

Carolina de Souza Goulart

**Enriquecimento ambiental, ansiedade,
cognição e neurogênese hipocampal**

Environmental enrichment, anxiety, cognition and
hippocampal neurogenesis

São Paulo

2014

Resumo Geral

O enriquecimento ambiental pode ser considerado uma condição que proporciona aumento da estimulação sensorial, cognitiva e motora, que levaria, a curto e longo prazos, a mudanças comportamentais importantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da exposição ao enriquecimento ambiental (1) na ansiedade e memória aversiva, ambos no labirinto em cruz elevado, (2) na memória operacional espacial no labirinto aquático de Morris, e (3) na neurogênese hipocampal, em ratos. Os animais foram expostos ao enriquecimento ambiental a partir do desmame (22 dias), onde permaneceram até o último dia de teste (17º mês). Nesse período, foram submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado (LCE) no 3º e 15º mês, e ao Labirinto Aquático de Morris (LAM) no 9º e 16º mês. Uma semana antes da exposição ao labirinto aquático, receberam uma injeção intraperitoneal de bromodeoxyuridina (BrdU). Vinte e quatro horas e trinta dias após essa injeção grupos independentes de animais foram sacrificados e seus encéfalos processados imunohistoquimicamente para revelar o BrdU. O enriquecimento ambiental produziu um efeito ansiolítico em animais jovens, mas não nos idosos. A memória aversiva de animais jovens e idosos não se alterou. No labirinto aquático, enquanto os animais expostos ao ambiente enriquecido por 9 meses apresentaram uma estratégia mais eficiente de busca em relação aos respectivos controles, os animais expostos ao ambiente enriquecido por 15 meses apresentaram mais flexibilidade para se adaptar as novas situações; no entanto, o enriquecimento ambiental parece não alterar diretamente o desempenho na memória operacional espacial. Em relação a neurogênese hipocampal, o enriquecimento foi capaz de aumentar cerca de 2 vezes o número de novas células; no entanto, a exposição ao labirinto aquático foi capaz de aumentar a taxa de sobrevivência de novos neurônios.

Abstract

Environmental enrichment in laboratory animals is a housing condition that provides enhanced sensorial, motor and social stimulation as compared to maintenance in standard laboratory cages. It has been claimed that this kind of stimulation improves cognition. The aim of this study was to investigate the effects of exposure to environmental enrichment on anxiety and aversive memory in the elevated plus maze, spatial working memory in the Morris' water maze, and hippocampal neurogenesis. The animals were subjected to environmental enrichment from weaning (22 days) up to the last test (17 months). During this period, they were tested in the 3rd and 15th months of life in the elevated plus maze, and in the 9th and 16th months of life in the Morris' water maze. A week before exposure to the water maze, the animals received an intraperitoneal injection of BrdU. Twenty-four hours and 30 days after the injection independent groups of animals were sacrificed for performing immunohistochemistry. Exposure to the enriched environment rendered young animals, but not elderly, less anxious. In addition, the aversive memory of both groups remained unchanged along aging. In the Morris' water maze, animals exposed to the enriched environment showed a more effective searching strategy to find the hidden platform on the first trial than the controls, when tested at 9 months. In addition, the flexibility to deal with novel situations at 15 months was greater for animals exposed to the enriched environment. Even though, exposure to the enriched environment did not alter performance of spatial working memory. Environmental enrichment doubled hippocampal neurogenesis, and the survival of the new neurons was greater when the subjects were exposed to the Morris' water maze task.

1. Introdução Geral

1.1. Enriquecimento ambiental

No decorrer da vida, passamos por uma série de alterações físicas e cognitivas decorrentes do ambiente no qual estamos inseridos. Somos expostos a uma série de experiências novas e desafiadoras, em um ambiente que se encontra em constante mudança. Por trás de tudo isso, encontram-se mecanismos biológicos que são capazes de alterar tanto a estrutura, quanto a função do encéfalo, contribuindo para a individualidade de cada ser.

O enriquecimento ambiental corresponde a uma condição que proporciona aumento da estimulação sensorial, cognitiva e motora em relação a uma condição padrão, no caso de animais de laboratório, as caixas padrão (NITHIANANTHARAJAH & HANNAN, 2006). A combinação desses estímulos proporcionada pelo enriquecimento, que podem ser inanimados e/ou sociais, seria a responsável pelos efeitos benéficos observados após exposição a esse tipo de ambiente (VAN PRAAG *et al.*, 2000).

A ideia de que experiências poderiam alterar, de alguma forma, o cérebro, já existe desde o início do século XIX. Spurzheim comparou o cérebro aos músculos; como estes aumentam seu tamanho em função do exercício, aquele também poderia aumentar em função de alguma atividade (SPURZHEIM, 1815 *apud* DIAMOND, 2001). Charles Darwin, em 1874, mostrou que cérebros de coelhos selvagens eram maiores do que os de coelhos domesticados (Darwin, 1874 *apud* Diamond, 2001 & Mohammed *et al.*, 2002). Ramon y Cajal (1895,

apud Bennet, 1964) também especulou que o “exercício cerebral”, diferentemente do muscular que, segundo ele levaria a multiplicação das células musculares, geraria uma espécie de expansão neuronal e conseqüentemente um aumento de conexões entre os córtices (apud Bennet et al.,1964).

Donald Hebb, em 1947, foi o primeiro a demonstrar que o enriquecimento durante o desenvolvimento era capaz de melhorar o desempenho de ratos adultos em uma tarefa cognitiva. Hebb levou para sua própria casa um grupo de ratos de laboratório para serem tratados como “animais de estimação”, isto é, tinham um ambiente amplo para poderem explorar, enquanto que outro grupo de ratos foi mantido nas gaiolas de laboratório. Quando Hebb testou ambos os grupos em tarefas de labirinto, percebeu que os ratos criados em sua casa tinham um desempenho melhor que os animais criados em laboratório, sugerindo que o enriquecimento no início do desenvolvimento traria benefícios que se prolongariam até a maturidade (HEBB, 1949, BROWN & MILNER, 2003). Em relação à parte anatômica, o primeiro relato de que um ambiente rico em estímulos poderia alterar estruturas neurais foi o de Rosenzweig e colaboradores (1962), no início da década de 60. Eles mantiveram os roedores em caixas maiores que as convencionais e incluíram uma série de estímulos sensoriais. Como resultado, encontraram que os encéfalos eram mais pesados que os de animais mantidos em gaiolas padrão, sugerindo uma mudança anatômica no encéfalo (ROSENZWIEG *et al.*,1962).

A partir dessa descoberta, uma série de estudos foi realizada para entender melhor essas mudanças, principalmente no neocórtex e no hipocampo (ECKERT & ABRAHAM, 2012). Atualmente, sabe-se que o enriquecimento ambiental aumenta a densidade da árvore dendrítica e dos botões dendríticos (JOHANSSON & BELICHENKO, 2002), muito provavelmente através da indução da liberação de neurotrofinas (MOHAMMED *et al.*, 2002). O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), uma neurotrofina encontrada em altos níveis em animais expostos a ambientes enriquecidos, parece ter papel crítico tanto na fase do desenvolvimento cerebral quanto na fase adulta, promovendo a regeneração e a sobrevivência neuronal. Outras neurotrofinas importantes também são encontradas em altos níveis no cérebro, como a neurotrofina 3 (NT-3) e o fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), responsáveis respectivamente, pelo crescimento e sobrevivência neuronal (OLSON *et al.*, 2006).

1.1.1. Enriquecimento ambiental e a Formação Hipocampal

A formação hipocampal é uma estrutura localizada no lobo temporal medial, composta pelo hipocampo propriamente dito, dividido em três regiões CA1, CA2, CA3 (referente a corno de Amon) e pelo giro dentado (DG) (O'KEEFE & NADEL, 1978). A formação hipocampal parece não funcionar como uma estrutura única, podendo ser dividida entre região dorsal e ventral. Esta última conecta-se com amígdala e hipotálamo, enquanto aquela recebe e envia projeções principalmente das áreas sensoriais e associativas do córtex (ver Figura 1). Essas diferenças morfológicas são responsáveis pelo

engajamento hipocampal em diferentes funções cognitivas (ECKERT & ABRAHAM, 2012). É bem conhecida a função do hipocampo dorsal nos processos envolvendo memória espacial, assim como a participação do hipocampo ventral na ansiedade (MOSER & MOSER, 1998; BARNNERMAN *et al.*, 2004; FANSELOW & DONG, 2010).

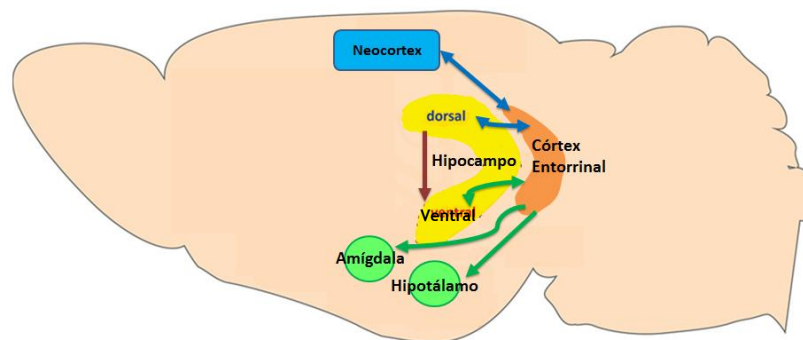


Figura 1: Representação esquemática das diferenças hodológicas entre o hipocampo dorsal e ventral do encéfalo de ratos. A porção dorsal recebe informações das áreas sensoriais e associativas via córtex entorrinal e se projeta para essas áreas. A porção ventral do hipocampo se comunica com amígdala e hipotálamo também via córtex entorrinal (adaptada de TANNENHOLZ *et al.*, 2014).

O fato de encontrar-se numa posição anatômica estratégica, além de exibir conexões recíprocas com áreas sensoriais polimodais e olfatórias, facilita a influencia do enriquecimento ambiental sobre o hipocampo. Em outras palavras, a exposição a uma série de estímulos de diferentes modalidades ativa regiões encefálicas (Figura 2), inclusive a formação hipocampal. Além disso, o reposicionamento frequente de objetos no ambiente contribui para um aumento da plasticidade hipocampal (NITHIANANTHARAJAH & HANNAN, 2006).

Esse ambiente dinâmico e o aumento de entrada de estímulos sensorio-motores, estimulam a plasticidade hipocampal caracterizada pelo aumento da arborização dendrítica e alteração na quantidade e tamanho das sinapses hipocampais (ECKERT & ABRAHAM, 2012). Além disso, o enriquecimento ambiental estimula também o aumento da neurogênese hipocampal (NILSSON *et al.*,1999; VAN PRAAG *et al.*,2000; KEMPERMANN *et al.*,2002; BRUEL-JUNGERMAN *et al.*,2005; Simpson *et al.*,2011). Considerando que cerca de 60% das novas células morrem antes de se tornarem maduras (ABROUS *et al.*,2005), um ambiente desafiador, que proporcione novas experiências, pode aumentar essa taxa de sobrevivência das novas células geradas (FABEL *et al.*,2009; RIZZI *et al.*,2011). É possível, talvez, que esse efeito de maior sobrevivência seja decorrente da estimulação por fatores de crescimento (YOUNG *et al.*,1999). A exposição ao enriquecimento ambiental é capaz de estimular a produção de diversos fatores tróficos como BDNF, que promove regeneração e sobrevivência celular, GDNF que aumenta a proliferação e diferenciação celular (OLSON *et al.*,2006; VAN PRAAG, *et al.*,2000), e NGF que é um fator de crescimento neuronal (YOUNG *et al.*,1999).

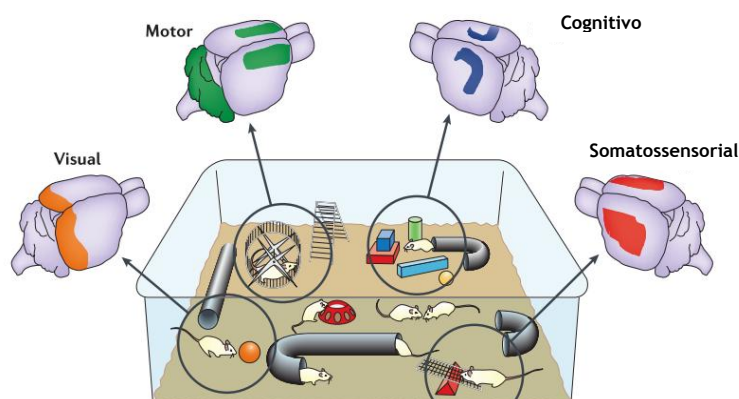


Figura 2: Representação esquemática do enriquecimento ambiental e ativação nervosa decorrente da utilização de estímulos de diferentes modalidades, entre elas, regiões visual e somatossensorial, regiões motoras e regiões envolvidas em processos cognitivos, e.g., hipocampo envolvido no mapeamento espacial (adaptada de Nithianantharajah and Hannan, 2006).

Estudos envolvendo enriquecimento ambiental mostram que 8-12 semanas de estimulação proporcionam melhor desempenho em tarefas dependentes do hipocampo (e.g., WILLIAMS *et al.*,2001; LEGGIO *et al.*,2005; ECKERT *et al.*,2010).

1.1.2. Enriquecimento ambiental, ansiedade e memória

Ansiedade pode ser definida como uma resposta desencadeada por possível ameaça a homeostase do organismo (SALUM *et al.*,2000; BELZUNG & GRIEBEL, 2001). Segundo Blanchard & Blanchard (1998), a ansiedade está relacionada à avaliação de risco. Mudanças no ambiente, ou situações de perigo incerto, desencadeiam comportamentos de avaliação de risco que, com a passagem do tempo, quando não existe ameaça real, levam o animal a exibir comportamento exploratório direcionada à mudança ou novidade. Assim, a ansiedade gera um conflito entre aproximação e evitação.

A memória pode ser definida como a alteração do comportamento em decorrência de experiências anteriores (XAVIER, 1993). Assim, experiências que demandam processamento de informação podem alterar a estrutura do sistema nervoso central e, por conseguinte, alterações nas respostas comportamentais.

No labirinto aquático de Morris, o animal é colocado numa piscina e deve encontrar uma plataforma submersa de escape guiando-se apenas por pistas distais; a memória é mensurada por meio da diminuição do tempo e do percurso para encontrar a plataforma ao longo das tentativas. Estudos que compararam o desempenho de animais criados em ambiente enriquecido e em caixas convencionais descrevem que os primeiros apresentam menor trajeto e menor tempo para encontrar a plataforma em relação aos últimos, sugerindo uma função mnemônica superior após a exposição ao ambiente enriquecido (NILSSON *et al.*,1999, WILLIAMS *et al.*,2001; MESHI *et al.*, 2006, ECKERT *et al.*,2010). Já no labirinto radial de 8 braços, em que a memória é avaliada através da diminuição do número de entradas nos braços já visitados ao longo da tentativa, Leggio e colaboradores (2005) encontraram que os animais do grupo controle cometiam mais erros em relação aos animais criados em ambiente enriquecido.

Em tarefa de reconhecimento de objetos, na qual dois objetos são apresentados em uma tentativa, e posteriormente um novo objeto é introduzido no local de um dos objetos antigos, deduz-se que há memória sobre os objetos antigos pois os animais dedicam mais atividade exploratória ao objeto novo. Nesse tipo de tarefa, animais expostos ao ambiente

enriquecido passam mais tempo explorando o objeto novo, enquanto os animais do controle exploraram os objetos (novo e antigo) igualmente (LEGER *et al.*,2012).

A exposição a ambiente enriquecido, além de favorecer os processos de memória, parece exercer também um efeito ansiolítico. O labirinto em cruz elevado vem sendo amplamente empregado para avaliação da ansiedade. O aparelho inclui braços "fechados", i.e., em que o animal fica pouco exposto a ambiente aberto, e braços "abertos", em que além da exposição ao ambiente, há uma altura de 50 cm do piso. Assim, a exposição e esse labirinto induz comportamento exploratório pela novidade do ambiente e também comportamentos aversivos, por se tratar de uma situação que envolve ambientes abertos e altura. O tempo de permanência e frequência de entradas nos braços abertos (aversivos) e fechados (protegidos) permitem gerar indicadores dos níveis de ansiedade (para mais detalhes, ver item 5). Baldini e colaboradores (2013) mostraram que animais criados em ambiente enriquecido desde o nascimento e submetidos ao labirinto em cruz elevado com 2 meses de idade eram menos ansiosos (permaneciam mais tempo nos braços abertos) do que animais que permaneceram na gaiola padrão durante o mesmo período. Outro estudo expôs os animais ao enriquecimento ambiental a partir da 4ª semana até 16ª semana de vida. Na 21ª semana os animais passaram pelo labirinto em cruz elevado, e mais uma vez, os animais expostos ao ambiente enriquecido mostraram-se menos ansiosos que os controles, uma vez que a percentagem de entradas nos braços abertos era maior que em relação aos controles (PEÑA *et al.*,2009).

Embora a grande maioria dos estudos envolvam animais jovens adultos, os efeitos benéficos do enriquecimento ambiental também ocorrem ao longo do envelhecimento, inclusive em animais com idade avançada.

1.2. Envelhecimento

O envelhecimento, fisiologicamente, provoca uma série de prejuízos celulares em todos os sistemas orgânicos e, o sistema nervoso central parece ser o mais afetado por essas mudanças, levando a um prejuízo nas funções motoras, sensoriais e cognitivas ao longo do tempo (MATTISON *et al.*,2006).

Essas alterações podem ser explicadas, em parte, pelas alterações nas propriedades dos neurônios. Em relação a morfologia, acreditava-se que o envelhecimento diminuía o número de espinhas dendríticas e brotamentos dendríticos no hipocampo. Entretanto, não foi encontrada redução dessas estruturas nas células hipocâmpais, e sim em determinadas camadas do córtex pré-frontal (BURKE & BARNES, 2006).

Propriedades elétricas básicas da membrana celular, como potencial de repouso, resistência, amplitude do potencial de ação e limiar de disparo permanecem constantes durante a vida (BILLARD *et al.*,2006; BURKE & BARNES, 2006). No entanto, a excitabilidade neuronal está altamente prejudicada durante o envelhecimento, muito provavelmente pelo excesso de cálcio e a depleção de magnésio, o que dificultaria a transmissão de informação na rede hipocâmpal (BILLARD *et al.*,2006). No processo de envelhecimento ocorre uma diminuição da neurogênese independentemente

da espécie (KUHN *et al.*,1996; SIWAK-TAPP *et al.*,2008; MORGENSTERN *et al.*,2008; AIZAWA *et al.*,2009; JINNO 2011). Estudos envolvendo animais jovens, de meia idade (aprox. 10 meses) e idosos (aprox. 20 meses) mostram um declínio acentuado da neurogênese durante a meia idade, seguido de um declínio mais moderado nos idosos (KUHN *et al.*,1996; JINNO 2011).

A razão pela qual ocorre esse declínio dependente da idade na neurogênese permanece desconhecida. Alguns autores apontam que a redução pode ser devida a supressão da proliferação das células progenitoras (KUHN *et al.*,1996; LAZAROV *et al.*,2010), ou ainda pela falta de suporte trófico e déficits no nicho neurogênico (LAZAROV *et al.*,2010).

O envelhecimento altera a capacidade cognitiva de animais de meia idade e idosos, quando comparados a animais jovens. Em tarefa de memória de referência no labirinto aquático de Morris, estudos mostraram que o prejuízo no desempenho é diretamente proporcional ao avanço da idade, isto é, animais idosos (22-24 meses) tem pior desempenho em relação aos animais de meia idade (10-12 meses) que por sua vez, são piores que os jovens (4 meses) (LINDNER *et al.*,1992, FRICK *et al.*,2005, e BIZON *et al.*,2009). Em relação a memória operacional espacial, os resultados encontrados foram distintos. Enquanto Lindner e colaboradores (1992) encontraram uma tendência ao prejuízo da memória operacional em animais de meia idade e idosos, Frick e colaboradores (1995) mostraram que só existe prejuízo em animais idosos (24 meses). Já Bizon e colaboradores (2009) encontraram que o intervalo entre as tentativas é um fator determinante no desempenho dos animais, isto é, a memória operacional foi mantida em todos os grupos durante o intervalo de

30 minutos; no entanto, quando o intervalo passou para 2 horas, animais idosos tiveram seu desempenho prejudicado, enquanto que os animais de meia idade só apresentaram prejuízo no intervalo de 6 horas.

Animais idosos também apresentam desempenho prejudicado em relação aos jovens em uma tarefa de reconhecimento de objeto, em que dois objetos são apresentados em uma sessão, e em uma segunda sessão, um desses objetos é posicionado em local novo. O esperado seria que os animais explorassem mais o objeto posicionado no local novo; no entanto, idosos exploram igualmente ambos os objetos, indicando um prejuízo na memória espacial (WIMMER *et al.*,2012). Contudo, quando a tarefa não envolve a mudança espacial de um objeto, e sim a introdução de um objeto novo, o desempenho dos idosos é semelhante ao dos jovens (MASSBERG *et al.*,2012; WIESCHOLLECK *et al.*,2014).

Tarefas envolvendo memória espacial, como a versão de memória operacional e de referência do labirinto aquático de Morris, assim como o reposicionamento de objetos estão intimamente ligadas ao desempenho da função hipocampal (XAVIER *et al.*,1999, D'HOOGHE & DEYN, 2001), enquanto que tarefas de reconhecimento de objetos, sem mudança espacial, parecem não ser dependentes do funcionamento do hipocampo (BROADBEND *et al.*,2004). Assim, considerando que o desempenho apresenta-se prejudicado nas tarefas espaciais e intacto nas tarefas de reconhecimento de objetos, pode-se inferir que parte do prejuízo cognitivo presente no envelhecimento deve-se principalmente, ao funcionamento comprometido do hipocampo, e ainda, que manobras que visam diminuir os impactos do envelhecimento na função

hipocampal podem ser consideradas determinantes para um melhor desempenho.

1.2.1. Envelhecimento e Enriquecimento ambiental

Ratos idosos expostos ao enriquecimento ambiental apresentam melhor desempenho cognitivo quando comparados aos controles. Esse efeito parece acontecer mesmo quando o período de enriquecimento é relativamente curto e seu início ocorre na meia idade (FRICK *et al.*, 2003).

Ainda que exista uma escassez de estudos que investigaram os efeitos prolongados do enriquecimento ambiental iniciado na infância, os resultados envolvendo observações comportamentais sugerem efeitos positivos. Leal-Galicia e colaboradores (2008) mostraram que 18 meses de enriquecimento ambiental melhora o desempenho em memória de reconhecimento em ratos machos Wistar em relação aos controles não expostos. Kobayash e colaboradores (2002) mostraram que a exposição ao enriquecimento ambiental por 15 ou 25 meses permitiu que ratos Fisher machos tivessem um desempenho melhor no labirinto de William-Hebb em relação aos seus respectivos controles. Harati e colaboradores (2011) também descreveram o mesmo efeito benéfico do enriquecimento (12 e 24 meses) em ratas Long-Evans em um teste envolvendo memória de referência espacial.

Apesar dos estudos mostrarem que a longa exposição ao enriquecimento ambiental melhora o desempenho em tarefas de memória de referência e reconhecimento de objetos, nenhum estudo investigou os efeitos da exposição prolongada ao enriquecimento ambiental na memória

operacional. Sabe-se que a memória operacional espacial é a função cognitiva mais prejudicada pelo processo de envelhecimento (BADDELEY, 1998), e que seu bom funcionamento está intimamente ligado à integridade do giro denteado (XAVIER *et al.*,1999), uma região cerebral onde comprovadamente ocorre neurogênese adulta, cuja taxa pode ser aumentada pela exposição ao enriquecimento ambiental, mesmo durante o envelhecimento.

É bem estabelecido que o exercício físico, exposição ao enriquecimento ambiental e aprendizado aumentam as taxas de neurogênese em ratos jovens (GOULD *et al.*,1999; SHORS *et al.*,2001; TASHIRO *et al.*,2007; DUPRET *et al.*,2008) e em ratos idosos (MORA *et al.*,2007; KRONENBERG *et al.*,2006). Kempermann e colaboradores (1998) expuseram animais de meia idade e idosos ao enriquecimento ambiental por 28 dias e observaram um aumento da taxa de neurogênese nesses animais. Em um estudo posterior, camundongos fêmeas com 10 meses foram expostas ao enriquecimento ambiental por mais 10 meses, e observaram um aumento de 5 vezes na quantidade de neurônios novos em relação aos controles (KEMPERMANN *et al.*,2002). Esses estudos mostram que mesmo quando iniciado em fase tardia, o enriquecimento a curto e longo prazos mantêm efeitos positivos nas taxas de neurogênese. Nessa linha de raciocínio, pode-se especular que animais expostos ao enriquecimento ambiental desde jovens até a meia idade podem apresentar resultados tão positivos na geração de novos neurônios quanto os expostos em idade já avançada.

2. Conclusões

O enriquecimento ambiental:

- Gerou efeito ansiolítico em animais testados aos 3 meses de idade
- Influenciou o comportamento de avaliação de risco / tomada de decisão em animais jovens
- Não alterou a memória aversiva em animais com 15 meses
- Facilitou a adoção de uma estratégia eficiente para desempenhar uma tarefa envolvendo memória operacional
- Proporcionou uma maior adaptabilidade as mudanças de ambiente
- Não alterou o desempenho da memória operacional espacial
- Aumentou cerca 1,8x o número de células geradas no giro denteado do hipocampo
- Não alterou a taxa de sobrevivência das novas células. No entanto, a tarefa de labirinto aquático de Morris, alterou a porcentagem de células sobreviventes.

Resumo Geral

O enriquecimento ambiental pode ser considerado uma condição que proporciona aumento da estimulação sensorial, cognitiva e motora, que levaria, a curto e longo prazos, a mudanças comportamentais importantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da exposição ao enriquecimento ambiental (1) na ansiedade e memória aversiva, ambos no labirinto em cruz elevado, (2) na memória operacional espacial no labirinto aquático de Morris, e (3) na neurogênese hipocampal, em ratos. Os animais foram expostos ao enriquecimento ambiental a partir do desmame (22 dias), onde permaneceram até o último dia de teste (17º mês). Nesse período, foram submetidos ao Labirinto em Cruz Elevado (LCE) no 3º e 15º mês, e ao Labirinto Aquático de Morris (LAM) no 9º e 16º mês. Uma semana antes da exposição ao labirinto aquático, receberam uma injeção intraperitoneal de bromodeoxyuridina (BrdU). Vinte e quatro horas e trinta dias após essa injeção grupos independentes de animais foram sacrificados e seus encéfalos processados imunohistoquimicamente para revelar o BrdU. O enriquecimento ambiental produziu um efeito ansiolítico em animais jovens, mas não nos idosos. A memória aversiva de animais jovens e idosos não se alterou. No labirinto aquático, enquanto os animais expostos ao ambiente enriquecido por 9 meses apresentaram uma estratégia mais eficiente de busca em relação aos respectivos controles, os animais expostos ao ambiente enriquecido por 15 meses apresentaram mais flexibilidade para se adaptar as novas situações; no entanto, o enriquecimento ambiental parece não alterar diretamente o desempenho na memória operacional espacial. Em relação a neurogênese hipocampal, o enriquecimento foi capaz de aumentar cerca de 2 vezes o número de novas células; no entanto, a exposição ao labirinto aquático foi capaz de aumentar a taxa de sobrevivência de novos neurônios.

Abstract

Environmental enrichment in laboratory animals is a housing condition that provides enhanced sensorial, motor and social stimulation as compared to maintenance in standard laboratory cages. It has been claimed that this kind of stimulation improves cognition. The aim of this study was to investigate the effects of exposure to environmental enrichment on anxiety and aversive memory in the elevated plus maze, spatial working memory in the Morris' water maze, and hippocampal neurogenesis. The animals were subjected to environmental enrichment from weaning (22 days) up to the last test (17 months). During this period, they were tested in the 3rd and 15th months of life in the elevated plus maze, and in the 9th and 16th months of life in the Morris' water maze. A week before exposure to the water maze, the animals received an intraperitoneal injection of BrdU. Twenty-four hours and 30 days after the injection independent groups of animals were sacrificed for performing immunohistochemistry. Exposure to the enriched environment rendered young animals, but not elderly, less anxious. In addition, the aversive memory of both groups remained unchanged along aging. In the Morris' water maze, animals exposed to the enriched environment showed a more effective searching strategy to find the hidden platform on the first trial than the controls, when tested at 9 months. In addition, the flexibility to deal with novel situations at 15 months was greater for animals exposed to the enriched environment. Even though, exposure to the enriched environment did not alter performance of spatial working memory. Environmental enrichment doubled hippocampal neurogenesis, and the survival of the new neurons was greater when the subjects were exposed to the Morris' water maze task.

3. Referências

AIZAWA, K.; AGEYAMA, N.; YOKOYAMA, C.; HISATSUNE, T. Age-dependent alteration in hippocampal neurogenesis correlates with learning performance of macaque monkeys. **Experimental animals / Japanese Association for Laboratory Animal Science**, v. 58, n. 4, p. 403-7, jul 2009.

ABROUS, D. N.; KOEHL, M.; MOAL, M. L. E. Adult Neurogenesis: From Precursors to Network and Physiology. **Physiological Reviews**, n. 322, p. 523-569, 2005.

ABROUS, D. N.; WOJTOWICZ, J.M., Neurogenesis and Hippocampal Memory System. In *Adult Neurogenesis*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, p 667, 2008

AIMONE, James B; DENG, Wei; GAGE, Fred H. Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. **Trends in cognitive sciences**, v. 14, n. 7, p. 325-337, 2010.

AMBROGINI, P. et al. Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. **Neuroscience letters**, v. 286, n. 1, p. 21-4, 2000.

BADDELEY, A. Working Memory. **Science**, v. 255, n. ii, 1992.

BADDELEY, A. Recent developments in working memory. **Current opinion in neurobiology**, v. 8, p. 234-238, 1998.

BADDELEY, A. The episodic buffer: a new component of working memory? **Trends in cognitive sciences**, v. 4, n. 11, p. 417-423, 2000.

BALDINI, S.; RESTANI, L.; BARONCELLI, L.; *et al.* Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 33, n. 28, p. 11715-23, 10 jul 2013.

BELZUNG, C.; GRIEBEL, G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. **Behavioural brain research**, v. 125, n. 1-2, p. 141-9, 1 nov 2001.

BANNERMAN, D. M. et al. Regional dissociations within the hippocampus--memory and anxiety. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 28, n. 3, p. 273-83, maio 2004.

BENNETT, E. L.; DIAMOND, M. C.; KRECH, D.; ROSENZWEIG, M. R. Chemical and anatomical plasticity of brain. 1964. **The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences**, v. 8, n. 4, p. 459-70, jan 1996.

BERTOGLIO, L. J.; CAROBREZ, A P. Previous maze experience required to increase open arms avoidance in rats submitted to the elevated

plus-maze model of anxiety. **Behavioural brain research**, v. 108, n. 2, p. 197-203, mar 2000.

BERTOGLIO, L. J.; CAROBREZ, A. P. Anxiolytic-like effects of NMDA/glycine-B receptor ligands are abolished during the elevated plus-maze trial 2 in rats. **Psychopharmacology**, v. 170, n. 4, p. 335-42, dez 2003.

BILLARD, J. M. Ageing, hippocampal synaptic activity and magnesium. **Magnesium research : official organ of the International Society for the Development of Research on Magnesium**, v. 19, n. 3, p. 199-215, set 2006.

BIZON, J. L., LASARGE, C.L., MONTGOMERY, K.S., DERMOTT, A.N., SETLOW, B., GRIFFITH, W. H. Spatial reference and working memory across the lifespan of male Fischer 344 rats. **Neurobiology of aging**, v. 30, n. 4, p. 646-655, 2009.

BLANCHARD, D C; BLANCHARD, R J; TOM, P. Psychopharmacology Diazepam changes risk assessment in an anxiety / defense test battery *. **Psychopharmacology**, p. 511-518, 1990.

BOGUSZEWSKI, Pawel; ZAGRODZKA, Jolanta. Emotional changes related to age in rats * a behavioural analysis. **Behavioural brain research**, v. 133, 2002.

BROWN, R. E.; MILNER, P. M. The legacy of Donald O. Hebb: more than the Hebb synapse. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 4, n. 12, p. 1013-9, dez 2003.

BRUEL-JUNGERMAN, E.; LAROCHE, S.; RAMPON, C. New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. **The European journal of neuroscience**, v. 21, n. 2, p. 513-21, jan 2005.

BURKE, S. N.; BARNES, C. A. Neural plasticity in the ageing brain. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 7, n. 1, p. 30-40, jan 2006.

CAMPOS, A; SANTOS, A. M. G.; XAVIER, G. F. A Consciência Como Fruto da Evolução e do Funcionamento do Sistema Nervoso. **Psicol. USP**, São Paulo , v. 8, n. 2, 1997

CAROBREZ, A P.; BERTOGLIO, L. J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 29, n. 8, p. 1193-205, jan 2005.

DENG, Wei; AIMONE, James B; GAGE, Fred H. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? **Nature reviews. Neuroscience**, v. 11, n. 5, p. 339-50, 2010.

DIAMOND, M. C. Response of the brain to enrichment. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 73, n. 2, p. 211-20, jun 2001.

DRAPEAU, E.; MAYO, W.; AUROUSSEAU, C.; *et al.* Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 100, n. 24, p. 14385-90, 25 nov 2003.

DRISCOLL, I.; HOWARD, S. R.; STONE, J. C.; *et al.* The aging hippocampus: a multi-level analysis in the rat. **Neuroscience**, v. 139, n. 4, p. 1173-85, jan 2006.

DUPRET, David; FABRE, Annabelle; DÖBRÖSSY, Mátè Dàniele *et al.* Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. **PLoS biology**, v. 5, n. 8, p. e214, 2007.

DUPRET, D.; REVEST, J.-M.; KOEHL, M.; *et al.* Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. **PloS one**, v. 3, n. 4, p. e1959, jan 2008.

ECKERT, M. J.; ABRAHAM, W. C. Effects of Environmental Enrichment Exposure on Synaptic Transmission and Plasticity in the Hippocampus. 2012.

ECKERT, M. J.; BILKEY, D. K.; ABRAHAM, W. C. Altered plasticity in hippocampal CA1, but not dentate gyrus, following long-term environmental enrichment. **Journal of neurophysiology**, v. 103, n. 6, p. 3320-9, jun 2010.

EICHENBAUM, H.; OTTO, T. & COHEN, N. J. The Hippocampus What Does It Do? **behavioral and neural Biology**, v. 36, p. 1-35, 1992.

EPP, J. R.; SPRITZER, M. D. e GALEA, L. a M. Hippocampus-dependent learning promotes survival of new neurons in the dentate gyrus at a specific time during cell maturation. **Neuroscience**, v. 149, n. 2, p. 273-85, 2007.

EPP, J. R.; CHOW, C. e GALEA, L. a M. Hippocampus-dependent learning influences hippocampal neurogenesis. **Frontiers in neuroscience**, v. 7, n. April, p. 57, doi:10.3389/fnins.2013.00057, 2013.

ESPÓSITO, M Soledad; PIATTI, Verónica C; LAPLAGNE, Diego. Neuronal differentiation in the adult hippocampus recapitulates embryonic development. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 25, n. 44, p. 10074-86, 2005.

FABEL, K.; WOLF, S. A; EHNINGER, D. *et al.* Additive effects of physical exercise and environmental enrichment on adult hippocampal neurogenesis in mice. **Frontiers in neuroscience**, v. 3, n. November, p. 50, jan 2009.

FABEL, Klaus; KEMPERMANN, Gerd. Physical activity and the regulation of neurogenesis in the adult and aging brain. **Neuromolecular medicine**, v. 10, n. 2, p. 59-66, 2008.

FANSELOW, M. S. & DONG, H. W. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? **Neuron** 65, 7-19, 2010.

FARES, R. P.; BELMEGUENAI, A.; SANCHEZ, P. E.; *et al.* Standardized environmental enrichment supports enhanced brain plasticity in healthy rats and prevents cognitive impairment in epileptic rats. **PloS one**, v. 8, n. 1, p. e53888, jan 2013.

FILE, S E. The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze. **Behavioural brain research**, v. 58, n. 1-2, p. 199-202, 1993.

FILE, S. E.; ZANGROSSI, H.; SANDERS, F. L.; MABBUTT, P. S. Raised corticosterone in the rat after exposure to the elevated plus-maze. **Psychopharmacology**, v. 113, n. 3-4, p. 543-6, jan 1994.

FRICK, K. M.; STEARNS, N. A; PAN, J.-Y.; BERGER-SWEENEY, J. Effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry in middle-aged mice. **Learning & memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)**, v. 10, n. 3, p. 187-98, 2003.

GIL-MOHAPEL, J.; BROCARDO, P. S.; CHOQUETTE, W.; *et al.* Hippocampal Neurogenesis Levels Predict WATERMAZE Search Strategies in the Aging Brain. **PloS one**, v. 8, n. 9, p. e75125, jan 2013.

GOULD, E.; BEYLIN, A; TANAPAT, P.; REEVES, A; SHORS, T. J. Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. **Nature neuroscience**, v. 2, n. 3, p. 260-5, mar 1999.

HARATI, H.; MAJCHRZAK, M.; COSQUER, B.; *et al.* Attention and memory in aged rats: Impact of lifelong environmental enrichment. **Neurobiology of aging**, v. 32, n. 4, p. 718-36, abr 2011.

HARATI, H.; BARBELIVIEN, A.; HERBEAUX, K.; *et al.* Lifelong environmental enrichment in rats: impact on emotional behavior, spatial memory vividness, and cholinergic neurons over the lifespan. **Age (Dordrecht, Netherlands)**, p. 1-17, 17 maio 2012.

HEBB, D. O. The growth and decline of intelligence. The Organization of behavior: A neuropsychological theory. New York: Wiley, 1949. p. 335.

HOGG, S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 54, n. 1, p. 21-30, 1996.

ICKES, B. R.; PHAM, T. M.; SANDERS, L. A; *et al.* Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. **Experimental neurology**, v. 164, n. 1, p. 45-52, jul 2000.

ITOH, J; NABESHIMA, T; KAMEYAMA, T. Utility of an elevated plus-maze for dissociation of amnesic and behavioral effects of drugs in mice. **European journal of pharmacology**, v. 194, n. 1, p. 71-6, 1991.

IZQUIERDO, I. Memória, 2ed., reveampl - Porto Alegre: Artmed, p. 133, 2011

JESSBERGER, S.; CLARK, R. E; BROADBENT, N. Dentate gyrus-specific knockdown of adult neurogenesis impairs spatial and object recognition memory in adult rats. **Learning & Memory**, p. 147-154, 2009.

JINNO, S. Topographic differences in adult neurogenesis in the mouse hippocampus: A stereology-based study using endogenous markers. **Hippocampus**, v. 000, n. November 2009, jan 2010.

JINNO, S. Decline in adult neurogenesis during aging follows a topographic pattern in the mouse hippocampus. **The Journal of comparative neurology**, v. 519, n. 3, p. 451-66, 2011.

JOHANSSON, B. B.; BELICHENKO, P. V. Neuronal plasticity and dendritic spines: effect of environmental enrichment on intact and postischemic rat brain. **Journal of cerebral blood flow and metabolism**, v. 22, n. 1, p. 89-96, jan 2002

KEE, Nohjin; TEIXEIRA, Cátia M; WANG, Afra H. Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. **Nature neuroscience**, v. 10, n. 3, p. 355-62, 2007.

KEMPERMANN, G.; GAST, D.; GAGE, F. H. Neuroplasticity in old age: sustained fivefold induction of hippocampal neurogenesis by long-term environmental enrichment. **Annals of neurology**, v. 52, n. 2, p. 135-43, ago 2002.

KEMPERMANN, G; KUHN, H G; GAGE, F H. Experience-induced neurogenesis in the senescent dentate gyrus. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 18, n. 9, p. 3206-12, 1998.

KLOMP, A. et al. Effects of chronic fluoxetine treatment on neurogenesis and tryptophan hydroxylase expression in adolescent and adult rats. **PLoS one**, v. 9, n. 5, p. e97603, doi:10.1371/journal.pone.0097603, 2014.

KOBAYASHI, S.; OHASHI, Y.; ANDO, S. Effects of enriched environments with different durations and starting times on learning capacity during aging in rats assessed by a refined procedure of the Hebb-Williams maze task. **Journal of neuroscience research**, v. 70, n. 3, p. 340-6, 1 nov 2002.

KRONENBERG, G.; BICK-SANDER, A.; BUNK, E.; *et al.* Physical exercise prevents age-related decline in precursor cell activity in the mouse dentate gyrus. **Neurobiology of aging**, v. 27, n. 10, p. 1505-13, out 2006.

KUHN, H.-G.; GAGE, F. H. Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Decrease of Neuronal Progenitor Proliferation Rat : Age-Related. , v. 76, n. 6, p. 2027-2033, 1996.

LAZAROV, O.; MATTSON, M. P.; PETERSON, D. A; PIMPLIKAR, S. W.; PRAAG, H. VAN. When neurogenesis encounters aging and disease. **Trends in neurosciences**, v. 33, n. 12, p. 569-579, 2010

LEAL-GALICIA, P.; CASTAÑEDA-BUENO, M.; QUIROZ-BAEZ, R.; ARIAS, C. Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging. **Neurobiology of learning and memory**, v. 90, n. 3, p. 511-8, out 2008.

LEE, C. e RODGERS, R. J. Antinociceptive effects of elevated plus-maze exposure: influence of opiate receptor manipulations. **Psychopharmacology**, v. 102, n. 4, p. 507-513, doi:10.1007/BF02247133, 1990.

LEGER, M.; QUIEDEVILLE, A.; PAIZANIS, E. Environmental enrichment enhances episodic-like memory in association with a modified neuronal activation profile in adult mice. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e48043, jan 2012.

LEGGIO, M. G.; MANDOLESI, L.; FEDERICO, F. Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. **Behavioural brain research**, v. 163, n. 1, p. 78-90, 30 ago 2005.

LINDNER, M. D; BALCH, A. H; VANDERMAELEN, C A M P. Short Forms of the “ Reference- ” and “ Working-Memory ” Morris Water Maze for Assessing Age-Related Deficits. **Behavioral and neural Biology** v. 2, 1992.

MARLATT, M.; POTTER, M.; LUCASSEN, P.; VAN PRAAG, H. Running throughout middle-age improves memory function, hippocampal neurogenesis and BDNF levels in female C57Bl/6J mice. **Developmental neurobiology**, v. 72, n. 6, p. 943-952, doi:10.1002/dneu.22009. Running, 2013.

MATTSON, M. P.; MAGNUS, T. Ageing and neuronal vulnerability. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 278-94, abr 2006.

LEAL-GALICIA, P.; CASTAÑEDA-BUENO, M.; QUIROZ-BAEZ, R.; ARIAS, C. Long-term exposure to environmental enrichment since youth prevents recognition memory decline and increases synaptic plasticity markers in aging. **Neurobiology of learning and memory**, v. 90, n. 3, p. 511-8, out 2008.

MATTSON, M. P. e MAGNUS, T. Ageing and neuronal vulnerability. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 278-94, 2006.

MESHI, Dar; DREW, Michael R; SAXE, Michael et al. Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. **Nature neuroscience**, v. 9, n. 6, p. 729-31, 2006.

MOHAMMED, A. H.; ZHU, S. W.; DARMOPIL, S. I. *et al.* Environmental enrichment and the brain '. v. 138, n. 1949, 2002.

MONGIAT, Lucas a; SCHINDER, Alejandro F. Adult neurogenesis and the plasticity of the dentate gyrus network. **The European journal of neuroscience**, v. 33, n. 6, p. 1055-61, 2011.

MORA, F.; SEGOVIA, G.; ARCO, A. DEL. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics

in several areas of the brain. **Brain research reviews**, v. 55, n. 1, p. 78-88, ago 2007.

MORA, F. Successful brain aging: plasticity, environmental enrichment, and lifestyle. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 15, n. 01, p. 45-52, 2013.

MOSER, M. B.; MOSER, E. I. Functional differentiation in the hippocampus. **Hippocampus**, v. 8, n. 6, p. 608-19, jan. 1998.

NITHIANANTHARAJAH, J.; HANNAN, A. J. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 7, n. 9, p. 697-709, set 2006.

NILSSON, M.; PERFILIEVA, E.; JOHANSSON, U.; ORWAR, O.; ERIKSSON, P. S. Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. **Journal of neurobiology**, v. 39, n. 4, p. 569-78, 15 jun 1999.

OHL, F. Testing for anxiety. **Clinical Neuroscience Research**, v. 3, n. 4-5, p. 233-238, dez 2003.

O'KEEFE, J. A., & NADEL, L. The hippocampus as a cognitive map. London: **Oxford University Press**, 1978

OLSON, A. K.; EADIE, B. D.; ERNST, C.; CHRISTIE, B. R. Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. **Hippocampus**, v. 16, n. 3, p. 250-60, jan 2006.

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S. E.; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of neuroscience methods**, v. 14, n. 3, p. 149-67, ago 1985.

PEÑA, Y.; PRUNELL, M.; ROTLLANT, D.; ARMARIO, A.; ESCORIHUELA, R. M. Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, n. 9, p. 1390-404, out 2009.

RIDDLE, D. R & LICHTENWALNER, R. J. Neurogenesis in the Adult and Aging Brain. In: **Brain Aging: Models, Methods and Mechanisms**, Frontiers In Neuroscience, CRC Press, p. 384, 2007

RIZZI, S.; BIANCHI, P.; GUIDI, S.; CIANI, E.; BARTESAGHI, R. Impact of environmental enrichment on neurogenesis in the dentate gyrus during the early postnatal period. **Brain research**, v. 1415, p. 23-33, 30 set 2011.

RODGERS, R. J.; CAO, B. J.; DALVI, A; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 30, n. 3, p. 289-304, mar 1997.

ROSENZWEIG, E. S. e BARNES, C. a. **Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition.** v. 69p. 143-179, 2003

ROSENZWEIG, M. R.; KRECH, D.; BENNETT, E. L.; DIAMOND, M. C. Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy : v. 55, n. 4, p. 429-437, 1962.

ROY, V.; CHAPILLON, P.; JELJELI, M.; CASTON, J.; BELZUNG, C. Free versus forced exposure to an elevated plus-maze: evidence for new behavioral interpretations during test and retest. **Psychopharmacology**, v. 203, n. 1, p. 131-141, 8 nov 2008.

SALUM, C; MORATO, S; ROQUE-DA-SILVA, a C. Anxiety-like behavior in rats: a computational model. **Neural networks: the official journal of the International Neural Network Society**, v. 13, n. 1, p. 21-9, 2000.

SAMPEDRO-PIQUERO, P.; ZANCADA-MENENDEZ, C.; BEGEGA, A.; RUBIO, S.; ARIAS, J. L. Effects of environmental enrichment on anxiety responses, spatial memory and cytochrome c oxidase activity in adult rats. **Brain research bulletin**, v. 98C, p. 1-9, 4 jul 2013.

SANDOVAL, C Jimena; MARTÍNEZ-CLAROS, Marisela; BELLO-MEDINA, Paola *Cet al.* When are new hippocampal neurons, born in the adult brain, integrated into the network that processes spatial information? **PloS one**, v. 6, n. 3, p. e17689, 2011.

SAXE, M. D. et al. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 103, n. 46, p. 17501-6, doi:10.1073/pnas.0607207103, 2006.

SCHMIDT, B.;; MARRONE, D. F. e MARKUS, E. J. Disambiguating the similar: the dentate gyrus and pattern separation. **Behavioural brain research**, v. 226, n. 1, p. 56-65, doi:10.1016/j.bbr.2011.08.039, 2012.

SHARMA, a C; KULKARNI, S K. Evaluation of learning and memory mechanisms employing elevated plus-maze in rats and mice. **Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry**, v. 16, n. 1, p. 117-25, 1992.

SIMPSON, J.; KELLY, J. P. The impact of environmental enrichment in laboratory rats--behavioural and neurochemical aspects. **Behavioural brain research**, v. 222, n. 1, p. 246-64, 12 set 2011.

SIWAK-TAPP, C. T.; HEAD, E.; MUGGENBURG, B. A.; MILGRAM, N. W.; COTMAN, C. W. and Correlates with Cognitive Function. , v. 88, n. 2, p. 249-259, 2008.

SHORS, T. J.; MIESEGAES, G.; BEYLIN, A.; *et al.* Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. **Nature**, v. 410, n. 6826, p. 372-6, mar 2001.

SNYDER, J. S. et al. Adult-born hippocampal neurons are more numerous, faster maturing, and more involved in behavior in rats than in mice. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 29, n. 46, p. 14484-95, doi:10.1523/JNEUROSCI.1768-09.2009, 2009.

SNYDER, JASON S; RADIK, RUVIM; WOJOWICTZ, J. MARTIM; CAMERON, H. A. Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. **Hippocampus**, v. 19, n. 4, p. 360-370, doi:10.1002/hipo.20525.Anatomical, 2010.

SNYDER, JASON S; RAMCHAND, P.; RABBEIT, S.; RADIK, R., WOJTOWICZ, M.; CAMERON, H. Septo-temporal gradients of neurogenesis and activity in 13- month-old rats. **Neurobiology of Aging**, v. 32, n. 6, p. 1149-1156, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.05.022.Septo-temporal, 2011.

SNYDER, J. S.; FERRANTE, S. C. e CAMERON, H. a. Late maturation of adult-born neurons in the temporal dentate gyrus. **PLoS one**, v. 7, n. 11, p. e48757, doi:10.1371/journal.pone.0048757, 2012.

SWEATT, J. D. Hippocampal function in cognition. **Psychopharmacology**, v. 174, n. 1, p. 99-110, 2004.

TANNENHOLZ, L.; JIMENEZ, J. C.; KHEIRBEK, M. A. Local and regional heterogeneity underlying hippocampal modulation of cognition and mood. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 8, n. May, p. 147, jan. 2014.

TASHIRO, A.; MAKINO, H.; GAGE, F. H. Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 27, n. 12, p. 3252-9, mar 2007.

TAUPIN, P. **Stem cells and regenerative medicine**. New York: Nova Science Publishers v. 1p. 180 , 2008.

TREIT, DALLAS; MENARD JANET, R. C. Anxiogenic Stimuli in the Elevated Plus-Maze. **Pharmacology, biochemistry, and behavior**, v. 44, p. 463-469, 1993.

TRULLAS, R. e SKOLNICK, P. Psychopharmacology Differences in fear motivated behaviors among inbred mouse strains. p. 323-331, 1993.

Van PRAAG, H. VAN; KEMPERMANN, G.; GAGE, F. H. Neural consequences of environmental enrichment. **Nature reviews. Neuroscience**, v. 1, n. 3, p. 191-8, dez 2000.

VORHEES V CHARLES; WILLIAMS, M. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. **Nat protocol**, v. 1, n. 2, p. 848-858, 2006.

WIESCHOLLECK, V.; EMMA ANDRÉ, M. A.; MANAHAN-VAUGHAN, D. Early age-dependent impairments of context-dependent extinction learning, object recognition, and object-place learning occur in rats. **Hippocampus**, v. 24, n. 3, p. 270-9, mar 2014.

WILLIAMS, B. M.; LUO, Y.; WARD, C. *et al.* Environmental enrichment: effects on spatial memory and hippocampal CREB immunoreactivity. **Physiology & behavior**, v. 73, n. 4, p. 649-58, jul 2001.

WIMMER, M.; HERNANDEZ, P.; BLACKWELL, J., ABEL, T. Aging impairs hippocampus-dependent long-term memory for object location in mice. **Neurobiology of aging**, v. 33, n. 9, p. 2220-2224, 2013.

XAVIER, G. F. A Modularidade da Memória e o Sistema Nervoso.pdf. **Psicologia USP**, v. 4(1/2), p. 61-115, 1993.

XAVIER, G. F.; OLIVEIRA-FILHO, F. J.; SANTOS, A M. Dentate gyrus-selective colchicine lesion and disruption of performance in spatial tasks: difficulties in “place strategy” because of a lack of flexibility in the use of environmental cues? **Hippocampus**, v. 9, n. 6, p. 668-81, jan 1999.

YOUNG, D.; LAWLOR, P. A; LEONE, P.; DRAGUNOW, M.; DURING, M. J. Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. **Nature medicine**, v. 5, n. 4, p. 448-53, abr 1999.

ZHAO, C.; TENG, E M.; SUMMERS, R. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 26, n. 1, p. 3-11, 2006.

ZHAO, C.; DENG, W.; GAGE, F.H. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. **Cell**, v. 132, n. 4, p. 645-60, 2008