; AHARONOV, G.; FANSELOW, M. S. Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 88, n. 2, p. 261-274, 1997.

OTTONI, E. B. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. **Behavior Research Methods, Instruments & Computers**, [S.l.], 32, n. 3, p. 446-449, 2000.

OU, L. C.; YEH, S. H.; GEAN, P. W. Late expression of brain-derived neurotrophic factor in the amygdala is required for persistence of fear memory. **Neurobiology of Learning and Memory**, San Diego, v. 93, n. 3, p. 372-382, mar. 2010.

REIS, F. et al. Role of the hippocampus in the contextual memory after classical aversive conditioning in pigeons (C.livia). **Brazilian Journal of Medical Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 9, p. 1127-1131, 1999.

RESCORLA, R. A. Probability of shock in the presence and absence of CS in fear conditioning. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 1-5, aug. 1968.

ROSINHA, M. U. **Distribuição de neuromarcadores na formação hipocampal de aves**. 2003. 104 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

SHUHAMA, R. et al. Animal defense strategies and anxiety disorders. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 79, n.1, p. 97-109, mar. 2007.

WANG, Y. Phosphorylation of Cofilin Regulates Extinction of Conditioned Aversive Memory via AMPAR Trafficking. **Journal of Neuroscience**, Washington, v. 33, n. 15, p. 6423- 6433, apr. 2013.