

**ERIC BORAGAN GUGLIANO**

**“EFEITO DA LESÃO NA AMÍGDALA E HIPOCAMPO EM DUAS  
TAREFAS AVERSIVAMENTE MOTIVADAS”**

**Tese apresentada à Universidade Federal  
de São Paulo - Escola Paulista de  
Medicina, para obtenção do Título de  
Mestre em Psicobiologia.**

**SÃO PAULO**

**1997**

**ERIC BORAGAN GUGLIANO**

**“EFEITO DA LESÃO NA AMÍGDALA E HIPOCAMPO EM DUAS  
TAREFAS AVERSIVAMENTE MOTIVADAS”**

**Tese apresentada à Universidade Federal  
de São Paulo - Escola Paulista de  
Medicina, para obtenção do Título de  
Mestre em Psicobiologia.**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Orlando Francisco  
Amodeo Bueno  
Universidade Federal de São Paulo  
Departamento de Psicobiologia**

**SÃO PAULO**

**1997**

Gugliano, Eric Boragan

**Efeito da lesão na amígdala e hipocampo em duas tarefas  
aversivamente motivadas.**---São Paulo, 1997 .

95p.

Tese (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de  
Medicina.

1. Corpo amigdalóide. 2. Hipocampo. 3. Memória 4. Comportamento  
animal. 5. Condicionamento clássico.

Dedico essa tese aos meus pais Rafael e Maria e meus irmãos Cristian e Thiago pelo amor e incentivo nas minhas conquistas e a minha Paty pelo amor que me impulsiona.

“ No íntimo do meu Ser brota um sentimento, talvez uma lembrança de algo que já vi, ou vivi. Uma emoção por estar, amar, sorrir, chorar, sofrer...  
... uma emoção de viver.

O que seria de nós sem o amor que nos impulsiona, sem a esperança, sem a emoção? Somos passageiros da vida, onde nossas lembranças nos fazem mais alegres ou mais tristes, mas pelo menos vivos. Nossas emoções estão na confluência entre o passado e o futuro. Nossas lembranças fazem de nós no agora o reflexo de ontem e o que seremos amanhã.

“Onde estivermos, por onde andaremos só nos resta uma dúvida: quem somos?”

Anônimo

## AGRADECIMENTOS

É com imensa satisfação que agradeço às pessoas que colaboraram na realização dessa tese:

Ao Professor Orlando Francisco Amodeo Bueno, pela paciência, confiança e incentivo em me ensinar o procedimento científico.

À Professora Maria Gabriela Menezes de Oliveira, por sua ajuda, amizade, preocupação e colaboração essencial no meu título de mestrado.

Ao Professores Gilberto Fernandes Xavier e Newton Sabino Canteras pela colaboração na realização experimental desse trabalho.

Ao Paulo Rogério Morais e Dorgival Vieira Rocha pela ajuda na realização da parte experimental.

À Ana Cristina Pomarico por sua colaboração na confecção dessa tese e no meu conhecimento científico.

À Maria de Lourdes Lefréve Assumpção (Dilú) e Nereide Lourdes Garcia pela atenção, carinho e incentivo na conquista desse título.

À Associação Fundo de Incentivo à Psicofarmacologia pela ajuda financeira.

À todos do Departamento de Psicobiologia que indiretamente me incentivaram e me ajudaram.

Ao meu amigo Josué por sua ajuda em seu conhecimento e sabedoria em minha vida.

# ÍNDICE

<u>I- INTRODUÇÃO</u> .....	página 7 à 21
<u>II- ESQUEMA GERAL DO PROCEDIMENTO</u> .....	página 27 à 29
<u>III - EXPERIMENTO I</u>	
A)- Objetivos.....	página 22
B)- Materiais e métodos.....	página 22 à 26
C)- Histologia.....	página 30
D)- Resultados.....	página 31 à 34
E)-Conclusão.....	página 35 à 38
<u>IV- EXPERIMENTO II</u>	
A)- Objetivos.....	página 39
B)- Materiais e métodos.....	página 39 à 40
C)- Histologia.....	página 41 à 42
<u>D)- Resultados</u>	
1) - Esquema CA24/EP48.....	página 43 à 46
2) - Esquema EP24/CA48.....	página 47 à 50
3) - Comparação 24 horas X 48 horas.....	página 51 à 55
E)-Conclusão.....	página 56 à 57
<u>V - EXPERIMENTO III</u>	
A)- Objetivos.....	página 58
B)- Materiais e métodos.....	página 58
C)- Histologia.....	página 59
<u>D)- Resultados</u>	
1) - Esquema CA24/EP48.....	página 60 à 64
2) - Esquema EP24/CA48.....	página 65 à 68
3) - Comparação 24 horas X 48 horas.....	página 69 à 73
E)-Conclusão.....	página 74
<u>VI - CONCLUSÃO GERAL</u> .....	página 75 à 78
<u>VII - ANEXOS</u> .....	página 79 à 87
<u>VIII- REFERÊNCIAS</u> .....	página 88 à 95

# 1) INTRODUÇÃO

O reino animal é dotado de um sistema de células nervosas que integram as reações do meio ambiente com mudanças somáticas e autonômicas do organismo. O termo emoção pode ser empregado para definir as sensações subjetivas do organismo em resposta aos fatores ambientais. O estado afetivo (como medo, raiva, amor, alegria, tristeza, etc.) causado pelos fatores externos apresentam a capacidade de alterar a fisiologia do organismo, visando o retorno do equilíbrio normal entre o organismo e o meio ambiente. A experiência é a parte subjetiva do processo emotivo, ou seja é o quanto o organismo sente-se emocionado à um fator externo estimulante. A maneira que o indivíduo aprende a lidar com experiências agradáveis ou desagradáveis é manifestada através da diminuição ou aumento das expressões emocionais visualizadas pelo comportamento, através do intermédio de atividades somáticas e autônomas. Essa experiência emocional faz com que o Homem ou o animal apresentem reações comportamentais, com a diferença de que o Homem pode relatar essas experiências e nos animais podemos observar somente as mudanças comportamentais. Reações agradáveis e desagradáveis seriam sinônimos de sensações de prazer e dor respectivamente. Algumas sensações como cólera, raiva, medo, terror, tristeza, depressão, solidão podem ser classificadas como desagradáveis e sensações de amor, afeição, companhia, convivência, alegria como sensações agradáveis (Marino Jr., 1975)

Resumidamente podemos dizer que a constante interação entre o meio ambiente e o organismo trazem para o mesmo experiências que podem ser do tipo agradável ou desagradável e que leva a uma situação de aprendizado. Portanto situações emocionais podem ser aprendidas por mecanismos neurais envolvidos na emoção e cognição.



Papez em 1937 se estabeleceu quais deveriam ser essas bases anatômicas para o estudo neurofisiológico das emoções com os quais os pesquisadores trabalham ainda hoje, onde o córtex do giro do cíngulo atua como a área receptiva na experiência das emoções resultantes de impulsos vindo do hipotálamo. A irradiação do processo emotivo do giro cíngulo à outras regiões do córtex cerebral daria o colorido emocional aos processos psíquicos. O circuito de Papez estabelece que os impulsos originados nos receptores somáticos e viscerais são conduzidos ao hipotálamo e corpos mamilares dirigindo-se ao grupo de núcleos talâmicos anteriores através do trato mamilotalâmico. Dos núcleos talâmicos anteriores, os impulsos passariam à região do giro do cíngulo. A formação hipocampal foi por ele considerada como a região de recepção de impulsos de origem cortical, participantes do processo emocional. A partir do hipocampo, os impulsos passariam ao fórnix, dirigindo-se aos corpos mamilares e fechando o circuito.

Em 1952 MacLean introduziu o termo sistema límbico que considera as emoções como informativas de ameaças à autopreservação e à preservação da espécie. Os experimentos efetuados por MacLean, baseados em estudos de estimulação e ablação das estruturas límbicas, evidenciam a existência de duas porções diferentes dentro do anel formado pelo sistema límbico: um anel superior e outro inferior, possuidores de funções fisiológicas diferentes :

1) Porção inferior do anel límbico - É constituída pelos córtex orbitário, insular, temporal polar e áreas piriformes, sendo a principal área de confluência a amígdala. Experimentos de ablação destas estruturas do anel inferior realizados por Klüver e Bucy em 1939 demonstraram que após a intervenções cirúrgicas de porções do anel límbico inferior em macacos antes ferozes, tornavam-se mansos e dóceis, instalando-se uma cegueira psíquica com um comportamento compulsivo e falta de discriminação dos objetos parcialmente nocivos. Assim o animal se exporá repetidamente a situações dolorosas ou penosas como lambar inúmeras vezes um fósforo aceso. Levará a boca indiscriminadamente comida, fezes, porcas e parafusos, evidenciando ainda , uma hipersexualidade. Esses resultados despertaram grande interesse em relação às porções laterais do sistema límbico.

2) -Porção superior do anel límbico - Compreende o restante das estruturas límbicas, abrangendo o septo, o hipocampo e o giro do cíngulo ( Marino,1975; LeDoux, 1992).

A teoria de Papez em relação ao sistema límbico apresentava maior significância ao mecanismo emocional, porém após os resultados de Scoville e Milner em 1957, onde foi encontrado amnésia retrógrada e anterógrada no paciente H.M. após ablação do lobo temporal medial, ficou clara a participação de muitas vias e núcleos do sistema límbico nas funções da memória e cognição.

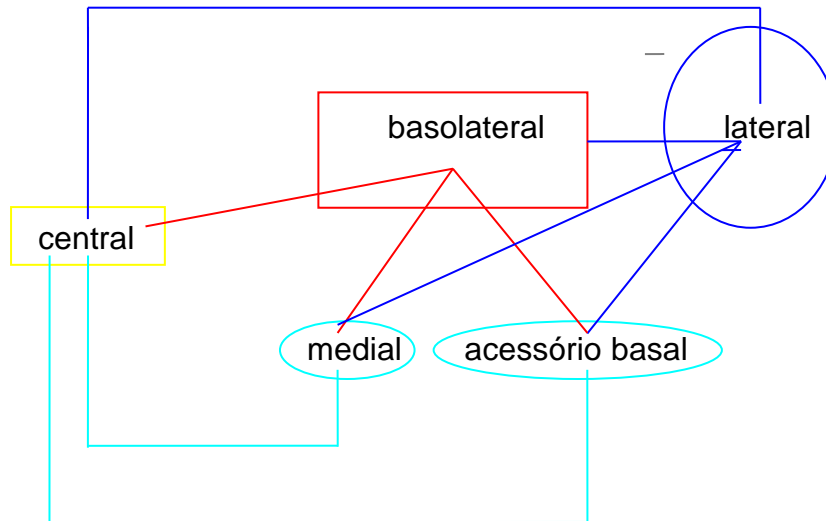
Dentro do sistema límbico o corpo amigdalóide parece ser mais importante para o processo emotivo e menos envolvido no processo cognitivo e o hipocampo parece ter maior participação no processo cognitivo ( Thomas and Gash,1985; LeDoux,1993; Phillips,1992; Kim,1992, Sarter e Markowitsch,1985).

## **A AMÍGDALA**

A amígdala apresenta conexões com o neocortex e com o tronco cerebral visceral, integrando assim informações cognitivas com capacidade de alterar o comportamento emocional (Halgren,1992; Davis,1992).

O corpo amigdalóide é dividido em alguns núcleos como: núcleo central, lateral, basolateral, núcleo medial, acessório basolateral. O núcleo lateral apresenta intensa comunicação com outros núcleos como o núcleo basolateral, acessório basal e medial e menor comunicação para o núcleo central recebendo poucas projeções; o núcleo central contribui com uma pequena projeção para o núcleo lateral. O núcleo basolateral recebe uma maior projeção do núcleo lateral e menor projeções de outros núcleos como núcleos acessório basal, central e córtex periamigdalóide e projeta para os núcleos acessório basal, central, núcleo medial, trato olfatório lateral, córtex periamigdalóide e área amigdalohipocampal. O núcleo acessório basal apresenta uma densa projeção para os núcleos medial, córtex periamigdalóide, núcleo cortical anterior e posterior, área amigdalohipocampal e núcleo lateral, recebendo um grande número de projeções do núcleo lateral e menor projeções dos núcleos basolateral, central e medial. O núcleo central projeta para os núcleos cortical anterior, córtex periamigdalóide anterior, pequenas projeções para o núcleo lateral e acessório basal, sendo o principal alvo de aferências do corpo amigdalóide, recebendo grandes quantidades de fibras dos núcleos basolateral e acessório basal e menores quantidades dos núcleos lateral e medial e córtex periamigdalóide. O núcleo medial projeta para o núcleo basolateral, córtex periamigdalóide, área amigdalohipocampal e núcleo central, recebendo grandes projeções do núcleo lateral e menores projeções dos núcleos basolateral, acessório basal e córtex periamigdalóide ( Amaral e col.,1992).

Podemos resumir as comunicações dentro do corpo amigdalóide de acordo com o seguinte esquema:



O corpo amigdalóide apresenta interação com o hipocampo via córtex entorrinal, principalmente através de projeções do núcleo lateral e acessório basal. O córtex entorrinal recebe projeções do núcleo lateral, basolateral, córtex periamigdalóide. O núcleo acessório basal também envia fibras para a área amigdalohipocampal e desta para o subículo e daí para as áreas hipocampais CA1,CA2,CA3. Outra via se dá através do núcleo basolateral da amígdala via córtex periamigdalóide e subículo para o hipocampo (região CA1). Os núcleos basolateral e acessório basal são os principais núcleos de projeção para o estriado, principalmente o núcleo accumbens. Outra aferência importante é em relação as fibras projetadas do núcleo basolateral para o núcleo de Meynert (uma importante via colinérgica com comunicações para o tálamo, hipotálamo e tronco (Amaral e col,1992).

Os núcleos colículo inferior e superior recebem as informações do meio ambiente, auditivas e luminosas. Essas informações chegam até o tálamo (corpo geniculado medial). Uma parte dessas informações são projetadas para o córtex auditivo ou córtex visual (dependendo do estímulo) e outra parte para a amígdala, principalmente a amígdala lateral que é considerada a área de

recepção sensorial. O núcleo lateral envia a informação via central através dos núcleos basolateral, acessório basolateral ou via central diretamente. E o núcleo central integra através de projeções para as regiões hipotalâmicas e substância cinzenta periaquedutal as mudanças autonômicas e comportamentais do organismo através as alterações dos níveis de corticosterona sanguíneo, ou reações de alerta, fuga (Ledoux,1993; Amaral e col., 1992).

De acordo com a neuroanatomia apresentada acima é possível observar a intensa comunicação do corpo amigdalóide com áreas envolvidas na memória (hipocampo), na ansiedade (estriado), fuga e luta (substância cinzenta periaquedutal), controle hormonal (hipotálamo), estímulos ambientais que chegam até a amígdala via tálamo. Essas comunicações demonstram a participação do corpo amigdalóide em várias funções comportamentais, cognitivas e fisiológicas, apresentando um grande papel na aquisição e retenção de respostas condicionadas motivadas por estímulos aversivos.

No condicionamento clássico de medo, um estímulo neutro condicionado (CS) como luz ou som, é pareado com um estímulo aversivo não condicionado (US) como um choque nas patas. O (CS) adquire uma propriedade aversiva, tornando-se um estímulo ameaçador quando apresentado sozinho, com capacidade de eliciar vários comportamentos de medo, como aumento da aceleração cardíaca, diminuição da salivação, mudança respiratória, defecação, congelamento, etc. Lesões no núcleo amigdalóide afetam o aprendizado nessa tarefa de condicionamento clássico de medo, possuindo esse núcleo um importante papel na resposta emocional condicionada ou medo condicionado (Blanchard e Blanchard, 1972; Hitchcock e Davis, 1986; Spevack e col., 1975).

Durante a aquisição de uma tarefa de condicionamento clássico de medo, outros fatores são importantes além do pareamento do estímulo condicionado (som ou luz) com o estímulo não condicionado (choque). O local onde o animal é colocado para o treino exerce um tipo de condicionamento denominado condicionamento contextual de medo (Blanchard e Blanchard, 1972; Phillips e LeDoux, 1992; LeDoux, 1993; Kim e Fanselow, 1992; Selden et al, 1991).

Existem algumas diferenças entre o condicionamento clássico de medo e o condicionamento contextual de medo. No segundo o estímulo condicionado não

está restrito apenas a uma modalidade sensorial e está continuamente presente durante o treino. Por exemplo, o som que é pareado com o choque estaria em primeiro plano durante a aquisição da tarefa, exercendo assim um poder maior durante o condicionamento. O contexto em si estaria em segundo plano, como a caixa onde o animal estaria presente (Phillips e LeDoux, 1992) No rato lesões da amígdala provocam déficit em outras diversas tarefas aversivas : esquiva ativa de uma e de duas vias (Bush e col., 1973; Eclancher e Karli, 1980; Grossman e col.,1975; Jellestad e Cabrera, 1986; Molino, 1975; Riobos, 1986; Schutz e Izquierdo, 1979; Werka e col., 1978); esquiva passiva (Grossman e col., 1982; Jellestade e Bakke, 1985; Jellestad e col., 1986; Liang e col., 1982; McInyre e Stein, 1973; Nagel e Kemble, 1976; Riobos e Garcia, 1987; Russo e col., 1976).

Em outras espécies também se demonstrou que lesões da amígdala afetam comportamentos controlados por estímulos aversivos: no gato (Brady e col., 1954; Horvath, 1963), no camundongo (Slotnick, 1973), no macaco (Weiskrantz, 1956).

Tanto respostas motoras (como na esquiva) como respostas autonômicas condicionadas podem ser afetadas (Gentile e col., 1986; Kapp e col., 1979).

A hipótese de redução generalizada de medo é uma explicação suficiente para abarcar todos os déficits provocados por lesões da amígdala em tarefas aversivamente motivadas (Robinson, 1963; Slotnick, 1973; Spevack e col., 1975). Esta hipótese é compatível ainda com o aumento de atividade no “campo aberto” (Corman e col., 1967; Schwatzbaum e Gay, 1966).

Outro estudo que reforça a hipótese de perda do medo foi realizado por Blanchard e Blanchard (1972) que verificaram que ratos com lesões na área amigdalóide apresentavam reação diminuída de “congelamento” frente a um gato imobilizado. Estes ratos se aproximavam do gato ao invés de evitá-lo (como o fazem os ratos normais), e chegavam a subir em suas costas.

Alguns autores, porém, colocam restrições à hipótese de redução do medo, baseados em resultados inconsistentes ou contraditórios também obtidos muitas vezes (Grossman e col., 1975; Jellestad e Bakke; 1985; Jellestad e

Cabrera, 1986; Riobos e Garcia, 1987). Vários fatores podem afetar o efeito observado, como o local e tamanho das lesões, destruindo ou não núcleos específicos da amígdala e alcançando ou não estruturas ao redor; lesões eletrolíticas e lesões neurotóxicas também podem produzir efeitos diversos, pois as primeiras lesam também fibras de passagem, enquanto que o outro tipo de lesão só afeta os corpos celulares (Jellestad e Bakke, 1985; Jellestad e Cabrera, 1986; Jellestad e col., 1986; Riobos e Garcia, 1987).

Em vários trabalhos, tentou-se produzir lesões pequenas limitadas tanto quanto possível aos núcleos específicos da amígdala. Coover e col. (1973) observaram déficits em esquiva passiva e esquiva ativa de duas vias, redução de imobilidade no “campo-aberto” e redução de níveis de corticosterona plasmática (após o primeiro dia de treino na esquiva ativa) em ratos com lesões eletrolíticas na área do núcleo basolateral da amígdala. Estes resultados são compatíveis com a hipótese de redução de medo e alerta. Outro grupo (Grossman e col., 1975) observou prejuízo em esquiva ativa de uma e duas vias, de esquiva passiva, e de redução de ingestão de alimento em ambiente novo, com lesões eletrolíticas extensas no córtex piriforme periamigdalóide. Entretanto, lesões localizadas em cada uma das seis subdivisões da amígdala (núcleos cortical medial, central, intercalado e basolateral) prejudicaram a esquiva passiva. Werka e col. (1978) lesaram eletroliticamente três diferentes áreas: núcleos central e basolateral da amígdala e córtex lateral à amígdala. No “campo-aberto” apenas as lesões no núcleo central provocaram aumento de atividade. Na esquiva ativa (uma via) todos três tipos de lesão prejudicaram o desempenho porém o déficit mais pronunciado foi encontrado em ratos com lesão no núcleo central. Houve perda de retenção em teste posterior da esquiva ativa nos três grupos, mas na extinção forçada da esquiva ativa os grupos com lesão cortical e basolateral foram os mais prejudicados. Os autores concluem que lesões no núcleo central produzem redução de medo, e que o núcleo basolateral e áreas corticais (ínsula) seriam envolvidas mais especificamente com a esquiva passiva (avaliada através do teste de extinção forçada da esquiva ativa). A discrepância e inconsistência destes resultados ilustram a dificuldade de delimitar o papel desempenhado pelos diversos núcleos na

amígdala nas tarefas aversivas. Isto se deve à complexidade desta estrutura e à abundância de fibras de passagem que a atravessa.

Mais recentemente têm-se utilizado lesões produzidas pelo ácido ibotênico para contornar o problema das fibras de passagem. O ácido ibotênico, uma neurotoxina análoga ao glutamato, quando injetado intracerebralmente destrói o corpo celular dos neurônios, preservando porém, as fibras de passagem, e produzindo lesões restritas ao local de aplicação (Gary e Hornung, 1980; Kohllewr e Schwarcz, e col., 1979). Jellestade e Bakke (1985) compararam o efeito de lesões por ácido ibotênico e por rádio- frequência no complexo amigdalóide (as lesões atingiram os núcleos central, lateral e basolateral) na aquisição de uma tarefa de esquiva passiva. Ambas as lesões produziram deficiência na tarefa, e os ratos se mostraram mais ativos no aparelho de esquiva e reduziram o tempo de imobilidade. A corticosterona plasmática não se alterou após o teste de retenção oito dias após o treino nos animais com lesão por rádio- frequência, mas elevou-se nos lesados com ácido ibotênico. Segundo os autores, os dados com lesões por rádio- frequência são compatíveis com redução de medo generalizado, mas aqueles com lesão por ácido ibotênico não, porque o nível elevado de corticosterona plasmática indica mais medo. O déficit na aprendizagem de esquiva poderia ser devido ao prejuízo no processamento sensorial.

Em outro trabalho (Jellestad e col., 1986) com lesões por ácido ibotênico e por rádio-frequência restritas ao núcleo central, o mesmo grupo encontrou atividade aumentada no “campo-aberto” e no aparelho de esquiva. O déficit na aquisição de esquiva passiva foi maior com lesão por rádio- frequência. O nível de corticosterona após sessão de extinção não sofreu alteração com nenhum tipo de lesão. A deficiência na esquiva passiva foi atribuída à destruição combinada de neurônios intrínsecos do núcleo central e de fibras de passagem. Riobos e Garcia (1987) também compararam o efeito de dois tipos de lesão (por ácido ibotênico e eletrolítico) no núcleo central da amígdala sobre atividade no “campo-aberto” e sobre a aquisição de uma tarefa de esquiva passiva. Os resultados concordam parcialmente com o trabalho anteriormente citado: a lesão eletrolítica provocou aumento de “levantar” no “campo-aberto” e prejudicou



a aquisição da esquiva passiva, mas nas lesões por ácido ibotênico não produziram efeito consistente. O déficit seria, portanto, causado por lesão de fibras que cruzam o núcleo central.

Lesões extensas por ácido ibotênico no complexo amigdalóide (envolvendo núcleos lateral e basolateral, claustrum, córtex piriforme e endopiriforme produziram aumento da atividade no “campo-aberto” (Jellestad e Cabrera, 1986). Os autores não atribuem os déficits observados a redução geral de medo. No entanto, as lesões com ácido ibotênico não atingiram o núcleo central, o que torna inconclusivo o trabalho.

Resultados contraditórios a estes foram obtidos por Riobobos (1986): lesões no núcleo central produziram déficit na esquiva ativa (duas vias) ao passo que lesões eletrolíticas na mesma área não alteraram o desempenho dos animais de maneira consistente. A autora conclui que os neurônios do núcleo central podem ser importantes para a motivação de medo, mas outras hipóteses são igualmente viáveis: alterações na detecção de pista, alterações no nível de atenção.

Experimentos realizados com microinjeções de drogas Gabaérgicas, adrenérgicas e opiáceas dentro do complexo amigdalóide demonstraram um papel importante na influência neuromoduladora da memória. Os efeitos dessas drogas são bloqueadas após lesões da amígdala e estria terminalis (principal via aferente da amígdala). (MCGaugh e col.,1993; Izquierdo e col.,1992; Tomaz e col., 1993; Introini-Collinson e col.,1992). Esses autores demonstram a importância de vários neurotransmissores na consolidação da memória envolvendo o complexo amigdalóide, como a noradrenalina, peptídeos opiáceos, Gaba, glutamato, acetil-colina, mas não da serotonina. O Gaba e opiáceos endógenos apresentam ação inibitória moduladora na noradrenalina no complexo amigdalóide. Izquierdo e col.,1992 demonstraram que três estruturas operam paralelamente na consolidação de tarefas de esquiva passiva (hipocampo, septo e amígdala) e cada estrutura pode processar o aprendizado em separado, onde a amígdala participaria na consolidação da memória através do componente de intensidade de alerta e o hipocampo principalmente no

componente espacial junto com o córtex entorhinal e a via septo-hipocampal participaria do componente do procedimento da tarefa.

## HIPOCAMPO

Lesões hipocampais ou a desconexão de vias aferentes e eferentes em ratos produzem normalmente efeitos de prejuízo de memória em tarefas onde estão envolvidas o contexto espacial (O'Keefe and Nadel, 1978). Esses autores são responsáveis pela teoria da participação hipocampal no mapeamento cognitivo, ou seja, essa estrutura deve estar intacta para tarefas onde estão envolvidas o aprendizado de pistas espaciais.

Lesões hipocampais também podem prejudicar a aquisição de tarefas aversivamente motivadas, mas o efeito destas lesões é muito mais variável do que lesões na amígdala. Algumas tarefas, como a esquiva passiva e a esquiva ativa unidirecional, podem ser prejudicadas ou podem não ser afetadas, enquanto que a esquiva ativa de duas vias geralmente é facilitada por lesões hipocampais (Calderazzo Filho e col., 1977; Isaacson e col., 1961; Rabe e Haddad, 1969).

Vários relatos atestam déficit na esquiva passiva provocado por lesões do hipocampo em ratos e camundongos: Isaacson e Wickelgren (1962), Kimble e col. (1966); Plotnick e col., 1977; Thompson, 1978; Winocur e Bindra (1976); Zornnetzer e col., 1974. Outros estudos porém não encontraram déficit : Dawson e col., 1973; Dokla, 1979; Kimble e col., 1966; Riddell, 1968 e 1972; Winocur e Mills, 1969.

Também há relatos de prejuízo na esquiva ativa de uma via (Coscina e Lash, 1969; McNew e Thompson, 1966; Olton e Isaacson, 1969; Rich e Thompson, 1965, e relatos de ausência de efeito em tarefas semelhantes (Coscina e Lash, 1970; Niki, 1962; Olton e Isaacson, 1968; Winocur e Mills, 1970)

Back e col. (1977) propuseram que só se verifica déficit nas tarefas de esquiva quando o animal adota uma estratégia de lugar para resolver a tarefa, o que geralmente acontece na ausência de estímulos condicionais claramente definidos.

Por outro lado, há pouca evidência de que lesões hipocámpais afetam o condicionamento clássico de medo (Gray e McNaughton, 1983).

Embora lesões tanto na amígdala como do hipocampo podem causar prejuízo em tarefas de esquiva, o que parece certo é que isto se deve a mecanismos diferentes: em relação à amígdala a redução de medo é uma hipótese provável, enquanto que em relação ao hipocampo pode-se pensar em amnésia, em prejuízo de aprendizagem espacial, ou em tarefas de aprendizagem contextual. “A amígdala parece mediar a memória para qualidade perceptuais, enquanto o hipocampo parece mediar a memória para o contexto espaço-temporal” (Eichebaum and Cohen, 1992).

Kim e col. (1992) demonstraram que ratos lesados no hipocampo 1, 7, 14 ou 28 dias após um treino envolvendo condicionamento ao som e ao contexto numa tarefa aversiva, apresentaram diminuição de medo ao contexto somente no dia 1, sem afetar o medo condicionado ao som. Essa dissociação nos resultados indicam que a memória emocional não é um simples processo e que o hipocampo tem um papel temporal limitado na aprendizagem da tarefa envolvendo o contexto, mas não no som condicionado. Phillips e LeDoux (1992) realizaram um experimento com lesões eletrolíticas na amígdala (envolvendo núcleos lateral, basolateral e central) e hipocampo numa tarefa aversiva de condicionamento ao som e ao contexto. Lesão na amígdala apresentou diminuição de medo tanto ao estímulo sonoro condicionado como ao estímulo contextual condicionado sugerindo ser a amígdala um componente essencial no sistema neural do medo condicionado, indiferente ao estímulo. Lesão no hipocampo prejudicou somente o condicionamento contextual de medo indicando ser o hipocampo necessário às respostas ao estímulo contextual. Porém Selden e col. (1989) encontraram que lesão neurotóxica da amígdala interfere na aquisição de respostas condicionadas aos “cliques” pareados com choque, mas não interferem na esquiva passiva. Num outro experimento (Selden e col., 1991) encontraram também prejuízo na tarefa de condicionamento contextual mas não condicionamento sonoro após lesão química do hipocampo. Porém a injeção de 6-hydroxydopamina dentro da

amígdala basolateral afeta o condicionamento aos “cliques” mas não ao contexto.

Fica claro que as dissociações em tarefas envolvendo o aprendizado é devido a participação de diferentes substratos neurais. O hipocampo pode estar envolvido com a aquisição de tipos de informação sobre as relações entre os estímulos e eventos ocorridos e a amígdala pode mediar a aquisição de comportamentos que apresentam uma propriedade afetiva (McDonald e White,1993).

Trabalhos realizados em nosso Departamento mostraram que a administração aguda e a administração crônica de choque eletroconvulsivo (ECS) diferem quanto à capacidade de provocar amnésia. ECS crônico (1 vez por dia durante 7 dias consecutivos) provocou amnésia anterógrada na esquiava passiva (treinada 24 horas após o último ECS) mas não afetou o condicionamento clássico de medo efetuado concomitantemente ao treino de esquiava e testado num “campo-aberto” (Bueno e col., 1993 ).

Um único ECS 2 horas antes do treino afetou tanto a esquiava passiva como o condicionamento clássico de medo (dados submetidos).

Tratamento agudo com diazepam (1,0 mg/Kg; 2,0 mg/Kg e 4,0 mg/Kg) antes do treino de esquiava passiva e condicionamento clássico de medo causaram, respectivamente, não prejuízo nas duas tarefas, amnésia anterógrada na esquiava passiva e não no teste de condicionamento clássico de medo, e causaram prejuízo em ambas as tarefas; testados 24 horas após o treino (dados não publicados).

Estes resultados sugerem que a administração aguda e a administração crônica de ECS, assim como diferentes doses de diazepam afetam diferentes estruturas cerebrais. A hipótese que norteia o planejamento deste trabalho é que o ECS agudo afeta tanto a amígdala como o hipocampo (efeito este que perdura por algumas horas após o ECS) causando prejuízos na aprendizagem contextual e medo condicionado , enquanto que o ECS crônico produz uma

alteração persistente no hipocampo, mas não na amígdala prejudicando somente a aprendizagem contextual. Esta alteração persistente é independente dos efeitos agudos verificados até algumas horas após o ECS, pois ela se manifesta mesmo 24 horas após o último ECS (da série de 7), e talvez perdure por alguns dias. O mesmo se deve ao tratamento com 2,0 mg/kg que prejudicou somente o teste de esquiva passiva (afetando somente o hipocampo) e 4,0 mg/kg que prejudicou ambas as tarefas (afetando estruturas hipocampais e amigdalóides). Portanto o objetivo dessa tese é verificar diretamente se lesões neurotóxicas e eletrolíticas no hipocampo e em diferentes núcleos da amígdala produzem efeitos diversos nas duas tarefas, como se observou com a administração aguda e crônica de ECS.

## **2) EXPERIMENTO I**

### **A) OBJETIVO**

O objetivo deste experimento é de avaliar o efeito de lesões eletrolíticas nos núcleos central e basolateral da amígdala nas tarefas de condicionamento clássico de medo e esquiva passiva.

### **B) MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **ANIMAIS**

Foram utilizados ratos Wistar, machos, de 3-4 meses de idade, do biotério do Departamento de Psicobiologia. Os ratos foram alojados em gaiolas de arame, em grupos de 3.

#### **CAIXA DE ESQUIVA**

Consiste de uma caixa (21X50X32 cm) construída com material plástico e com piso gradeado de metal. A caixa é repartida, constituindo dois compartimentos, A e B, separados por uma porta tipo guilhotina. O soalho de A é revestido de material plástico branco e suas paredes são igualmente pintadas de branco. As paredes do compartimento B são pretas e seu assoalho é uma grade de metal ligada a uma fonte de choque (Grason-Stadler, modelo 700).

## **CAMPO-ABERTO**

Consiste de uma arena circular de 80 cm de diâmetro com parede de 32 cm de altura. O piso é pintado com linhas demarcatórias de modo a dividi-lo em 17 partes aproximadamente iguais, usadas para medir a ambulação (número de vezes que as repartições pintadas no piso são atravessadas com as 4 patas pelo rato). O aparelho encontra-se instalado em sala própria, com atenuação do som externo, e bem iluminada.



## CIRURGIA

Cada rato foi pré-tratado com nitrato de metilatropina (20 mg/Kg) e anestesiado com pentobarbital sódico (50 mg/Kg), sendo então colocado num aparelho estereotáxico David Kopf. Foi aberta uma incisão na epiderme (cabeça) para expor o crânio. Dois orifícios foram abertos para a introdução dos eletrodos (lesão eletrolítica) de aço inoxidável, encapadas com verniz isolante e desencapadas na extremidade (0,5 mm). A intensidade da corrente anódica nas lesões foi de 2 mA/10 seg. na amígdala central, 2 mA/20 seg. na amígdala basolateral. Após efetuadas as lesões, a pele foi suturada e o animal mantido em ambiente aquecido até se recuperar da anestesia. Quanto aos animais controle, o procedimento foi idêntico ao executado nos animais experimentais, exceto que nenhuma lesão foi realizada. Após um período de em média de 2 semanas de recuperação os ratos foram submetidos ao treino de esquiva passiva e de condicionamento clássico de medo.

As coordenadas utilizadas foram de acordo com o atlas de Watson e Paxinos ( 1982 ) :

### 1) Amígdala central

Antero-posterior (bregma) = - 2,3 mm	-2,8 mm
Lateral = ± 4,3 mm	± 4,5 mm
Vertical (crânio) = - 8,3 mm	- 7,9 mm

### 2) Amígdala basolateral

Antero-posterior (bregma) = - 3,1 mm
Lateral = ± 4,3 mm
Vertical (crânio) = - 8,3 mm

## C) PROCEDIMENTO

Duas semanas após a cirurgia (período de recuperação) os ratos passaram pelo treino de esquiva passiva e condicionamento clássico de medo.

O treino é feito na caixa de esquiva e é feito concomitantemente para a esquiva passiva e para o condicionamento clássico de medo.

Para o treino cada rato é colocado no compartimento A (branco) da caixa de esquiva, onde permanece por 10 segundos até ser aberta a portinhola que dá acesso ao compartimento B (preto). Depois de aberta a porta, é medido o tempo que o rato leva para entrar nesse compartimento (latência do treino de esquiva passiva).

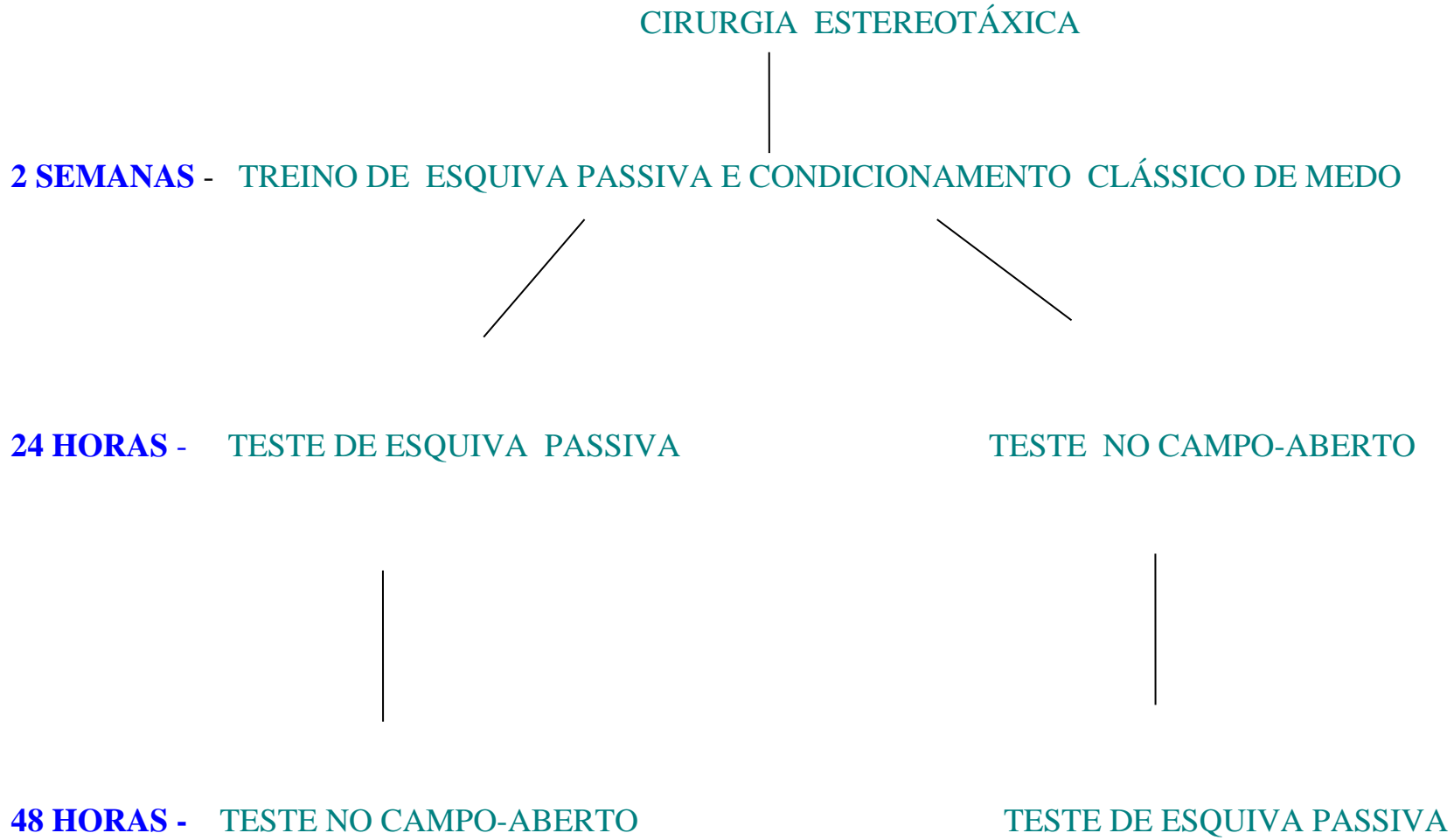
Assim que o rato entra, a porta é fechada, soa uma campainha de 96 dB e, imediatamente após, é liberado um choque em suas patas; a cada 15 segundos é dada uma nova sequência de som-choque nas patas até completar 5 pareamentos (treino de condicionamento clássico de medo e treino contextual de medo). A campainha soa por 1 segundo e o choque tem uma intensidade de 1 mA e duração de 1 segundo. Após os 5 pareamentos entre som (CS) e choque (US) o animal é retirado da caixa e devolvido à sua gaiola.

No dia seguinte ao treino na esquiva passiva (24 horas após o treino) os animais de cada grupo são testados no (teste de condicionamento clássico de medo) e no dia posterior ao teste (48 horas após o treino), os animais que passaram pelo teste no “campo-aberto” irão passar pelo teste na esquiva passiva ( ver fig. 1), ou seja teste de aprendizado contextual.

O teste no “campo-aberto” consiste em colocar cada rato no centro da arena e acompanhá-lo por 8 minutos, medindo o tempo de congelamento (imobilidade do corpo, mas com os olhos abertos e sem movimento de vibrissas) e ambulação. Durante o quarto minuto de exposição ao aparelho o som é tocado 5 vezes, a intervalos de 15 segundos ( o som é o mesmo que foi pareado com choque, mas agora sem ele). Durante o tempo subsequente a campainha não é mais tocada.

O teste de retenção da esquiva passiva é feito colocando-se cada rato no compartimento A e ( após 10 segundos de espera, quando é aberta a portinhola) medindo-se o tempo que ele demora para entrar (com as 4 patas) no compartimento B (latência do teste). O máximo de latência esperado é de 600 segundos; o choque não é mais liberado.

**FIG.1 ESQUEMA DO PROCEDIMENTO**



**FIG 2A- RESUMO DOS EXPERIMENTOS  
TABELA DA DIVISÃO DE GRUPOS :**

**Procedimento: CA 24 / EP 48**

<b>TIPO DE LESÃO</b>	<b>GRUPO</b>	<b>N</b>
<b>eletrolítica</b>	<b>amígdala central</b>	<b>8</b>
<b>eletrolítica</b>	<b>amígdala basolateral</b>	<b>8</b>
<b>sham</b>	<b>controle</b>	<b>10</b>
<b>eletrolítica</b>	<b>hipocampo dorsal</b>	<b>8</b>
<b>eletrolítica</b>	<b>hipocampo + tálamo</b>	<b>4</b>
<b>sham</b>	<b>controle</b>	<b>11</b>
<b>ibotênico</b>	<b>amígdala basolateral unilateral</b>	<b>7</b>
<b>ibotênico</b>	<b>amígdala basolateral bilateral</b>	<b>6</b>
<b>sham</b>	<b>controle</b>	<b>9</b>

**FIG 2 B - TABELA DA DIVISÃO DE GRUPOS**

**Procedimento: EP 24/ CA 48**

<b>TIPO DE LESÃO</b>	<b>GRUPO</b>	<b>N</b>
<b>eletrolítica</b>	<b>hipocampo dorsal</b>	<b>6</b>
<b>eletrolítica</b>	<b>hipocampo + tálamo</b>	<b>6</b>
<b>sham</b>	<b>controle</b>	<b>12</b>
<b>ibotênico</b>	<b>amígdala basolateral unilateral</b>	<b>6</b>
<b>ibotênico</b>	<b>amígdala basolateral bilateral</b>	<b>4</b>
<b>sham</b>	<b>controle</b>	<b>9</b>

## D) HISTOLOGIA

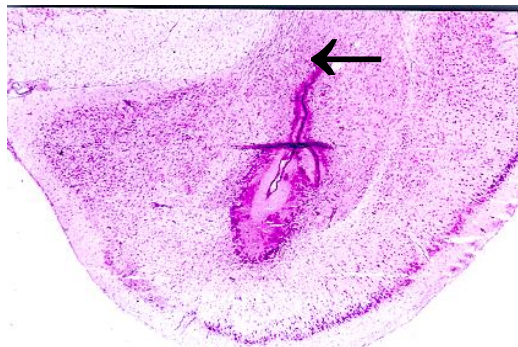
Após serem realizados os testes experimentais todos os ratos foram anestesiados com éter sulfúrico e seus cérebros retirados e congelados em gelo sêco e colocados no freezer - 70 graus centígrados. Os cérebros foram cortados no criostato (cortes de 20 micras) e corados pela técnica de cresil violeta. Após análise histológica, o critério de classificação dos grupos foi o seguinte:

**1) Grupo controle (N=10)** - Nesse grupo foi seguido o mesmo procedimento cirúrgico só que não foi feita a lesão.

**2) Amígdala central (N= 8)** - Quando a lesão atinge a amígdala central, mesmo englobando parcialmente outros núcleos. Algumas lesões atingiram parcialmente caudado-putamem, cápsula interna e núcleos lateral, basolateral medial da amígdala.

**E) Amígdala basolateral (N= 8)** - Lesão bilateral englobando amígdala basolateral sem atingir a amígdala central. Algumas lesões atingiram parcialmente também o núcleo basolateral medial posterior, núcleo basolateral ventral, caudado puntamem e núcleo lateral da amígdala.

**Ver Fig.2A**



**A foto acima está demonstrando a lesão no núcleo basolateral da amígdala.**

## RESULTADOS

Os dados brutos desse experimento podem ser consultados no Anexo I.

### **A) Teste de condicionamento clássico de medo (24 horas após o treino)**

#### **A1) - CONGELAMENTO**

A figura 3 e representa os seguintes resultados:

Os ratos com lesão eletrolítica na amígdala apresentaram diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos controle, basolateral e central, apresentando também interação entre os grupos e a apresentação do som e o efeito som intra-grupo (antes do som x após o som), de acordo com a Anova de duas vias =

Efeito grupo:  $F(2,23) = 9,060$ ;  $p < 0,05$

Efeito som:  $F(1,23) = 74,28$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,23) = 8,722$ ;  $p < 0,05$

Análises á posteriori realizadas pelo teste de Duncan demonstraram que os ratos com lesão na amígdala central não apresentam diferenças antes e após a apresentação do som, ou seja, a medida de congelamento que estava baixa antes do som, apresenta um pequeno aumento após a apresentação do estímulo condicionado mas este não é significativo ( $p > 0,05$ ). O mesmo não acontece com o grupo controle e com o grupo basolateral que apresentam diferenças nessa medida antes e após a apresentação do som ( $p < 0,05$ ), ou seja um aumento de congelamento após o estímulo condicionado.

A comparação entre os grupos antes do som mostrou diferenças na medida de congelamento á estímulos não condicionados do campo aberto , quando comparados os grupos, controle e central, controle e basolateral, central e basolateral ( $p > 0,05$ ).

Após a apresentação do som ocorrem diferenças significativas entre o grupo controle e basolateral ( $p < 0,05$ ), o grupo controle e central ( $p < 0,05$ ) e grupo central e basolateral ( $p < 0,05$ ).



## A2)- AMBULAÇÃO

A figura 3 apresenta os seguintes resultados:

Os ratos com lesão eletrolítica na amígdala apresentaram diferenças significativas em relação a medida de ambulação entre os grupos controle, basolateral e central, apresentando também interação entre os grupos e a apresentação do som e o efeito som intra-grupo (antes do som x após o som), de acordo com a Anova de duas vias =

Efeito grupo:  $F(2,23) = 6,38$ ;  $p < 0,05$

Efeito som:  $F(1,23) = 46,8$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,23) = 2,55$   $p < 0,05$

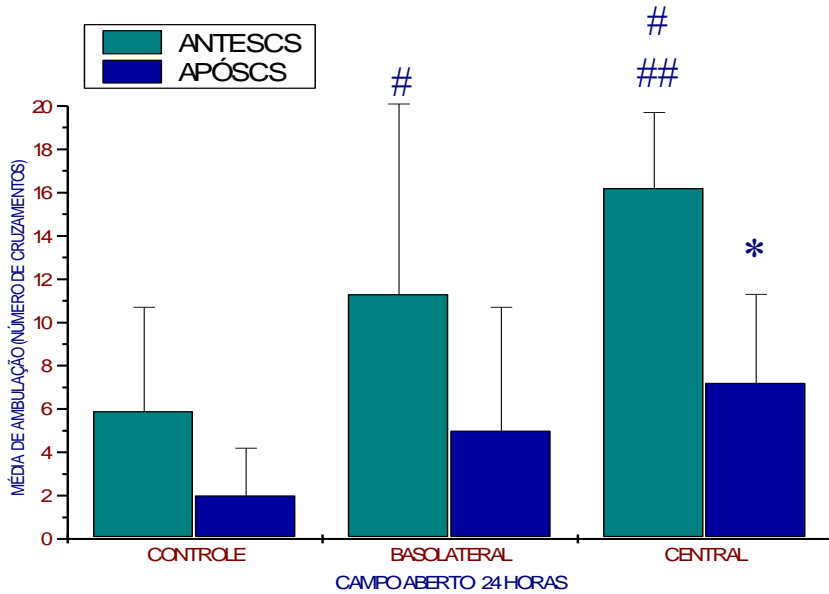
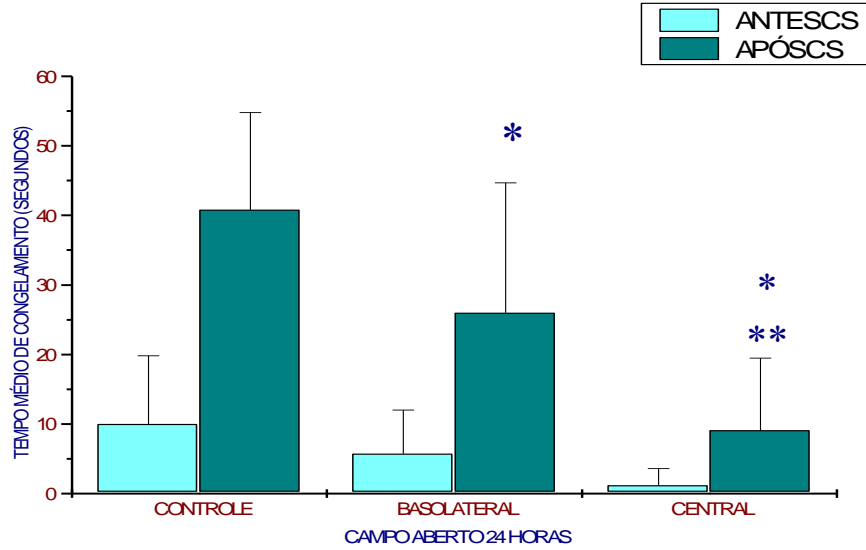
O teste de Duncan realizado á posteriori não revela diferença (intra-grupo) controle, quando comparado a média de ambulação antes e após o som ( $p = 0,08$ ).

Existem diferenças (intra-grupo) entre os grupos central e basolateral quando comparados antes e após a apresentação do som ( $p \leq 0,05$ ). O teste de Newman Keuls demonstra que todos os grupos apresentam diferenças (intra-grupo), quando comparados antes e após a apresentação do som.

A medida de ambulação antes do som através da análise de Duncan é significativamente diferente entre o grupo controle e basolateral ( $p \leq 0,05$ ), porém ocorre maior ambulação do grupo central quando comparado com o controle ( $p \leq 0,05$ ), e quando comparado com o basolateral ( $p \leq 0,05$ ). O teste de Newman-Keuls realizado a posteriori demonstra as mesmas diferenças.

Após o som, de acordo com o teste de Duncan ocorre diferença na ambulação somente entre o grupo controle e central ( $p < 0,05$ ), não ocorrendo diferenças significativas entre os grupos controle e basolateral ( $p = 0,07$ ), basolateral e central ( $p = 0,62$ ). O teste de Newman Keuls demonstra existir diferenças entre os grupos basolateral e controle, central e controle ( $p > 0,05$ ), mas não dos grupos basolateral e central ( $p = 0,38$ ).

**FIGURA 3**



\*P<0,05 -QUANDO COMPARADO COM O CONTROLE -APÓS O SOM  
 \*\* P<0,05- QUANDO COMPARADO COM O GRUPO BASOLATERAL - APÓS O SOM  
 # p<0,05 - QUANDO COMPARADO COM O CONTROLE - ANTES DO SOM  
 ## p<0,05 - QUANDO COMPARADO COM O BASOLATERAL - ANTES DO SOM  
 Variabilidade expressa em barra de desvio padrão.

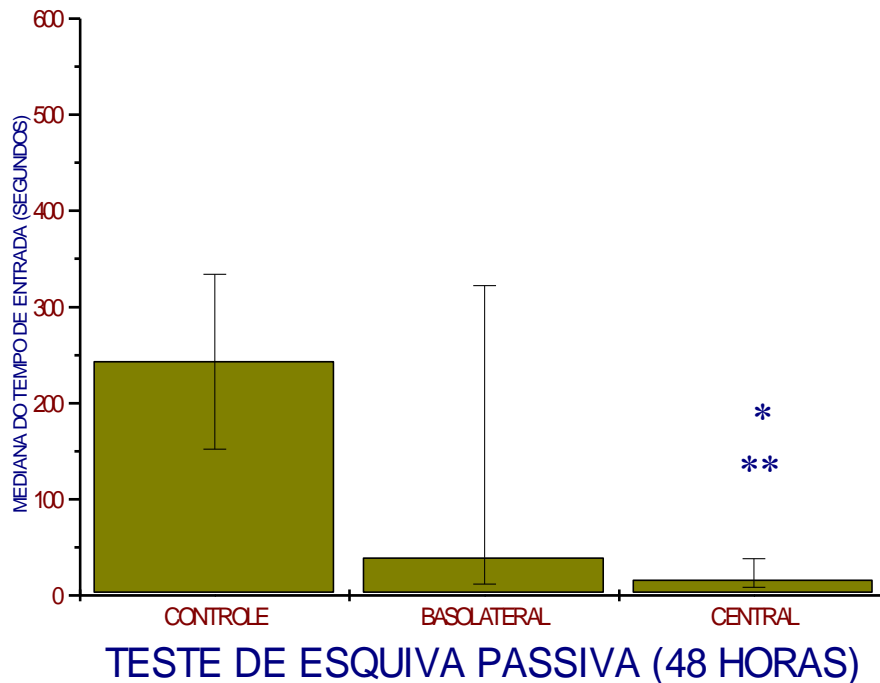
## **B) Teste de esquiva passiva (48 horas após o treino)**

A figura 4 está representando os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esquiva passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou haver diferenças significativas entre os grupos ( $H=6,84$ ;  $p<0,05$ ).

A análise do teste U de Mann-Witney realizada a posteriori demonstrou haver diferenças significativas entre o grupo controle e central ( $p\leq 0,05$ ) e entre o grupo central e basolateral ( $p<0,05$ ), não havendo, porém, diferenças entre o grupo controle e o basolateral ( $p\leq 0,05$ ).

**FIGURA 4**



**\*P<0,05 -QUANDO COMPARADO COM O CONTROLE**  
**\*\* P<0,05- QUANDO COMPARADO COM O GRUPO BASOLATERAL**  
**Variabilidade expressa em barra de intervalo interquartil**

## **F) CONCLUSÃO**

Os animais com lesão na amígdala basolateral apresentaram prejuízo somente na tarefa de condicionamento clássico de medo (após a apresentação do estímulo sonoro condicionado), mas não na tarefa de esquiva passiva, porém os animais lesados na amígdala central apresentaram prejuízos tanto na tarefa de condicionamento clássico de medo como na tarefa de esquiva passiva. A medida de emocionalidade, ou seja o tempo de congelamento está significativamente diminuída após a apresentação do som para o grupo central quando comparado com grupo de ratos controle. O grupo central apresentou ainda uma diminuição mais drástica no tempo de congelamento, sendo após a apresentação do som significativamente menor quando comparado com o grupo basolateral.

É possível observar diferenças no comportamento dos grupos basolateral e controle quando comparados (antes X após) o som, mostrando que o aumento no tempo de congelamento após a apresentação do som é devido o condicionamento ao estímulo sonoro. Somente o grupo central não apresentou diferença estatisticamente significativa antes e após o som, demonstrando que o estímulo condicionado não causou alteração emocional nesse grupo.

Quanto à ambulação no campo aberto, os animais do grupo central apresentaram mais ambulação, quando comparado com o grupo controle antes e após a apresentação do estímulo condicionado, sendo esse grupo diferente do basolateral antes do som.

Quanto ao núcleo basolateral, a média de ambulação está aumentada antes do som, sendo significativamente maior que a do grupo controle, Após a apresentação do som essa diferença desaparece em relação ao grupo controle. Quando os grupos são comparados antes e após a apresentação do som, não existe diferença entre o grupo controle. Essa diferença se deve ao fato da média de ambulação antes do som estar diminuída. Quando o estímulo sonoro

é apresentado, existe uma queda nessa medida, mas não significativa, devido o fato de a ambulação antes do som já estar baixa. O mesmo não aconteceu com os grupos central e basolateral que apresentaram diferenças quando a ambulação antes é comparada com a ambulação após o som.

Resumindo os resultados, foi encontrado que a média do tempo de congelamento antes do som não apresentou diferenças nos três grupos, mas os animais com lesão no núcleo basolateral e central apresentam mais exploração ao ambiente, quando são colocados no aparelho de campo aberto nos três primeiros minutos antes da apresentação do som. Os animais com lesão no grupo central apresentaram ainda maior ambulação que o grupo basolateral. Após a apresentação do som, os animais do grupo basolateral apresentaram diminuição do tempo de ambulação relacionado com o tempo antes do som, o mesmo se deve ao tempo de congelamento que apresentou um aumento significativo. Os animais do grupo central apresentaram uma diminuição significativa da ambulação, mas não do tempo de congelamento após o som em relação as medidas antes do som. Após o som ambos os grupos foram diferentes do controle nas duas medidas, sendo o grupo central diferente do basolateral em relação ao tempo de congelamento. Antes do som, o tempo de congelamento não foi diferente quando comparado o grupo central do basolateral, existindo, porém diferença na medida de ambulação, o que demonstra que o grupo basolateral permaneceu realizando outros comportamentos que também podem ser exploratórios como o ficar de pé sobre as patas traseiras, e o grupo central permaneceu a maior parte do tempo locomovendo-se. O grupo controle não apresentou diferença no tempo de congelamento mas apresentou menos tempo de ambulação em relação aos outros grupos. Após o som a ambulação foi semelhante para os grupos basolateral e central, mas o tempo de congelamento foi menor nos animais com lesão no grupo central, demonstrando que esses animais realizaram outros comportamentos como auto-limpeza, levantar-se sobre as patas traseiras, e o grupo basolateral permaneceu mais em congelamento que o grupo central e menos que o grupo controle.

Esses resultados parecem demonstrar uma intensidade variável nas medidas emotivas de acordo com a localização da lesão. Quando a lesão atingiu a maior parte do núcleo basolateral e porções do núcleo lateral sem

atingir a amígdala central , os animais apresentaram uma intensidade de comportamentos condicionados menor que o grupo onde a lesão atingiu a amígdala central, apesar de ambos os grupos terem sido diferentes do grupo controle. Isso demonstra uma participação essencial do núcleo central no processo de condicionamento de medo, independente do tipo de tarefa ,já que esse grupo apresentou prejuízo também no teste de esquiva passiva.

Esses resultados são consistentes com aqueles obtidos por Phillips e LeDoux (1992), em cujo o trabalho a lesão incluindo o núcleo lateral, central e basolateral da amígdala prejudicou tanto a tarefa envolvendo condicionamento contextual como o condicionamento a um estímulo sonoro . Nesse estudo, a intensidade utilizada para o estímulo condicionado foi de 0,5 mA/seg.

Nossos resultados mostraram que o aprendizado condicionado pode ser prejudicado com lesão na amígdala central mesmo com a intensidade do estímulo incondicionado (choque nas patas ) maior, como o utilizado em nosso experimento (1,0mA/1seg.).

Na tarefa de sobressalto potenciado pelo medo a apresentação de um estímulo sonoro capaz de produzir um susto é utilizado numa tarefa onde a presença de um estímulo condicionado (luz ou som) é pareado com o choque; esse estímulo é capaz de produzir uma potencialização, ou aumento do susto do animal, expressado por vários tipos de comportamentos emocionais como fuga, ereção dos pêlos, aumento de batimento cardíaco, mudança respiratória, etc. (Davis,1986).

Utilizando esse paradigma, Davis (1992) e McGaugh (1989) encontraram que a amígdala é uma estrutura importante para o medo condicionado. Outros trabalhos demonstraram que lesões nos núcleos central ou lateral e basolateral da amígdala, bloqueiam a aquisição e expressão do sobressalto potencializado pelo medo, onde a amígdala central e suas fibras aferentes para o tronco cerebral apresentam um importante papel tanto para estímulos visuais como auditivos ( Hitchcock e Davis,1986; Davis,1991).

Coover e col. (1971) encontraram prejuízos na tarefa de esquiva passiva, quando a lesão atingiu a amígdala basolateral, porém as lesões não foram restritas somente a essa área atingindo também a parte da amígdala central e lateral.

Werka e col. (1978) após utilizarem animais com lesão eletrolítica na amígdala basolateral ou central em tarefas de campo aberto e esquiva ativa de uma via descrevem que a lesão eletrolítica na amígdala central causa uma redução generalizada do medo devido o aumento de imobilidade no campo aberto e um prejuízo muito maior no teste de esquiva passiva de uma via comparado com o grupo basolateral que teve prejudicado somente a tarefa de esquiva. Os autores discutem o papel da amígdala central integrado com a amígdala lateral na mediação da motivação de medo e o papel da amígdala basolateral na tarefa de esquiva passiva, dependendo do local da lesão ,ou seja se a lesão atingiu fibras de passagem para áreas corticais.

Apesar da medida de congelamento antes da apresentação do som no grupo central não ser estatisticamente menor em relação aos outros grupos, é possível notar uma tendência na diminuição dessa medida, em concomitância com o mesmo se deve o tempo maior de ambulação antes do som.

É possível que a lesão no núcleo basolateral tenha prejudicado somente o condicionamento clássico de medo, porque a lesão atingiu em muitos animais o núcleo lateral. Esse núcleo é importante na mediação dos estímulos talâmicos e corticais em direção ao núcleo central (diretamente) ou via núcleo basolateral medial (Romanski e col., 1993).

É possível observar que os ratos controles tiveram uma latência baixa em relação ao tempo máximo de de entrada (600 segundos) no compartimento escuro no teste de esquiva. Talvez por esse motivo o grupo basolateral não tenha apresentado diferença significativa. Além disso os animais com lesão no núcleo basolateral apresentaram uma variabilidade bastante grande em relação ao tempo de latência de entrada.

### **3) EXPERIMENTO II**

#### **A) OBJETIVO**

Avaliar o efeito de lesões neurotóxicas por ácido ibotênico nos núcleos basolateral e central da amígdala.

#### **B) MATERIAIS E MÉTODOS**

A metodologia utilizada foi a mesma do experimento I, a não ser diferenças no procedimento cirúrgico, onde as lesões neurotóxicas foram realizadas pelo ácido ibotênico na concentração de 10 mg/kg, injetado no volume de 0,03 microlitros no grupo basolateral e 0,01 microlitros por furo na amígdala central. A injeção foi realizada através de uma microagulha de vidro (50 micras de diâmetro) colocada na agulha da seringa Hamilton de 5 microlitros. A seringa Hamilton era acoplada num suporte (Micro holding - David Kopft). No estereotáxico havia o controle da quantidade de líquido a ser injetado através de uma roldana que ao ser rodada empurrava o êmbulo da seringa.

As coordenadas utilizadas foram, de acordo com o atlas de Watson e

Paxinos ( ) :

##### **1) - Amígdala basolateral**

Antero-posterior (pólo frontal) =	- 8,0 mm; -8,4 mm; -9,0 mm
Lateral =	± 4,9 mm; ± 4,9 mm; ± 4,9 mm
Vertical =	- 7,0 mm; -7,2 mm; - 7,4 mm

##### **2) - Amígdala central**

Antero-posterior =	- 1,8 mm	-2,3mm
Lateral =	±3,7mm	±4,3mm
Vertical = (crânio)	-8,1mm	-8,5mm



## C) PROCEDIMENTO

O procedimento no treino de esquiva passiva e condicionamento clássico de medo foi o mesmo do experimento I. A diferença nesse experimento ocorreu durante o teste, quando os animais foram divididos em dois grupos (ver Fig. 1):

**GRUPO I: (CA/EP)** - Metade dos animais de cada grupo (controle e experimental) passaram pelo teste no campo-aberto 24 horas e na esquiva passiva 48 horas após o treino.

**GRUPO II: (EP/CA)** - Metade dos animais de cada grupo (controle e experimental) passaram pelo teste na esquiva passiva 24 horas e no campo-aberto 48 horas após o treino.

Resumidamente os grupos podem ser classificados:

- 1- (CA24/EP48) - Campo-aberto 24 horas e esquiva passiva 48 horas após o treino.
- 2- (EP24/CA48) - Esquiva passiva 24 horas e campo-aberto 48 horas após o treino.

O objetivo na mudança do procedimento foi o de avaliar o efeito da lesão tanto 24 horas como 48 horas após o treino nas duas tarefas, bem como a influência do teste de determinada tarefa antes da apresentação de outra. Como exemplo, verificar se o teste no campo-aberto 24 horas após o treino pode influenciar no teste de esquiva passiva no dia seguinte e vice e versa.

## **D) HISTOLOGIA**

O procedimento na histologia foi o mesmo realizado no experimento I. Após análise histológica, o critério de classificação dos grupos foi o seguinte:

### **GRUPO (CA24/EP48) - Fig. 2A**

#### **AMÍGDALA BASOLATERAL**

- 1) Grupo controle (N= 9)** - Nesse grupo foi seguido o mesmo procedimento cirurgico só que não foi feita a lesão
- 2) Grupo basolateral - bilateral (N=6)** - Foram agrupados nesse grupo animais cuja lesão atingiu o núcleo basolateral bilateralmente..Algumas lesões atingiram parcialmente os núcleos basolateral medial, basolateral ventral, o núcleo endopiriforme, o córtex piriforme.
- 3) Grupo basolateral - unilateral (N=7)** - Foram agrupados nesse grupo animais cuja lesão atingiu o núcleo basolateral unilateralmente. Algumas lesões atingiram parcialmente o núcleo lateral da amígdala, o núcleo endopiriforme, o núcleo basolateral medial posterior, o córtex endopirifome.

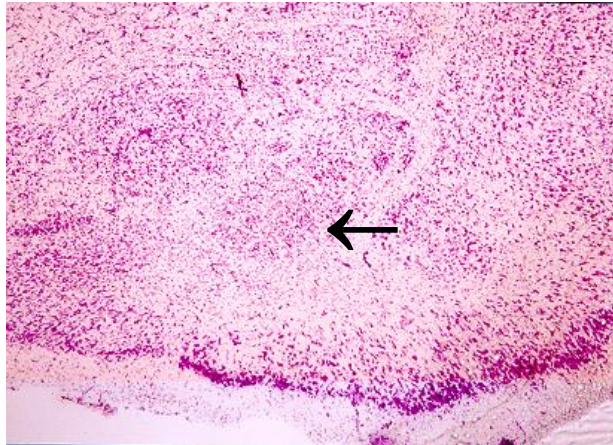
### **GRUPO (EP24/CA48) -Fig.2B**

#### **AMÍGDALA BASOLATERAL**

- 1) Grupo controle (N= 9)** - Nesse grupo foi seguido o mesmo procedimento cirurgico só que não foi feita a lesão
- 2) Grupo basolateral - bilateral (N=4)** - Algumas lesões atingiram parcialmente os núcleos basolateral medial, basolateral ventral, o núcleo endopiriforme, o córtex piriforme.
- 3) Grupo basolateral - unilateral (N=6)** - Algumas lesões atingiram parcialmente o núcleo lateral da amígdala, o núcleo endopiriforme, o núcleo basolateral medial posterior, o córtex endopirifome.

## **AMÍGDALA CENTRAL**

Esse grupo foi eliminado do experimento devido a lesão ter atingido, na maioria dos animais, somente uma pequena parte da amígdala central unilateralmente, enquanto que em outros animais não foi encontrada lesão e em outros a lesão atingiu o núcleo basolateral.



**A foto acima está demonstrando a lesão química no núcleo basolateral da amígdala.**

## **E) RESULTADOS**

Os dados brutos desse experimento podem ser consultados no Anexos II-A, II-B, III-A, III-B.

### **A) Teste de condicionamento clássico de medo (24 horas após o treino)**

#### *A1)- CONGELAMENTO*

A figura 5 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos basolateral-bilateral, basolateral-unilateral e controle, e também não apresentaram interação entre os grupos e a apresentação do som. A única diferença foi em relação ao efeito som intra-grupo (antes do som X após o som) de acordo com a Anova de duas vias: :

Efeito grupo:  $F(2,19) = 0,16$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(1,19) = 373,4$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,19) = 0,76$ ;  $p > 0,05$

Tanto o teste de Newman-Keuls como o teste de Duncan utilizado a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de congelamento, antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som, também não ocorreram diferenças significativas: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ).

Quando comparado o tempo de congelamento antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, ocorre uma diferença significativa dentro de cada grupo, ou seja ocorre um aumento significativo do tempo de congelamento para todos os grupos após a apresentação do som.

## A2) AMBULAÇÃO

A Figura 5 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de ambulação entre os grupos basolateral -bilateral, basolateral - unilateral e controle, e também não apresentaram interação entre os grupos e a apresentação do som. A única diferença foi em relação ao efeito som intra-grupo (antes do som X após o som) de acordo com a Anova de duas vias :

Efeito grupo:  $F(2,19) = 0,6932$ ;  $p > 0,05$

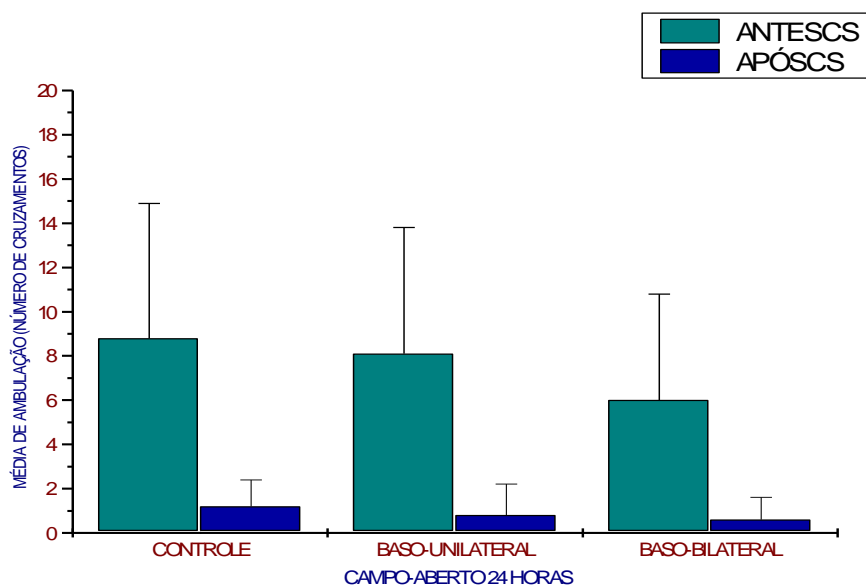
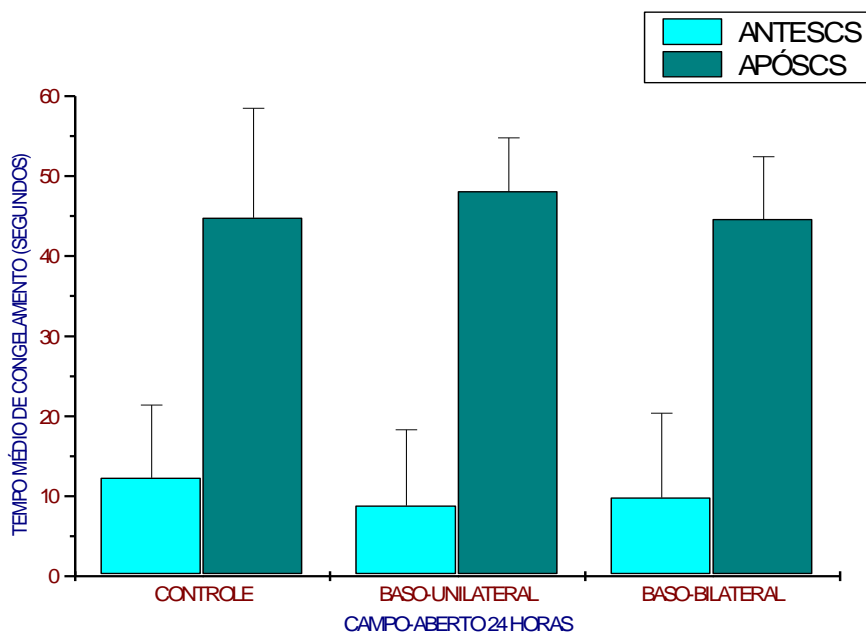
Efeito som:  $F(1,19) = 31,51$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,19) = 13,10$ ;  $p > 0,05$

Tanto o teste de Newman-Keuls como o teste de Duncan utilizados a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de ambulação, antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som, também não ocorreram diferenças significativas: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ).

Comparado a média de ambulação antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, o teste de Duncan revelou diferenças significativas dentro do grupo controle ( $p < 0,05$ ), ou seja ocorreu uma diminuição da ambulação significativa após a apresentação do som. Essa diferença não foi encontrada nos grupos basolateral-bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ). O teste de Newmann Keuls revelou uma tendência de o grupo basolateral- bilateral ser diferente antes e após o som ( $p = 0,07$ ), e uma diferença significativa no grupo basolateral - unilateral ( $p = 0,04$ ).

**Figura 5 -GRUPO (CA 24/EP48)**



Não há diferenças significativas entre os grupos antes e após a apresentação do som (CS) para ambas as medidas de emocionalidade : tempo de congelamento e quantidade de ambulação. A única diferença é em relação ao efeito da apresentação do som dentro de cada grupo para o comportamento de congelamento, a ambulação é diferente somente para o grupo controle. A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.

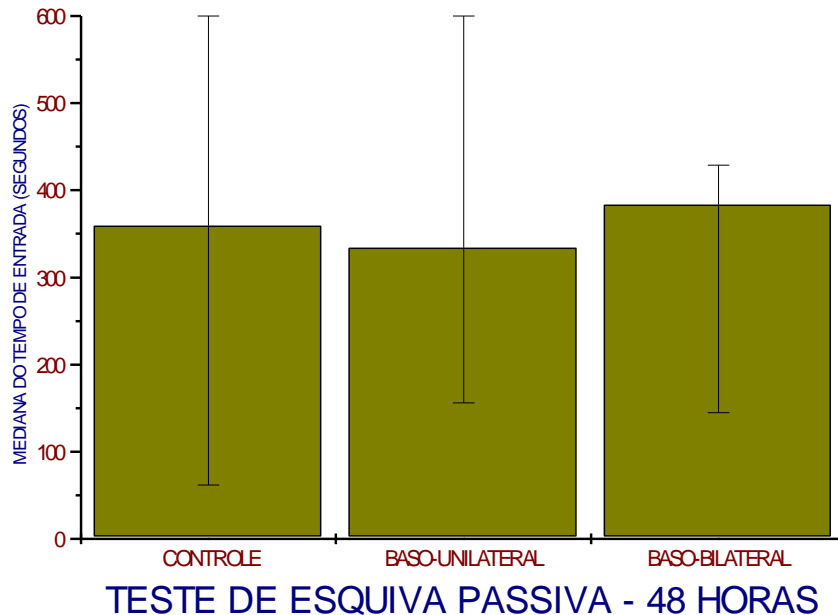
## **B) Teste de esQUIVA passiva (48 horas após o treino)**

A figura 6 demonstra os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esQUIVA passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos ( $H=0,80$ ;  $p>0,05$ ).

O teste U de Mann-Witney realizada a posteriori demonstra não haver diferenças significativas entre o grupo controle e basolateral bilateral ( $p>0,05$ ) e entre o grupo controle e basolateral unilateral ( $p>0,05$ ), e entre o grupo basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p>0,05$ ) em relação ao tempo da latência de entrada no compartimento escuro da esQUIVA passiva.

**Figura 6 -ESQUIVA PASSIVA (48HORAS)**



Não ocorre diferenças significativas entre o tempo de entrada no compartimento escuro no teste de esQUIVA passiva realizado 48 horas após o treino. A variabilidade está expressa em barra de intervalo inter-quartil.

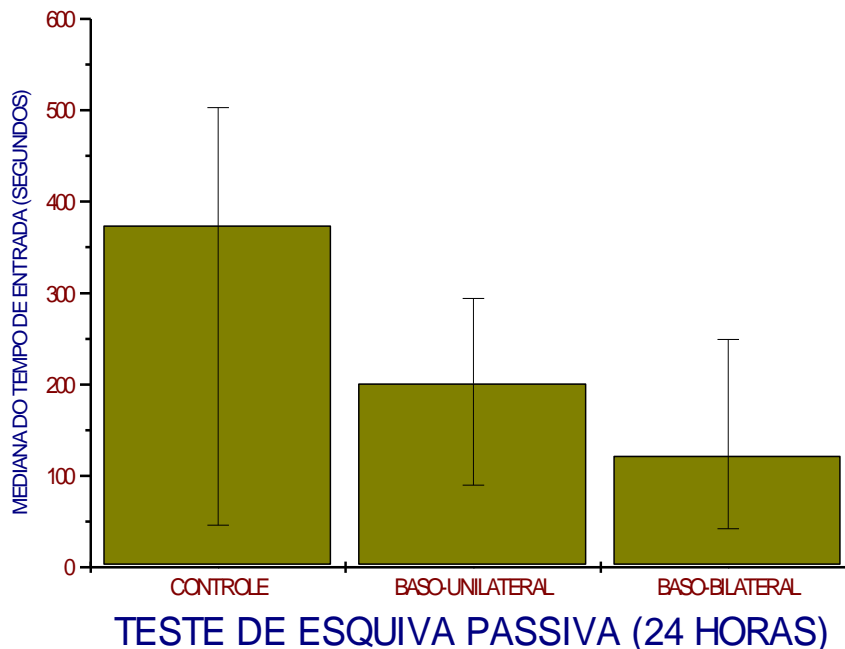
### **C) Teste de esQUIVA passiva (24 horas após o treino)**

A figura 7 demonstra os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esQUIVA passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos ( $H= 1,69$ ;  $p>0,05$ ).

A análise do teste U de Mann-Witney realizada a posteriori também demonstrou não haver diferenças significativas entre o grupo controle e basolateral bilateral ( $p>0,05$ ) e entre o grupo controle e basolateral unilateral ( $p>0,05$ ), e entre o grupo basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p>0,05$ ) em relação ao tempo da latência de entrada no compartimento escuro da esQUIVA passiva..

**Figura 7 - ESQUIVA PASSIVA (24 HORAS)**



Não ocorre diferenças significativas entre o tempo de entrada no compartimento escuro no teste de esQUIVA passiva realizado 48 horas após o treino. A variabilidade está expressada em barra de intervalo inter-quartil.



## **D) Teste de condicionamento clássico de medo (48 horas após o treino)**

### **D1) - CONGELAMENTO**

A figura 8 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos basolateral-bilateral, basolateral-unilateral e controle, e também não apresentaram interação entre os grupos e a apresentação do som. A única diferença foi em relação ao efeito som intra-grupo (antes X após) a apresentação do som de acordo com a Anova de duas vias :

Efeito grupo:  $F(2,16) = 0,42$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(2,16) = 127,9$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,16) = 3,16$ ;  $p > 0,05$

Tanto o teste de Newman-Keuls como o de Duncan utilizados a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de congelamento antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som, também não ocorreram diferenças significativas: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral bilateral e basolateral unilateral ( $p > 0,05$ ).

Comparando o tempo de congelamento antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, ocorreu uma diferença significativa dentro de cada grupo, ou seja ocorreu um aumento significativo do tempo de congelamento para todos os grupos após a apresentação do som.

## D2) AMBULAÇÃO

A figura 8 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de ambulação entre os grupos basolateral -bilateral, basolateral - unilateral e controle, e também não apresentaram interação entre os grupos e a apresentação do som. A única diferença é em relação ao efeito som intra-grupo da medida de ambulação (antes X após) a apresentação do som de acordo com o teste da Anova de duas vias:

Efeito grupo:  $F(2,16) = 0,4591$ ;  $p > 0,05$

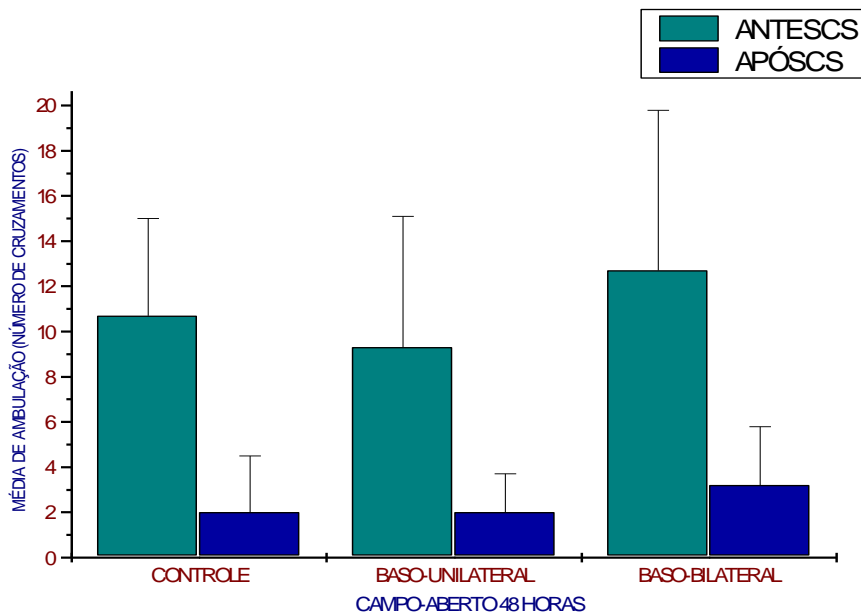
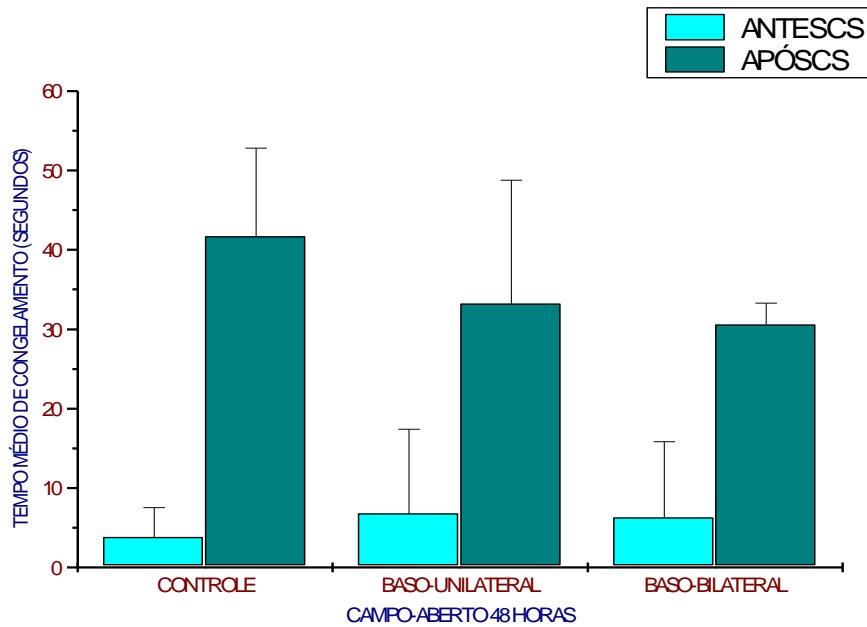
Efeito som:  $F(1,16) = 36,93$   $p < 0,05$

Interação:  $F(2,16) = 0,1964$ ;  $p > 0,05$

Tanto o teste de Newman-Keuls como o teste de Duncan utilizados a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de ambulação, quando comparados antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e basolateral-bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral-unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral-bilateral e basolateral-unilateral ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som também não ocorreram diferenças significativas: Controle e basolateral bilateral ( $p > 0,05$ ), controle e basolateral-unilateral ( $p > 0,05$ ), basolateral -bilateral e basolateral -unilateral ( $p > 0,05$ ).

Comparando a média de ambulação antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, o teste de Duncan revelou diferenças significativas dentro do grupo controle ( $p < 0,05$ ), ocorrendo uma diminuição da ambulação significativa após a apresentação do som. Essa diferença não foi encontrada nos grupos basolateral-bilateral ( $p = 0,06$ ), mas foi no grupo basolateral-unilateral ( $p < 0,05$ ). O teste de Newmann-Keuls revelou uma diferença significativa entre todos os grupos antes e após a apresentação do som ( $p < 0,05$ ).

**Figura 8 -GRUPO (EP24/CA48)**



Não há diferenças significativas entre os grupos antes e após a apresentação do som (CS) para ambas as medidas de emocionalidade : tempo de congelamento e quantidade de

**ambulação. A única diferença é em relação ao efeito da apresentação do som dentro de cada grupo para ambos os comportamentos. A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.**

## **E)- Comparação entre (24horas versus 48 horas) nos modelo de condicionamento clássico de medo**

### **E1) CONGELAMENTO**

A figura 9 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos basolateral-bilateral, basolateral-unilateral e controle, e também não apresentaram interação entre os grupos e a apresentação do som. A única diferença foi em relação ao efeito som intra-grupo ( antes X após) a apresentação do som acordo com a Anova de duas vias, quando comparado todos os grupos 24horas + 48 horas, ou seja, controle 24horas + controle 48horas, basolateral-bilateral 24 horas + basolateral -bilateral 48horas, basolateral-unilateral 24 horas + basolateral-unilateral 48 horas.

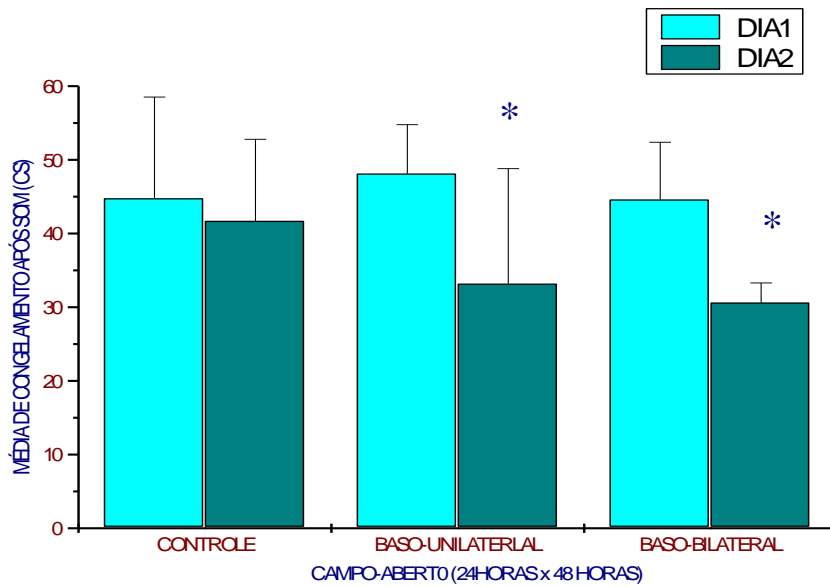
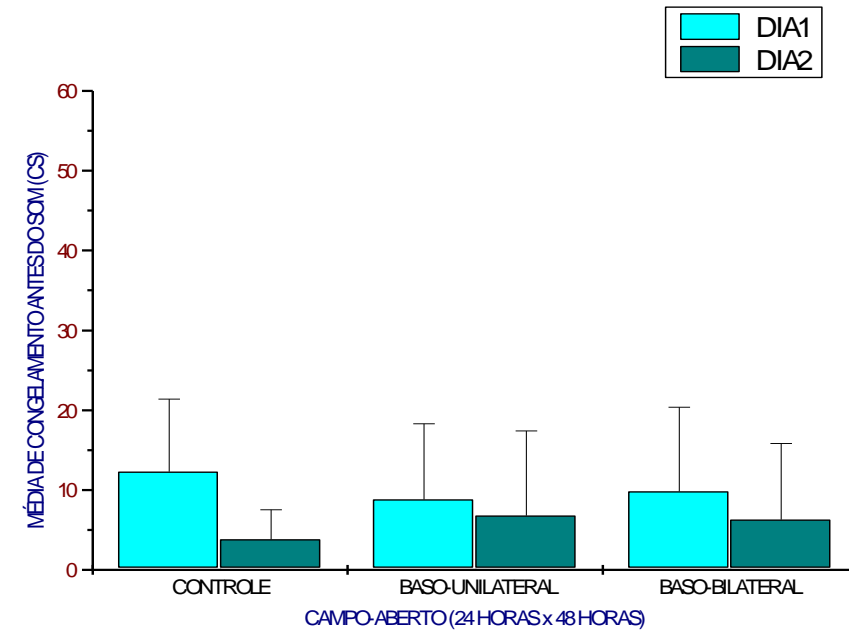
Efeito grupo:  $F(5,35) = 1,7581$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(1,35) = 433,08$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(5,35) = 2,08$ ;  $p > 0,05$

Os testes a posteriori de Duncan e Newman-Keuls demonstraram que antes da apresentação do som não houve diferenças significativas para a medida de congelamento entre os grupos controle, basolateral-bilateral e basolateral- unilateral, quando comparados o experimento realizado no dia 1 com o dia 2 (controle 24 horas X controle 48 horas, basolateral-bilateral 24 horas X basolateral bilateral 48 horas, basolateral-unilateral 24 horas X basolateral-unilateral 48 horas). Note que esses grupos não são representados pelos mesmos animais. Após a apresentação do som também não houve diferenças significativas entre os grupos controles ( $p > 0,05$ ). Mas existem diferenças nessa medida entre 24 horas e 48horas após o treino nos grupos basolateral-unilateral e basolateral-bilateral ( $p < 0,05$ ).

**Figura 9 -GRUPO (CA24 X CA48)**



Não ocorre diferenças significativas entre os grupos controle, basolateral-unilateral e basolateral-bilateral quando comparados em experimentos diferentes realizados 24 horas e 48 horas após o treino para a medida de congelamento antes do som.

\* quando ocorre diferença significativa no mesmo grupo, comparado com o dia 1.

A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão

## E2) AMBULAÇÃO

A figura 10 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de ambulação entre os grupos basolateral-bilateral, basolateral-unilateral e controle, e também não apresentaram diferenças na interação entre os grupos e o som. A única diferença foi em relação ao efeito som intra-grupo (antes X após) a apresentação do som de acordo com a Anova de duas vias, quando comparado todos os grupos 24 horas + 48 horas, ou seja, controle 24 horas + controle 48 horas; basolateral-bilateral 24 horas + basolateral-bilateral 48 horas; basolateral-unilateral 24 horas + basolateral-unilateral 48 horas.

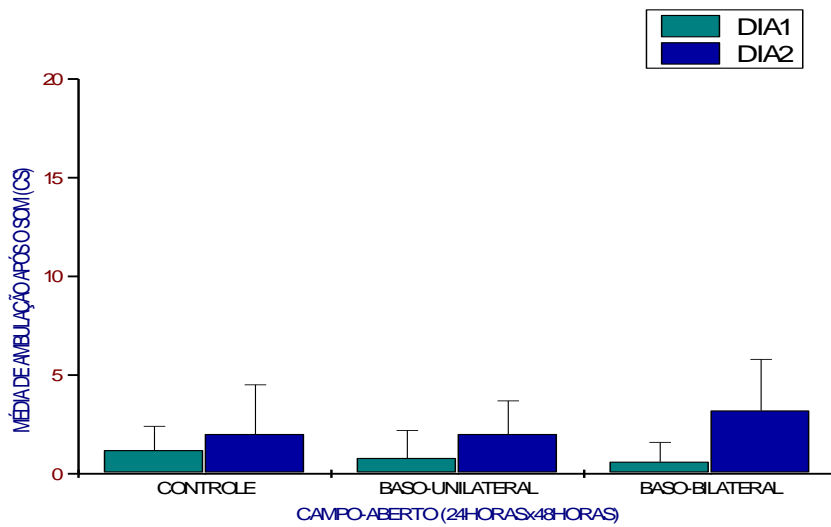
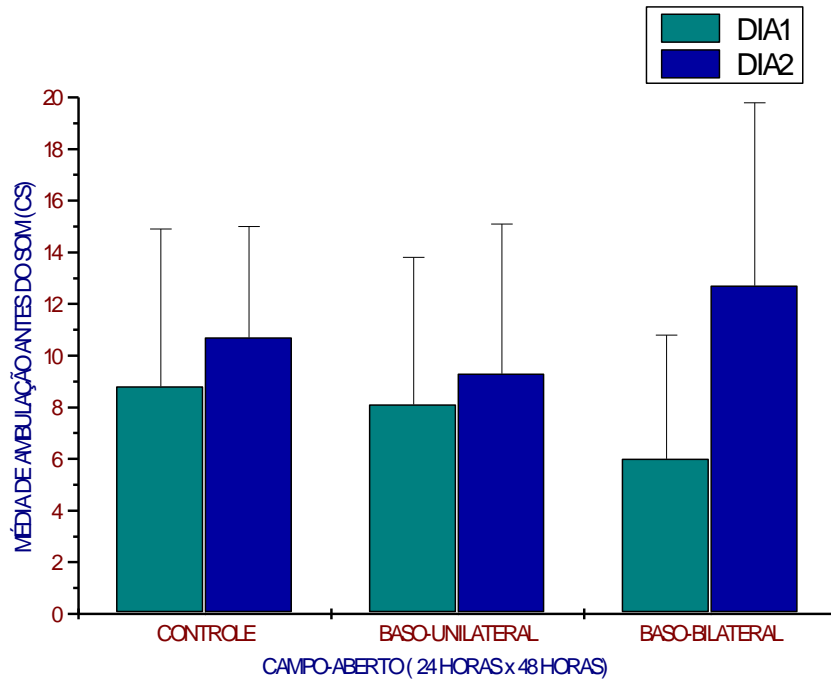
Efeito grupo:  $F(5,35) = 1,5935$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(1,35) = 69,66$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(5,35) = 0,5458$ ;  $p > 0,05$

Os testes a posteriori de Duncan e Newman-Keuls demonstraram que antes da apresentação do som não houve diferenças significativas para a medida de ambulação entre os grupos controle, basolateral-bilateral e basolateral-unilateral, quando comparados o experimento realizado no dia 1 com o dia 2 (controle 24 horas X controle 48 horas, basolateral-bilateral 24 horas X basolateral-bilateral 48 horas, basolateral-unilateral 24 horas X basolateral-unilateral 48 horas). Note que esses grupos não são representados pelos mesmos animais. Após a apresentação do som também não houve diferenças significativas entre os grupos, quando comparados o experimento realizado no dia 1 com o dia 2 ( $p > 0,05$ ).

**Figura 10 -GRUPO (CA24 X CA48)**



Não ocorre diferenças significativas entre os grupos controle, basolateral-unilateral e basolateral-bilateral quando comparados em experimentos diferentes realizados 24 horas e 48 horas após o treino para a medida de ambulação. A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.

### **E)- Comparação entre (24horas versus 48 horas) nos modelo de esquiva passiva**

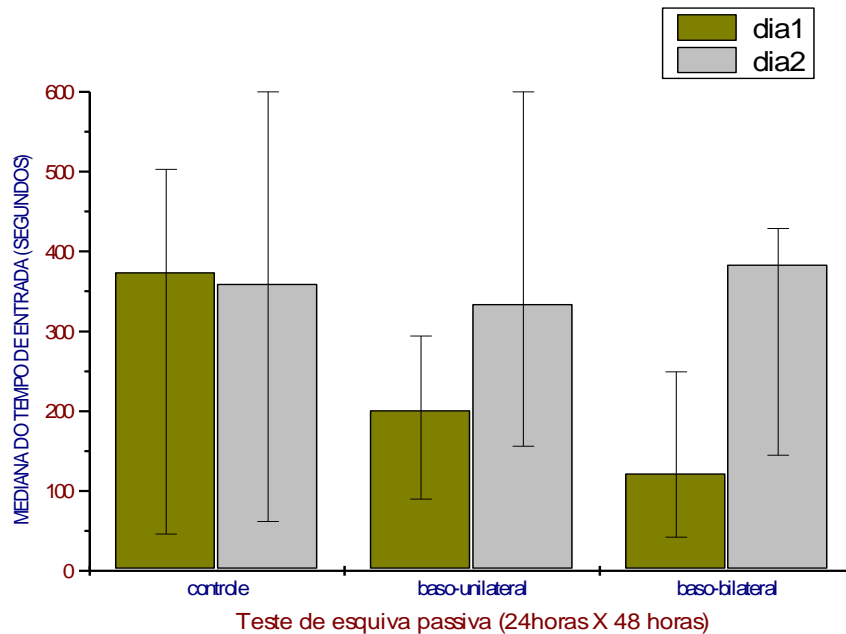
A figura 11 demonstra os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esquiva passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos ( $H= 3,1663$ ;  $p>0,05$ ).

O teste de Mann-Witney não revelou em relação ao tempo de latência de entrada no compartimento escuro, diferenças entre os grupos controle, basolateral -unilateral e basolateral-bilateral, quando comparados o experimento realizado 24 horas após o treino com o experimento realizado 48 horas após o treino, ou seja, controle 24 horas X controle 48 horas, basolateral-bilateral 24 horas X basolateral bilateral 48 horas, basolateral-unilateral 24 horas X basolateral-unilateral 48 horas ( $p>0,05$ ).



## **Figura 11- TESTE DE ESQUIVA PASSIVA (dia 1 X dia 2)**



**Não ocorre diferenças significativas entre os grupos testados em experimentos diferentes 24 horas e 48 horas após o teste. A variabilidade está expressada em intervalo interquartil.**

## **F) CONCLUSÃO**

Os ratos com lesão neurotóxica foram agrupados de acordo com a localização da lesão, bilateralmente nos dois hemisférios cerebrais e unilateralmente apenas em um lado do cérebro, podendo ser o lado direito ou o lado esquerdo.

Como pode ser notado a lesão química por ácido ibotênico na amígdala basolateral tanto bilateralmente como unilateralmente não causa nenhum prejuízo nas duas tarefas de esquiava passiva e condicionamento clássico de medo. O teste de condicionamento clássico de medo realizado tanto 24 horas como 48 horas após o treino, medido através do tempo de congelamento e quantidade de ambulação não apresenta diferenças em nenhum dos grupos

experimentais em relação ao grupo controle. O mesmo se deve ao teste de esquiva passiva, ou seja, não ocorrem diferenças entre os grupos testados em dois experimentos diferentes: 24 horas e 48 horas após o treino, quando os grupos experimentais são comparados com o grupo controle. Porém ocorrem diferenças da medida de congelamento após a apresentação do som entre os grupos (basolateral-bilateral 24 horas e basolateral-bilateral 48 horas) e grupos (basolateral-unilateral 24 horas e basolateral unilateral 48 horas). Talvez a diminuição do tempo médio de congelamento 48 horas após o treino deva-se a um maior decaimento da curva de retenção da tarefa do grupo lesado.

Somente um rato com lesão atingindo a amígdala lateral bilateralmente apresentou uma drástica diminuição no tempo de congelamento após o som no teste de condicionamento clássico de medo, junto com uma diminuição da latência de entrada no teste de esquiva passiva. De acordo com Romanski e colaboradores (1993), LeDoux (1992) e Fridel e LeDoux (1996) a amígdala lateral é uma área sensorial que recebe fibras aferentes do tálamo auditivo e córtex, onde a amígdala central é uma área de resposta. As aferências da amígdala lateral pode dirigir-se diretamente para o núcleo central, ou pode passar através do núcleo basolateral e basomedial. Lesões nessas estruturas poderia afetar o condicionamento.

Nossos resultados falharam em obter um grupo satisfatório com lesão neurotóxica atingindo a amígdala central. Os resultados com na amígdala central são somente do experimento I, onde a lesão eletrolítica afetou os testes de condicionamento clássico de medo e esquiva passiva.

A amígdala central seria extremamente necessária para integrar o processo de aprendizagem emocional em tarefas aversivas, entretanto a amígdala basolateral não parece ser essencial nesse processo. Nossos resultados são contraditórios aqueles descritos por Campeau e Davis (1995), no qual pré ou pós treino de animais com lesão eletrolítica ou por N.M.D.A. no núcleo basolateral bloqueia a tarefa de sobressalto potencializado pelo medo em várias modalidades de estímulo condicionado, sugerindo ser esse núcleo um importante “relay” da informação sensorial de áreas corticais e subcorticais para

o núcleo central da amígdala. Nesse estudo, entretanto, as lesões não estavam restritas somente ao núcleo basolateral, atingindo também o núcleo lateral.

A amígdala basolateral e a amígdala lateral parecem estar associadas com eventos apetitivos, enquanto a amígdala central com eventos aversivos (McDonald and White, 1993).

A amígdala recebe projeções do hipocampo através dos núcleos basal e acessório basal. Lesões no núcleo acessório basal prejudicam a tarefa de condicionamento contextual, mas não ao som (Pelli e LeDoux, 1996; Fridel e LeDoux, 1996).

Poucos animais apresentavam lesões atingindo o núcleo acessório basal, mas a quantidade de animais não foram suficientes para fazer uma comparação. Em relação a lesão eletrolítica atingindo a amígdala basolateral, alguns animais apresentaram também lesão no núcleo acessório basal, mas não suficiente para prejudicar a tarefa de condicionamento contextual de medo.

#### **4) EXPERIMENTO III**

##### **A) OBJETIVO**

O objetivo desse experimento foi de avaliar o efeito de lesões eletrolíticas no hipocampo dorsal nas tarefas de esquiva passiva e de condicionamento clássico de medo.

##### **B) MATERIAIS E MÉTODOS**

A metodologia utilizada foi a mesma no experimento I, a não ser diferenças na intensidade da lesão. As lesões eletrolíticas foram realizadas através de eletrodos de aço inoxidável, encapadas com verniz isolante e desencapadas na extremidade (0,5 mm). A intensidade da corrente anódica nas lesões foi de 2 mA/20 seg.

As coordenadas utilizadas foram de acordo com o atlas de Watson e Paxinos ( ): :

Antero-posterior (bregma) = - 4.1mm
Lateral = $\pm$ 4.0mm / $\pm$ 2.0mm

### **C) PROCEDIMENTO**

O procedimento foi o mesmo utilizado no experimento II, ou seja, realizado em dois grupos (CA24/EP48) e (EP24/CA48), ver Fig.1.

### **D) HISTOLOGIA**

O procedimento histológico foi o mesmo utilizado em experimentos anteriores. Após análise histológica, o critério de classificação dos grupos foi o seguinte:

#### **GRUPO - (CA 24/ EP 48) - Fig. 2A**

**1) Grupo controle (N= 11 )** - Nesse grupo foi seguido o mesmo procedimento cirúrgico só que não foi feita a lesão.

**2) Hipocampo dorsal ( N= 8 )** - A lesão está localizada no hipocampo dorsal, atingindo CA1,CA2,CA3, giro denteado. A maior parte das lesões não atingem o tálamo.

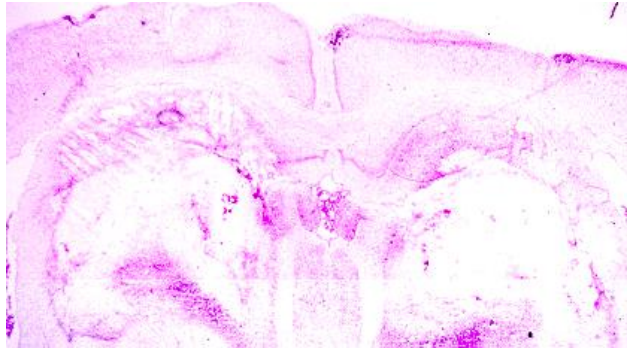
**3) Hipocampo + Tálamo (N= 4)** - A maior parte das lesões atingem além do hipocampo, a estrutura talâmica.

#### **GRUPO - ( EP 24 / CA 48) - Fig. 2B**

**1) Grupo controle (N= 12 )** - Nesse grupo foi seguido o mesmo procedimento cirúrgico só que não foi feita a lesão.

**2) Hipocampo dorsal ( N= 6 )** --A lesão está localizada no hipocampo dorsal, atingindo CA1,CA2,CA3, giro denteado. A maior parte das lesões não atingem o tálamo.

**3) Hipocampo + Tálamo (N= 6)** - A maior parte das lesões atingem além do hipocampo, a estrutura talâmica.



A foto acima está demonstrando a lesão eletrolítica atingindo o hipocampo e tálamo.

## E ) RESULTADOS

Os dados brutos desse experimento podem ser consultados nos Anexos IV e V.

### A) Teste de condicionamento clássico de medo (24 horas após o treino)

#### A1) CONGELAMENTO

A figura 11 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentam diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos hipocampo, controle e hipocampo + tálamo, mas apresentam diferenças na interação entre os grupos e a apresentação do estímulo sonoro condicionado e diferenças em relação ao efeito som, ou seja diferenças comparadas antes e após a apresentação do som de acordo com a Anova de duas vias :

Efeito grupo:  $F(2,19) = 0,26$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(1,19) = 20,9$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,19) = 3,90$ ;  $p < 0,05$

O teste de Newman-Keuls como o teste de Duncan utilizados a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de congelamento, quando comparados antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e hipocampo ( $p > 0,05$ ), controle e hipocampo + tálamo ( $p > 0,05$ ), hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som , também não ocorre diferenças significativas: Controle e hipocampo ( $p > 0,05$ ), controle e hipocampo+tálamo ( $p > 0,05$ ), hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p > 0,05$ ).

Quando comparado o tempo de congelamento antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, ocorre uma diferença significativa (intra-grupo), ou seja ocorre um aumento significativo do tempo de congelamento para o grupo controle após a apresentação do som. Os grupos hipocampo e grupo hipocampo+tálamo não apresentam diferenças quanto ao tempo de congelamento comparando-se antes com após a apresentação do som.

## A2) AMBULAÇÃO

A figura 11 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de ambulação entre os grupos hipocampo, controle e hipocampo + tálamo, apesar de apresentarem uma tendência a serem diferentes, também não apresentaram diferenças na interação entre os grupos e a apresentação do estímulo sonoro condicionado e nem em relação ao efeito som (antes X após) a apresentação do som de acordo com a Anova de duas vias :

Efeito grupo:  $F(2,19) = 3,1144$ ;  $p = 0,06$

Efeito som:  $F(1,19) = 1,0691$ ;  $p > 0,05$

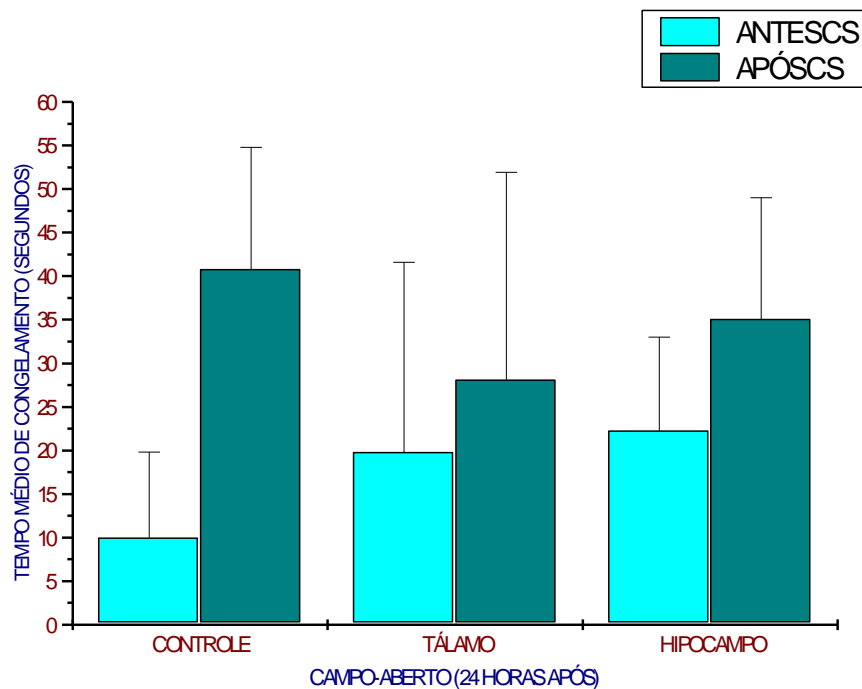
Interação:  $F(2,19) = 1,5319$ ;  $p > 0,05$

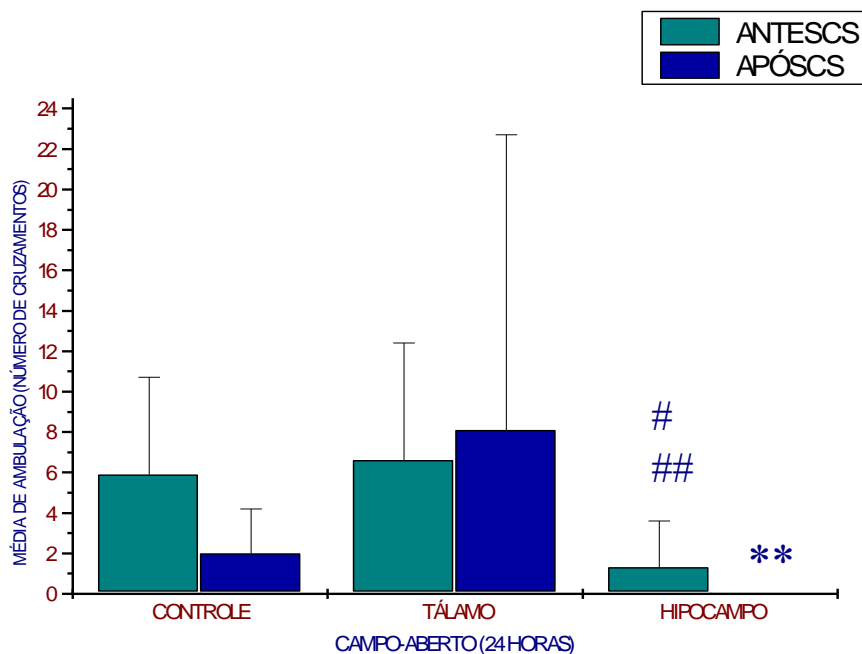
O teste de Newman-Keuls utilizado a posteriori demonstrou não haver diferenças significativas para a medida de ambulação, quando comparados antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: controle e hipocampo + tálamo ( $p > 0,05$ ), mas os grupos hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p < 0,05$ ) e Controle e hipocampo ( $p < 0,05$ ), são significativamente diferentes. O teste de Duncan antes do som não aponta diferenças entre as comparações controle e hipocampo ( $p = 0,09$ ), controle e hipocampo+tálamo ( $p > 0,05$ ); hipocampo e hipocampo +tálamo ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som o teste de Newman-Keuls demonstra não existir diferença na ambulação entre os grupos Controle e hipocampo ( $p > 0,05$ ), mas ocorre diferença significativa entre os grupos hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p < 0,05$ ). Os grupos controle e hipocampo+tálamo ( $p > 0,06$ ), apresentam uma tendência a serem diferentes. O teste de Duncan revela não existir diferenças

significativas após a apresentação do som entre os grupos controle e hipocampo ( $p>0,05$ ); controle e hipocampo+ tálamo ( $p>0,05$ ); hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p>0,05$ ).

Quando comparado a ambulação antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, ocorre uma diferença significativa do grupo, ou seja ocorre uma diminuição significativa da média de ambulação para o grupo controle após a apresentação do som. Os grupos hipocampo e grupo hipocampo+tálamo não apresentam diferenças quanto a média de ambulação comparando-se antes com após a apresentação do som, tanto no teste de Newman-Keuls como para o teste de Duncan.

**Figura 11-GRUPO (CA24/EP48)**





# Diferença significativa quando comparado com o controle antes do som  
 ## Diferença quando comparado com o grupo hipocampo + tálamo (antes do som).  
 \*\* Diferença quando comparado com o grupo hipocampo + tálamo (após o som).  
 A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.

**B) Teste de esquiva passiva (48 horas após o treino)**

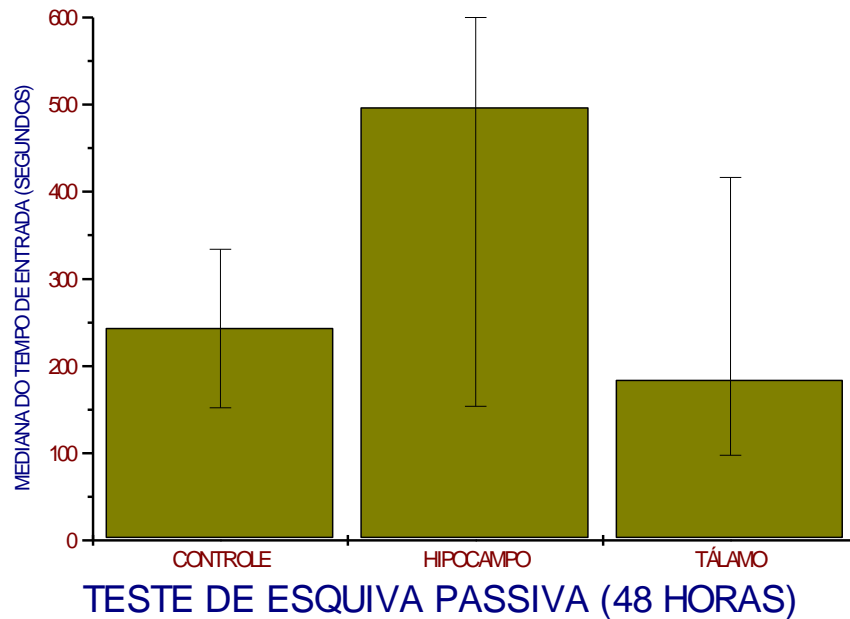
A figura 12 demonstra os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esquiva passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos ( $H=1,63$ ;  $p>0,05$ ).

O teste U de Mann-Witney realizado a posteriori demonstrou não haver diferenças significativas entre o grupo controle e hipocampo ( $p>0,05$ ) ; entre o grupo controle e hipocampo + tálamo ( $p>0,05$ ), e entre o grupo hipocampo e hipocampo + tálamo( $p>0,05$ ) em relação ao tempo da latência de entrada no compartimento escuro da esquiva passiva.



## **Figura 12 - ESQUIVA PASSIVA (48 horas após o treino)**



Não ocorrem diferenças significativas entre o tempo de entrada no compartimento escuro no teste de esquiva passiva realizado 48 horas após o treino. A variabilidade está expressa em barra de intervalo inter-quartil.

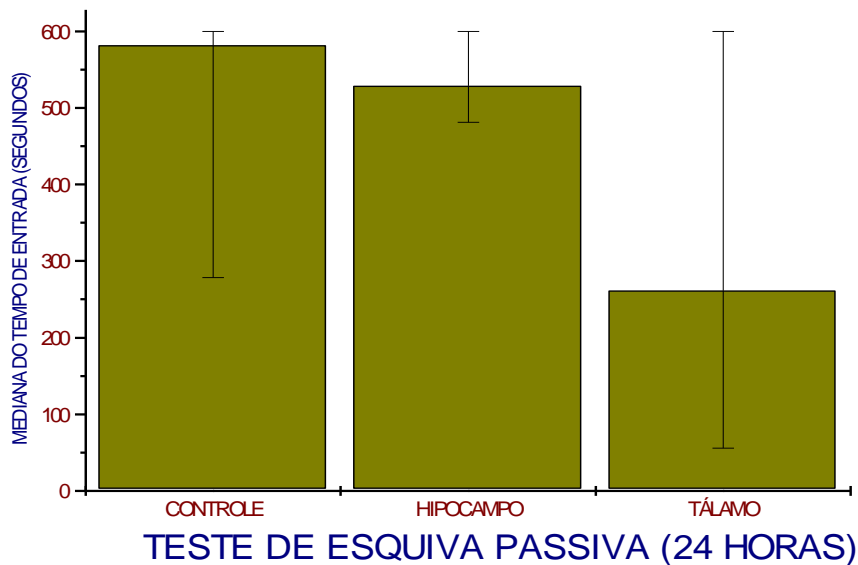
### **C) Teste de esquiva passiva (24 horas após o treino)**

A figura 13 demonstra os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esquiva passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos ( $H=0,8510$   $p>0,05$ ).

O teste U de Mann-Witney realizado a posteriori demonstrou não haver diferenças significativas entre o grupo controle e hipocampo ( $p>0,05$ ); entre o grupo controle e hipocampo+tálamo ( $p>0,05$ ), e entre o grupo hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p>0,05$ ) em relação ao tempo da latência de entrada no compartimento escuro da esquiva passiva..

**Figura 13 - ESQUIVA PASSIVA (24 horas após o treino)**



Não ocorrem diferenças significativas entre o tempo de entrada no compartimento escuro no teste de esquiva passiva realizado 24 horas após o treino. A variabilidade está expressa em barra de intervalo inter-quartil.

#### **D) Teste de condicionamento clássico de medo (48 horas após o treino)**

##### **D1) CONGELAMENTO**

A figura 14 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos hipocampo, controle e hipocampo + tálamo,

mas apresentam diferenças na interação entre os grupos e a apresentação do estímulo sonoro condicionado e diferenças em relação ao efeito som, ou seja diferenças comparadas antes e após a apresentação do som de acordo com a Anova de duas vias:

Efeito grupo:  $F(2,21) = 1,02$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(1,21) = 58,8$ ;  $p < 0,05$

Interação:  $F(2,21) = 5,82$ ;  $p < 0,05$

Tanto o teste de Newman-Keuls como o teste de Duncan utilizados a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de congelamento, quando comparados antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e hipocampo ( $p > 0,05$ ), controle e hipocampo + tálamo ( $p > 0,05$ ), hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p > 0,05$ ). Após a apresentação do som, também não ocorrem diferenças significativas entre os grupos controle e hipocampo ( $p > 0,05$ ), mas apresentam diferenças significativas em relação ao tempo de congelamento os grupos hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p < 0,05$ ) e controle e hipocampo+tálamo ( $p \leq 0,05$ ). O teste t de student também demonstrou essa diferença, quando o grupo hipocampo + tálamo é comparado com o controle.

Quando comparado o tempo de congelamento antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado, ocorreu uma diferença significativa dentro do grupo controle e hipocampo, somente o grupo tálamo + hipocampo não apresenta essa diferença.

## D2) AMBULAÇÃO

A figura 14 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de ambulação entre os grupos hipocampo, controle e hipocampo + tálamo, e também não apresentaram interação entre os grupos e o som, mas apresentaram diferenças significativas no efeito som intra-grupo (antes X após) a apresentação do som de acordo com a Anova de duas vias:

Efeito grupo:  $F(2,21) = 0,7181$ ;  $p > 0,05$

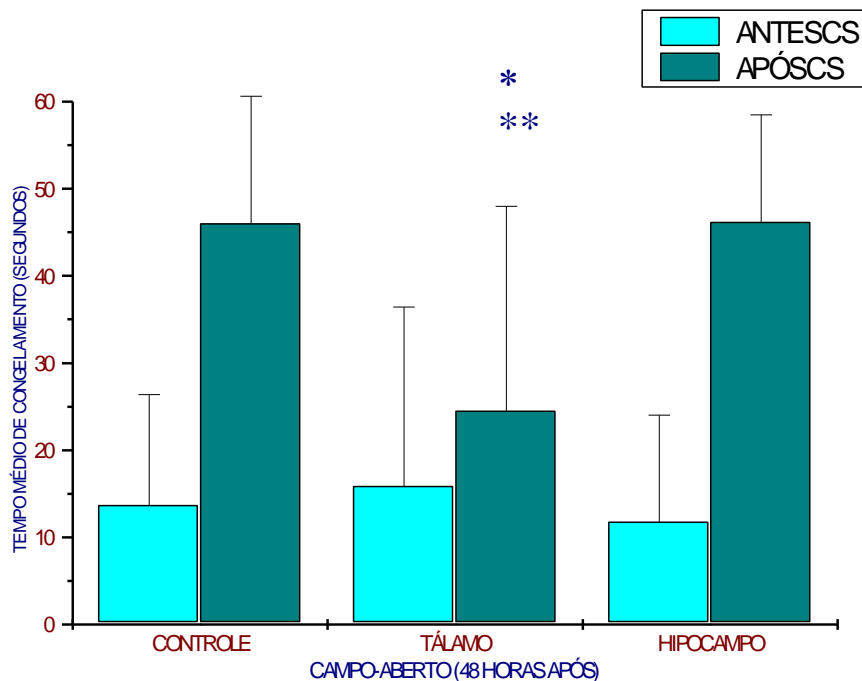
Efeito som:  $F(1,21) = 8,3986$ ;  $p < 0,05$

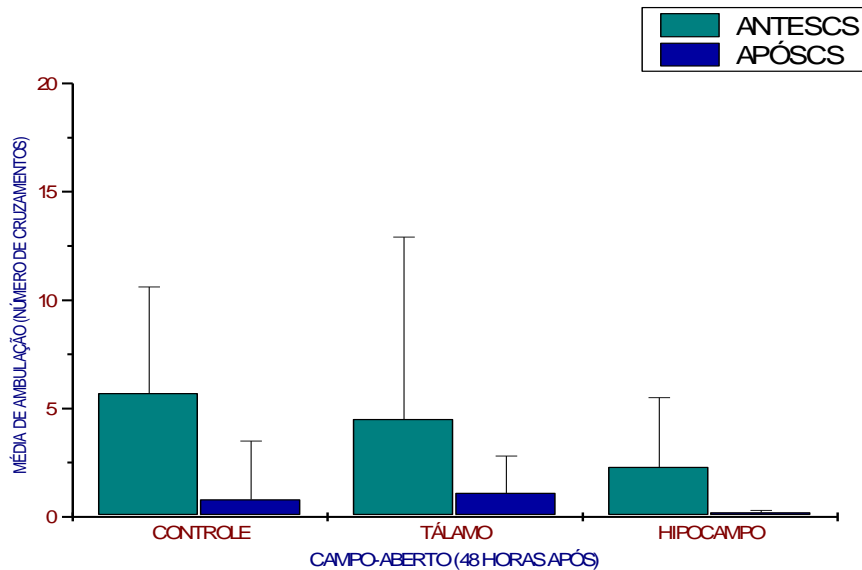
Interação:  $F(2,21) = 0,5010$   $p > 0,05$

Tanto o teste de Newman-keuls como o teste de Duncan utilizados a posteriori demonstraram não haver diferenças significativas para a medida de ambulação, comparando antes da apresentação do estímulo sonoro condicionado entre os seguintes grupos: Controle e hipocampo ( $p>0,05$ ), controle e hipocampo + tálamo ( $p>0,05$ ), hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p>0,05$ ). Após a apresentação do som, também não ocorreram diferenças significativas para os grupos controle e hipocampo ( $p>0,05$ ); hipocampo e hipocampo+tálamo ( $p>0,05$ ) e controle e hipocampo+tálamo ( $p >0,05$ ).

Comparando o tempo de congelamento antes e após a apresentação do estímulo sonoro condicionado o teste de Newmann-Keuls revelou ocorrer uma diferença significativa dentro do grupo controle, mas não do grupo hipocampo e grupo hipocampo + tálamo. O teste de Duncan não revelou essa diferença em nenhum dos grupos antes e após a apresentação do som.

**Figura 14 -GRUPO (EP24/CA48)**





**\*Diferença significativa quando comparado com o controle após a apresentação do som.**  
**\*\* Diferença significativa quando comparado ao grupo hipocampo após o som.**  
**Existem diferenças em relação ao efeito da apresentação do som dentro grupos controle e hipocampo para ambos os comportamentos. A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.**

### E)- Comparação entre grupos (24horas versus 48 horas) nos modelos de condicionamento clássico de medo

#### E1) CONGELAMENTO

A figura 15 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de congelamento entre os grupos hipocampo, controle e hipocampo + tálamo, mas apresentam diferenças na interação entre os grupos e a apresentação do estímulo sonoro condicionado e diferenças em relação ao efeito som intra-grupo, ou seja diferenças comparadas antes e após a apresentação do som nos grupos 24horas + 48 horas (controle 24horas + controle 48 horas, hipocampo 24 horas + hipocampo 48 horas, hipocampo+tálamo 24 horas + hipocampo +tálamo 48 horas) após o treino de acordo com o teste da Anova :

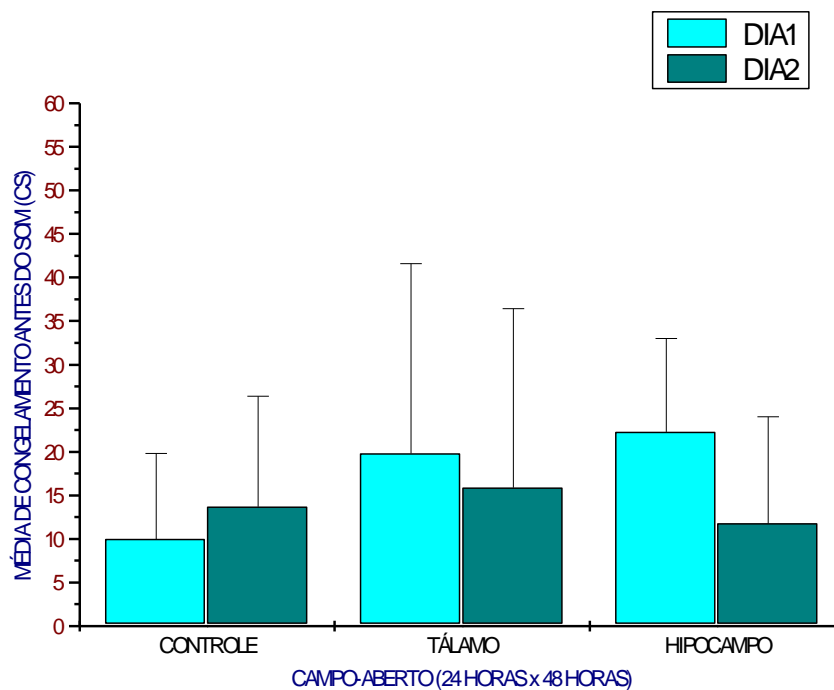
Efeito grupo:  $F(5,40) = 0,5674$ ;  $p > 0,05$

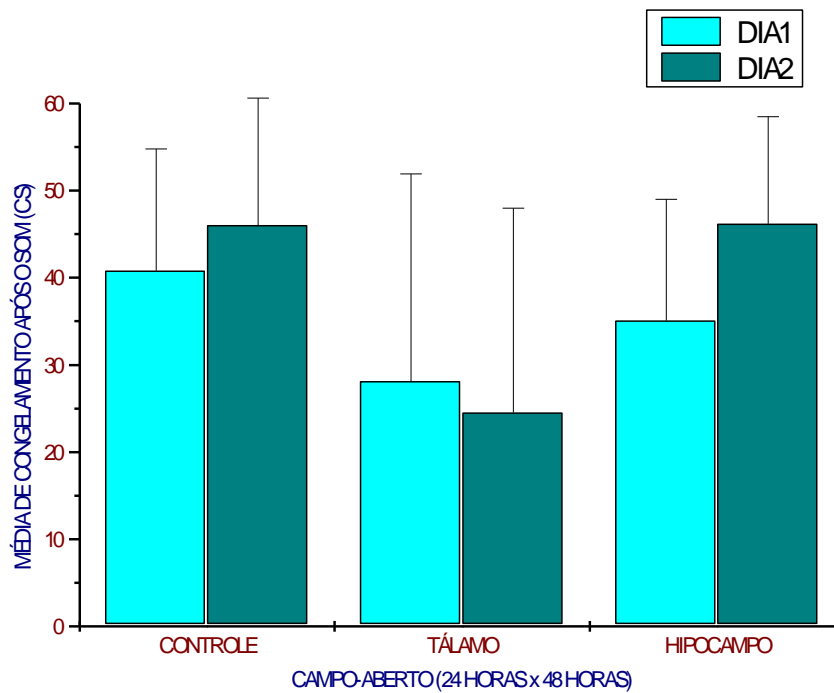
Efeito som:  $F(1,40) = 72,55$   $p < 0,05$

Interação:  $F(5,40) = 4,25$   $p < 0,05$

Os testes realizados a posteriori t de Student, Newman-Keuls e Duncan demonstraram que antes da apresentação do som não houve diferenças significativas para a medida de congelamento entre os grupos controle, hipocampo, hipocampo + tálamo, quando comparados o experimento realizado no dia 1 com o dia 2, ou seja, controle 24 horas X controle 48 horas; hipocampo 24 horas X hipocampo 48 horas; hipocampo + tálamo 24 horas x hipocampo + tálamo 48 horas. Note que esses grupos não são representados pelos mesmos animais. Após a apresentação do som, também não ocorreram diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

**Figura 15 - GRUPO (CA 24 X CA48)**





**Não ocorre diferenças significativas entre os grupos controle, hipocampo, hipocampo + tálamo quando comparados em experimentos diferentes realizados 24 horas e 48 horas após o treino para a medida de congelamento. A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.**

## E2) AMBULAÇÃO.

A figura 16 demonstra os seguintes resultados:

Os resultados não apresentaram diferenças significativas na medida de ambulação entre os grupos hipocampo, controle e hipocampo + tálamo e também não apresentaram diferenças na interação entre os grupos e a apresentação do estímulo sonoro condicionado. A única diferença foi em relação ao efeito som intra-grupo, ou seja diferenças comparadas antes e após a apresentação do som nos grupos 24 horas + 48 horas (controle 24 horas + controle 48 horas, hipocampo 24 horas + hipocampo 48 horas, hipocampo+tálamo 24 horas + hipocampo +tálamo 48 horas) após o treino de acordo com o teste da Anova :

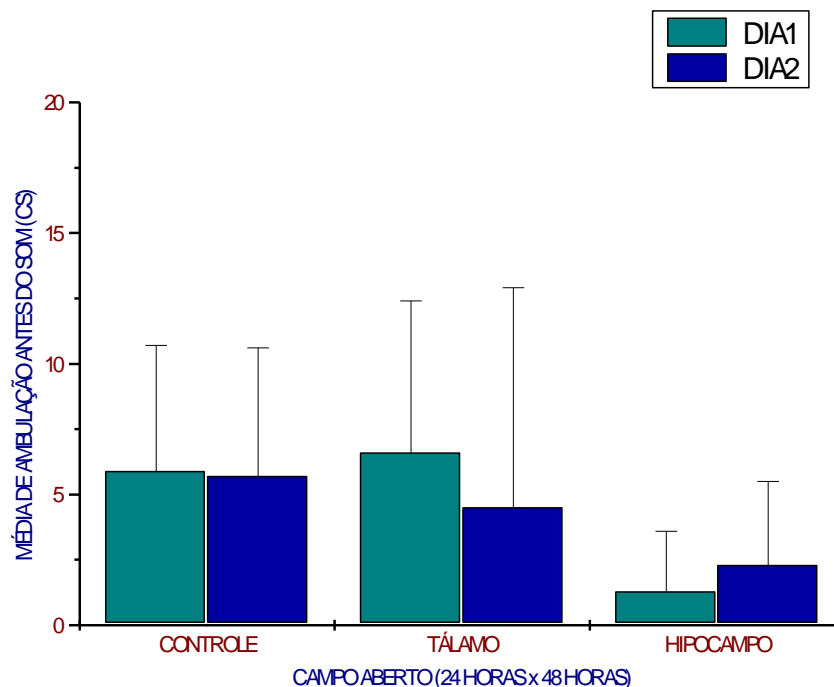
Efeito grupo:  $F(5,40) = 1,9375$ ;  $p > 0,05$

Efeito som:  $F(1,40) = 7,6203$   $p < 0,05$

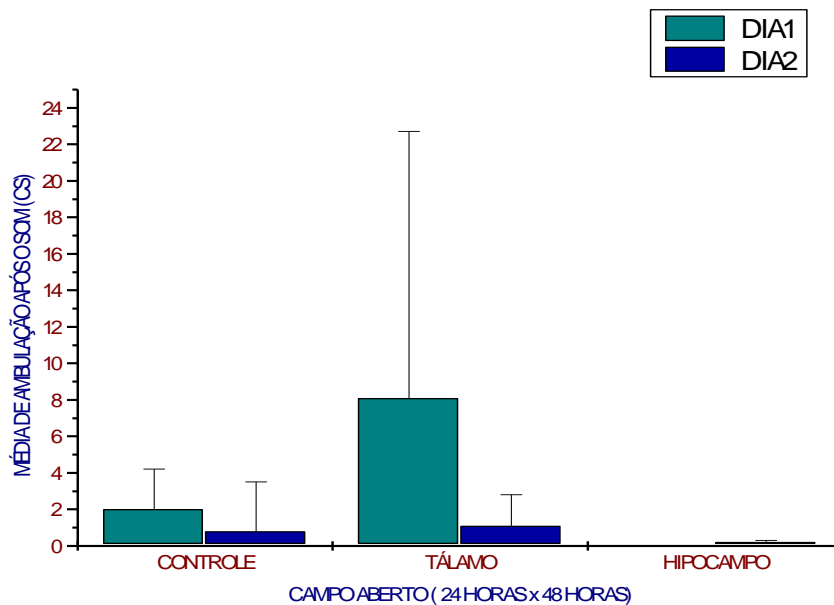
Interação:  $F(5,40) = 1,0503$   $p > 0,05$

Os testes realizados a posteriori de Newman-Keuls e Duncan demonstraram que antes da apresentação do som não houve diferenças significativas para a medida de ambulação entre os grupos controle, hipocampo, hipocampo + tálamo, quando comparados o experimento realizado no dia 1 com o dia 2, ou seja, controle 24 horas X controle 48 horas; hipocampo 24 horas X hipocampo 48 horas; hipocampo + tálamo 24 horas x hipocampo + tálamo 48 horas. Note que esses grupos não são representados pelos mesmos animais. Após a apresentação do som, também não ocorreram diferenças significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

**Figura 16 - GRUPO (CA 24 X CA48)**







**Não ocorrem diferenças significativas entre os grupos controle, hipocampo, hipocampo + tálamo quando comparados em experimentos diferentes realizados 24 horas e 48 horas após o treino para a medida de ambulação. A variabilidade está expressa em barra de desvio padrão.**

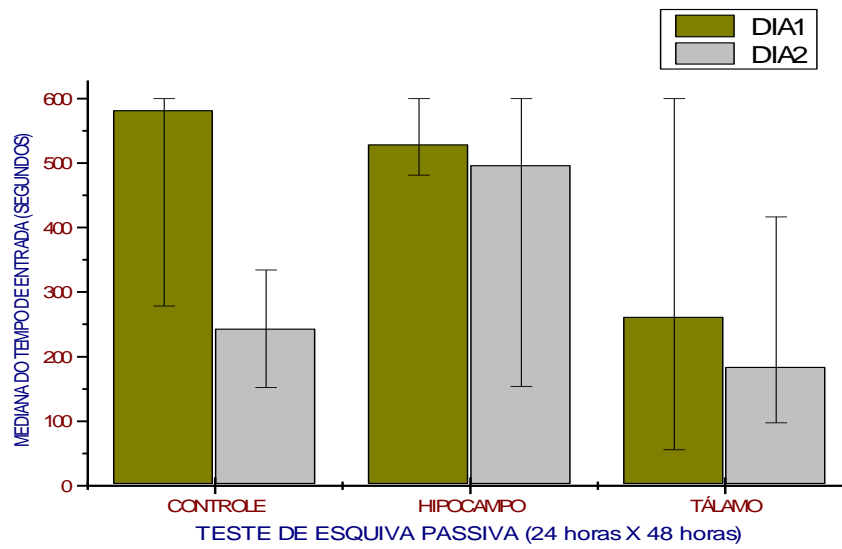
### **F)- Comparação entre grupos (24horas versus 48 horas) nos modelos de esquiva passiva**

A figura 17 demonstra os seguintes resultados:

Em relação ao teste de esquiva passiva, o teste de Kruskal Wallis demonstrou não haver diferenças significativas entre os grupos ( $H=4,9258$ ;  $p>0,05$ ).

O teste U de Mann-Witney realizado a posteriori, demonstrou em relação ao tempo de latência de entrada no compartimento escuro, não ocorrer diferenças entre os grupos controle, apesar de apresentar um tendência ( $p=0,06$ ), hipocampo ( $p>0,05$ ) e hipocampo + tálamo, quando comparados o experimento realizado 24 horas após o treino com o experimento realizado 48 horas após o treino ( $p>0,05$ ), ou seja, controle 24 horas X controle 48 horas; hipocampo 24 horas X hipocampo 48 horas; hipocampo + tálamo 24 horas x hipocampo + tálamo 48 horas

**Figura 17 - ESQUIVA PASSIVA (24 HORAS x 48 HORAS)**



**Não ocorrem diferenças significativas entre os grupos testados em experimentos diferentes 24 horas e 48 horas após o teste. A variabilidade está expressa em intervalo interquartil.**

## F) CONCLUSÃO

Os animais com lesão no hipocampo apresentaram um aumento do tempo de congelamento e diminuição na quantidade de ambulação, sendo estatisticamente significante quando comparado com o grupo controle no teste de condicionamento clássico de medo realizado 24 horas após o treino.

Os animais que apresentaram lesão no hipocampo e grande parte da lesão atingiu a região talâmica, apresentaram diminuição no tempo de congelamento após a apresentação do estímulo condicionado, somente no grupo testado no campo aberto 48 horas após o treino.

Nenhum grupo apresentou prejuízo no teste de esquiva passiva. É possível observar uma mediana menor em relação ao tempo de latência de entrada no teste de esquiva passiva 48 horas após, no grupo com lesão atingindo o tálamo, porém a variabilidade desse grupo é muito grande.

A comparação das tarefas realizadas no primeiro dia ou no segundo dia após o treino não apresentou diferenças significativas em nenhuma das medidas de emocionalidade.

Nossos dados são contraditórios com os dados da literatura, no qual o hipocampo participaria do processo de condicionamento contextual de medo, ou de esquiva passiva (Kim, J.J. and Fanselow, 1992; Phillips, R.G. and LeDoux, J.E., 1992).

## 5) DISCUSSÃO GERAL

O experimento I demonstrou que a lesão eletrolítica do núcleo central da amígdala é suficiente para prejudicar tanto a tarefa de condicionamento clássico de medo como a tarefa de esquivar passiva. O núcleo basolateral é prejudicado somente na tarefa de condicionamento clássico de medo. O experimento II demonstrou que a lesão química restrita ao núcleo basolateral da amígdala não é suficiente para prejudicar nenhuma das tarefas, ou seja, demonstrar que este núcleo da amígdala apresenta um papel importante na integração da aprendizagem aversiva. Possivelmente o núcleo basolateral não é o centro desse aprendizado, mas funciona como um integrante do mecanismo neural relacionado com a emoção. O prejuízo encontrado somente na tarefa de condicionamento clássico de medo após a lesão eletrolítica na amígdala basolateral pode ser devido às fibras de passagem. De acordo com a destruição de certas fibras, algumas tarefas podem ser afetadas, outras não.

O núcleo basolateral recebe uma grande projeção de fibras do núcleo lateral e projeta para o núcleo central, núcleo medial, trato olfatório lateral, córtex periamigdalóide e área amigdalohipocampal. Junto com o núcleo basolateral encontra-se o núcleo acessório basal que projeta suas fibras para os núcleos medial, córtex periamigdalóide, núcleo cortical anterior e posterior e área amigdalohipocampal e núcleo lateral, recebendo grande número de fibras do núcleo lateral. O núcleo central da amígdala é o foco principal de aferências, recebendo um grande número de projeções de todas subdivisões do núcleo basolateral, do núcleo acessório basal e um pequeno número da amígdala lateral e córtex periamigdalóide. Suas eferências são pequenas para o núcleo basolateral e lateral, mas atinge em grande parte a região hipotalâmica e outras áreas extra amigdalóide como a substância negra, área tegmental, núcleo da rafe e formação ponte reticular. O hipocampo interage com a amígdala via córtex entorrinal que recebe projeções do núcleo lateral, basolateral e córtex periamigdalóide. A amígdala apresenta dois tipos de eferências para o hipocampo, uma via que sai do núcleo acessório basal atinge a área

amigdalohipocampal e penetra no CA1 e área subicular inervando os campos CA3, CA2, sem comunicar-se com o giro denteado. A outra eferência se dá diretamente do núcleo basolateral para o córtex periamigdalóide e desse para o subículo e CA1. A projeção do hipocampo e subículo para a amígdala acontece através de fibras que partem de pequenas localizações dessas estruturas para a amígdala basolateral e córtex periamigdalóide.(Amaral e col.,1992,).

Canteras e Swanson (1992) através da técnica de injeção de um traçador anterógrado (*Phaseolus vulgaris*) dentro da parte ventral do subículo, encontraram que o núcleo basomedial posterior recebe grande parte da inervação do subículo. Outras áreas também foram encontradas como a área amigdalóide piriforme, núcleo basolateral posterior, cortical posterior, central, medial, núcleo intercalado e núcleo lateral do trato olfatório.

LeDoux (1993) propõe um mecanismo neural envolvido na integração do estímulo aversivo condicionado com alterações fisiológicas do organismo. O estímulo auditivo (CS) penetra pelo sistema auditivo até o colículo inferior e para a região talâmica (corpo geniculado medial). Do tálamo o sinal é transmitido para o córtex auditivo e para a amígdala. O núcleo lateral da amígdala recebe aferências do tálamo auditivo e córtex auditivo, sendo conectado diretamente ou indiretamente com o núcleo central pela via basolateral e basomedial. O núcleo central projeta fibras para o tronco cerebral envolvidos na expressão do comportamento autonômico e endócrino. O autor comenta que a ativação da amígdala pode afetar tanto experiências como memória através da hipótese hedônica, onde a amígdala processaria a informação especialmente emocional resultando num processo capaz de ativar duplamente a amígdala e hipocampo, ou da hipótese anedônica que diz respeito à ativação do hipocampo indiretamente através de mudanças autonômicas periféricas.

A amígdala basolateral e a basomedial recebem fibras hipocampais; como descrito na introdução o hipocampo apresenta um papel importante no condicionamento contextual de medo. Esperava-se que a retenção de esquiva passiva fosse prejudicada na lesão do núcleo basolateral, devido à destruição das informações via hipocampo que chegariam à esse núcleo. Muitos animais tiveram também a lesão circunscrita no núcleo basomedial, sem apresentar efeito no teste de esquiva passiva. Porém o experimento III demonstrou que a lesão hipocampal não afetou a tarefa de condicionamento contextual o que pode

sugerir que essa via do condicionamento esteja destruída, mas outras estruturas participaram da associação entre o estímulo contextual e o caráter emocional dessa tarefa. Uma suposição é que o estímulo não condicionado utilizado foi muito alto, acionando outras estruturas cerebrais.

Trabalhos realizados no Departamento de Psicobiologia com ratos idosos (dados não publicados) sob várias intensidades de estímulo não condicionado nas patas (1,0 mA/1seg. 0,8mA/1seg. 0,5mA/1seg..) treinados na mesmo procedimento descrito anteriormente, demonstrou que o grupo de ratos idosos treinados com o estímulo aversivo de 1,0mA/1seg. não foi diferente quando comparado com o controle para ambas as tarefas. O grupo com 0,8mA/1seg. teve prejuízo somente no teste de condicionamento clássico de medo mas não no teste de esquiva passiva e o grupo treinado com 0,8 mA teve prejuízo em ambas as tarefas quando comparado com o grupo controle. Esses resultados demonstram que mesmo os ratos apresentando prejuízo de memória e emocionalidade, esse prejuízo aparece somente com estímulos aversivos menos intensos. Outros experimentos deverão ser realizados com lesão eletrolítica do hipocampo e treinados com uma intensidade menor do estímulo não condicionado.

Outra possibilidade a ser investigada é que a tarefa de esquiva passiva com os procedimentos e parâmetros aqui adotados pode ser aprendida com a utilização de outras estratégias não susceptíveis a danos hipocampais. Por exemplo, a esquiva passiva “step through” que é a que usamos pode, teoricamente, ser aprendida através de um processo de punição, sendo a resposta de entrar na câmara escura punida pelos choques nas patas.

É possível observar uma alteração da medida de emocionalidade nos grupos onde a lesão atingiu também o tálamo. Nesse grupo é possível observar a diminuição do tempo de congelamento após a apresentação do som no grupo testado 48 horas após o treino. Essa diferença não foi observada, quando o experimento foi realizado 24 horas após o treino. Talvez esse prejuízo tenha acontecido devido a uma rápida perda da retenção no segundo dia após o treino, seguindo a teoria de Ledoux(1993) de que o tálamo integra o condicionamento clássico de medo através das aferências principalmente para a amígdala basolateral.

Lesões no núcleo central prejudicam as medidas de emocionalidade, no teste de condicionamento clássico de medo e o tempo de latência de entrada no teste de esquiva passiva; esse prejuízo chega a ser mais drástico ainda comparado com o núcleo basolateral. Quando lesões interrompem vias em vários níveis do núcleo central para o tronco cerebral (hipotálamo caudal lateral, área subtalâmica, substância negra, campo tegmental central), prejudicam outra tarefa aversiva como o procedimento de sobressalto potencializado pelo medo “fear-potentiated startle”, demonstrando a importância da amígdala central na expressão desta tarefa (Hitchcock e Davis, 1991).

Tanto a amígdala como o hipocampo parecem integrar o sistema de memória emocional, mas a retenção desse aprendizado se dá de forma tempo-dependente. Kim e Fanselow (1992) demonstraram que a lesão eletrolítica no hipocampo no primeiro dia, mas não no sétimo, décimo quarto ou vigésimo oitavo dia após um treino numa tarefa de condicionamento clássico de medo e contextual, foi prejudicada. Esses resultados indicam a participação temporal do hipocampo no armazenamento da memória, principalmente em relação ao contexto. O estímulo aversivo não condicionado foi de quinze choques nas patas. (1mA/ 2 segundo)

A amígdala semelhante ao hipocampo apresenta um papel temporal limitado no processo de armazenamento da informação (Liang e col., 1982). Em contradição (Kim e Davis, 1993) demonstraram que lesões eletrolíticas da amígdala 6 ou 30 dias após o treino no paradigma sobressalto potencializado pelo medo, descrito na conclusão do experimento 1, prejudicaram a retenção da mesma. A lesão atingiu principalmente a amígdala central. Os autores concluem que as diferenças de resultados são devidas ao procedimento utilizado por (Liang e col, 1982) no qual observou diferenças na retenção de uma tarefa de esquiva passiva dez dias após a lesão na amígdala.

Outros trabalhos deverão ser realizados para elucidar o papel dos núcleos central, basolateral e lateral da amígdala e hipocampo no processamento da memória emocional.

## ANEXOS

Os dados brutos dos experimentos realizados nessa tese estão representados nas páginas seguintes através dos anexos.

Foram realizados cerca de dez experimentos, englobando lesões eletrolíticas na amígdala basolateral, amígdala central, hipocampo dorsal, hipocampo + tálamo e lesões químicas na amígdala basolateral e central.

Os resultados de cada grupo não correspondem aos animais de um mesmo experimento, por exemplo, o anexo II-B está representando ratos com lesão bilateral na amígdala basolateral. Esses ratos correspondem a experimentos realizados em dias diferentes. O agrupamento de animais de experimentos diferentes seguiu o critério de semelhanças entre o grupo controle, ou seja, os controles de experimentos realizados em dias diferentes foram comparados entre si. O grupo controle de um determinado experimento que apresentou diferença em relação a outro grupo controle de outro experimento foi excluído junto com os animais experimentais, da análise estatística.

Os animais do experimento I pertencem a um mesmo experimento, os animais do experimento II pertencem a cinco experimentos realizados em épocas diferentes e os animais do experimento III pertencem a dois experimentos realizados em épocas diferentes.

Os resultados dos controles do experimento I e III (CA24/EP48) foram agrupados e sorteados, formando um único grupo controle para os dois experimentos. O mesmo se deve aos controles do experimento II que foram agrupados (anexo II-A, III-A) e sorteados, formando os seguintes grupos:

GRUPO	TESTE E.P.	TESTE DE C.C.M. - congelamento antes do som	TESTE DE C.C.M. - congelamento após o som	TESTE DE C.C.M. - ambulacão antes do som	TESTE DE C.C.M. - ambulacão após o som
controle N=10 Exp I e Exp III CA24/EP48	mediana= 243,5 IQ-25%= 152,0 IQ-75%= 334,0	10,0 ± 9,8	40,8 ± 14,0	5,9 ± 4,8	2,0 ± 2,2
controle N=11 Exp II CA24/EP48	mediana= 359,0 IQ-25%= 62,0 IQ-75%= 600	12,3 ± 9,1	44,8 ± 13,7	8,8 ± 6,1	1,2 ± 1,2
controle N=9 Exp II EP24/CA48	mediana= 374,0 IQ-25%= 46,0 IQ-75%= 471,0	3,8 ± 3,7	41,7 ± 11,1	10,7 ± 4,3	2,0 ± 2,5

OBS: Os dados do teste de esquiva passiva estão representados em mediana do tempo da latência de entrada ± IQ e os resultados do condicionamento clássico de medo estão



representados em média do tempo de congelamento (em segundos) e média do número de cruzamentos  $\pm$  desvio padrão.

## ANEXO 1 RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO 1

### GRUPO CONTROLE CA24/EP48

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
14 RA	3"	600"	0.6"	43.6"	13	0.8
13 RA	15"	600"	31.6"	57.4"	1	0
13 CA	12"	211"	1"	38.8"	11.6	0
13 SM	30"	600"	8.6"	6"	0.3	6.8
10 RA	14"	152"	0	42.8"	13.3	3.6
7 RA	20"	74"	0	16.2"	11.6	4
7 CA	4"	26"	12.3"	17.6"	1.6	5.4
10 CA	7"	240"	0.3"	37.6"	9.3	4.2
10 SM	20"	1"	8"	31.8"	9	0.8

### GRUPO CENTRAL CA24/EP48

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
8 SM	6"	8"	0	6.2"	11.3	4.4
14 CA	8"	19"	0	0.8"	22	13
9 SM	22"	9"	0	0.6"	17.6	8.4
6 SM	17"	14"	7"	24.6"	13.6	2.4
6 CA	4"	38"	0	4.6"	19.6	6.6
9 RA	4"	38"	0.3"	6"	16	6.6
12 RA	5"	137"	2.3"	26.8"	17	3.4
12 SM	7"	3"	0	3.2"	13	13.4
média	---	---	1.2"	9.1"	16.2	7.2
$\pm$ dp	---	---	2.4	10.4	3.5	4.1
mediana	6,5	16,5"	---	---	---	---
IQ 25 %	4,5	8,5	---	---	---	---
IQ 75%	12,5	38,0	---	---	---	---

### GRUPO BASOLATERAL CA24/EP48

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
8 RA	12"	20"	4"	27.2"	18.3	3.2
11 SM	40"	44"	18.3"	49"	2.3	0.6
5 SM	2"	35"	8.3"	49.2"	3.3	0
11 RA	3"	4"	0	0.2"	29.6	15.8
5 CA	2"	2"	4.6"	21.6"	10	2.4
11 CA	9"	411"	0	8.6"	9.6	8
5 RA	5"	600"	10.3"	10.6"	7.3	0.2
14 SM	2"	233"	0.6"	11.8"	10.6	10
média	---	---	5.7"	26.0"	11.3	5.0
$\pm$ dp	---	---	6.3	18.7	8.8	5.7
mediana	4,0	39,5	---	---	---	---
IQ 25%	2,0	12,0	---	---	---	---
IQ 75%	10,5	322,0	---	---	---	---

OBS: Os dados da esquiwa passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulação, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min).

## ANEXO II-A RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO II

### GRUPO CONTROLE CA24/EP48

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulação antes do som	TESTE CCM ambulação após o som
3 PD	12"	390"	2"	52,4"	12,6	1,4
3 RA	48"	600"	19,6"	47,8"	2,3	0,2
4 DO	16"	15"	0	23"	13	48
5 CA	23"	600"	15,6"	46"	11,6	0,8
1 RA	6"	73"	1"	33,4"	13,6	0,4
5 PD	46"	600"	42,3"	50,6"	1,3	3,6
2 DO	9"	600"	19,6"	57,6"	5	0
5 RA	28"	81"	45,3"	58,8"	1	0
23 SM	29"	600"	14"	48,8"	5,6	2
23 RA	18"	493"	17"	54"	9	0,6
18 CA	22"	455"	25,3"	57,6"	6	0,2
14 SM	62"	97"	29,6"	58,6"	3	0
12 SM	26"	62"	0	36,6"	13,6	2,2
14 RA	6"	600"	15,3"	46,8"	6	0,2
15 CA	48"	6"	15"	55,6"	3,6	0
13 SM	29"	130"	0	37,4"	13,3	2,8
24 CA	9"	167"	16"	51"	6,6	0,8
27 SM	2"	3"	4"	31"	11,6	1,4
29 CA	14"	109"	14"	4,6"	1	5,2
30 RA	15"	10"	19,6"	35,8"	2	0,6
31 RA	15"	600"	26,6"	58,8"	1,3	0
32 CA	4"	375"	16,3"	42,2"	1	0,2
32 RA	7"	99"	0,6"	50,8"	17,3	0,6
34 CA	11"	349"	13,3"	25,6"	0,3	1,6
37 SM	43"	593"	35,6"	59"	1	0
38 RA	2"	359"	0	18"	21	3,6

OBS: Os dados da esquiwa passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulação, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min).

**ANEXO II-B**  
**RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO 11**

**GRUPO BASOLATERAL-BILATERAL (CA24/EP48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
7 RA	15"	22"	0,3"	42,6"	14,6	0
4 SM	17"	145"	2"	46,2"	6	0
7 DO	24"	429"	5,6"	30,8"	3,6	2,6
20 CA	18"	427"	29"	48"	3	0,8
28 SM	7"	340"	7,3"	54,6"	8,3	0,6
38 SM	36"	600"	15"	45,6"	1	0
média	---	---	9,8"	44,6"	6,0	0,6
± dp	---	---	10,6	7,8	4,8	1,0
mediana	17,5	383,5	---	---	---	---
IQ 25%	15,0	145,0	---	---	---	---
IQ 75%	24,0	429,0	---	---	---	---

**GRUPO BASOLATERAL-UNILATERAL (CA24/EP48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
19 SM	2"	592"	20"	56,8"	0,3	0
21 RA	25"	600"	23,3"	50,6"	8	0
33 RA	2"	156"	0	48,8"	14,6	0,2
36 SM	7"	94"	5,6"	36,8"	9,3	1
26 CA	9"	314"	0,6"	43"	7,6	4,4
31 SM	3"	530"	0	40,6"	12,3	2
35 RA	10"	243"	0,6"	49,2"	16,3	0,2
média	---	---	8,8"	48,1"	8,1	0,8
± dp	---	---	9,5	6,7	5,7	1,4
mediana	9"	334"	---	---	---	---
IQ 25%	2,0	156,0	---	---	---	---
IQ75%	37,0	600	---	---	---	---

OBS: Os dados da esQUIVA passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulacão, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min).

**ANEXO III - A**  
**RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO II**

**GRUPO CONTROLE EP24/OF48**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
2 SM	8"	370"	5"	20,8"	8,3	8,2
2 RA	22"	480"	1"	8,2"	15	7,2
3 CA	33"	600"	8"	49,8"	5	1,8
4 RA	9"	337"	2,6"	36,2"	20	5,8
5 SM	36"	600"	13"	59,2"	1,6	0
1 SM	23"	326"	0	55"	7,6	0,2
22 SM	7"	46"	0,6"	36"	14,6	2,6
22 RA	4"	226"	3,3"	35"	8,6	6,4
23 CA	4"	408"	30,6"	45,8"	1	0
16 CA	13"	600"	21,3"	45,2"	8,3	1,4
18 RA	11"	526"	15,3"	43,4"	0,6	0,2
1 CA	23"	25"	0	36,6"	9,3	1,4
11CA	10"	385"	6"	50,4"	5	0
12 CA	12"	600"	7,3"	49,2"	7,3	1
14 CA	16"	25"	4"	49,2"	8,3	0
15 SM	7"	600"	9"	46"	5,3	0,2
12 RA	6"	30"	8,3"	40"	8,3	3
13 CA	3"	429"	0	44,6"	13,6	1
29 SM	3"	600"	0,3"	42"	9	1,8
30 SM	4"	301"	19"	47,8"	0	1,2
30 CA	3"	15"	0	30,8"	19	2,2
31 CA	11"	229"	2,3"	33,6"	12,6	2,2
32 SM	24"	374"	0	52,2"	11,3	0
33 SM	4"	285"	6,6"	28"	6	2,4
36 RA	24"	471"	4,6"	56,2"	8,6	0
38 CA	21"	52"	1,6"	30,4"	7,3	2,6
25 SM	12"	600"	26,6"	54,2"	4,3	0

OBS: Os dados da esquiwa passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulacão, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min).

**ANEXO III - B**  
**RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO 11**

**GRUPO BASOLATERAL-BILATERAL (EP24/OF48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
7 CA	10"	65"	2,6"	27,2"	8,3	2,8
20 RA	3"	179"	20,6"	30,4"	6,6	5,8
28 CA	8"	319"	2"	31,2"	11,6	0,8
6 RA	16"	19"	0	33,8"	22,6	1,8
média	---	---	6,3"	30,6"	12,7	3,2
± dp	---	---	9,5	2,7	7,1	2,6
mediana	9"	122"	---	---	---	---
IQ 25 %	5,5	42,0	---	---	---	---
IQ 75%	13,0	249,0	---	---	---	---

**GRUPO BASOLATERAL-UNILATERAL (EP24/OF48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
33 CA	3"	90"	0,6"	21"	8,3	2,6
27 CA	18"	294"	4,6"	39,2"	8,3	2,2
6 DO	39"	196"	0,3"	18,8"	17,3	5
25 RA	34"	206"	1,3"	41,2"	7,6	1
18 SM	19"	600"	28"	58,2"	0,3	0
36 CA	5"	18"	6,3"	21"	14	1,4
média	---	---	6,8"	33,2"	9,3	2,0
± dp	---	---	10,6	15,6	5,8	1,7
mediana	18,5"	201"	---	---	---	---
IQ 25 %	5,0	90,0	---	---	---	---
IQ 75%	34,0	294,0	---	---	---	---

OBS: Os dados da esQUIVA passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulacão, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min.).

**ANEXO IV  
RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO 1III**

**GRUPO CONTROLE CA24/EP48**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacção antes do som	TESTE CCM ambulacção após o som
58 CA	24"	600"	20"	47,8"	0,3	0
61 SM	14"	331"	11,6"	21,6"	2	6
65 SM	8"	225"	14,3"	49,2"	0,3	0
58 SM	5"	80"	3"	36"	8	1,4
58 RA	26"	591"	6,6"	26,2"	6,6	4
66 SM	8"	334"	11,6"	44,8"	7,6	1,8
62 SM	1"	600"	33"	55,2"	3,6	0
86 SM	10"	600"	21,6"	54,4"	2,3	0
90 CA	24"	395"	18"	52,8"	1	0
90 SM	8"	306"	22"	51"	3,6	0,4
88 SM	3"	247"	5,3"	54,6"	4,3	0

**GRUPO HIPOCAMPO (CA24/EP48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacção antes do som	TESTE CCM ambulacção após o som
69 RA	7"	130"	22"	27,8"	0,3	0
64 CA	12"	178"	19"	48"	3	0
63 SM	12"	600"	30"	46"	0,3	0
62 RA	6"	600"	39,3"	56,4"	0,3	0
87 SM	15"	600"	20,6"	15,2"	0	0
84 SM	28"	393"	1,3"	22,6"	6,6	0
84 RA	27"	110"	21,6"	30"	0,3	0
89 CA	66"	600"	24,6"	35,2"	0	0
média	---	---	22,3"	35,1"	1,3	0
± dp	---	---	10,7	13,9	2,3	0
mediana	13,5"	496,5"	---	---	---	---
IQ 25 %	9,5	154,0	---	---	---	---
IQ 75 %	27,5	600	---	---	---	---

**GRUPO HIPOCAMPO + TÁLAMO (CA24/EP48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacção antes do som	TESTE CCM ambulacção após o som
68 SM	12"	60"	0	0	14	30
70 SM	66"	600"	51"	17,6"	0	2,4
70 RA	22"	233"	14,6"	52,4"	8	0
63 RA	5"	135"	13,6"	42,6"	4,6	0
média	---	---	19,8"	28,1"	6,6	8,1
± dp	---	---	21,8	23,8	5,8	14,6
mediana	17,0"	184"	---	---	---	---
IQ 25%	8,5	97,5	---	---	---	---
IQ 75%	44,0	416,5	---	---	---	---

OBS: Os dados da esquiwa passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulacção, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min).

**ANEXO V**  
**RESULTADOS INDIVIDUAIS DO EXPERIMENTO 1III**

**GRUPO CONTROLE EP24/OF48**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
59 RA	1"	600"	26,3"	33,8"	1	0
61 CA	11"	588"	26,3"	58,6"	2	0
61 RA	23"	600"	37,6"	59,4"	1	0
60 CA	3"	600"	21,6"	53,6"	4	0
67 SM	13"	93"	1,3"	6,4"	11,3	9,4
66 CA	3"	141"	22,3"	54,8"	3	0
71 RA	5"	533"	0,3"	43,6"	5,3	0
86 RA	8"	600"	4"	38,6"	12,6	0
88 CA	31"	600"	0	53"	11,6	0
83 SM	6"	12"	3"	49,2"	13	0,4
82 CA	49"	575"	8,6"	47,8"	0,3	0
90 RA	15"	416"	13,3"	53,4"	3,3	0
média	---	---	13,7"	46,0"	5,7	0,8
± dp	---	---	12,7	14,6	4,9	2,7
mediana	9,5"	581,5"	---	---	---	---
IQ 25 %	4,0	278,5	---	---	---	---
IQ 75%	19,0	600	---	---	---	---

**GRUPO HIPOCAMPO (EP24/OF48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
85 RA	48"	600"	9"	53,6"	0	0
83 CA	31"	600"	8,3"	54,8"	0	0
83 RA	2"	475"	4,3"	48,2"	6	0
89 SM	84"	583"	366"	47,4"	0	1,2
59 SM	5"	431"	6,6"	21,8"	1,3	0,2
65 RA	3"	4'	6,3"	51,6"	7	0
média	---	---	11,8"	46,2"	2,3	0,2
± dp	---	---	12,2	12,3	3,2	0,1
mediana	18"	529"	---	---	---	---
IQ 25 %	3,0	431	---	---	---	---
IQ 75 %	48,0	600	---	---	---	---

**GRUPO HIPOCAMPO + TÁLAMO (EP24/OF48)**

RATO	TREINO EP	TESTE EP	TESTE CCM congelamento antes do som	TESTE CCM congelamento após o som	TESTE CCM ambulacão antes do som	TESTE CCM ambulacão após o som
59 CA	38"	600"	43"	40"	0	0,4
63 CA	3"	47"	3,6"	0,4"	2	4,6
67 RA	5"	56"	6,6"	44"	3,3	0
71 CA	36"	600"	41,6"	53"	0	0
87 CA	2"	96"	0	6,2"	21,6	1,4
72 SM	37"	427"	1"	3,8"	0,3	0,3
média	---	---	15,9"	24,5"	4,5	1,1
± dp	---	---	20,5	23,5	8,4	1,7
mediana	20,5"	261,5"	---	---	---	---
IQ 25%	3,0	56,0	---	---	---	---
IQ 75%	37,0	600	---	---	---	---

OBS: Os dados da esquiva passiva estão expressos em tempo de latência para entrada (em segundos) no lado escuro. Os dados do teste de condicionamento clássico de medo estão expressos em média do tempo (em segundos) para a medida de congelamento e a média do número de cruzamentos para a medida de ambulação, antes do som (0 - 3 min.) e a média após o som (4 - 8 min).



## REFERÊNCIAS

Amaral,D.G.; Price,J.L.; Pitkäner, A . and Carmichael,S.T.(1992) The amygdala: Neurobiological aspects of emotion, Memory, and Mental Disfunction. **Wiley Liss,Inc.**1-66.

Blanchard, D.C. e Blanchard, R.J. (1972) Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **81**, 281-290.

Brady, J.V., Schreiner, L., Geller, I. E Kling, A. (1954) subcortical mechanisms in emotional behavior: The effect of rhinencephalic injury upon the acquisition and retention of a conditioned avoidance response in cats. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **47**, 179-186.

Bueno,O.F.A., Oliveira, M.G.M., Pomoarico, A.C. e Gugliano, E.B. (1993) A dissociation between the proactive ECS effects on inhibitory avoidance learning and on classical fear conditioning. **Behav. Neural Biol.** **59**, 180-185.

Bush, D.F., Lovely, R.H. e Pagano, R.P. (1973) Injection of ACTH induces recovery from shuttle-box avoidance deficits in rats with amygdaloid lesions. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **83**, 163-172.

Campeau,S. And Davis,M.(1995) Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. **Journal of Neuroscience.****15**, 2301-11.

Canteras,N.S. and Swanson,L.W.(1992) Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: A PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, **324**, 180-194.

Coover,G., Ursin,H. and Levine,S. (1973). Corticosterone and avoidance in rats with basolateral amygdala lesions. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **85**, 111-122.

Corman, C.D., Meyer, P.M. e Meyer, D.R. (1967) Open-field activity and exploration in rats with septal and amygdaloid lesions. **Brain Res.** **5**, 469 -467.

Coscina, D.V. e Lash, I. (1970) Extinction of active avoidance as a measure of passive avoidance in hippocampectomized rats. **Psychon. Sci.** **18**, 35-36.

Davis, M. and Kim, M. (1993). Lack of a temporal gradient of retrograde amnesia in rats with amygdala lesions assessed with the fear - potentiated startle paradigm. **Behavioral Neuroscience**, **117 (6)**, 1088-1092

Dawson, R.G., Conrad, L. E Lynch, G. (1973) Single and two-stage hippocampal lesions: A similar syndrome. **Exp. Neurol.** **40**, 263-277.

Dokla, C.P.J. (1979) Effects of hippocampectomy in a one-trial electroconvulsive shock paradigm. **Physiol. Psychol.** **7**, 53-58.

Eichebaum, H. ; Otto, t.; and Cohen, N.J. (1992). What the hippocampus does. **Behavioral and Neural Biology** **57**, 2-36.

Eclancher, F. E Karli, P. (1980) Effects of infant and adult amygdaloid lesions upon acquisition of two-way avoidance by the adult rat : Influence of rearing conditions. **Physiol. Behav.** **24**, 887-893.

Fridel, J.M.Z. and LeDoux, J.E. (1996). Inactivation of the lateral and basal amygdala disrupts acquisition and expression of conditioned fear. **Society for Neuroscience**, **2**, 1116.

Gentile, C.G., Jarrell, T.W., Teich, A., McCabe, P.M. e Schneiderman, N. (1986) The role of amygdaloid central nucleus in the retention of differential Pavlovian conditioning of bradycardia in rabbits. **Behav. Brain Res.** **20**, 263-273.

Gray, J.A. e McNaughton, N. (1983) Comparison between the behavioural effects of septal and hippocampal lesions: A review. **Neurosci. Biobehav. Rev.** **7**, 119-188.

Grossman, S.P., Grossman, L. E Walsh, L. (1975) Functional organization of the rat amygdala with respect to avoidance behavior. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **88**, 829-850.

Helmstetter, F.J. (1991) Contribution of the amygdala to learning and performance of conditional fear. **Physiology & Behavior.** **51**, 1271-1276.

Hitchcock, J. E. Davis, M. (1986) Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. **Behav. Neurosci.** **56**, 380-389.

Hitchcock, J.M. and Davis, M. (1991). Efferent pathway of the amygdala involved in conditioned fear as measured with the fear-potentiated startle paradigm. **Behavioral Neuroscience**, **105 (6)**, 826-842.

Isaacson, R.L., Douglas, R.J. e Moore, R.Y. (1961) The effect of radical hippocampal ablation on acquisition of avoidance response. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **54**, 625-628.

Introuini-Collison, I.B.; Sang, To and McGaugh, J.L. (1992). Fluoxetine effects on retention of inhibitory avoidance: Enhancement by systemic but not intra-amygdala injections. **Psychobiology**, **20 (1)**, 28-32.

Izquierdo, I.; Da Cunha, C.; Rosat, R.; Jerusalinsky, D.; Ferreira, M.B.C. and Medina, J.H. (1992). Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. **Behavioral and Neural Biology**, **58**, 16-26.

Jellestad, F.K. e Bakker, H.K. (1985) Passive avoidance after ibotenic acid and radio frequency lesions in the rat amygdala. **Physiol. Behav.** **34**, 299-305.

Jellestad, F.K. and Cabrera, I.M. (1986). Exploration and avoidance learning after ibotenic acid and radio frequency lesions in the rat amygdala. **Behavioral and Neural Biology**. **46**, 196-215.

Jellestad, F.K., Markowska, A, Bakker, H.K. e Walther, B. (1986) Behavioral effects after ibotenic acid, 6-OHDA and electrolytic lesions in the central amygdala nucleus of the rat. **Physiol. Behav.** **37**, 855-862.

Kapp, B.S., Frysinger, R.C., Gallagher, M. E Haselton, J.R. (1979) Amygdala central nucleus lesions: Effect on heart rate conditioning in the rabbit. **Physiol. Behav.** **23**, 1109-1117.

Kim, J.J. and Fanselow, M.S. (1992). Modality-Specific retrograde amnesia of fear. **Science**, **256**, 675-677.

Kimble, D.P. (1963) The effects of bilateral hippocampal lesions in rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **56**, 273-283.

Kimble, D.P., Kirkby, R.J. e Stein, D.G. (1966) Response perseveration interpretation of passive avoidance deficits in hippocampectomized rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **61**, 141-143.

Klüver H., Bucy, P.C. (1937): "Psychic blindness" and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in rhesus monkeys. **Am. J. Physiol** **119**: 352-353.

LeDoux, J.E. (1993). Emotional memory systems in the brain. **Behavioural Brain Research**. **58**, 69-79.

Liang, K.C., McGaugh, J.L., Martinez, J.L., Jensen, R.A. Jr., Vasquez, B.J. e Messing, R.B. (1982) Post-training amygdaloid lesions impair retention of an inhibitory avoidance response. **Behav. Brain Res.** **4**, 237-249.

Lorenzini, C.A.; Baldi, E.; Bucherelli, A.G. and Tassoni, G. (1991). Effects of nucleus basolateralis amygdalae neurotoxic lesions on some spontaneous activities in the rat. **Physiology & Behavioral**, **50**, 1215-1219.

Lorenzini, C.A.; Bucherelli, A.G.; Giachetti, A.; Mugnai, L. and Tassoni, G. (1991) Effects of nucleus basolateralis amygdalae neurotoxic lesions on aversive conditioning in the rat. **Physiology & Behavior**, **49**, 765-770.

McIntyre, M. E Stein, D.G. (1973) Differential effects of one vs two-stage amygdaloid lesions on activity, exploratory, and avoidance behavior in the albino rat. **Behav. Biol.** **9**, 451-465.

McNew, J.J. e Thompson, R. (1966) Role of the limbic system in active and passive avoidance conditioning in rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **61**, 173-180.

- Molino, A. (1975) Sparing of function after infant lesions of selected limbic structures in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **89**, 868-881.
- McDonald, R.J. and White, N.M. (1993) A triple dissociation of memory systems: Hippocampus, Amygdala, and Dorsal Striatum. *Behavioral Neuroscience*, **107**,(1), 3-22.
- McGaugh, J.L.; Intorini-Collison, I.B.; Cahill, L.F.; Castellano, C.; Dalmaz, C.; Parent, M.B. and Williams, C.L. (1993). Neuromodulatory systems and memory storage: role of the amygdala. *Behavioural Brain Research*, **58**, 81-90.
- Marino, Raul Jr. (1975). Fisiologia das emoções. *Editora Survier*, 1 - 43.
- Nagel J.A. e Kemble, E.D. (1976) Effects of amygdaloid lesions on the performance of rats in four passive avoidance tasks. *Physiol. Behav.* **17**, 245-250.
- Niki, H. (1962) Effects of hippocampal ablation on behavior in the rat. *Jap. Psychol. Res.* **4**, 139-153.
- O'Keefe, J.A. and Nadel, L. (1978). The hippocampus as a cognitive map. *Oxford Clarendon Press*.
- Olton, D.S. e Isaacson, R.L. (1968) Hippocampal lesions and active avoidance. *Physiol. Behav.* **3**, 719-724.
- Olton, D.S. e Isaacson, R.L. (1969) Fear, hippocampal lesions and avoidance behavior in rats. *Comm. Behav. Biol.* **3A**, 259-262.
- Papez, J.W. (1937): A proposed mechanism of emotion. *Arch Neurol Psychiat* **79**: 217-224.
- Pelli, P.M.D.G. and LeDoux, J.E. (1996) Disruption of fear conditioning to contextual stimuli but not to a tone by lesions of the accessory basal nucleus of the amygdala. *Society for Neuroscience*, **2**, 1116.

Phillips,R.G. and LeDoux,J.E.(1992). Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning.**Behavioral Neuroscience.106** (2),274-285.

Plotnik, R., Mollenauer, S. E Bean, N.J. (1977) Effects of hippocampal lesions on competitive behavior in rats. **Behav. Biol. 19**, 269-277.

Rabe, A. E Haddad, R.K. (1969) Acquisition of two-way shuttle-box avoidance after selective hippocampal lesions. **Physiol. Behav. 4**, 319-323.

Rich, I. E Thompson, R. (1965) Role of the hippocampo-septal system, thalamus, and hypothalamus in avoidance conditioning. **J. Comp. Physiol. Psychol. 59**, 66-72.

Riddell, W.I. (1968) An examination of the task and trial parameters in passive avoidance learning by hippocampectomized rats. **Physiol. Behav. 3**, 883-886.

Riddell, W.I. (1972) Consolidation time of hippocampectomized rats in a one -trial learning situation. **Psychon. Sci. 29**, 285-287.

Riolobos, A.S. (1986) Differential effect of chemical lesion and electrocoagulation of the central amygdaloid nucleus on active avoidance responses. **Physiol. Behav. 36**, 441-444.

Riolobos, A.S. e Garcia, A.I.M. (1987) Open field activity and passive avoidance responses in rats after lesion of the central amygdaloid nucleus by electrocoagulation and ibotenic acid . **Physiol. Behav. 39**, 715-720.

Robison, E. (1963) Effect of amygdectomy on fear-motivated behavior in rats. **J. Comp. Physiol. Psychol. 56**, 814-820.

Romanski,L.M.; Clugnet,M.C.; Bordi,F. And LeDoux,J.E. (1993).Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala. . **Behavioral Neuroscience.107 (3)** 344-350.

Russo, N.J. II, Kapp, B.S., Holquist, B.K. e Musty, R.E. (1976) Passive avoidance and amygdala lesions: Relationship with pituitary-adrenal system. **Physiol. Behav. 16**, 191-199.

Sarter, M. e Markowitsch, H.J, (1985). Involvement of the amygdala in learning and memory: A critical review, with emphasis on anatomical relations. **Behav. Neurosc.** **99**, 342-380.

Selden,N.R.; Everitt,B.J.; Jarrard,L.E. and Robbins,T.W. (1991). Complementary roles for the amygdala and hippocampus in aversive conditioning to explicit and contextual cues. **Neuroscience.** **42 (2)**, 335-350.

Slotnick, B.M. (1973) Fear behavior and passive avoidance deficits in mice with amygdala lesions. **Physiol. Behav.** **11**, 717-720.

Spevak, A.A., Campbell, C.T. e Drake, L. (1975) Effect of amygdectomy on habituation and CER in rats. **Physiol. Behav.** **15**, 199-207.

Schutz, R. A . e Izquierdo, I. (1979). Effect of brain lesions on rat shuttle behavior in four different tests. **Physiol. Behav.** **23**, 97-105

Schwartzbaum, J.S. e Gay, P.E. (1966) Interacting behavioral effects of septal and amygdaloid lesion in the rat. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **61**, 59-65.

Thompson, R. (1978) Localization of " passive avoidance memory system" in the White rat. **Physiol. Psychol.** **6**, 263-274.

Tomaz,G.; Dickinson-Anson,H.; McGaugh,J.L.; Souza-Silva,M. A .; Viana,M.B. and Graeff,F.G.(1993). Localization in the amygdala of amnesic action of diazepam on emotional memory. **Behavioral Brain Research**, **58**, 99-105.

Weiskrantz, L. (1956) Behavioral changes associated with ablation of the the amygdaloid complex in monkeys. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **49**, 381-391.

Werka, T., Skar, J. E Ursin, H. (1978) Exploration and avoidance in rats with lesions in amygdala and piriform cortex. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **92**, 672-681.

Winocur, G. E Bindra, D. (1976) Effects of additional cues on passive avoidance learning and extinction in rats with hippocampal lesions. **Physiol. Behav.** **17**, 915-920.

Winocur, G. E Mills, J.A. (1969) Hippocampus and septum in response inhibition. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **67**, 352-357.

Winocur, G. E. Mills, J.A. (1970) Transfer between related and unrelated problems following hippocampal lesions in rats. **J. Comp. Physiol. Psychol.** **73**, 162-169.