

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

ISABELLE STREMEL GODOY

**MÉTODOS DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL UTILIZADOS EM RATOS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) NAS UNIVERSIDADES PÚBLICAS DO BRASIL**

PONTA GROSSA

2024

ISABELLE STREMEL GODOY

**MÉTODOS DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL UTILIZADOS EM RATOS
WISTAR (*Rattus norvegicus*) NAS UNIVERSIDADES PÚBLICAS DO BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
como requisito para obtenção de grau de
Licenciada em Ciências Biológicas, pela
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Dr Denilton Vidolin

Coorientador: Esp. Vitor Bortoloso Suss

PONTA GROSSA

2024



Licenciatura em Ciências Biológicas – Universidade Estadual de Ponta Grossa

ANEXO VIII - ATA DE AVALIAÇÃO FINAL DA DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos 29 dias do mês de outubro de 2024, às 17:00 horas, em sessão pública na sala M 106 da Universidade Estadual de Ponta Grossa (campus Uvaranas), na presença da Banca Examinadora o(a) acadêmico(a) Isabelle Stremel Godoy apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado Métodos de enriquecimento ambiental utilizados em ratos wistar (Rattus norvegicus) nas universidades públicas do Brasil.

_____ como requisito curricular indispensável à integralização do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovação (aprovação/reprovação) do referido Trabalho de Conclusão de Curso, com nota final 9.5 (nove e meio). O resultado foi formalmente informado ao acadêmico(a) e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que segue assinada por mim e pelos demais componentes da Banca Examinadora.

Presidente da Banca Examinadora: Denilton Vidolin

Assinatura: Denilton Vidolin

Titular 1: Vitor Bortoloso Soss

Assinatura: Vitor Bortoloso Soss

Titular 2: Paulo Roberto Costa de Almeida

Assinatura: Paulo R. C. Almeida

Obs.: Sugere-se acrescentar até 5% na nota final se o trabalho foi divulgado em eventos técnico-científicos.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho de conclusão de curso representa um marco significativo na minha trajetória acadêmica, e não teria sido possível sem o apoio incondicional de pessoas muito especiais.

Agradeço a minha querida mãe, Angela Regina Stremel e minha irmã Stephanie Stremel Godoy por me escutarem tantas vezes, e por serem um apoio tão grande.

Um agradecimento especial ao meu pai, Luciano Godoy que dedicou tempo para revisar este trabalho. Sua paciência, conselhos e sugestões valiosas foram essenciais para aprimorar meu texto e me orientar em momentos de dúvida. Sua crença em meu potencial me motivou a buscar sempre o melhor. Obrigada pai por sempre estar disposto a fazer o melhor por mim.

Agradeço também aos membros da banca, que aceitaram avaliar este trabalho. Suas críticas construtivas e sugestões contribuíram para o meu crescimento acadêmico e profissional, e suas perspectivas enriqueceram a discussão e análise dos temas abordados.

Um agradecimento especial ao meu orientador, Denilton Vidolin que me guiou com sabedoria ao longo de toda a pesquisa. Suas orientações foram fundamentais para a realização deste projeto e seu entusiasmo pela pesquisa sempre me inspirou a buscar o conhecimento com seriedade e dedicação.

Gostaria de dedicar um espaço especial para agradecer às minhas queridas amigas, que foram fundamentais nesta jornada. A amizade de vocês me trouxe não apenas momentos de descontração e alegria, mas também apoio emocional e motivação em tempos desafiadores. Agradeço a Luiza, Hailyn, Ana, Marinês, Estefani, Duda, Lauri por estarem ao meu lado, compartilhando experiências e me incentivando a seguir em frente. A colaboração e o apoio que recebi de vocês foram essenciais para a realização deste trabalho, e sou muito grata por cada um desses momentos que vivemos juntas.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste projeto. Cada palavra de incentivo, cada gesto de apoio e cada momento compartilhado foram essenciais para que eu chegasse até aqui. Sou eternamente grata por tudo!

RESUMO

Desde muito tempo os animais foram utilizados para diversas funções, como alimentação, transporte e para adquirir conhecimentos científicos, que impulsionam a ciência da nossa atualidade. Por conta desses fatores, foram criados os biotérios para assim manter esses animais de pesquisa contidos, a partir disso foi questionada os cuidados e experimentos a que esses animais são submetidos. Após a criação da Lei Arouca foram estipulados diretrizes básicas para manter o bem-estar desses animais em cativeiro, tendo em base o enriquecimento ambiental.

Por ser uma questão ética e legal, se faz necessário investigar quais protocolos estão sendo utilizados nas Universidades Públicas do Sul e Sudeste do Brasil que possuem instalações e centros de pesquisa de animais de laboratório, como enfoque nos ratos Wistar. Além de averiguar quais são os grandes efeitos deste enriquecimento e suas diversas formas de metodologia. Com isso, esse trabalho se propôs a fazer uma minuciosa revisão de literatura para avaliar os meios de enriquecimento ambiental utilizados nessas Universidades.

Após analisar 21 artigos, foi possível observar diversos benéficos que o enriquecimento ambiental promove nesses ratos, como a diminuição de ansiedade, melhoramento do déficit de atenção, diminuição de comportamentos estereotipados, melhora na plasticidade cerebral e conexões sinápticas além de servirem como um ansiolítico para os animais utilizados em pesquisas experimentais. visando assim melhorar a qualidade de vida e aumentar a confiabilidade de pesquisas científicas.

Palavras-chave: Enriquecimento ambiental, ratos Wistar, diminuição de ansiedade;

ABSTRACT

Animals have long been used for a variety of purposes, such as food, transportation, and to acquire scientific knowledge, which drives science today. Due to these factors, animal facilities were created to keep these research animals contained, and from there, the care and experiments to which these animals are subjected were questioned. After the creation of the Arouca Law, basic guidelines were established to maintain the well-being of these animals in captivity, based on environmental enrichment.

As this is an ethical and legal issue, it is necessary to investigate which protocols are being used in Public Universities in the South and Southeast of Brazil that have facilities and research centers for laboratory animals, with a focus on Wistar rats. In addition to investigating the major effects of this enrichment and its various forms of methodology. With this in mind, this work proposed to conduct a thorough literature review to evaluate the means of environmental enrichment used in these Universities.

After analyzing 21 articles, it was possible to observe several benefits that environmental enrichment promotes in these rats, such as reduced anxiety, improved attention deficit, reduced stereotypical behaviors, improved brain plasticity and synaptic connections, in addition to serving as an anxiolytic for animals used in experimental research, thus aiming to improve quality of life and increase the reliability of scientific research.

Keywords: Environmental enrichment, Wistar rats, decreased anxiety;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	8
2.2 OBJETIVOS GERAIS.....	8
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	9
3.1 BEM-ESTAR E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL.....	9
3.2 COMPORTAMENTO DOS RATOS.....	11
3.3 EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA REDUÇÃO DE ESTRESSE E BEM-ESTAR.....	15
4 METODOLOGIA.....	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
6 CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS.....	23

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da ciência, o uso de animais tem sido fundamental para o avanço do conhecimento em várias áreas, incluindo medicina e biologia. Esse uso gerou importantes descobertas, mas também levantou questões éticas significativas, levando à criação de biotérios que são instalações projetadas para a manutenção e produção de animais para fins científicos (Cardoso, 2001).

Os estímulos estressantes constantes ocasionados nas pesquisas, levam os animais a apresentarem comportamentos estereotipados, ou seja, comportamentos anormais repetitivos que não possuem função óbvia, essa condição pode se elevar a níveis extremos e que pode afetar os resultados obtidos, pois de acordo com Sherwin em 2004 qualquer resultado de pesquisa pode ser prejudicado de acordo com a mudança fisiológica ocorrida pelo estresse desses animais. Assim, torna-se fundamental a necessidade de melhoramento do bem-estar de animais de biotério, que pode ser definida como a ausência de sofrimento, onde os indivíduos podem expressar seus comportamentos naturais e satisfazer com êxito suas necessidades fisiológicas e sociais (Euclam, 2009).

Uma das maneiras mais eficazes de melhorar o bem-estar animal é a prática do enriquecimento ambiental, uma técnica utilizadas em biotérios em que os animais são expostos a um ambiente que fornece uma variedade de estímulos sejam eles cognitivos, sensoriais e motores, com principal objetivo permitir que a espécie expresse seu comportamento natural e auxilia nas necessidades físicas e psicológicas (Arac, 2004).

Os ratos dos biotérios são roedores da família Muridae, pertencentes à espécie *Rattus norvegicus* Richter, 1969 e são animais conhecidos por serem uma espécie de fácil manipulação, muito inteligentes, sociáveis, convivendo bem quando alojados em grupos, são animais noturnos, período no qual se alimentam e apresentam maior atividade, adaptam-se bem em diversas condições e preferem ambientes que lhes permitam explorar e escalar.

As modificações ambientais têm sido introduzidas nos ambientes de pesquisas laboratoriais e demonstram estimular o comportamento natural da espécie, permitindo o conhecimento das suas necessidades. Quando os animais são privados desse tipo de ambiente, demonstram sinais de estresse, sofrimento, comportamento anormal e até mesmo doenças. Ao fornecer objetos com os quais o animal possa

interagir no ambiente demonstrando maior controle sobre o ambiente em que vive, reflete na redução do estresse manifestado (Van De Weerd *et al.*, 2002)

Portanto, a implementação de protocolos de enriquecimento ambiental adequados é crucial para a manutenção da saúde e do bem-estar dos ratos Wistar, além de garantir a integridade dos dados científicos obtidos. Neste contexto, a presente pesquisa se concentra em universidades públicas das regiões Sul e Sudeste do Brasil, com o objetivo de analisar os métodos de enriquecimento ambiental utilizados em ratos Wistar. O objetivo central da pesquisa é identificar quais protocolos são mais eficazes na redução do estresse e na promoção do bem-estar desses animais e seus efeitos psicológicos e fisiológicos nos animais. A escolha dessas regiões se deve ao fato de que elas abrigam uma significativa quantidade de instituições de pesquisa que utilizam ratos Wistar, oferecendo uma amostra representativa das práticas adotadas em diferentes contextos acadêmicos. De acordo com Newberry 1995, educar os cuidadores e o público em geral sobre a importância do enriquecimento ambiental é essencial para o avanço dessa prática em meios de pesquisa.

A revisão da literatura científica sobre os efeitos do enriquecimento ambiental revela uma diversidade de estratégias que têm sido aplicadas para melhorar o bem-estar dos ratos Wistar. Estudos indicam que a incorporação de elementos como brinquedos, rodas de exercício e enriquecimento social pode reduzir significativamente os níveis de estresse e promover comportamentos exploratórios naturais. A efetividade desses protocolos será avaliada com base em indicadores de estresse e bem-estar e melhoramento de comportamentos estereotipados, padrões de atividade e medidas fisiológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os protocolos de enriquecimento ambiental utilizados em ratos Wistar nas Universidades Públicas das regiões Sul e Sudeste do Brasil, identificando como esses métodos impactam o bem-estar e a redução do estresse dos animais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar a literatura científica sobre enriquecimento ambiental para ratos Wistar.

- Analisar e compilar o conhecimento existente sobre os diversos métodos de enriquecimento ambiental aplicados a ratos Wistar, focando em como esses métodos afetam o estresse e o bem-estar dos animais.
- Identificar os tipos de enriquecimento implementados e as práticas específicas adotadas por cada instituição do Sul e Sudeste do Brasil.
- Avaliar a eficácia dos protocolos de enriquecimento ambiental nas Universidades Públicas.
- Comparar protocolos de enriquecimento e seus impactos em diferentes instituições.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BEM-ESTAR E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL

No Brasil, o uso de animais vivos em atividades de pesquisa e ensino foi regulamentado pela Lei n. 11.794, de 08 de outubro de 2008, conhecida como “Lei Arouca”, que criou o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), órgão responsável por formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais. Desde sua criação o CONCEA tem definido uma série de Resoluções Normativas com o objetivo de nortear o uso de animais em atividades de ensino, pesquisa e extensão no país, visando seu bem-estar. Neste contexto, a partir da promulgação desta lei o bem-estar dos animais deixou de ser apenas uma questão ética e passou a ser uma questão legal (Ribeiro, 2019).

O bem-estar animal é um termo que indica o estado de um animal com relação ao seu ambiente, sendo considerado como uma característica do indivíduo, que varia em uma escala de pobre a muito bom, que foram definidos por Broom em 1991. O bem-estar também deve ser definido de modo que permita pronta relação com outros conceitos, tais como: necessidades, liberdades, capacidade de cognição, sentimentos, sofrimento, dor, ansiedade, medo, tédio, estresse e saúde. O termo “cinco liberdades”, proposto por Webster, concorda que as necessidades comportamentais e físicas são consideradas como um ponto inicial para o entendimento do bem-estar animal (Coimbra, 2013). Dessa forma, os animais devem possuir: a liberdade fisiológica (ausência de fome e de sede); a liberdade ambiental (edificações adaptadas); a liberdade sanitária (ausência de doenças e de injúrias); a liberdade comportamental (possibilidade de exprimir comportamentos naturais, inerentes à cada espécie), e a liberdade psicológica (ausência de medo e de ansiedade).

A manutenção desses animais em cativeiro (ambiente com limitação de estímulos) pode desencadear alterações fisiológicas e comportamentais trazendo consequências para suas experiências cognitivas, saúde física e até mesmo a capacidade reprodutiva destes animais (Balcombe, 2006). Vários estudos indicam que ratos e camundongos necessitam de estímulos ambientais, sendo que a sua ausência afeta física e psicologicamente esses animais (Vasconcellos, 2005), podendo interferir no desenvolvimento cerebral e desencadear a exibição de comportamentos estereotipados (Balcombe, 2006).

Visando o bem estar animal desde 2013 a PEA (Programa de Enriquecimento Ambiental) promulgou maneiras de inserir o EA e na DBCA (Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica) – em sua Resolução Normativa N° 30 (02/02/2016) descreve em seu parágrafo 7.3.4.2 no item 5: “Os recintos primários devem possuir enriquecimento ambiental de acordo com as necessidades comportamentais da espécie, sempre que possível”.

O enriquecimento ambiental (EA) consiste em modificar o ambiente para resultar em uma melhora no funcionamento biológico dos animais de pesquisa (Newberry, 1995). De acordo com as pesquisas de Van de Weerd e Baumans (1995) o enriquecimento ambiental é considerado uma alteração no ambiente de vida de animais em cativeiro para fornecer oportunidades de expressar mais de seu repertório comportamental natural, ou seja, uma maneira de melhorar as condições de vida dos animais de laboratório é oferecer oportunidades para que eles possam expressar comportamentos específicos de sua espécie. Portanto, a ideia básica do enriquecimento ambiental é geralmente clara, ou seja, melhorar a qualidade de vida dos animais confinados (Young, 2003).

Os objetivos específicos do enriquecimento ambiental definido pelas pesquisas de Newberry (1995) é melhorar a qualidade do ambiente cativo para que o animal tenha uma maior escolha de atividade e algum controle sobre seu ambiente social e espacial. O enriquecimento de forma alguma deve representar riscos aos animais, aos humanos e aos experimentos. O design dos itens de enriquecimento deve ser baseado no conhecimento das necessidades comportamentais e dados disponíveis de estudos de enriquecimento e deve ser testado cientificamente antes da comercialização e implementação (Van Loo *et al.* 2004). O enriquecimento ambiental deve compreender um programa bem projetado e criticamente avaliado que beneficie os animais, bem como o resultado experimental. Não deve ser um processo de aplicação aleatória de objetos que a equipe considera atraentes para os animais. Os tipos de enriquecimento, podem ser classificados como:

1- Físico: Consiste em introduzir diferentes tipos de materiais nos recintos com objetivo de torná-los semelhantes ao habitat como por exemplo a inserção de vegetação ou diferentes substratos, tubos de pvc, entre outros (Figura 1). 2- Sensorial: Estimula os cinco sentidos dos animais, introduzindo, por exemplo, sons de vocalizações, ervas aromáticas, outros tipos de alimentos, etc. (Figura 2). 3- Cognitivo: Incorporação de materiais que levem os ratos a solucionarem problemas, como encontrar comida escondida, por exemplo. (Figura 2.4- Social: Consiste na interação de indivíduos que pode ser criada dentro de um recinto. (Figura 1). 5- Alimentar: Oferecer ocasionalmente alimentos diferentes e variar a maneira, frequência e horário como estes são oferecidos. (Figura 2).

Figura 1: Enriquecimento Físico e Social



Fonte: Elaborado pelo autor Hubner, C. I. (2020)

Figura 2: Enriquecimento Sensorial, Cognitivo e Alimentar



Fonte: Elaborado pela autora Pittori, P. C. de C. (2024) - Estudo dos efeitos de estímulos de Enriquecimento Ambiental na diminuição do estresse em ratos Wistar.

3.2 COMPORTAMENTO DOS RATOS

O comportamento animal está intimamente ligado ao ambiente no qual os animais são criados, sendo fundamental nas adaptações das funções biológicas e, ainda, representa a parte do organismo que interage com o meio (Snowdon, 1999). As necessidades comportamentais incluem realizar comportamentos necessários para a manutenção de um estado fisiológico e psicológico normal (Poole, 1998 apud. Baumans, 2018), como comportamento social, exploração, forrageamento, escavação, construção de ninhos e busca por abrigo. Esses comportamentos, segundo Baumans (2005) realizados por roedores e tanto na natureza quanto em cativeiro, podem ser considerados comportamentos inatos essenciais.

Para avaliar as necessidades dos animais e identificar o que eles desejam em seu ambiente, é necessário conhecer e entender o comportamento natural do animal, portanto estudar o comportamento destes ancestrais de roedores de laboratório que ainda vivem na natureza fornece um bom ponto de partida (Berdoy, 2002). Não se trata tanto de trazer comportamentos naturais para o laboratório quanto de trazer características cruciais do ambiente para o laboratório para que assim os comportamentos naturais possam ser expressados (Blanchard e Blanchard, 2003).

Por essa razão, o ambiente do animal de laboratório deve acomodar necessidades fisiológicas e comportamentais inatas, como contatos sociais, descanso, construção de ninhos, esconderijo, exploração, forrageamento e roedura. Por exemplo, roedores são muito suscetíveis a predadores e, portanto, provavelmente mostrarão fortes respostas de medo em situações desconhecidas quando não conseguem encontrar abrigo ou esconderijos. As necessidades comportamentais incluem a realização de comportamentos necessários para a manutenção de um estado fisiológico e psicológico normal (Poole, 1998 apud Baumans, 2018), como comportamento social, exploração, forrageamento, limpeza, escavação, construção de ninhos e busca de abrigo.

Os ratos (*Rattus norvegicus*) são animais noturnos, portanto a visão é seu sentido menos desenvolvido, mas podem se adaptar prontamente a alterações no seu ambiente. A audição e olfato são muito mais desenvolvidos e frequentemente esses animais farejam o ambiente em busca da fonte de odores por esses sentidos. São animais que convivem bem em grupos e seus principais comportamentos exibidos em gaiolas são os de mastigar e de se esconder (NRC, 1996). Como visto também no trabalho de Sirois (2007) os ratos gostam de explorar, são curiosos apreciam escaladas e ambientes nos quais possam

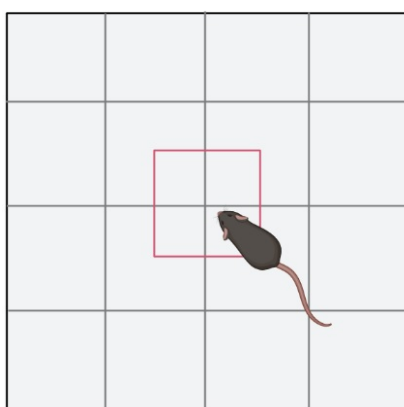
vasculhar por isso os itens de enriquecimento ambiental mais propício seria materiais de escalada, ninhos, camas, tecidos, tubos e até caixas para se esconderem e objetos para mastigação.

A partir das informações de Abou-Ismael (2011) foi percebido que a adição de materiais com o propósito de enriquecer o ambiente tem o potencial de melhorar o bem-estar de ratos Wistar por conta do aumento da complexidade do alojamento criando um ambiente similar ao natural. Para avaliar esses benefícios cognitivos do enriquecimento ambiental, é necessário testar seus impactos por meio de testes comportamentais que inclui:

3.2.1 O TESTE DE CAMPO ABERTO

O teste de campo aberto foi desenvolvido por Hall (1934) onde uma grande arena circular de aproximadamente 2,4 m de diâmetro cercada ou não sobre uma parede que simula um labirinto simples, onde se espera reduzir estímulos ambientais e interpretar os comportamentos dos ratos. (Figura 3)

Figura 3: Teste de Campo Aberto



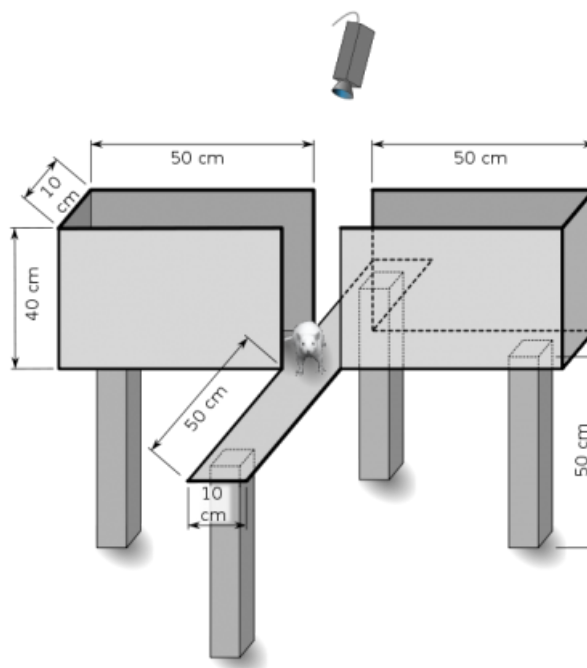
Fonte: Site do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSC
<https://cfs.ccb.ufsc.br/sala-de-comportamento-2>. Acessado em 19/10/2024 às 16:27

3.2.2 TESTE DO LABIRINTO CRUZ ELEVADO

Este teste é utilizado para examinar o comportamento emocional e descobrir os níveis de ansiedade presentes no animal, que consiste em um labirinto em forma de cruz onde os dois braços opostos do labirinto em paredes opacas enquanto outros braços são descobertos (Cole e Rodgers, 1994). Para Cole e Rodgers (1994) os ratos em estados mais emocionais iriam preferir se proteger e consequentemente ficar embaixo do abrigo,

o tempo gasto nos braços descobertos é uma maneira de avaliar o estado de ansiedade do roedor. (Figura 4).

Figura 4: Teste Labirinto Cruz Elevado



Fonte: commons.wikimedia.org. Acessado em 19/10/2024 às 16:20

3.2.3 TESTE DO NADO FORÇADO

O teste de nado forçado foi desenvolvido para o estudo da depressão. Nele, o animal é colocado em um tanque com água profunda do qual não é possível escapar. Após um período inicial no qual o animal tenta sair da água ativamente, ele pára de se mover e flutuar apenas mantendo as narinas para fora da água. Essa atividade é considerada com um reflexo de aflição e mostrou ser reduzida por alguns antidepressivos (Nomura *et al.*, 1982). Com isso ao animal resistir a vontade de se manter imóvel, nadando ativamente por um tempo mais ativo e compará-la com um animal depressivo podemos observar que o animal depressivo tende a parar de nadar muito mais rapidamente que o animal em estado psicológico inalterável. (Figura 5).

Figura 5: Teste do nado forçado



Fonte: Laisa Barroso Ribeiro - Dissertação em Mestrado de título “Enriquecimento ambiental como estratégia não farmacológica para prevenção dos efeitos de longo prazo da separação maternal”.

3.3 EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA REDUÇÃO DE ESTRESSE E BEM ESTAR

A partir da pesquisa de Newberry (1995) o enriquecimento ambiental demonstrou um impacto significativo na promoção de comportamentos naturais em animais cativos. Quando fornecidos com um ambiente enriquecido, os animais são mais propensos a exibir comportamentos que seriam comuns em seus habitat naturais, como forrageamento, caça, construção de ninhos e interações sociais complexas. Esses comportamentos não só refletem uma melhoria no bem-estar dos animais, mas também ajudam a reduzir o tédio e a frustração que podem resultar de um ambiente pobre em estímulos.

Os animais que são criados em ambientes enriquecidos possuem maior estabilidade psíquica e fisiológica, podendo demonstrar melhores resultados científicos nos experimentos a que são submetidos. Logo, a manutenção de animais de laboratório em ambientes controlados para pesquisas têm sido questionada, uma vez que o ambiente padrão não fornece às demandas necessárias para a espécie, o que resulta em variação dos resultados nas pesquisas (Van De Weerd *et al.*, 2002). Pesquisadores sugerem que o enriquecimento ambiental promove grandes benefícios cognitivos, pois aumenta e melhora a morfologia cerebral que resultam no fortalecimento do aprendizado e memória. Tais

mudanças incluem a neurogênese, o aumento da densidade sináptica e a liberação de fatores neurotróficos (Diamond, 2001).

De acordo com as pesquisas de Orok-Edem e Key (1994) foi observado que o fornecimento de itens mastigáveis às gaiolas como blocos e espátulas de madeiras resultaram em uma grande diminuição de brigas, melhorando assim a interação social desses animais. Ratos que tem experimentado enriquecimento tendem a ter melhor desempenho que aqueles criados sem enriquecimento, especialmente em testes de cognição espacial (Leggio *et al.*, 2005). Ratos enriquecidos exploram mais inicialmente e se habitua mais rapidamente a arena novas ou de campo aberto do que ratos não enriquecidos, pois os estímulos do enriquecimento reduz os níveis de ansiedade do animal. (Larsson, *et al.*, 2002).

Para averiguar se as mudanças nos níveis de ansiedade poderiam contribuir para elucidar os benefícios cognitivos do enriquecimento ambiental, Harris, *et. al* (2009) avaliaram o impacto do enriquecimento na cognição espacial e na tendência a tocar nas paredes (tigmotaxia) em um labirinto aquático de Morris, utilizando ratos Wistar machos e fêmeas. Observou-se que os ratos privados de enriquecimento demandaram mais tempo para localizar a plataforma e demonstraram maior apego às paredes do labirinto, indicativo de maior ansiedade. Esses resultados sugerem que o enriquecimento ambiental diminui a ansiedade em situações de teste cognitivo, o que, por conseguinte, favorece o desempenho cognitivo, uma vez que animais menos ansiosos tendem a apresentar melhores resultados nesses testes.

4 METODOLOGIA

Para a realização da revisão de literatura sobre os métodos de enriquecimento ambiental utilizados em ratos Wistar, a metodologia adotada envolve um processo sistemático de leitura e análise textual. A revisão começa com a definição dos critérios de inclusão e exclusão dos estudos. Serão considerados artigos revisados por pares e publicações científicas que discutam o enriquecimento ambiental para ratos Wistar. É fundamental que os estudos incluídos apresentem dados sobre a eficácia dos protocolos de enriquecimento. Serão desconsiderados estudos que não ofereçam dados detalhados sobre a eficácia ou os desafios associados e a metodologia de enriquecimento ambiental utilizada.

Para a coleta das fontes de informação, foram utilizadas bases de dados acadêmicas confiáveis, como PubMed, Google Scholar e Scielo, além dos repositórios específicos das universidades para uma busca mais específica e delimitada. A busca foi realizada utilizando termos específicos como "enriquecimento ambiental ratos Wistar", "bem-estar animal

laboratório" e "protocolos de enriquecimento de ratos" e conseguiu ser encontrado cerca de 40 artigos sobre o assunto.

A leitura e análise textual constituem a etapa central da metodologia. Inicialmente, os artigos selecionados serão lidos atentamente, com ênfase nas informações relevantes para os objetivos da revisão, onde com isso foi delimitado a cerca de 21 artigos sobre o assunto. (Tabela 1). A análise crítica dos textos permitirá compreender a metodologia dos estudos, a eficácia dos métodos de enriquecimento e os desafios reportados na implementação dos protocolos. Esta análise será conduzida de forma a identificar padrões e divergências nas informações apresentadas pelos diferentes estudos.

Na fase de síntese dos resultados, as informações extraídas dos textos serão organizadas em categorias temáticas, como tipos de enriquecimento, eficácia e desafios enfrentados. A comparação entre os dados dos diversos estudos permitirá uma compreensão mais clara dos métodos de enriquecimento ambiental e suas implicações. Finalmente, com base na análise e síntese dos dados, serão elaboradas conclusões sobre a eficácia dos métodos de enriquecimento e os principais desafios encontrados. Recomendações serão formuladas para aprimorar as práticas de enriquecimento ambiental em universidades brasileiras, com foco em superar os desafios identificados e promover o bem-estar dos ratos Wistar de forma mais eficaz.

Tabela 1 - Artigos Científicos Utilizados na Análise de Resultados de EA

AUTORES e ANO	ESTADO	TÍTULO
DE MENESES, J. A. (2010)	RJ	ESTUDO DA RECUPERAÇÃO DE DANOS NEUROLÓGICOS EM RATOS SUBMETIDOS À HIPÓXIA, COM O USO DA SEMENTE DE LINHAÇA SOMADO AO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL
NOVAES, L. S. N. (2018)	SP	EFEITO PROTETOR DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA MANIFESTAÇÃO TARDIA DA ANSIEDADE E DO DÉFICIT DE EXTINÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO INDUZIDOS POR ESTRESSE AGUDO EM RATOS: O PAPEL DE SINALIZAÇÃO DE GLICOCORTICOIDE NO COMPLEXO BASOLATERAL DA AMÍGDALA

DE LIMA, R. M. S. (2017)	ES	AVALIAÇÃO DOS EFEITOS NEUROQUÍMICOS E COMPORTAMENTAIS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM ANIMAIS SUBMETIDOS A PRIVAÇÃO MATERNAL
NOVAES, L. S. N. (2013)	SP	PROTEÇÃO CONFERIDA PELO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA ANSIEDADE INDUZIDA POR ESTRESSE: A IMPORTÂNCIA DA SINALIZAÇÃO VIA GR, ERK E CREB NO COMPLEXO AMIGDALÓIDE BASOLATERAL DE RATOS
VIEIRA, L. F. K. (2018)	SP	EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA NEUROPATIA PERIFÉRICA INDUZIDA EM RATOS
IYOMASA, D. M (2018)	SP	AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ESTRESSE CRÔNICO SOB A ANSIEDADE E A SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM RATOS MANTIDOS EM AMBIENTE ENRIQUECIDO
GOULART, C. de S. (2014)	SP	ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL, ANSIEDADE, COGNIÇÃO E NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL
FERREIRA, J. H. A. (2022)	SP	AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO EMOCIONAL DE RATOS COM ENDOTOXEMIA MANTIDOS EM AMBIENTE ENRIQUECIDO
DA SILVA, I. S. (2013)	SP	EXPERIÊNCIA MATERNAL, MEMÓRIA ESPACIAL E NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL ADULTA EM RATAS
MERLO, S. (2014)	SP	NEUROGÊNESE E PLASTICIDADE SINÁPTICA NO HIPOCAMPO DE RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO MATERNA E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL
GOZZER, P	SP	COMPORTAMENTO DE RATOS WISTAR: IMPORTÂNCIA DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL
PITORRI, P. C. de C. (2024)	SP	ESTUDO DOS EFEITOS DE ESTÍMULOS DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA DIMINUIÇÃO DO ESTRESSE EM RATOS WISTAR

POSSAMAI, F. (2013)	SC	TESTE DO NADO FORÇADO REPETIDO: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA IMIPRAMINA SOBRE O COMPORTAMENTO E A NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL DOS RATOS ALOJADOS EM AMBIENTE ENRIQUECIDO
HUBNER, C. I. (2020)	SC	INVESTIGAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA OS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL E AO ESTRESSE PRECOCE DURANTE O DESENVOLVIMENTO
ALVAREZ, P. S (2013)	RS	EFEITOS DO AMBIENTE ENRIQUECIDO NA MORFOMETRIA HIPOCAMPAL EM RATOS SUBMETIDOS A CRISES CONVULSIVAS E A DESNUTRIÇÃO NO PERÍODO NEONATAL.
GOLDANI, R. (2010)	RS	EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NAS ALTERAÇÕES MOTORAS DE RATOS SUBMETIDOS À HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL
MARQUES, M. R. (2013)	RS	EFEITOS BENÉFICOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRECOCE NOS DÉFICITS MOTORES E NA PLASTICIDADE NA MEDULA ESPINHAL EM RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE PARALISIA CEREBRAL
PIAZZA, F.V. (2012)	RS	EFEITO BENÉFICO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O DÉFICIT DE MEMÓRIA E A PLASTICIDADE CELULAR HIPOCAMPAL EM RATOS DIABÉTICOS TIPO 1
DIAZ, R. (2012)	RS	EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM RATOS JOVENS SUBMETIDOS À HIPÓXIA-ISQUEMIA ENCEFÁLICA NEONATAL
SCHUCH, C. P. (2016)	RS	O DESENVOLVIMENTO EM FOCO: ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COMO ESTRATÉGIA DE REABILITAÇÃO EM ROEDORES SUBMETIDOS À HIPÓXIA ISQUEMIA NEONATAL E ESTIMULAÇÃO PRECOCE EM CRIANÇAS EM SITUAÇÃO DE

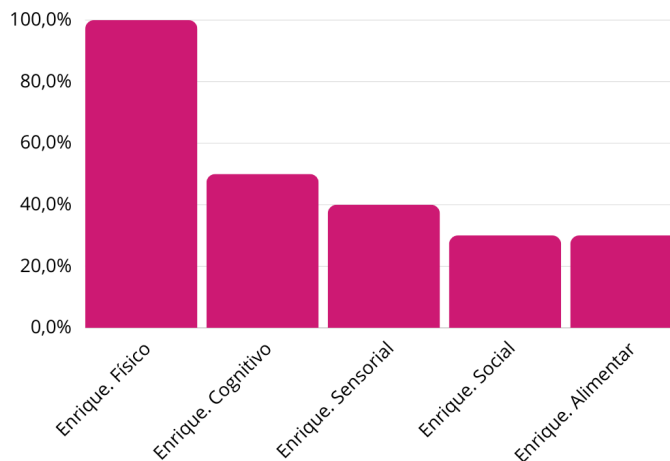
		VULNERABILIDADE SOCIAL
ROJAS, J. J. (2016)	RS	ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COMO ESTRATÉGIA NEUROPROTETORA EM RATOS SUBMETIDOS À HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL

Fonte: Autora

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise dos 21 estudos sobre enriquecimento ambiental (EA) em ratos Wistar revelou uma variedade de abordagens, embora a maioria tenha utilizado o enriquecimento físico como estratégia principal (Fig. 6). A predominância desse tipo de enriquecimento está hipoteticamente relacionada à sua simplicidade de implementação e à comprovada eficácia na promoção do bem-estar animal, especialmente no que se refere à redução de comportamentos ansiosos. No entanto, as diferenças metodológicas entre os autores, bem como as variações nos tipos de EA aplicados, apontam para resultados distintos, destacando a importância de considerar múltiplos fatores ao planejar protocolos de enriquecimento.

Figura 6: Porcentagem dos tipos de enriquecimento ambiental utilizados nos 21 analisados.



Fonte: Autora

Menezes (2010) foi um dos primeiros a demonstrar o impacto do EA físico, utilizando rodas de exercício, abrigos de plástico e gangorras de metal para promover a plasticidade cerebral em ratos com lesões neurológicas. Seus achados são consistentes com os de Merlo (2014), que também apontou uma melhora significativa na sinaptogênese em ratos expostos a um ambiente físico enriquecido com gaiolas de três andares. A proposta de Merlo, que incluiu maior diversidade nos estímulos físicos, sugere que a criação de ambientes mais dinâmicos e desafiadores promove uma maior adaptação cerebral e estimula a formação de novas conexões neuronais.

No entanto, os efeitos do EA físico sobre a resposta ao estresse não foram uniformes entre os estudos. Novaes (2013), por exemplo, observou que, embora o EA físico tenha reduzido os comportamentos ansiosos dos ratos, medidos pela permanência nos braços abertos de um labirinto elevado, ele não foi capaz de inibir a liberação de corticosterona, o hormônio do estresse. Esse achado é corroborado pelos resultados de Iyomasa (2018), que também relatou uma redução nos comportamentos ansiosos com o EA físico, mas sem mudanças significativas nos níveis de corticosterona. Por outro lado, estudos que incorporaram enriquecimento cognitivo e sensorial apresentaram resultados mais robustos tanto no comportamento quanto na resposta fisiológica dos ratos. Alvarez (2013), que introduziu estímulos cognitivos por meio de objetos de diferentes cores e texturas, observou um aumento significativo no volume do hipocampo e na espessura da camada de CA1, regiões críticas para a memória e o aprendizado. Esses achados contrastam com os estudos que utilizaram apenas o EA físico, como os de Lima (2017) e Novaes (2018), que relataram melhorias comportamentais, mas sem o mesmo impacto nas respostas hormonais.

Diaz (2012) que utilizou o EA físico declarou que o EA não alterou os parâmetros de ansiedade e locomoção, mas foi eficaz em reverter ou prevenir os déficits de memória e a astrogliose causados pela HI, indicando seu potencial neuroprotetor. E logo após a lesão hipóxico-isquêmica neonatal promoveu a recuperação da memória emocional em ratos jovens, indicando seu potencial para reverter essa condição. Além disso, Piazza (2012), ao combinar estímulos sensoriais com EA físico, relatou uma redução significativa nos níveis de corticosterona em ratos diabéticos, sugerindo que a adição de estímulos cognitivos e sensoriais potencializa os efeitos do EA na redução do estresse fisiológico. Piazza também declarou que a EA não reverteu os déficits motores.

Estudos como os de Pittori (2024) exploraram uma combinação mais ampla de estímulos, incluindo o enriquecimento cognitivo, sensorial, social e alimentar. A metodologia de Pittori destacou-se pela inclusão de um varal de legumes e de insetos, como o tenébrio, que proporcionou uma modificação significativa na dieta dos ratos. Além disso, Pittori utilizou cordas de sisal, tubos de PVC, e objetos aromatizados com manjerição desidratado, com o intuito de estimular a capacidade sensorial dos ratos. Essa abordagem resultou em um aumento nos níveis de cortisol fecal nos ratos machos, quando expostos a novos estímulos sensoriais, sugerindo que o EA pode induzir respostas fisiológicas ao estresse, dependendo da natureza dos estímulos.

Um fator que parece influenciar os resultados é a modificação das gaiolas. Autores como Merlo (2014) e Alvarez (2013) fizeram adaptações significativas no ambiente das

gaiolas, aumentando o número de andares e interconectando os espaços com túneis e rampas. Essas modificações proporcionaram aos ratos maior espaço para a exploração e a prática de comportamentos naturais, o que resultou em uma melhora geral na neuroplasticidade e no bem-estar. Goldani (2010) também utilizou gaiolas de três andares e observou uma recuperação parcial dos déficits motores em ratos submetidos a hipóxia-isquemia neonatal, sugerindo que o espaço físico e a variedade de estímulos sensoriais, como texturas e sons, contribuem para a neuroproteção. A comparação com os estudos que utilizaram gaiolas de tamanho padrão, como o de Novaes (2018), indica que a restrição de espaço pode limitar os benefícios do EA, especialmente no que diz respeito à coordenação motora e à recuperação de lesões.

Estudos como o de Vieira (2018) e Possamai (2013) também reforçam a importância do espaço físico e da atividade motora na promoção do bem-estar dos ratos. Vieira (2018), ao utilizar cilindros de plástico e bolas de pingue-pongue em ratos com lesão no nervo isquiático, relatou uma melhora significativa na recuperação motora, sugerindo que o EA físico pode atuar como um analgésico natural em casos de lesão nervosa. Possamai (2013), por sua vez, observou que os ratos expostos ao EA físico com objetos como chocalhos e escadas exibiram maior atividade locomotora e menor imobilidade, indicando que a introdução de materiais variados estimula comportamentos naturais e reduz a inatividade, um dos principais indicadores de estresse em animais de laboratório, principalmente em teste de comportamento de nado forçado, com o qual foi utilizado na pesquisa..

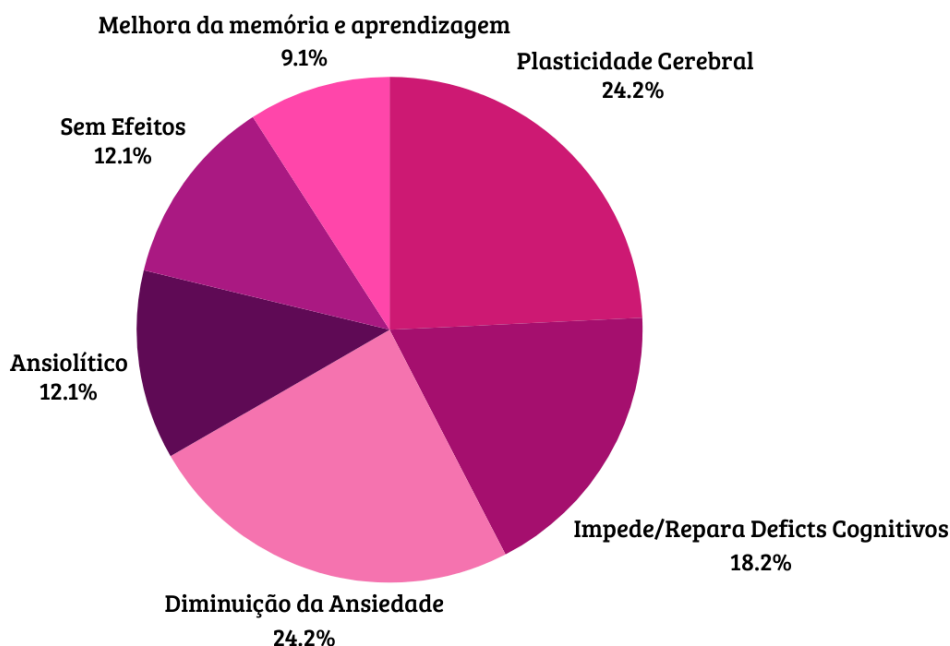
Outro aspecto relevante é o impacto do enriquecimento social, Silva (2013) relatou que o EA social, com maior número de animais por gaiola e a inclusão de interações sociais controladas, promoveu uma melhora na memória espacial de ratas. Este resultado é reforçado por Hubner (2020), que observou que o EA social atenuou os déficits de aprendizado causados pela separação materna e pela exposição ao etanol em ratos, destacando o papel das interações sociais na recuperação de déficits cognitivos. A comparação entre Silva e Hubner revela que, embora o EA social seja menos utilizado, ele apresenta benefícios únicos na modulação das interações sociais e na redução dos efeitos de estressores externos.

Ao comparar esses resultados com os de Ferreira (2022), que utilizou apenas o EA físico, é possível perceber que o foco exclusivo no ambiente físico pode limitar a amplitude dos resultados. Embora Ferreira (2022) tenha observado melhorias comportamentais, como maior exploração de objetos, o estudo não registrou mudanças significativas nas respostas imunológicas dos ratos, o que sugere que a combinação de diferentes tipos de EA (físico, social, sensorial e cognitivo) pode ser mais eficaz na promoção de um bem-estar integral.

Finalmente, estudos como o de Goulart (2014), que explorou a neurogênese em ratos expostos a enriquecimento cognitivo e sensorial, reforçam a importância de diversificar os estímulos no ambiente dos ratos de laboratório. Goulart relatou um aumento na formação de novos neurônios e uma melhora nos comportamentos exploratórios dos animais, destacando que o EA pode ter efeitos de longo prazo na plasticidade cerebral e na adaptação ao estresse. Esse achado é consistente com os resultados de Piazza (2012), que também observou uma neuroproteção significativa em ratos diabéticos, sugerindo que o EA cognitivo, quando combinado ao físico e ao sensorial, pode atuar como um fator de proteção contra os efeitos de doenças neurodegenerativas e metabólicas.

Em síntese, a comparação dos 21 estudos revela que, embora o enriquecimento físico seja a abordagem mais comum e eficaz na promoção do bem-estar comportamental, os protocolos que incorporam estímulos cognitivos, sensoriais e sociais oferecem benefícios adicionais, especialmente em termos de neuroproteção, resposta ao estresse fisiológico e adaptação ao ambiente social (Fig. 7). A modificação das gaiolas, proporcionando maior espaço e diversidade de estímulos, também se mostrou essencial para otimizar os resultados, sugerindo que um protocolo de EA diversificado é o mais adequado para maximizar o bem-estar animal em biotérios.

Figura 7: Gráfico de Pizza dos efeitos de enriquecimento ambiental encontrados nos 21 artigos analisados



Fonte: Autora

6 CONCLUSÃO

A presente pesquisa sobre os protocolos de enriquecimento ambiental (EA) em ratos Wistar destaca a relevância dessa prática para a promoção do bem-estar animal em biotérios. O EA tem se mostrado uma ferramenta eficaz na redução do estresse, na melhoria da plasticidade cerebral e na promoção de comportamentos naturais que são fatores fundamentais para garantir tanto a saúde dos animais quanto a qualidade dos dados experimentais obtidos.

Os resultados evidenciam que, embora o enriquecimento físico seja amplamente utilizado e eficaz na redução de comportamentos ansiosos e na recuperação motora de ratos, a inclusão de enriquecimento cognitivo, sensorial e social oferece benefícios adicionais. Protocolos que combinam diferentes tipos de EA demonstraram não apenas efeitos comportamentais mais complexos, mas também uma maior modulação das respostas fisiológicas ao estresse, como por exemplo a redução dos níveis de corticosterona.

Além disso, a pesquisa ressalta a importância de adaptar e ampliar os espaços físicos das gaiolas, permitindo que os ratos explorem e interajam com o ambiente de maneira mais natural. A introdução de estímulos variados, como texturas, cores e formas diferentes, contribui significativamente para o desenvolvimento cognitivo dos animais, demonstrando que o EA vai além da redução do estresse, mas também atuando como um fator de neuroproteção e adaptação comportamental.

Conclui-se, portanto, que o enriquecimento ambiental é uma prática indispensável no manejo de ratos Wistar em laboratórios, alinhada tanto às exigências éticas da Lei Arouca quanto aos avanços científicos. Sua implementação de forma ampla e diversificada não só promove o bem-estar dos animais, mas também melhora a qualidade e a confiabilidade dos experimentos, garantindo resultados mais consistentes e eticamente corretos. Assim, é recomendável que as Universidades Brasileiras invistam na diversificação dos protocolos de EA, assegurando que as práticas científicas sejam conduzidas com o máximo de respeito ao bem-estar dos animais.

REFERÊNCIAS

ABOU-ISMAIL, U. A. **Are the effects of enrichment due to the presence of multiple items or a particular item in the cages of laboratory rat?**. Applied Animal Behaviour Science, v. 134, n. 1, p. 72-82, 2011.

ALVAREZ, P. S. **EFEITOS DO AMBIENTE ENRIQUECIDO NA MORFOMETRIA**

HIPOCAMPAL EM RATOS SUBMETIDOS A CRISES CONVULSIVAS E A DESNUTRIÇÃO NO PERÍODO NEONATAL. RS, 2013

ARAC. **Enrichment strategies for rodents in the laboratory.** 2004.

BALCOMBE, J. P. 2006. **Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review.** *Laboratory Animals*. 40: 217-235.

BAUMANS, V. **Enriquecimento ambiental para roedores e coelhos de laboratório: requisitos de roedores, coelhos e pesquisa.** *ILAR Journal* , Volume 46, Edição 2, 2005, Páginas 162–170 (traduzido pela autora)

BAUMANS, V. **Use of animals in experimental research: an ethical dilemma.** *Gene Ther.* 2004.

BERDOY M. **The Laboratory Rat: A Natural History** (Vídeo/DVD). Londres: Universidade de Oxford; 2002.

BOX, H. O. **Bem estar animal.** In: Yamamoto, M.E; Volpato, G.L. (Eds). *Comportamento animal*. Natal: Editora UFRN. 2006.

BRANDÃO, J. L. M. V.; MAYER, J. **Behavior of rodents with an emphasis on enrichment.** *Journal of Exotic Pet Medicine*. 20: 256-269, 2011

BRASIL. Presidência da República. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do parágrafo 1º do artigo 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 9 de out. 2008.

BROOM D. M. **Animal welfare: concepts and measurement.** *J Anim Sci*. 1991; 69(10): 4167-4175.

CARDOSO, T.A.O. **Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios.** *Bol. Centr. Panam. Febre Aftosa*. 2001; 64 - 67: 3-17.

COLE, J. C.; RODGERS, R. J. **Ethological evaluation of the effects of acute and chronic buspirone treatment in the murine elevated plus-maze test: comparison with haloperidol.** Psychopharmacology (Berlin), v. 114, n. 2, p. 288-296, 1994.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. **Animais de laboratório: o camundongo.** Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 28: 6-23 (2007).

DA SILVA, I. S. **EXPERIÊNCIA MATERNAL, MEMÓRIA ESPACIAL E NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL ADULTA EM RATAS.** SP, 2013.

DE LIMA, R. M. S. **AValiação dos efeitos neuroquímicos e comportamentais do enriquecimento ambiental em animais submetidos a privação maternal.** ES, 2017.

DE MENESES, J. A. **ESTUDO DA RECUPERAÇÃO DE DANOS NEUROLÓGICOS EM RATOS SUBMETIDOS À HIPÓXIA, COM O USO DA SEMENTE DE LINHAÇA SOMADO AO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL.** RIO DE JANEIRO, 2010.

DIAMOND, M. C. **Response of the brain to enrichment.** Anais da Academia Brasileira de Ciências, v. 73, n. 2, p. 211-220. 2001.

DIAZ, R. **EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL EM RATOS JOVENS SUBMETIDOS À HIPÓXIA-ISQUEMIA ENCEFÁLICA NEONATAL.** RS, 2012.

FERREIRA, J. H. A. **AValiação do comportamento emocional de ratos com endotoxemia mantidos em ambiente enriquecido.** SP, 2022.

GARBIN, N. L. C.; FALEIROS, R. R.; LAGO, L. A. **Enriquecimento ambiental em roedores utilizados para a experimentação animal: revisão da literatura.** Rev. Acad. Ciênc. Agrar. Ambient. 2012, 10 (2): 153-161.

GOLDANI, R. **EFEITO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NAS ALTERAÇÕES MOTORAS DE RATOS SUBMETIDOS À HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL.** RS,

2010.

GOULART, C. DE S. **ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL, ANSIEDADE, COGNIÇÃO E NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL**. SÃO PAULO 2014.

GOZZER, P. **COMPORTAMENTO DE RATOS WISTAR: IMPORTÂNCIA DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL**. SP.

HALL, C. S. **Emotional behavior in the rat**. Journal of Comparative Psychology, v. 18, n. 3, p. 385-403, 1934.

HARRIS, Anjanette P.; D'EATH, Richard B.; HEALY, Susan D. **Environmental enrichment enhances spatial cognition in rats by reducing thigmotaxis (wall hugging) during test**. Animal Behaviour, v. 77, p. 1459-1464, 2009.

HUBNER, C. I. **INVESTIGAÇÃO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA OS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL E AO ESTRESSE PRECOCE DURANTE O DESENVOLVIMENTO**. SC, 2020

IYOMASA, D.M. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO ESTRESSE CRÔNICO SOB A ANSIEDADE E A SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA EM RATOS MANTIDOS EM AMBIENTE ENRIQUECIDO**. 2018, SP.

KALISTE, E.; MERING. S. **The welfare of laboratory rats**. In: Kaliste E, ed. The Welfare of Laboratory Animals. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. p 153-180.

LAPCHIK, V. B. V.; MATTARAIA, V. G. M.; KO, G. M. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. São Paulo: Editora Atheneu, 2010.

LEGGIO, G. M.; MANDOLESI, L.; FEDERICO, F.; SPIRITO, F.; RICCI, B.; GELFO, F.; PETROSINI, L. **Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat**. Behavioral Brain Research, v. 163, n. 1, p. 78-90, 2005.

MARQUES, M. R. **EFEITOS BENÉFICOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL PRECOCE NOS DÉFICITS MOTORES E NA PLASTICIDADE NA MEDULA ESPINHAL EM RATOS SUBMETIDOS A UM MODELO DE PARALISIA CEREBRAL.** RS, 2013.

MERLO, S. **NEUROGÊNESE E PLASTICIDADE SINÁPTICA NO HIPOCAMPO DE RATOS SUBMETIDOS À SEPARAÇÃO MATERNA E ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL.** SP, 2014.

NEWBERRY, R. C. **Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments.** *Applied Animal Behaviour Science*, v. 44, n. 2-4, p. 229-243, 1995.

NOMURA, S.; SHIMIZU, J.; KINJO, J.; KAMETANI, H.; NAKAZAWA, T. **A new behavioral test for antidepressant drugs.** *European Journal of Pharmacology*, v. 83, n. 3, p. 171-175, 1982.

NOVAES, L.S. **EFEITO PROTETOR DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA MANIFESTAÇÃO TARDIA DA ANSIEDADE E DO DÉFICIT DE EXTINÇÃO DA MEMÓRIA DE MEDO INDUZIDOS POR ESTRESSE AGUDO EM RATOS: O PAPEL DE SINALIZAÇÃO DE GLICOCORTICÓIDE NO COMPLEXO BASOLATERAL DA AMÍGDALA.** SP, 2013.

NOVAES, L.S. **PROTEÇÃO CONFERIDA PELO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA ANSIEDADE INDUZIDA POR ESTRESSE: A IMPORTÂNCIA DA SINALIZAÇÃO VIA GR, ERK E CREB NO COMPLEXO AMIGDALÓIDE BASOLATERAL DE RATOS.** SP, 2018

National Research Council. 2009. **Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals.** Washington, DC: The National Academies Press.

OROK-EDEM, E.; KEY, D. **Response of rats (*Rattus norvegicus*) to enrichment objects.** *Animal Technology*, v. 45, p. 25-30, 1994.

PAIVA, F. P.; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. **Curso de manipulação de animais de laboratório**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz; 2005.

POOLE, T. B. **Meeting a mammal's psychological needs: Basic principles**. In: Shepherdson DJ, Mellen JD, Hutchins M, eds. *Second Nature: Environmental Enrichment for Captive Animals*. Washington: Smithsonian Institution Press. p 94, 1998.

POSSAMAI, F. **TESTE DO NADO FORÇADO REPETIDO: AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA IMIPRAMINA SOBRE O COMPORTAMENTO E A NEUROGÊNESE HIPOCAMPAL DOS RATOS ALOJADOS EM AMBIENTE ENRIQUECIDO**. SC, 2013

PIAZZA, F.V. **EFEITO BENÉFICO DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL SOBRE O DÉFICIT DE MEMÓRIA E A PLASTICIDADE CELULAR HIPOCAMPAL EM RATOS DIABÉTICOS TIPO 1**. RS, 2012.

PITORRI, P. C. de C. **ESTUDO DOS EFEITOS DE ESTÍMULOS DE ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA DIMINUIÇÃO DO ESTRESSE EM RATOS WISTAR**. SP, 2024

ROJAS, J. J. **ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COMO ESTRATÉGIA NEUROPROTETORA EM RATOS SUBMETIDOS À HIPÓXIA-ISQUEMIA NEONATAL**. RS, 2016.

SEGOVIA, G.; ARCO, A.; MORA, F. **Environmental enrichment, prefrontal cortex, stress, and aging of the brain**. *Journal of Neural Transmission*, v. 116, n. 8, p. 1007-1016. 2009.

SCHNAIDER T.B.; SOUZA C. **Aspectos éticos da experimentação animal**. *Rev Bras Anestesol*. 2003; 53(2):278-85.

SCHUCH, C. P. **O DESENVOLVIMENTO EM FOCO: ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL COMO ESTRATÉGIA DE REABILITAÇÃO EM ROEDORES**

SUBMETIDOS À HIPÓXIA ISQUEMIA NEONATAL E ESTIMULAÇÃO PRECOCE EM CRIANÇAS EM SITUAÇÃO DE VULNERABILIDADE SOCIAL. RS, 2016.

SIROIS, M. **Medicina de animais de laboratório: princípios e procedimentos.** São Paulo: Editora Roca, 2008.

SNOWDON, C.T. **O significado da pesquisa em Comportamento Animal.** Estudos De Psicologia (natal), 4(2), 365–373

SHERWIN, C.M. **The influence of standard laboratory cages on rodents and the validity of research data.** Animal Werlfare, V. 13, N. 1, P. 9-15, 2004

VAN DE WEERD, H. A.; BAUMANS, V. **Environmental enrichment in rodents.** In: Environmental Enrichment Information Resources for Laboratory Animals. AWIC Resource Series 2:145-149 (1995).

VAN LOO, P. L. P.; CROES, I. A. A.; BAUMANS, V. **Music for mice: Does it affect behaviour and physiology?** Abstract, Telemetry Workshop. FELASA meeting, Nantes, France, 2004.

VASCONCELLOS, A. S. **Enriquecimento ambiental e bem-estar.** Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

VAN DE WEERD, H. et al. **Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results.** Journal Applied Animal Welfare Science, v. 5, n. 2, p. 87-109, 2002.

VIEIRA, L.F.K. **EFEITOS DO ENRIQUECIMENTO AMBIENTAL NA NEUROPATIA PERIFÉRICA INDUZIDA EM RATOS.** 2018, SP.

WURBEL, H. **Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behavior.** Trends in Neurosciences, v. 24, n. 4, p. 207-211. 2001.

YOUNG, R.J. **Environmental enrichment for captive animals.** UFAW Animal Welfare Series. London: Blackwell Science Ltd 2003.

