

Elisa Mari Akagi Jordão

Qual a natureza do envolvimento do núcleo basal da amígdala no condicionamento aversivo ao contexto?

What is the nature of the basal nucleus of amygdala involvement in contextual fear conditioning?

São Paulo

2013

RESUMO

Jordão, E.M.A. Qual a natureza do envolvimento do núcleo basal da amígdala no condicionamento aversivo ao contexto? Dissertação (mestrado). Departamento de Fisiologia. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

A amígdala participa dos processos de aprendizagem e memória de natureza emocional, incluindo os comportamentos aversivos. Essa estrutura compreende vários núcleos que estabelecem diferentes conexões com outras estruturas do sistema nervoso. Seu núcleo basal (BA) é um dos principais alvos amigdalares de informações processadas pelo hipocampo. Evidências apontam que o hipocampo seria responsável pela aprendizagem contextual, construindo uma representação integrada dos diferentes estímulos do ambiente numa representação única, denominada representação configuracional do contexto, que inclui também representações do espaço. Congruente com essa hodologia, lesões seletivas do BA resultam em prejuízos comportamentais similares aos encontrados após lesão hipocampal. Por exemplo, ratos com lesão no BA exibem deficiências na tarefa de medo condicionado ao contexto, mas não ao som, indicando que essa região está envolvida no processo de condicionamento aversivo contextual. Porém, não está claro se esse prejuízo decorre da participação do BA na aquisição e/ou evocação e expressão do medo contextual. Os objetivos do presente estudo incluíram avaliar, por meio da inativação reversível do BA, (1) se ele é necessário na aquisição do condicionamento aversivo ao som e/ou ao contexto e (2) qual a natureza da sua participação no condicionamento aversivo ao contexto, isto é, se é necessário para a construção do contexto, para sua associação com o estímulo aversivo e/ou para a evocação da memória e expressão das respostas condicionadas. Num primeiro experimento, muscimol foi infundido no BA antes do treinamento na tarefa de condicionamento aversivo concorrente ao som e ao contexto, e os testes de medo condicionado ao som e ao contexto foram realizados separadamente, na ausência de muscimol. Como esperado, os resultados revelaram prejuízo de desempenho na tarefa de medo condicionado ao contexto, mas não na tarefa de medo condicionado ao som. Num segundo experimento, muscimol foi infundido, em grupos independentes de animais, antes de cada fase da variante do condicionamento aversivo ao contexto que envolve *facilitação pela pré-exposição ao contexto*, a qual permite distinguir entre a construção configuracional do contexto (fase 1), sua associação com o estímulo aversivo (fase 2) e posterior evocação e expressão do medo condicionado (fase 3). Resultados mostraram que somente os ratos que receberam muscimol antes da fase 2, mas não os que receberam muscimol antes das fases 1 e 3, apresentaram prejuízo de desempenho na tarefa de medo condicionado ao contexto. No conjunto, esses resultados indicam que o BA participa do condicionamento aversivo ao contexto sendo imprescindível no processo de associação da representação configuracional do contexto com o estímulo aversivo, mas não nos processos de construção da representação sobre o contexto e nem de evocação da memória e expressão das respostas condicionadas de medo.

Palavras-chave: núcleo basal da amígdala, condicionamento aversivo, muscimol, medo

ABSTRACT

Jordão, E.M.A. What is the nature of the basal nucleus of amygdala involvement in contextual fear conditioning? Dissertação (mestrado). Departamento de Fisiologia. Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

The amygdala is involved in emotional learning and memory, including fear conditioning. This brain structure includes several nuclei with distinct hodology. The basal nucleus (BA) receives processed information from the hippocampal formation. Evidence indicates that the hippocampus integrates environmental stimuli in a single representation thus rendering it involved in contextual (including spatial) learning and memory. Congruent with this hodological evidence, selective damage to the BA results in behavioral impairments similar to those found after hippocampal damage. For instance, rats with BA damage exhibit performance impairments in contextual, but not auditory, fear conditioning tasks. However, it is not clear to which extent this disruption is related to the BA involvement in either acquisition of contextual fear or retrieval of memory and fear expression, or both. This study aimed at investigating, by way of reversible inactivation of the BA, (1) its involvement in acquisition of auditory and contextual fear conditioning, and (2) the nature of its participation in contextual fear conditioning, that is, if it is necessary for building a representation about the context, for associating the context with the aversive stimulus and/or for memory retrieval and expression of contextual fear conditioning. In the first experiment, muscimol was infused into the BA before training in a concurrent auditory and contextual fear conditioning task, and testing for auditory and contextual fear conditioning was run separately in the absence of muscimol. As expected, results revealed disruption of performance in the contextual, but not in the auditory, conditioning task. In the second experiment, muscimol was infused into the BA, in independent groups of animals, before each of the three phases of a contextual fear conditioning variant that involves *context pre-exposure facilitation*, thus allowing to evaluate if functional reversible inactivation of the BA interfered with (1) building an integrated representation of the environment (the context), (2) its association with the aversive stimulus, and/or (3) memory retrieval and expression of fear conditioning. Results showed that muscimol infusion into BA before phase 2, but not phases 1 and 3, impaired performance in the contextual fear conditioning task. Together, these results indicate that a functional BA is required for acquisition of contextual fear conditioning in order to establish an association between the context and the aversive stimulus, but not for building a context neither for memory retrieval and expression of fear conditioned responses.

Keywords: basal nucleus of amygdala, contextual fear conditioning, muscimol, fear

INTRODUÇÃO GERAL

No início do século 19, Burdach (1819–1822) observou uma massa cinzenta distinta com um formato amendoado na porção medial do lobo temporal de mamíferos que recebeu, então, a denominação de amígdala (PABBA, 2013). Estudos anatômicos, eletrofisiológicos, hodológicos e comportamentais envolvendo esta região geraram forte interesse a partir de 1950, quando se relacionou a amígdala a comportamentos de natureza emocional. Evidências apontam que ela seria responsável por respostas afetivas apropriadas frente a estímulos biologicamente significativos (para revisões, ver ONISHI, 2005; LEDOUX, 2000; 2007). Dessa forma, parece lógico pensar que a amígdala promove importante vantagem adaptativa.

Aspectos evolutivos da amígdala

A amígdala exibe diversas características compartilhadas entre tetrápodes incluindo sua formação derivada do pálio e subpálio, sua localização na parte ventrolateral caudal dos hemisférios telencefálicos, forte relação com os sistemas olfativo, vomeronasal, polimodal e autonômico, e se constituir numa importante origem de projeções hipotalâmicas (MORENO & GONZALEZ, 2007; PABBA, 2013). Há indícios de natureza embriológica, neuroquímica e hodológica apontando que a amígdala envolve um contínuo de estruturas olfativas, principalmente em vertebrados como peixes em que o olfato é considerado uma importante informação sensorial (PETROVICH, 1997; MARTINEZ-GARCIA *et al.*, 2002; PABBA, 2013). Porém, Johnston (1923, *apud* PETROVICH, 1997) sugeriu que ao longo da evolução ocorreram mudanças que acarretaram na separação física, porém não conceitual, da amígdala em relação ao sistema olfativo, face às demandas de processamento de novas informações sensoriais no ambiente terrestre. Por isso, em répteis, aves e mamíferos haveria um aumento de

tamanho e complexidade desta região em direção a uma maior diferenciação de núcleos amigdalares responsáveis pelo processamento de informações sensoriais que não simplesmente as olfativas (PETROVICH, 1997).

Estudos envolvendo a amígdala, especialmente em mamíferos, demonstram que sua complexidade funcional é congruente com sua complexa neuroanatomia. Considera-se atualmente que a amígdala é um complexo multinuclear dividida em três grupos celulares principais: (1) **basolateral** (BLA), composto pelo núcleo lateral (LA), basal (BA) e o basal acessório (AB); (2) **cortical**, composto pelo núcleo do trato olfatório lateral, núcleo do trato olfatório acessório, núcleos corticais anterior e posterior, e córtex periamigdalóide; e (3) **centromedial**, composto pelo núcleo central (CE), medial e parte amigdalóide do núcleo da estria terminal. Fazem também parte do complexo amigdalares a área amigdalóide do núcleo da estria terminal e o núcleo intercalado (MCDONALD, 1998; SAH *et al.*, 2003). Esses núcleos possuem características hodológicas e quimioarquitetônicas muito distintas entre si o que levou alguns autores a considerarem o complexo amigdalóide como um conjunto de estruturas anatômicas distintas e não relacionadas (SWANSON & PETROVICH, 1998). Swanson & Petrovich (1998) defendem que, funcionalmente, os grupos celulares da amígdala pertencem aos sistemas olfativo, autonômico e cortical frontotemporal. E com base na análise das conexões estabelecidas pelos diferentes núcleos amigdalares, esses autores sugerem que o CE seria o principal componente do sistema autonômico, o LA e o BA fariam parte do sistema cortical frontotemporal, e os núcleos mediais e corticais anterior e posterior seriam componentes do sistema olfativo.

Características hodológicas da amígdala

Juntamente com descobertas sobre o papel da amígdala em processos que envolvem aspectos emocionais, houve um grande avanço nos estudos de sua hodologia

demonstrando a singularidade de seus núcleos. Isto é, observa-se que cada núcleo possui conexões únicas com diferentes regiões neurais (conexões inter-amigdalares), assim como com outros núcleos amigdalares (conexões intra-amigdalares) (Figura 1). Particularmente nos processos de aprendizado associativo de natureza emocional, observa-se importante envolvimento do complexo basolateral (BLA) e do núcleo central (CE), cuja funcionalidade é melhor compreendida e será o foco do breve resumo das principais conexões aferentes e eferentes da amígdala aqui exposto.

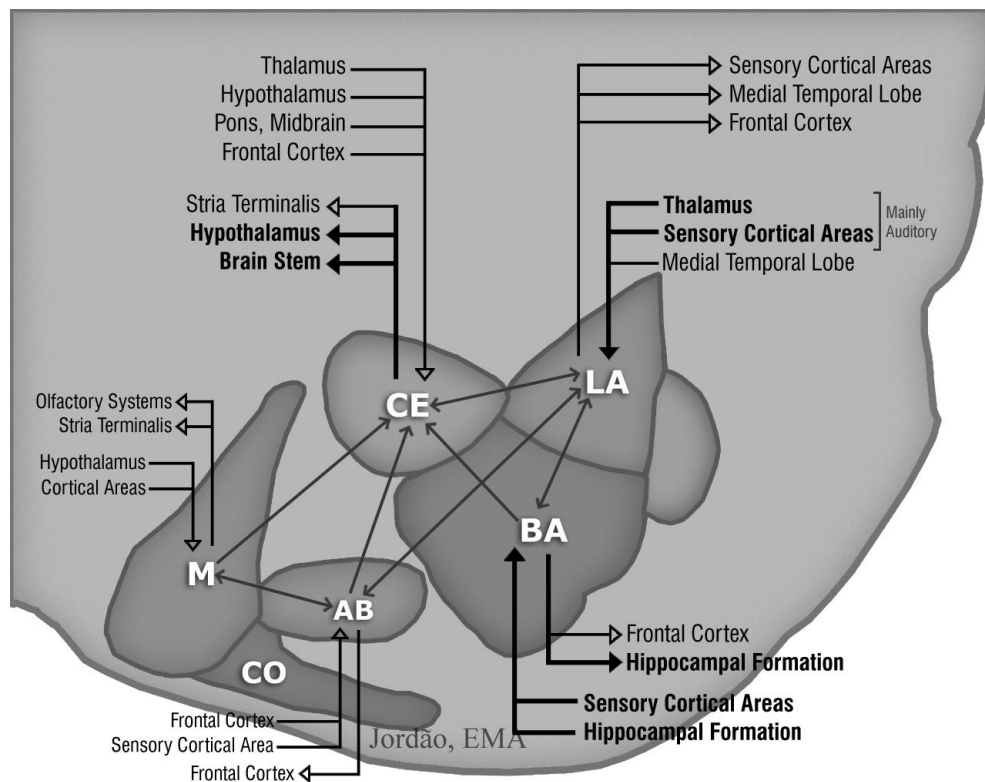


Figura 1. Representação esquemática das principais conexões intra e inter-amigdalares de alguns núcleos com ênfase no lateral (LA), basal (BA) e central (CE).

Estudos das conexões amigdalares foram conduzidos em macacos, gatos e ratos; porém, apesar de haver certa similaridade entre essas espécies, serão expostos somente

dados de estudos com ratos devido à sua extensa literatura (PITKÄNEN, 2000b; McDONALD, 1998; SAH *et al.*, 2003, para revisões).

Resumidamente, as informações sensoriais chegam à amígdala principalmente através de projeções do tálamo e do córtex, as quais se originam principalmente das áreas de associação, que transmitem informação sensorial modalmente específica, e de regiões temporais e frontais, que transmitem informação sensorial polimodal. Mais especificamente, informações somatossensoriais, principalmente nociceptivas, aferentam o núcleo lateral, basal, basal acessório e central através do núcleo parabraquial da ponte, do córtex insular e tálamo. Similarmente, as informações gustativas e viscerais chegam ao núcleo lateral, basal e central através do córtex insular e tálamo. As projeções de áreas olfativas atingem a amígdala principalmente através dos núcleos cortical anterior, do trato olfatório lateral, medial, cortical posterior e do córtex periamigdalóide. O núcleo lateral, basal e basal acessório recebem projeções leves do córtex piriforme e, juntamente com o núcleo central, também recebem informações olfativas indiretamente de outros núcleos amigdalares. A entrada de informações visuais e auditivas ocorre através de conexões de núcleos talâmicos e áreas corticais de associação para núcleos amigdalares, mais especificamente para o núcleo lateral e central. A via auditiva tálamo-cortical para o núcleo lateral tem significativa relevância nos diversos estudos envolvendo aprendizado associativo aversivo que utilizam estímulos sonoros (Romanski & LeDoux, 1992).

Já as informações polimodais atingem a amígdala a partir do córtex pré-frontal e formação hipocampal. O núcleo basal recebe as mais densas projeções do córtex pré-frontal, principalmente da região pré-lobulocaudal; entretanto, também se observam projeções do córtex pré-frontal para os núcleos lateral, basal acessório, medial e central (McDONALD *et al.*, 1996). Áreas da formação hipocampal estabelecem conexões

extensas e bidirecionais com núcleos amigdalares, principalmente com os núcleos do complexo basolateral (PITKÄNEN *et al.*, 2000a). O núcleo lateral recebe densa projeção do córtex perirrinal; porém, projeções do córtex entorrinal e hipocampo são esparsas. Por outro lado, o núcleo basal é o principal alvo amigdalares das projeções do hipocampo, principalmente do subículo e, quase exclusivamente, do CA1, portanto, recebe informações já substancialmente processadas, como representações configuracionais do ambiente (CANTERAS & SWANSON, 1992; GOOSENS & MAREN, 2001; YANIV *et al.*, 2004; McDONALD, 1998). Os núcleos basal acessório e central também recebem projeções do córtex entorrinal e do subículo (PITKÄNEN *et al.*, 2000a).

Além das projeções de áreas sensoriais, a amígdala também recebe informações (1) do hipotálamo, particularmente nos núcleos central, lateral e medial, e (2) do tronco encefálico, particularmente no núcleo central, oriundas do mesencéfalo, ponte e medula (SAH *et al.*, 2003; PITKÄNEN *et al.*, 2000b).

Outra característica hodológica particular da amígdala é a distinção de seus núcleos também pelas suas projeções para sistemas funcionais distintos (SWANSON & PETROVICH, 1998, PITKÄNEN *et al.*, 2000b). Resumidamente, as projeções eferentes atingem áreas corticais e subcorticais sensoriais, regiões temporais e frontais, áreas hipotalâmicas e tronco encefálico. Por exemplo, o núcleo lateral projeta-se substancialmente para regiões corticais das quais recebe projeções, para a formação hipocampal como o córtex entorrinal, perirrinal e parasubículo e, mais esparsamente, para o córtex pré-frontal. Já o núcleo basal projeta-se substancialmente para o córtex pré-frontal, formação hipocampal como córtex entorrinal, subículo, parasubículo e CA1, e núcleo accumbens. Diferentemente, o núcleo central exibe poucas projeções para áreas corticais e massivas projeções para núcleos do hipotálamo, da estria terminal e diversos núcleos do mesencéfalo, ponte e medula. Similarmente ao núcleo central, o

núcleo medial também envia projeções para o hipotálamo e estria terminal e, adicionalmente, para o tálamo e áreas do sistema olfatório. As vias eferentes do núcleo central para diferentes núcleos do hipotálamo, assim como para a substância cinzenta periaquedutal, núcleo parabraquial e núcleo do trato solitário, estão envolvidas na coordenação de respostas emocionais, particularmente as específicas de medo como congelamento, liberação de hormônios de estresse (e.g., cortisol), aumento nos batimentos cardíacos e pressão sanguínea, entre outras (LEDOUX *et al.*, 1988).

Ademais, os núcleos amigdalares também apresentam extensas conexões intra-amigdalares indicando que há intenso processamento local das informações que entram na amígdala para que haja a emissão de comportamentos apropriados (PITKÄNEN *et al.*, 1997; SAH *et al.*, 2003, para revisões). Dessa forma, observa-se que os núcleos do complexo basolateral são os que mais projetam para outros núcleos e entre si. O núcleo lateral envia projeções para o basal, basal acessório, central e córtex periamigdalóide sendo que, exceto pelo núcleo central, ele também recebe conexões destes mesmos núcleos. O núcleo basal também envia projeções para o núcleo basal acessório e central sendo este último o alvo da projeção mais extensa. O núcleo basal acessório, além de projetar-se para o núcleo lateral, também projeta-se para o central e medial que, por sua vez, também projetam-se para o basal acessório. Já o núcleo central tem a característica particular de ser o alvo de massivas projeções de outros núcleos, porém, envia escassas projeções para estes.

Assim, a partir dos dados hodológicos, observa-se que a amígdala está em condições de receber informações sensoriais, unimodais ou polimodais, do córtex e de regiões sub-corticais, processá-las de forma a associá-las com estímulos biologicamente significativos (e.g., estímulos nociceptivos) e coordenar a emissão de respostas motoras, autonômicas, endócrinas e somáticas frente a esses estímulos. Isto é, ela funcionaria

como uma interface entre estímulos sensoriais e respostas comportamentais, neurovegetativas e endócrinas (ROLLS, 1999).

Estudos comportamentais

Em 1939, Klüver & Bucy pioneiramente ressaltaram a existência de uma relação entre estruturas nervosas localizadas no lobo temporal de macacos *Rhesus* e o processamento de informação de ordem emocional. Eles observaram que a ablação bilateral destas estruturas resultou em notáveis mudanças comportamentais como aumento de mansidão, perda de responsividade emocional, análise excessiva de objetos oralmente, ingestão de alimentos anteriormente rejeitados. Esse conjunto de mudanças comportamentais ficou conhecido como “Síndrome de Klüver e Bucy”. Essas mudanças foram atribuídas a uma “desvalorização psicológica” de objetos com forte significado afetivo. A partir desses estudos iniciais surgiram tentativas de identificar com maior precisão as regiões nervosas responsáveis pela Síndrome de Klüver e Bucy.

Nesse contexto, Weiskrantz, em 1956, demonstrou que a ablação bilateral somente de uma pequena região do lobo temporal de macacos resultava em mudanças comportamentais muito similares as da síndrome de Klüver e Bucy. Essa pequena região era a amígdala. Adicionalmente, esse autor também observou que animais sem essa região demonstravam prejuízo no desempenho da tarefa de esquiva ativa (em que o animal deve emitir uma resposta diante da apresentação de um estímulo, neste caso visual, que sinaliza a subsequente ocorrência de um estímulo aversivo, um choque, como forma de evitá-lo). A partir dessa observação, sugeriu-se que a amígdala seria responsável pela aprendizagem da associação entre estímulos inicialmente neutros com reforçadores, fossem estes últimos recompensas ou punições (ROLLS, 1999). Deste modo, essa região passou a ser o foco de diversos estudos a fim de entender os circuitos

neurais subjacentes ao aprendizado e memória emocional. Assim, há uma extensa literatura sobre o envolvimento dos núcleos amigdalares no aprendizado apetitivo e aversivo, sendo este último o principal tema de pesquisas envolvendo a amígdala desde 1980.

Sobre o envolvimento da amígdala em associações de natureza apetitiva, sabe-se basicamente que o complexo basolateral (BLA) e o núcleo central (CE) participam, paralelamente, da codificação da representação de uma associação entre estímulos neutros e recompensas. Apesar de ainda não se saber qual o papel da amígdala na aquisição inicial de associações apetitivas simples, evidências apontam que o BLA seria responsável por processar associações entre estímulos neutros com elementos sensoriais específicos de estímulos apetitivos, enquanto que o CE estaria envolvido no processamento de associações entre estímulos neutros com as reações comportamentais generalizadas de um estímulo apetitivo (MOSCARELLO & LEDOUX, 2013). Essas conclusões surgiram a partir de observações da dissociação de desempenho de ratos com lesão no BLA ou CE em tarefas comportamentais. Por exemplo, em tarefas de condicionamento operante de primeira e segunda-ordem observa-se que animais com lesão no BLA exibem prejuízo na emissão das respostas operantes, porém, não das respostas de orientação ao estímulo neutro, sendo o contrário observado em animais com lesão no CE (HITCHCOTT & PHILLIPS, 1998; HATFIELD *et al.*, 1996).

Apesar dos núcleos amigdalares participarem dos processos de aprendizado e memória emocional tanto de natureza apetitiva como aversiva, uma maior atenção foi dada ao envolvimento desses núcleos nos processos aversivos de medo e ansiedade. Assim, ao longo de aproximadamente três décadas, acumularam-se evidências sobre o envolvimento da amígdala no aprendizado aversivo, principalmente as relacionadas ao aprendizado associativo, por meio de diferentes tarefas comportamentais como tarefas

de esquiva ativa, esquiva passiva e condicionamento clássico aversivo (DAVIS, 1992; LEDOUX, 2000; MCGAUGH, 2004). Entretanto, é importante reconhecer que não há um mecanismo único relacionado ao aprendizado associativo aversivo. Dessa forma, observa-se que a utilização de diferentes estímulos aversivos (e.g., choque, aperto na cauda, predador) e as respostas que eles causam (e.g., respostas autonômicas, congelamento, sobressalto potencializado) envolvem circuitos neurais distintos (FANSELOW & POULOS, 2005). Por exemplo, os condicionamentos contextuais que utilizam o odor de predadores e os que utilizam choque nas patas recrutam diferentes regiões neurais (zona medial do hipotálamo e núcleo parabraquial, respectivamente) que se projetam para diferentes núcleos da amígdala (medial e central, respectivamente) que, após processamento, ativam diferentes regiões responsáveis pelas respostas específicas de medo (região dorsolateral e ventrolateral da substância cinzenta periaquedutal, respectivamente) (CANTERAS *et al.*, 2012).

O condicionamento clássico aversivo é o paradigma mais comumente utilizado nos estudos sobre aprendizado associativo aversivo. Assim, é necessário compreender os processos cognitivos que ocorrem nessa tarefa para, então, atribuir funções aos sistemas neurais subjacentes a eles (MAREN, 2003).

Basicamente, essa tarefa comportamental envolve processos associativos de representações sensoriais de estímulos inicialmente neutros com estímulos aversivos (MAREN, 2001). Assim, quando um estímulo inicialmente neutro, e.g., um som, uma luz ou até mesmo um contexto, é apresentado contingentemente com um estímulo aversivo (denominado estímulo incondicionado ou US), e.g., um choque nas patas ou um aperto na cauda, ocorre, então, uma associação entre estímulos sendo que o estímulo anteriormente neutro torna-se condicionado (CS). Isto é, o animal que é exposto a esse pareamento de estímulos aprende a associação e, quando exposto somente ao CS, passa

a apresentar respostas específicas de medo como respostas comportamentais, e.g., congelamento ou sobressalto potencializado, respostas endócrinas, e.g., liberação de cortisol, e respostas autonômicas, e.g., aumento de batimento cardíaco, pressão arterial e sudorese.

Diversas manipulações podem ser realizadas experimentalmente em diferentes momentos da tarefa a fim de avaliar a participação de estruturas neurais em cada processo cognitivo (MAKKAR *et al.*, 2010). Essa avaliação normalmente ocorre através da observação de mudanças comportamentais apresentadas pelos animais, e.g., diminuição ou aumento da resposta de congelamento, a qual é caracterizada por imobilidade quase total do animal exceto pelo movimento de respiração (MAREN *et al.*, 1996a). Resumidamente, para avaliar se a região participa da aquisição do condicionamento as manipulações são realizadas antes do treino do condicionamento, durante o qual ocorre a associação do CS-US. Para avaliar sua participação no processo de consolidação da associação, realizam-se as manipulações dessa região imediatamente (ou pouco tempo) após o treino. Do mesmo modo, para avaliar se a região participa da expressão das respostas condicionadas ou evocação da memória, realizam-se manipulações antes do teste de condicionamento. Em relação às manipulações que podem ser realizadas, diversos métodos têm sido empregados e desenvolvidos a fim de esclarecer melhor essas relações. Os primeiros experimentos com a amígdala utilizaram o método de ablação por aspiração ou dano mecânico; posteriormente, passaram a ser utilizados métodos envolvendo lesões eletrolíticas e, mais recentemente, lesões seletivas induzidas por neurotoxinas. Os estudos com lesão permitem avaliar se a integridade da estrutura alvo é requerida para o desempenho daquele paradigma. Porém, eles são pouco informativos sobre quais processos particulares são alterados pela lesão (SANDERS *et al.*, 2003). Dessa forma, resultados de estudos que envolvem lesões devem ser avaliados

com precaução, pois dependendo do momento em que a lesão foi realizada, mais de um processo pode ser prejudicado; por exemplo, quando a lesão é realizada antes do treino, pode-se afetar a aquisição, a consolidação, a evocação e/ou a expressão da resposta que se supõe expressa a função avaliada. Assim, a utilização de inativação temporária de uma estrutura nervosa induzida pela infusão tópica de anestésicos locais (e.g., lidocaína), agonistas do receptor GABA (e.g., muscimol) ou bloqueio de receptores (e.g., antagonistas do receptor N-methyl-D-aspartate, ou NMDA, através de infusão de D-AP5) por meio de cânulas implantadas previamente direcionadas para a região almejada, tem sido largamente empregada por proporcionar importantes vantagens na avaliação das funções afetadas pela disfunção produzida (EDELIN *et al.*, 2002; DE VASCONCELOS *et al.*, 2006).

Envolvimento da amígdala no condicionamento aversivo

Blanchard & Blanchard (1972) mostraram que ratos com lesões na amígdala falhavam em apresentar o comportamento de congelamento quando expostos à caixa (ou contexto) no qual eles haviam recebido choque nas patas; esse foi um dos primeiros estudos a estabelecer uma relação entre funções amigdalares e o paradigma do condicionamento aversivo. Desde então, esse paradigma vem sendo intensamente utilizado para estudos das funções da amígdala envolvidas nos processos de aprendizado e memória. (CAMPEAU *et al.*, 1992; FANSELOW & KIM, 1994; MAREN *et al.*, 1996a, 1996b).

A partir de diversos estudos anatômicos (vide anteriormente) e comportamentais, observam-se dois subsistemas amigdalares participando desse tipo de aprendizado. O primeiro seria composto pelo BLA, o qual funcionaria como porta de entrada para as informações sensoriais, e o CE participaria do segundo subsistema, o

qual seria responsável pela coordenação das respostas específicas de medo (MAREN, 2001; LEDOUX, 2000). Porém, apesar de evidências corroborarem o papel do CE como interface nas respostas de medo condicionadas (FANSELOW & KIM, 1994), alguns estudos mostram que o CE também teria um importante papel na aquisição e consolidação do condicionamento aversivo uma vez que sua inativação temporária pré-treino ou a inibição tópica da síntese de proteínas pós-treino prejudicam o condicionamento de medo ao som (WILENSKY *et al.*, 2006).

Em relação ao BLA, diversos estudos evidenciaram que animais com lesão (CAMPEAU & DAVIS, 1995; MAREN *et al.*, 1996a; COUSENS & OTTO, 1998) ou inativação (WILENSKY *et al.*, 1999 e 2000) desse complexo amigdalár apresentam significativo prejuízo na aquisição e expressão do condicionamento aversivo a CSs de diversas modalidades sensoriais como auditivo, olfativo e contextual. Similarmente, observa-se que infusão de antagonistas de receptores NMDA no BLA de ratos acarreta em diminuição das respostas condicionadas de congelamento e sobressalto potencializado no teste de condicionamento (MISERENDINO *et al.*, 1990; CAMPEAU *et al.*, 1992; FANSELOW & KIM, 1994; MAREN *et al.*, 1996b; LEE & KIM, 1998) e inibição tópica de proteínas quinases no BLA também prejudicam a aquisição do condicionamento aversivo a estímulos sonoros e contextuais (GOOSEN *et al.*, 2000). Ademais, há indução de potenciação de longa duração (do inglês, “long term potentiation”, ou LTP) no BLA após estimulação de alta frequência em regiões nervosas que projetam informações contextuais (MAREN & FANSELOW, 1995) e auditivas (CLUGNET & LEDOUX, 1990) para essa região.

Juntas, essas evidências levaram à proposta de que o BLA seria um local de convergência do CS-US onde ocorre plasticidade neural responsável pelo aprendizado e consolidação do condicionamento aversivo (FANSELOW & LEDOUX, 1999). Porém,

alguns autores discordam desse modelo e propõem a interpretação alternativa de que a amígdala, influenciando regiões envolvidas na consolidação de memórias, teria mais um papel modulatório na formação de memórias aversivas, mas não necessariamente seria o local de formação e armazenamento dessas memórias (CAHILL *et al.*, 1999; VAZDARJANOVA, 2000; MCGAUGH, 2002, para revisão). Como ambas as hipóteses vem sendo apoiadas por evidências experimentais, alguns autores enfatizam que a amígdala teria função modulatória em alguns casos (e.g., na esquiva inibitória) sendo uma região de convergência de estímulos e plasticidade neural em outros (e.g., condicionamento aversivo) (WILLENSKY *et al.*, 2000).

Participação do núcleo basal no condicionamento aversivo

O complexo basolateral, como mencionado anteriormente, é composto por núcleos (LA, BA e AB) que possuem características distintas, principalmente no que diz respeito à hodologia e eletrofisiologia. Dessa forma, o envolvimento do BLA no condicionamento aversivo deve ser investigado também sob a ótica do envolvimento dos sistemas funcionais relacionados aos seus subcomponentes.

Neste contexto, diversos estudos apontam que o LA possui um importante papel no condicionamento aversivo a estímulos discretos, principalmente os sonoros (BLAIR *et al.*, 2001, para revisão). Assim, observa-se que lesão seletiva no LA, assim como infusão de inibidores de síntese de proteínas, prejudica o condicionamento aversivo ao som (LEDOUX *et al.*, 1990; SCHAFE & LEDOUX, 2000). Além disso, foram observadas mudanças na atividade neural do LA após condicionamento ao som sugerindo que haveria um mecanismo celular similar à LTP ocorrendo neste núcleo (ROGAN, 1997). De fato, hodologicamente o LA recebe informações auditivas tanto do córtex como do tálamo sendo que as vias tálamo-amígdala e tálamo-cortico-amígdala são

imprescindíveis para o condicionamento aversivo ao som (ROMANSKI & LEDOUX, 1992).

Em contraste, poucos estudos foram realizados com o objetivo de analisar a função do BA no condicionamento aversivo e, apesar de haver evidências controversas sobre o envolvimento do BA no condicionamento aversivo (GOOSEN & MAREN, 2001; NADER *et al.*, 2001; ANGLADA-FIGUEROA & QUIRK, 2005), estudos mais recentes têm demonstrado que este núcleo tem um papel importante neste paradigma quando pistas contextuais são utilizadas, i.e., quando o ambiente no qual o animal recebeu o US se torna o estímulo condicionado (ONISHI & XAVIER, 2010; YANIV *et al.*, 2004) .

Goosen & Maren (2001) observaram prejuízo no condicionamento aversivo ao som e ao contexto em ratos submetidos, antes do condicionamento, a lesões eletrolíticas seletivas unilaterais no LA, BA ou CE e lesões no hemisfério oposto abrangendo todo BLA. Porém, Nader *et al.* (2001) demonstraram que somente as lesões eletrolíticas seletivas bilaterais no LA e CE causaram prejuízo no condicionamento aversivo ao som. Similarmente, lesões eletrolíticas realizadas antes do treino não causaram efeito no condicionamento aversivo ao som em estudo reportado por Anglada-Figueroa & Quirk (2005). Já Calandreau *et al.* (2005) procuraram investigar a contribuição do LA e do BA no condicionamento aversivo ao som e ao contexto por meio de situações distintas de condicionamento envolvendo um som como CS apresentado de forma pareada ou não com o US. Assim, na condição “CS-US pareado” o contexto fica em segundo plano, ao passo que na condição “CS-US não-pareado” o contexto fica em primeiro plano. Esses autores inativaram temporaria e seletivamente cada um desses núcleos por meio da microinfusão tópica de lidocaína antes do **treino** em grupos independentes de animais submetidos ao condicionamento com som e choque pareados (CS-US pareado) ou com som e choque não pareados (CS-US não-pareado) e, após 24 horas, esses animais eram

testados separadamente ao contexto e ao som. No **teste** do condicionamento **ao som**, a inativação do LA antes do treino com CS-US pareado, mas não com CS-US não-pareado, acarretou em prejuízo das respostas de congelamento. Contrastando com os resultados observados em animais com inativação do BA, pois, em ambas as condições CS-US pareado e não-pareado, essa inativação não teve efeito nas respostas de congelamento nos testes de condicionamento ao som. Já no **teste** de condicionamento **ao contexto**, ambos os grupos de animais com inativação do BA antes de serem treinados na condição CS-US pareado ou na condição não-pareado apresentaram prejuízo das respostas de congelamento. Do mesmo modo, também foi observado prejuízo neste teste quando houve inativação do LA antes do treino com CS-US não-pareado, porém, ao contrário, a inativação do LA antes do treino CS-US pareado resultou em aumento do condicionamento ao contexto, i.e., esses animais passaram mais tempo exibindo respostas de congelamento no teste de condicionamento ao contexto. Assim, os autores sugerem que esses núcleos teriam contribuições distintas quando utilizado condicionamento a estímulos de natureza unimodal ou polimodal estando o BA mais envolvido em condicionamentos a estímulos polimodais.

Corroborando esta última hipótese, Yaniv *et al.* (2004) e Onishi & Xavier (2010), observaram que animais com, respectivamente, inativação por lidocaína e lesão por ácido ibotênico seletiva do BA antes do condicionamento concorrente ao som e ao contexto (Figura 2) apresentaram prejuízo nas respostas condicionadas de congelamento ao contexto, mas não ao som. Mais especificamente, no experimento conduzido por Onishi & Xavier (2010), animais com lesão seletiva do BA e seu grupo controle foram individualmente inseridos em uma caixa de condicionamento (contexto) e, após dois minutos, receberam cinco pareamentos de um som com um choque nas patas, ou seja, esses animais foram condicionados simultaneamente a um estímulo unimodal (som) e

um estímulo polimodal (contexto). Após 24 horas, testes separados ao contexto e ao som foram realizados a fim de averiguar a aquisição do condicionamento a esses estímulos, i.e., primeiro os animais foram reinseridos na caixa (teste de condicionamento ao contexto) e, após 24 horas deste teste, os mesmos foram apresentados ao som condicionado em uma caixa completamente diferente (teste ao som). Através da observação das respostas de congelamento em ambos os testes, os resultados mostraram que os animais com danos seletivos no BA exibiram prejuízo na situação envolvendo medo condicionado ao contexto, mas não na situação envolvendo medo condicionado ao som.

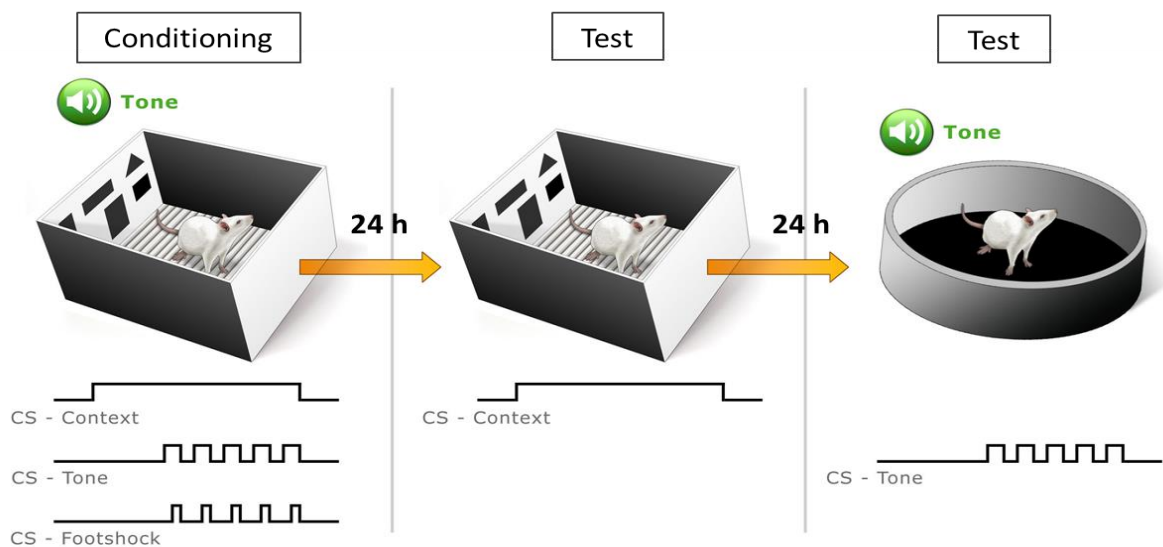


Figura 2. Representação esquemática da tarefa de condicionamento concorrente ao som e ao contexto.

Devido ao fato de que a lidocaína inativa também as fibras de passagem (EDELIN *et al.*, 2002), pode-se questionar se o efeito observado por Yaniv *et al.* (2004) poderia ter sido causado por inativação não somente do BA, mas também de fibras que passam por esse núcleo e conectam outras áreas (ONISHI & XAVIER, 2010). Por outro lado, sabe-se que lesões por ácido ibotênico são mais restritas e atingem somente corpos

celulares sem afetar as fibras de passagem (MAREN, 1999c). Deste modo, o experimento realizado por Onishi & Xavier (2010) confirma o envolvimento do BA no condicionamento aversivo ao contexto. Porém, por se tratar de uma lesão realizada antes do treino, há ainda a possibilidade de que o efeito observado tenha sido devido à dificuldade de animais com lesão no BA em evocar a memória aversiva ao contexto e/ou expressar o medo condicionado ao contexto.

Essas evidências favorecendo a ideia de que o LA e o BA exibem participações distintas no condicionamento aversivo a estímulos de naturezas distintas, como som e contexto, são consistentes com evidências eletrofisiológicas da atividade dos neurônios presentes nesses núcleos. Em estudos sobre a responsividade de neurônios a estímulos sensoriais condicionados a estímulos apetitivos ou aversivos, demonstrou-se que os núcleos da amígdala apresentam características específicas (UWANO *et al.*, 1995; ONO *et al.*, 1995; TOYOMITSU *et al.*, 2002). Particularmente, observa-se que neurônios responsivos a estímulos de natureza unimodal, i.e., neurônios cuja atividade eletrofisiológica é aumentada quando da apresentação de uma modalidade sensorial somente, e.g., som, luz ou cheiro, estão presentes principalmente no LA, em particular os responsivos a sons (TOYOMITSU *et al.*, 2002). Em contraste, os neurônios que respondem a estímulos de natureza polimodal, i.e., aqueles que são ativados por duas ou mais modalidades sensoriais como o conjunto de um som e uma luz, são localizados majoritariamente no BA (ONO *et al.*, 1995). Esses dados são congruentes com os dados hodológicos. Como mencionado anteriormente, o BA é o principal alvo amigdalár da formação hipocampal (CANTERAS & SWANSON, 1992), o qual é, sabidamente, responsável por processar informações espaciais (e.g., contexto), que, por sua vez, são de natureza polimodal.

O paradigma do condicionamento aversivo ao contexto

A aquisição do condicionamento aversivo ao contexto parece envolver aspectos únicos e depender de diferentes regiões neurais (FANSELOW, 2000; MATUS-AMAT *et al.*, 2007).

No condicionamento aversivo a estímulos discretos, quanto menor o intervalo entre a apresentação do CS e do US, melhor é o condicionamento. Em contraste, no condicionamento aversivo ao contexto, essa regra não se aplica. Animais que recebem choque nas patas logo após (e.g. 9 segundos) terem sido colocados em um novo ambiente (e.g., caixa de condicionamento) não apresentam respostas condicionadas de medo quando colocados novamente neste ambiente, i.e., se o intervalo de tempo entre a inserção na caixa (CS) e a apresentação do choque (US) for muito curto (choque imediato) os animais não são capazes de adquirir a associação entre contexto e choque (BLANCHARD *et al.*, 1976; FANSELOW, 1986). Porém, se for permitido aos animais explorarem a caixa por um período de tempo maior (e.g. 2 minutos) antes de receberem o choque nas patas, então eles adquirem o condicionamento aversivo ao contexto (FANSELOW, 1986, 1990). A partir destas observações, Fanselow (1990) sugeriu que os animais precisariam de um intervalo de tempo maior entre a inserção na caixa e os choques para processarem os elementos presentes no ambiente como um todo, i.e., um contexto único, o qual, então, seria associado ao estímulo aversivo.

Consistentemente com essa interpretação, Fanselow (1990) reportou que se o animal é pré-exposto ao contexto no dia anterior ao pareamento deste contexto com choque nas patas, mesmo com um choque imediato, esse animal é capaz de adquirir o condicionamento aversivo ao contexto. Esse fenômeno ficou conhecido como “efeito de facilitação pela pré-exposição ao contexto” (FANSELOW, 1990; RUDY *et al.*, 2004). Acredita-se que a pré-exposição do animal ao ambiente (caixa) possibilita a obtenção de

informações suficientes sobre os estímulos que constituem esse ambiente, facilitando sua integração num contexto único, uma representação configuracional. Posteriormente, quando o animal é reinserido na caixa a memória desta representação é rapidamente evocada e associada com o choque aplicado imediatamente após a inserção no ambiente ocorrendo, então, a aquisição do condicionamento aversivo ao contexto. Ademais, Rudy & O'Reilly (1999) forneceram evidências apoiando a hipótese da representação única por meio de um experimento comportamental onde os animais eram divididos em dois grupos, um pré-exposto ao contexto onde ocorria o condicionamento e também a um segundo contexto com características diferentes e o outro grupo era pré-exposto a dois contextos diferentes daquele em que ocorria o condicionamento, porém, cada um destes contextos continham, separadamente, características (ou elementos) iguais ao contexto condicionado, i.e., apesar desse grupo não ter sido exposto ao contexto a ser condicionado, ele foi exposto à todas características que compõe esse contexto, porém de forma separada. Dessa forma, se o animal utilizasse a estratégia da representação configuracional haveria uma diferença de condicionamento entre os grupos. Diferentemente, se uma estratégia de aprendizado por elementos separados fosse utilizada, ambos os grupos adquiririam o condicionamento. Foi observada diferença no condicionamento entre os grupos apoiando a ideia de que animais intactos utilizam a estratégia de aprendizado configuracional.

A partir desses estudos comportamentais surgiu uma variante do paradigma do condicionamento aversivo ao contexto que envolve a facilitação pela pré-exposição ao contexto ("Context Pre Exposure Facilitation-CPEF) e consiste em três fases (Figura 3), cada qual num dia diferente: (1) o animal é pré-exposto ao contexto - quando ocorre a formação da representação desse ambiente; (2) o animal é reinserido no contexto e recebe, após poucos segundos, choque nas patas - quando ocorre evocação da

representação do contexto e esta é associada com o estímulo aversivo; e (3) o animal é testado no contexto - quando a memória da associação contexto-choque é evocada pela exposição ao contexto eliciando, assim, respostas condicionadas de medo como o congelamento (RUDY *et al.*, 2004).

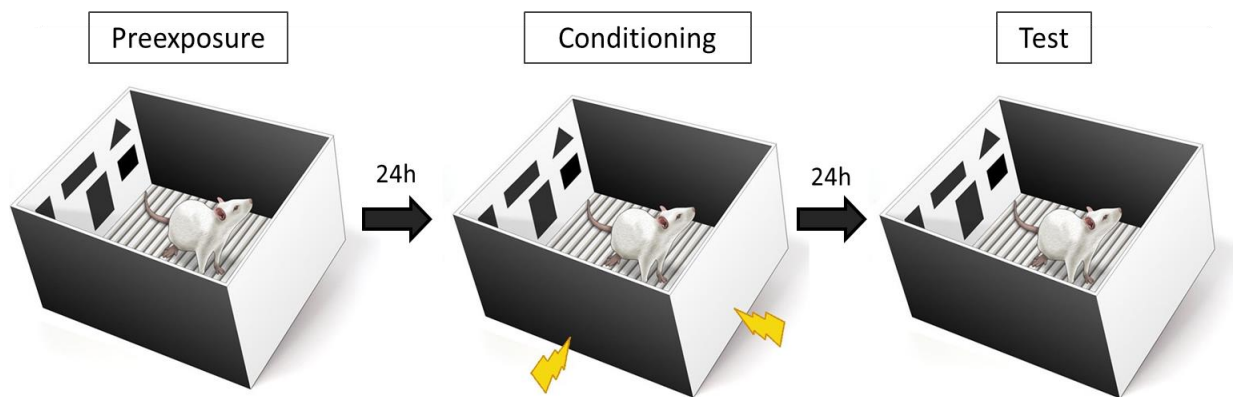


Figura 3. Representação esquemática do condicionamento aversivo ao contexto envolvendo o CPEF demonstrando suas três fases.

É importante ressaltar que há controvérsias em relação ao tempo ideal de exposição ao contexto na segunda etapa do procedimento, antes da administração do choque, para maximizar o condicionamento. Fanselow (1990) defende que esse tempo deve ser suficiente para que a memória da representação do contexto, obtida no dia anterior, seja evocada. Assim, em experimentos anteriores aos reportados no presente estudo, realizados em nosso laboratório, foram avaliados três intervalos de tempo (0, 10 e 20 segundos) entre a inserção de ratos na caixa de condicionamento e a apresentação de choque nas patas, tanto em ratos pré-expostos a caixa durante 5 minutos no dia anterior, como em ratos sem exposição prévia. Os resultados desses experimentos mostraram que os animais pré-expostos e que receberam choque após 10 segundos da inserção na caixa no dia seguinte apresentaram a maior média de respostas de

congelamento entre os grupos (Figura 4). Isso acarretou na decisão de utilizar o intervalo de 10 segundos nos experimentos posteriores (ver adiante, no Capítulo II).

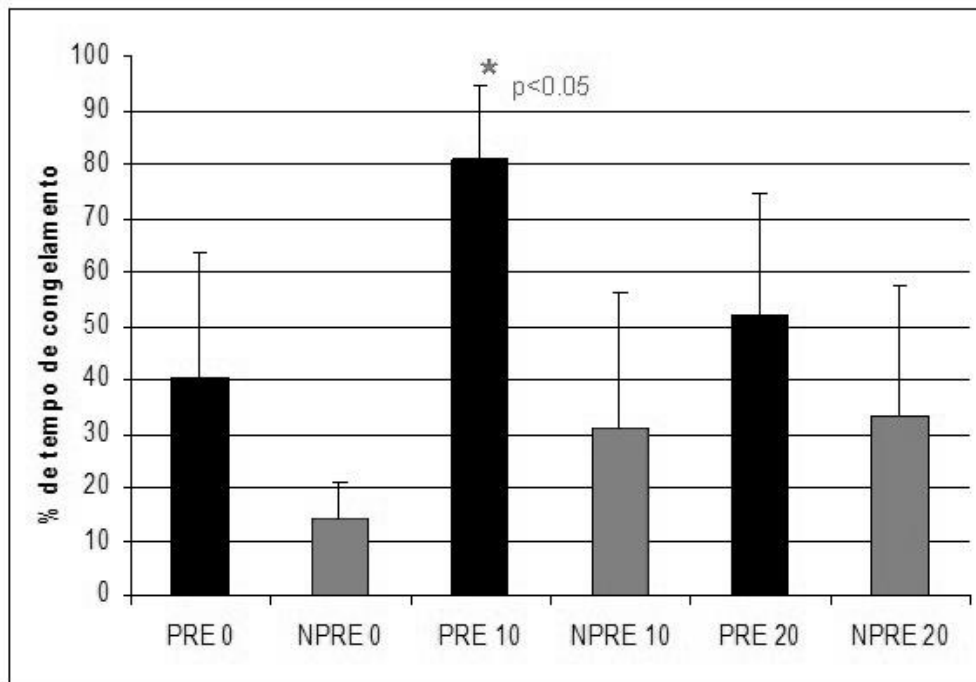


Figura 4. Porcentagem do tempo de congelamento exibido pelos ratos pré-expostos (PRE) ou não (NPRE), introduzidos na caixa de condicionamento 0, 10 ou 20 s antes da aplicação do choque nas patas (dados não publicados de Jordão, Onishi e Xavier).

Regiões neurais envolvidas no condicionamento aversivo ao contexto

O hipocampo recebe diversos estímulos sensoriais do córtex (olfativo, visual, auditivo) e os processa de modo a realizar múltiplas associações entre eles (LANGSTON *et al.*, 2010). Essa capacidade colocou o hipocampo no centro das atenções de diversos estudos. O'Keefe & Nadel (1978), através de experimentos comportamentais e registros da atividade de neurônios hipocámpais de ratos se movimentando livremente, sugeriram um modelo em que o hipocampo seria responsável pelo aprendizado espacial formulando mapas cognitivos, i.e., eles sugeriram que neurônios no hipocampo seriam capazes de responder a diversas combinações de pistas ambientais que levariam a uma construção de uma mapa do ambiente a partir do conjunto de representações locais. Mais tarde, Sutherland & Rudy (1989) sugeriram que o hipocampo suportaria um

sistema de associação configuracional. Nesse modelo uma das funções do hipocampo seria a de unir os elementos sensoriais presentes em um ambiente em uma representação conjuntiva única deste ambiente (RUDY & O'REILLY, 1999). Dessa forma, essa representação única seria evocada quando o animal fosse exposto novamente aos mesmos estímulos (LANGSTON *et al.*, 2010).

A participação do hipocampo em processos associativos e de memória levou pesquisadores a indagar se o hipocampo estaria envolvido no condicionamento aversivo. Não surpreendentemente, diversas evidências mostram um importante papel dessa região no condicionamento aversivo ao contexto. Resumidamente, observou-se que lesões do hipocampo antes ou logo após o treino prejudicam o condicionamento aversivo ao contexto, mas não ao som (KIM & FANSELOW, 1992; MAREN *et al.*, 1997; ANAGNOSTARAS *et al.*, 1999, YOUNG *et al.*, 1994). Além disso, também foi observado que lesões realizadas 28 dias ou mais após o treino pouco ou nada afetam o condicionamento ao contexto (KIM & FANSELOW, 1992; MAREN *et al.*, 1997; ANAGNOSTARAS *et al.*, 1999). Assim, sugeriu-se que o hipocampo seria responsável pela codificação e manutenção temporária da representação configuracional do contexto que, então, seria associada ao estímulo aversivo (ANAGNOSTARAS *et al.*, 2001).

Apesar de haver um consenso sobre a participação do hipocampo no condicionamento aversivo ao contexto, ainda há dúvidas sobre como se daria esse envolvimento (FANSELOW, 2010, para revisão). Isso porque alguns experimentos mostram que nem sempre lesões do hipocampo antes do treino levam ao prejuízo do condicionamento ao contexto (MAREN *et al.*, 1997; FRANKLAND *et al.*, 1998; CHO *et al.*, 1999). A hipótese mais recorrente é de que o sistema de processamento de informações contextuais do hipocampo, i.e., um processamento do tipo configuracional, compete com outro sistema extra-hipocampal, o qual, supostamente, suporta um processamento

do tipo elementar, sendo que o primeiro tem vantagem sobre o último (FANSELOW, 2000; ANAGNOSTARAS *et al.*, 2001). Porém, ainda são necessários mais estudos para entender melhor quais seriam essas regiões extra-hipocampais envolvidas nesse processo e o modo como ocorreria o aprendizado contextual nessas regiões.

Observa-se também importante envolvimento do hipocampo quando utilizada a variante do paradigma do condicionamento aversivo ao contexto que envolve o CPEF. Como mencionado anteriormente, essa variante consiste em três fases onde ocorrem aprendizado contextual (pré-exposição ao contexto - fase 1), aprendizado associativo aversivo (condicionamento por choque imediato - fase 2) e expressão das respostas condicionadas (teste do condicionamento - fase 3). Manipulações no hipocampo antes ou logo após a primeira fase acarretam em prejuízo do condicionamento. Por exemplo, lesão (RUDY *et al.*, 2002), inativação por muscimol (MATUS-AMAT *et al.*, 2004), bloqueio de receptores NMDA (MATUS-AMAT *et al.*, 2007) do hipocampo antes ou inibição de síntese de proteínas (BARRIENTOS *et al.*, 2002) nesta região logo após a pré-exposição ao contexto (fase 1) prejudica o aprendizado contextual e, assim, o animal não adquire o condicionamento ao contexto. Além disso, no estudo de MATUS-AMAT *et al.* (2004) muscimol foi infundido por meio de cânulas inseridas no hipocampo antes de cada uma das três fases envolvida no paradigma do CPEF (mencionadas anteriormente), em grupos independentes de animais. Nas três diferentes manipulações foi observado prejuízo das respostas de congelamento quando os animais foram testados no contexto condicionado. Assim, esses dados levaram à sugestão de que o hipocampo participaria ativamente na formação da representação configuracional do contexto, na evocação dessa representação no momento da associação com o choque e na evocação dessa associação aversiva (MATUS-AMAT *et al.*, 2004).

Como mencionado anteriormente, a amígdala também está envolvida no condicionamento aversivo ao contexto. Diversos estudos observaram que animais com dano (irreversível ou reversível) no complexo basolateral apresentam prejuízo nesta tarefa (FANSELOW & KIM, 1994; FLAVELL & LEE, 2012; HELMSTETTER & BELLGOWAN, 1994, HUFF & RUDY, 2004; KIM *et al.*, 1993; MAREN & FANSELOW, 1996; MAREN, 1998; MULLER *et al.*, 1997).

Ademais, alguns estudos tentaram esclarecer como se daria a participação do BLA quando utilizado o paradigma envolvendo CPEF, i.e., em quais das fases dessa tarefa o BLA seria necessário. Huff & Rudy (2004) observaram que inativações do BLA por muscimol, fossem antes ou logo após a fase de pré-exposição ao contexto, resultaram em prejuízo das respostas de congelamento quando comparados com seus grupos controle no momento do teste. Em contraste, quando infundiram anisomicina (um inibidor de síntese proteica) no BLA logo após essa mesma fase nenhum prejuízo foi observado levando os autores a sugerir que o BLA teria um papel modulatório na formação de memórias contextuais, pois sua inativação teve efeito sobre a aquisição desse tipo de memória, porém, a inibição de síntese de proteínas, a qual é necessária para consolidação de memórias, neste complexo não influenciou o condicionamento. Já Matus-Amat *et al.* (2007), através do bloqueio de receptores NMDA do BLA, em grupos de animais independentes, antes de cada uma das três fases da tarefa, observaram que somente a administração de D-AP5 antes da fase de associação do contexto com o choque prejudicou as respostas de congelamento no momento do teste. Assim, a partir destes resultados sugere-se que somente a fase de aquisição do condicionamento aversivo dependeria de receptores NMDA no BLA, os quais estão relacionados com plasticidade sináptica, e que nas fases em que ocorre formação da

representação do contexto e de evocação da memória aversiva não haveria participação desses receptores no BLA.

Como vimos anteriormente, o núcleo basal do BLA possui características hodológicas (é o principal alvo amigdalár de projeções hipocámpais) e eletrofisiológicas (exibe neurônios que respondem a estímulos de natureza polimodal) que o caracterizam como uma região crítica para o processamento do condicionamento aversivo ao contexto, como reportado por Onishi & Xavier (2010) e Yaniv *et al.* (2004). Porém, esses autores utilizaram um procedimento tradicional de condicionamento, em que os animais permaneceram na caixa de condicionamento (contexto) por alguns minutos antes do início dos pareamentos de som com choques nas patas. Além disso, como mencionado anteriormente, os resultados comportamentais sobre o envolvimento do BA no condicionamento aversivo ao contexto são baseados em procedimentos utilizando, antes do treino, inativação por lidocaína (YANIV *et al.*, 2004), a qual atinge fibras de passagem, ou lesão neurotóxica (ONISHI & XAVIER, 2010) do BA, a qual danifica permanentemente sua função podendo interferir não somente na etapa de aquisição do condicionamento como também na etapa de evocação da memória e/ou expressão das respostas condicionadas. Portanto, os resultados desses estudos não permitem identificar se a deficiência observada após danos no BA decorrem da dificuldade dos animais em formular uma representação unificada do contexto, em associá-lo com o choque nas patas ou em expressar as respostas condicionadas de medo.

Dessa forma, a utilização do procedimento que envolve a facilitação pela pré-exposição ao contexto (CPEF) associado à micro-infusão de muscimol (substância que inativa transitoriamente a região infundida) no BA antes das fases 1, 2 ou 3 permitiria avaliar em qual dessas etapas o BA está envolvido. Em outras palavras, como nesse procedimento comportamental a formação da representação do contexto ocorre no dia

da pré-exposição (fase 1), a associação desse contexto com o choque ocorre no dia do pareamento contexto-choque (fase 2), e a evocação do medo condicionado ocorre no terceiro dia (fase 3), pode-se inativar temporariamente o BA antes de cada uma dessas etapas em grupos independentes e, assim, em função dos prejuízos observados em cada um desses grupos, avaliar em qual delas a integridade do funcionamento dessa estrutura é requerida.

CONCLUSÕES

A partir das evidências encontradas neste trabalho se conclui que o núcleo basal da amígdala não participa do aprendizado associativo aversivo quando estímulos discretos (e.g., som) estão envolvidos, mas é requerido para o estabelecimento de associações envolvendo informação multimodal, i.e., o contexto, com estimulação aversiva. Além disso, observa-se que o núcleo basal tem participação imprescindível no processo de associação entre estímulos de natureza multimodal e estímulos aversivos, principalmente os nociceptivos, e tem papel importante no início da evocação da memória aversiva. Porém, esse núcleo não participa dos processos de construção da representação configuracional do contexto (aprendizado contextual).

REFERÊNCIAS

Almada, R.C.; Albrechet-Souza, L. & Brandão, M.L. Further evidence for involvement of the dorsal hippocampus serotonergic and γ -aminobutyric acid (GABA)ergic pathways in the expression of contextual fear conditioning in rats. *Journal of Psychopharmacology*. 0(0), 1–9 (2013).

Amano, T.; Duvarci, S.; Popa, D. & Paré, D. The fear circuit revisited: contributions of the basal amygdala nuclei to conditioned fear. *The Journal of Neuroscience*. 31(43), 15481–15489 (2011).

Amoraphant, P.; LeDoux, J.E.; Nader, K. Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. *Nature Neuroscience*. 3, 74-79 (2000).

Anagnostaras, S.G.; Maren, S. & Fanselow, M.S. Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination. *The Journal of Neuroscience*. 19(3), 1106-14 (1999).

Anagnostaras, S.G.; Gale, G.D. & Fanselow, M.S. Hippocampus and contextual fear conditioning: recent controversies and advances. *Hippocampus*. 11, 8-17 (2001).

Anglada-Figueroa, D. & Quirk, G.J. Lesions of the basal amygdala block expression of conditioned fear but not extinction. *The Journal of Neuroscience*. 25(42), 9680 –9685 (2005).

Barbalho, C.A.; Nunes-de-Souza, R.L. & Canto-de-Souza, A. Similar anxiolytic-like effects following intra-amygdala infusions of benzodiazepine receptor agonist and antagonist: Evidence for the release of an endogenous benzodiazepine inverse agonist in mice exposed to elevated plus-maze test. *Brain research*. 1267, 65-76 (2009).

Barrientos, R.M.; O'Reilly, R.C. & Rudy, J.W. Memory for context is impaired by injecting anisomycin into dorsal hippocampus following context exploration. *Behavioural Brain Research*. 134, 299-306 (2002).

Bergstrom, H.C.; McDonald, C.G. & Johnson, L.R. Pavlovian fear conditioning activates a common pattern of neurons in the lateral amygdala of individual brains. *PLoS ONE*. 6(1)e15698 (2011).

Blair, H.T.; Schafe, G.E.; Bauer, E.P.; Rodrigues, S.M. & LeDoux, J.E. Synaptic plasticity in the lateral amygdala: a cellular hypothesis of fear conditioning. *Learning and Memory*. 8, 229-242 (2001).

Blanchard, D.C. & Blanchard, R.J. Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 81(2), 281-290 (1972).

Blanchard, R.J.; Fukunaga, K.K. & Blanchard, D.C. Environmental control of defensive reactions to footshock. *Bulletin of the Psychonomic Society*. 8, 129-130 (1976).

Brown, A.M.; Sissman, M.; Kaspro, W.J. & Miller R.R. The roles of information reactivation and nonassociative arousal in recovery from ECS-induced retrograde amnesia. *Physiology & Behavior*. 35, 183-187 (1985).

Burwell, R.D.; Bucci, D.J.; Sanborn, M.R. & Jutras, M.J. Perirhinal and postrhinal contributions to remote memory for context. *The Journal of Neuroscience*. 24(49), 11023–11028 (2004).

Cahill, L.; Weinberger, N.M.; Roozendaal, B. & McGaugh, J.L. Is the amygdala a locus of “conditioned fear”? Some questions and caveats. *Neuron*. 23, 227–228 (1999).

Calandreau, L.; Desmedt, A.; Decorte, L. & Jaffard, R. A different recruitment of the lateral and basolateral amygdala promotes contextual or elemental conditioned association in Pavlovian fear conditioning. *Learning and Memory*. 12, 383-388 (2005).

Campeau, S.; Miserendino, M.J.D. & Davis, M. Intra-amygdala infusion of the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist APV blocks acquisition but not expression of fear-potentiated startle to an auditory conditioned stimulus. *Behavioral Neuroscience*. 106, 569-574 (1992).

Campeau, S. & Davis, M. Involvement of subcortical and cortical afferents to the lateral nucleus of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. *The Journal of Neuroscience*. 15(3), 2312-2327 (1995).

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

Canteras, N.S.; Mota-Ortiz, S.R. & Motta S.C. What ethologically based models have taught us about the neural systems underlying fear and anxiety. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 45, 321-327 (2012).

Carobrez, A.P. & Bertoglio, L.J. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 29, 1193–1205 (2005).

Carvalho, M.C.; Moreira, C.M.; Zanoveli, J.M. & Brandão, M.L. Central, but not basolateral, amygdala involvement in the anxiolytic-like effects of midazolam in rats in the elevated plus maze. *Journal of Psychopharmacology*. 26(4), 543–554 (2012).

Cho, Y.H.; Friedman, E. & Silva, A.J. Ibotenate lesions of the hippocampus impair spatial learning but not contextual fear conditioning in mice. *Behav Brain Res*. 98, 77–87 (1999).

Clugnet, M.C. & LeDoux, J.E. Synaptic plasticity in fear conditioning circuits: induction of LTP in the lateral nucleus of the amygdala by stimulation of the medial geniculate body. *Journal of Neuroscience*. 10(8), 2818-24 (1990).

Corcoran, K.A. & Quirk, G.J. Activity in prelimbic cortex is necessary for the expression of learned, but not innate, fears. *The Journal of Neuroscience*. 27(4), 840-844 (2007).

Cousens, G. & Otto, T. Both pre- and posttraining excitotoxic lesions of the basolateral amygdala abolish the expression of olfactory and contextual fear conditioning. *Behavioral Neuroscience*. 112(5), 1092-1103 (1998).

Dalzell, L.; Connor, S.; Penner, M.; Saari, M.J.; Leboutillier, J.C. & Weeks, A.C.W. Fear conditioning is associated with synaptogenesis in the lateral amygdala. *Synapse*. 65, 513–519 (2011).

Davis, M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual Review in Neuroscience*. 15, 353-375 (1992).

De Vasconcelos, A.P.; Klur, S.; Muller, C.; Cosquer, B.; Lopez, J.; Certa, U. & Cassel, J.C. Reversible inactivation of the dorsal hippocampus by tetrodotoxin or lidocaine: a comparative study on cerebral functional activity and motor coordination in the rat. *Neuroscience*. 141(4), 1649-63 (2006).

Edeline, J.M.; Hars, B.; Hennevin, E. & Cotillon, N. Muscimol diffusion after intracerebral microinjections: a reevaluation based on electrophysiological and autoradiographic quantifications. *Neurobiology of Learning and Memory*. 78, 100–124 (2002).

Fanselow, M. S. Associative vs. topographical accounts of the immediate shock freezing deficit in rats: Implications for the response selection rules governing species specific defensive reactions. *Learning & Motivation*. 17, 16-39 (1986).

Fanselow, M.S. Factors governing one-trial contextual conditioning. *Animal Learning and Behavior*. 18(3), 264-270 (1990).

Fanselow, M.S. Contextual fear, gestalt memories, and the hippocampus. *Behavioural Brain Research*. 110, 73–81 (2000).

Fanselow, M.S. From contextual fear to a dynamic view of memory systems. *Trends in Cognitive Sciences*. 14(1), 7 (2010).

Fanselow, M.S. & Kim, J.J. Acquisition of contextual Pavlovian fear conditioning is blocked by application of an NMDA receptor antagonist d,l-2-amino-5-phosphonovaleric acid to the basolateral amygdala. *Behavioral Neuroscience*. 108(1), 210-212 (1994).

Fanselow, M.S. & LeDoux, J.E. Why we think plasticity underlying Pavlovian fear conditioning occurs in the basolateral amygdala. *Neuron*. 23, 229–32 (1999).

Fanselow, M.S. & Poulos, A.M. The neuroscience of mammalian associative learning. *Annual Review Psychology*. 56, 207-34 (2005).

Fendt, M. & Fanselow, M.S. The neuroanatomical and neurochemical basis of conditioned fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 23, 743–760 (1999).

File, S.E., Mabbutt, P.S. & Hitchcott, P.K. Characterisation of the phenomenon of "one-trial tolerance" to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology*. 102, 98-101 (1990).

File, S.E.; Gonzalez, L.E. & Gallant, R. Role of the basolateral nucleus of the amygdala in the formation of a phobia. *Neuropsychopharmacology*. 19, 397–405 (1998).

File SE. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. *Behav Brain Res*. 125(1-2), 151-157 (2001).

Flavell, C.R. & Lee, J.L.C. Post-training unilateral amygdala lesions selectively impair contextual fear memories. *Learning and Memory*. 19, 256-263 (2012).

Frankland, P.W.; Cestari, V.; Filipkowski, R.K.; McDonald, R.J. & Silva, A.J. The dorsal hippocampus is essential for context discrimination but not for contextual conditioning. *Behavioral Neuroscience*. 112(4), 863-874 (1998).

Gold, P.E.; Haycock, J.W.; Macri, J. & McGaugh, J.L. Retrograde amnesia and the "Reminder Effect": an alternative interpretation. *Science*. 180(4091), 1199-201 (1973).

Gonzalez, L.E.; Andrews, N. & File S.E. 5-HT_{1A} and benzodiazepine receptors in the basolateral amygdala modulate anxiety in the social interaction test, but not in the elevated plus-maze. *Brain Research*. 732, 145-153 (1996).

González-Pardo, H.; Conejo, N.M.; Lana, G. & Arias J.L. Different brain networks underlying the acquisition and expression of contextual fear conditioning: a metabolic mapping study. *Neuroscience*. 202, 234–242 (2012).

Goosens, K.A.; Holt, W. & Maren, S. A role for amygdaloid PKA and PKC in the acquisition of long-term conditional fear memories in rats. *Behavior Brain Research*. 114(1-2), 145-52 (2000).

Goosens, K.A. & Maren, S. Contextual and auditory fear conditioning are mediated by lateral, basal, and central amygdaloid nuclei in rats. *Learning and Memory*. 8, 148-155 (2001).

Graeff, F.G.; Silveira, M.C.L.; Nogueira, R.L.; Audi, E.A. & Oliveira R.M.W. Role of the amygdala and periaqueductal gray in anxiety and panic. *Behavioural Brain Research*. 58, 123-131 (1993).

Green, S. & Vale, A.L. Role of amygdaloid nuclei in the anxiolytic effects of benzodiazepines in rats. *Behavior Pharmacology*. 3(3), 261-264 (1992).

Hall, J.; Thomas, K.L. & Everitt, B.J. Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. *The Journal of Neuroscience*. 21(6), 2186–2193 (2001).

Hatfield, T.; Han, J.; Conley, M.; Gallagher, M. & Holland, P. Neurotoxic lesions of basolateral, but not central, amygdala interfere with Pavlovian second-order

conditioning and reinforcer devaluation effects. *The Journal of Neuroscience*. 16, 5256-5265 (1996).

Helmstetter, F.J. & Bellgowan, P.S. Effects of Muscimol Applied to the Basolateral Amygdala on Acquisition and Expression of Contextual Fear Conditioning in Rats. *Behavioral Neuroscience*. 108(5), 1005-1009 (1994).

Hitchcott, P.K. & Phillips, G.D. Double dissociation of the behavioural effects of R(+)-7-OH-DPAT infusions in the central and basolateral amygdala nuclei upon Pavlovian and instrumental conditioned appetitive behaviours. *Psychopharmacology*. 140, 458-469 (1998).

Huff, N.C. & Rudy, J.W. The amygdala modulates hippocampus-dependent context memory formation and stores cue–shock associations. *Behavioral Neuroscience*. 118 (1), 53–62 (2004).

Isogawa, K.; Bush, D.E.A. & LeDoux, J.E. Contrasting effects of pretraining, posttraining, and pretesting infusions of corticotropin-releasing factor into the lateral amygdala: attenuation of fear memory formation but facilitation of its expression. *Biological Psychiatry*. 73, 353–359 (2013).

Johansen, J.P.; Cain, C.K.; Ostroff, L.E. & LeDoux, J.E. Molecular mechanism of fear learning and memory. *Cell*. 147(3), 509–524 (2011).

Jordão, E.M.A.; Onishi, B.K.A. & Xavier, G.F. Pre-training reversible inactivation of the basal amygdala disrupts contextual, but not auditory, fear conditioning, in rats. (In preparation).

Kim, J.J. & Fanselow, M.S. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science*. 256, 675–77 (1992).

Kim, J.J.; Rison, R.A. & Fanselow, M.S. Effects of amygdala, hippocampus, and periaqueductal gray lesions on short- and long-term contextual fear. *Behavioral Neuroscience*. 107(6), 1093-1098 (1993).

Klüver, H. & Bucy, P.C. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Archives of Neurology and Psychiatry*. 42, 979-1000 (1939).

Langston, R.F.; Stevenson, C.H.; Wilson, C.L.; Saunders, I. & Wood, E.R. The role of hippocampal subregions in memory for stimulus associations. *Behavior Brain Research*. 215(2), 275-91 (2010).

LeDoux, J.E. Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*. 23, 155–184 (2000).

LeDoux, J.E. The amygdala. *Current Biology*. 17(20), 868-874 (2007).

LeDoux, J.E.; Cicchetti, P.; Xagoraris, A. & Romanski, L.M. The lateral amygdaloid nucleus: Sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *Journal of Neuroscience*. 10, 1062–69 (1990).

LeDoux, J.E.; Iwata, J.; Cicchetti, P. & Reis, D.J. Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *The Journal of Neuroscience*. 8(7), 2517-2529 (1988).

Lorenzini, C.G.A.; Baldi, E.; Bucherelli, C.; Sacchetti, B. & Tassoni, G. Neural topography and chronology of memory consolidation: A review of functional inactivation findings. *Neurobiology of Learning and Memory*. 71, 1–18 (1999).

Makkar, S.R.; Zhang, S.Q. & Cranney, J. Behavioral and neural analysis of GABA in the acquisition, consolidation, reconsolidation and extinction of fear memory. *Neuropsychopharmacology*. 35, 1625–1652 (2010).

Malkani, S. & Rosen, J.B. N-methyl-d-aspartate receptor antagonism blocks contextual fear conditioning and differentially regulates early growth response-1 messenger RNA expression in the amygdala: implications for a functional amygdaloid circuit of fear. *Amygdala. Neuroscience*. 102(4), 853-861 (2001).

Maren, S. Overtraining does not mitigate contextual fear conditioning deficits produced by neurotoxic lesions of the basolateral amygdala. *The Journal of Neuroscience*. 18(8), 3088-3097 (1998).

Maren, S. Long-term potentiation in the amygdala: a mechanism for emotional learning and memory. *Trends in Neuroscience*. 22(12), 561-567 (1999a).

Maren, S. Neurotoxic basolateral amygdala lesions impair learning and memory but not the performance of conditional fear in rats. *The Journal of Neuroscience*. 19(19), 8696-8703 (1999b).

Maren, S. Neurotoxic or electrolytic lesions of the ventral subiculum produce deficits in the acquisition and expression of Pavlovian fear conditioning in rats. *Behavior Neuroscience*. 113(2), 283-290 (1999c).

Maren, S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. *Annual Review of Neuroscience*. 24, 897-931 (2001).

Maren, S. What the amygdala does and doesn't do in aversive learning. *Learning and Memory*. 10, 306-308 (2003).

Maren, S. & Fanselow, M.S. Synaptic plasticity in the basolateral amygdala induced by hippocampal formation stimulation in vivo. *The Journal of Neuroscience*. 15(11), 7546-7564 (1995).

Maren, S. & Fanselow, M.S. The amygdala and fear conditioning: has the nut been cracked? *Neuron*. 16, 237-240 (1996).

Maren, S. & Hobin, J.A. Hippocampal regulation of context-dependent neuronal activity in the lateral amygdala. *Learning and Memory*. 14, 318-324 (2007).

Maren, S.; Aharonov, G. & Fanselow, M.S. Retrograde abolition of conditional fear after excitotoxic lesions in the basolateral amygdala of rats: absence of a temporal gradient. *Behavioral Neuroscience*. 110(4), 718-726 (1996a).

Maren, S.; Aharonov, G.; Stote, D.L. & Fanselow, M.S. N-Methyl-D-Aspartate receptors in the basolateral amygdala are required for both acquisition and expression of conditional fear in rats. *Behavioral Neuroscience*. 110(6), 1365-1374 (1996b).

Maren, S.; Aharonov, G. & Fanselow, M.S. Neurotoxic lesions of the dorsal hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats. *Behavioral Brain Research*. 88, 261-274 (1997).

Maren, S.; Phan, K.L. & Liberzon, I. The contextual brain: implications for fear conditioning, extinction and psychopathology. *NATURE Reviews Neuroscience*. 14, 417-428 (2013).

Martin, J.H. & Ghez, C. Pharmacological inactivation in the analysis of the central control of movement. *Journal of Neuroscience Methods*. 86, 145-159 (1999).

Martínez-García, F.; Martínez-Marcos, A. & Lanuza, E. The pallial amygdala of amniote vertebrates: evolution of the concept, evolution of the structure. *Brain Research Bulletin*. 57(3/4), 463-469 (2002).

Matus-Amat, P.; Higgins, E. A.; Barrientos, R. M. & Rudy, J. W. The role of the dorsal hippocampus in the acquisition and retrieval of context memory representations. *Journal of Neuroscience*. 24, 2431-2439 (2004).

Matus-Amat, P.; Higgins, E.A.; Sprunger, D.; Wright-Hardesty, K. & Rudy, J.W. The role of dorsal hippocampus and basolateral amygdala NMDA receptors in the acquisition and retrieval of context and contextual fear memories. *Behavioral Neuroscience*. 121, 721-731 (2007).

McDonald, A.J.; Mascagni, F. & Guo, L. Projections of the medial and lateral prefrontal cortices to the amygdala: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study in the rat. *Neuroscience*. 71(1), 55-75 (1996).

McDonald, A.J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology*. 55, 257-332 (1998).

McGaugh, J.L. Memory consolidation and the amygdala: a systems perspective. *Trends in Neuroscience*. 25(9), 456-461 (2002).

McGaugh, J.L. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Reviews in Neuroscience*. 27, 1-28 (2004).

Miserendino, M.J.; Sananes, C.B.; Melia, K.R. & Davis, M. Blocking of acquisition but not expression of conditioned fear-potentiated startle by NMDA antagonists in the amygdala. *Nature*. 345(6277), 716-718 (1990).

Moreira, C.M.; Massona, S.; Carvalho, M.C. & Brandão, M.L. Exploratory behaviour of rats in the elevated plus-maze is differentially sensitive to inactivation of the basolateral and central amygdaloid nuclei. *Brain Research Bulletin*. 71, 466-474 (2007).

Moreno, N. & González, A. Evolution of the amygdaloid complex in vertebrates, with special reference to the anamnio-amniotic transition. *Journal of Anatomy*. 211(2), 151-163 (2007).

Moscarello, J.M. & LeDoux, J.E. The contribution of the amygdala to aversive and appetitive pavlovian processes. *Emotion Review*. 5(3), 248-253 (2013).

Muller, J.; Corodimas, K.P.; Fridel, Z. & LeDoux, J.E. Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behavioral Neuroscience*. 111(4), 683-691 (1997).

Nader, K.; Majidishad, P.; Amorapanth, P. & LeDoux, J.E. Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learning and Memory*. 8, 156-163 (2001).

O'Keefe, J. & Nadel, L. The hippocampus as a cognitive map. Oxford University Press, Oxford. (1970).

Oliveira Coelho, C.A.; Ferreira, T.L.; Soares, J.C.K; & Oliveira, M.G.M. Hippocampal NMDA receptor blockade impairs CREB phosphorylation in amygdala after contextual fear conditioning. *Hippocampus*. 23, 545-551 (2013).

Onishi, B.K.A. Desempenho de ratos nas tarefas de medo condicionado e de contraste antecipatório de incentivo: efeitos de lesões seletivas do núcleo basal da amígdala. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, Departamento de Fisiologia (2005).

Onishi, B. K. A. & Xavier, G. F. Contextual, but not auditory, fear conditioning is disrupted by neurotoxic selective lesion of the basal nucleus of amygdala in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*. 93(2), 165-174 (2010).

Ono, T.; Nishijo, H. & Uwano, T. Amygdala role in conditioned associative learning. *Progress in Neurobiology*. 46, 401-422 (1995).

Packard, M.G. Anxiety, cognition, and habit: a multiple memory systems perspective. *Brain Research*. 1293, 121-128 (2009).

Pabba, M. Evolutionary development of the amygdaloid complex. *Frontiers in Neuroanatomy*. 7(27), 1-4 (2013).

Paré, D.; Quirk, G.J. & Ledoux, J.E. New vistas on amygdala networks in conditioned fear. *Journal of Neurophysiology*. 92, 1-9 (2004).

Pesold, C. & Treit, D. The central and basolateral amygdala differentially mediate the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Brain Research*. 671, 213-221 (1995).

Petrovich, G.D. Organization of amygdalar projections in the rat. Tese (Doutorado) – University of Southern California, 1997.

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

Pitkänen, A.; Savander, V. & LeDoux, J.E. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends in Neuroscience*. 20, 517-523 (1997).

Pitkänen, A.; Pikkarainen, M.; Nurminen, N. & Ylinen, A. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. *Annals New York Academy of Sciences*. 911, 369-391 (2000a).

Pitkänen, A.; Jolkkonen, E. & Kemppainen, S. Anatomic heterogeneity of the rat amygdaloid complex. *Folia Morphology*. 59(1), 1-23 (2000b).

Pitts, M.W.; Todorovic, C.; Blank, T. & Takahashi, L.K. The central nucleus of the amygdala and corticotropin-releasing factor: insights into contextual fear memory. *Journal of Neuroscience*. 29(22), 7379 -7388 (2009).

Reijmers, L.G.; Perkins, B.L.; Matsuo, N. & Mayford, M. Localization of a stable neural correlate of associative memory. *Science*. 317, 1230 (2007).

Richter-Levin, G. The amygdala, the hippocampus and emotional modulation of memory. *Neuroscientist*. 10, 31-39 (2004).

Rogan, M.T.; Stäubli, U.V. & LeDoux, J.E. Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*. 390, 604-607 (1997).

Rolls, E.T. The neural bases of emotion. In: _____. *The brain and emotion*. 1a. edição. New York: Oxford University Press. 96-112 (1999).

Romanski, L.M. & LeDoux, J.E. Equipotentiality of thalamo-amygdala and thalamo-cortico-amygdala circuits in auditory fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*. 12(11), 4501-4509 (1992).

Romanski, L.M.; Clugnet, M.; Bordi, F. & LeDoux, J.E. Somatosensory and auditory convergence in the lateral nucleus of the amygdala. *Behavioral Neuroscience*. 107(3), 444-450 (1993).

Rudy, J.W. & O'Reilly, R.C. Contextual fear conditioning, conjunctive representations, pattern completion, and the hippocampus. *Behavioral Neuroscience*. 113, 867-80 (1999).

Rudy, J.W. & Sutherland, R.J. The hippocampal formation is necessary for rats to learn and remember configural discriminations. *Behavioral Brain Research*. 34, 97-109 (1989).

Rudy, J.W. & Sutherland, R.J. Configural association theory and the hippocampal formation: an appraisal and reconfiguration. *Hippocampus*. 5, 375-389 (1995).

Rudy, J.W.; Barrientos, R.M. & O'Reilly, R.C. Hippocampal formation supports conditioning to memory of a context. *Behavioral Neuroscience*. 116(4), 530-538 (2002).

Rudy, J.W.; Huff, N.C. & Matus-Amat, P. Understanding contextual fear conditioning: insights from a two-process model. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 28, 675-685 (2004).

Sah, P.; Faber, E.S.L.; Lopez de Armentia, M.Z. & Power, J. The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiology Review*. 83, 803-834 (2003).

Sanders, M.J.; Wiltgen, B.J. & Fanselow, M.S. The place of the hippocampus in fear conditioning. *European Journal of Pharmacology*. 463(1-3), 217-223 (2003).

Schafe, G.E. & LeDoux, J.E. Memory consolidation of auditory pavlovian fear conditioning requires protein synthesis and protein kinase A in the amygdala. *The Journal of Neuroscience*. 20, 1-5 (2000).

Schafe, G.E.; Atkins, G.M.; Swank, M.W.; Bauer, E.P.; Sweatt, J.D. & LeDoux, J.E. Activation of ERK/MAP kinase in the amygdala is required for memory consolidation of pavlovian fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*. 20(21), 8177-8187 (2000).

Sutherland, R.J. & Rudy, J.W. Configural association theory: the role of the hippocampal formation in learning, memory, and amnesia. *Psychobiology*. 17, 129-144 (1989).

Swanson, L. W. *Brain maps: Structure of the rat brain*. New York: Elsevier. 1992.

Swanson, L.W. & Petrovich, G.D. What is the amygdala? *Trends in Neuroscience*. 21, 323-331 (1998).

Tehovnik, E.J. & Sommer, M.A. Effective spread and timecourse of neural inactivation caused by lidocaine injection in monkey cerebral cortex. *Journal of Neuroscience Methods*. 74, 17-26 (1997).

Toyomitsu, Y.; Nishijo, H.; Ueano, T.; Karatsu, J. & Ono, T. Neuronal response of the rat amygdala during extinction and reassociation learning in elementary and configural associative tasks. *European Journal of Neuroscience*. 15, 753-768 (2002).

Uwano, T.; Nishijo, H.; Ono, T. & Tamura, R. Neuronal responsiveness to various sensory stimuli, and associative learning in the rat amygdala. *Neuroscience*. 68(2), 339-361 (1995).

Van Duuren, E.; van der Plasse, G.; van der Blom, R.; Joosten, R.N.J.M.A.; Mulder, A.B.; Pennartz, C.M.A.; & Feenstra, M.G.P. Pharmacological manipulation of neuronal ensemble activity by reverse microdialysis in freely moving rats: A comparative study of the effects of tetrodotoxin, lidocaine, and muscimol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 323, 61-69 (2007).

Vazdarjanova, A. Does the basolateral amygdala store memories for emotional events? *Trends in Neuroscience*. 23(8), 345 (2000).

Weiskrantz, L. Behavioral changes associated with ablation of the amygdaloid complex in monkeys. *Journal of Comparative Physiological Psychology*. 49, 381-391 (1956).

White, N.M. & McDonald, R.J. Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*. 77, 125-184 (2002).

Wilensky, A.E.; Schafe, G.E. & LeDoux, J.E. Functional inactivation of the amygdala before but not after auditory fear conditioning prevents memory formation. *The Journal of Neuroscience*. 19, 1-5 (1999).

Wilensky, A.E.; Schafe, G.E. & LeDoux, J.E. The amygdala modulates memory consolidation of fear-motivated inhibitory avoidance learning but not classical fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*. 20(18), 7059-7066 (2000).

Wilensky, A.E.; Schafe, G.E.; Kristensen, M.P. & LeDoux, J.E. Rethinking the fear circuit: the central nucleus of the amygdala is required for the acquisition, consolidation, and expression of pavlovian fear conditioning. *The Journal of Neuroscience*. 26(48), 12387-12396 (2006).

Wilson, Y.M. & Murphy, M. A discrete population of neurons in the lateral amygdala is specifically activated by contextual fear conditioning. *Learning and Memory*. 16, 357-361 (2009).

Wingard, J.C. & Packard, M.G. The amygdala and emotional modulation of competition between cognitive and habit memory. *Behavioural Brain Research*. 193, 126-131 (2008).

Yaniv, D. & Richter-Levin, G. LTP in the rat basal amygdala induced by perirhinal cortex stimulation *in vivo*. *Learning and Memory*. 11(3), 28 (2000).

Yaniv, D.; Schafe, G.E.; LeDoux, J.E. & Richter-Levin, G. A gradient of plasticity in the amygdala revealed by cortical and subcortical stimulation, *in vivo*. *Neuroscience*. 106(3), 613-620 (2001).

Yaniv, D.; Vouimba, R.M.; Diamond, D.M. & Richter-Levin, G. Simultaneous induction of long-term potentiation in the hippocampus and the amygdala by entorhinal cortex activation: mechanistic and temporal profile. *Neuroscience*. 120, 1125-1135 (2003).

Yaniv, D.; Desmedt, A.; Jaffard, R. & Richter-Levin, G. The amygdala and appraisal processes: stimulus and response complexity as an organizing factor. *Brain Research Reviews*. 44, 179-186 (2004).

Young, S.L.; Bohenek, D.L. & Fanselow, M.S. NMDA processes mediate anterograde amnesia of contextual fear conditioning induced by hippocampal damage: immunization against amnesia by context procedure. *Behavioral Neuroscience*. 108, 19-29 (1994).

Zangrossi, H.Jr. & Graeff, F.G. Behavioral effects of intra-amygdala injections of GABA and 5-HT acting drugs in the elevated plus-maze. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 27, 2453-2456 (1994).