

## Introdução

O Manual Estatístico Diagnóstico de Doenças Mentais, o DSM-IV (American Psychiatric Association, 2002) define os transtornos de ansiedade de acordo com vários critérios diagnósticos, como preocupação excessiva, recorrente e desproporcional à realidade. Além disso, observa-se persistente irritabilidade, alta vigilância cognitiva e uma grande dificuldade de relaxar. Outros sintomas estão relacionados à hiperfuncionalidade fisiológica, como por exemplo, dores musculares, diarreia crônica, dores de cabeça, taquicardia, palpitações e disfunções gastrointestinais.

De acordo com Gross e Hen (2004), a ansiedade é uma complexa combinação de diversas emoções, como medo, preocupação e apreensão. Como qualquer emoção, a ansiedade pode ser decomposta em três componentes. O primeiro deles, que sem dúvida é o principal, está relacionado com a atividade consciente dessa emoção. Este componente é de acesso exclusivo a cada pessoa. Inferimos que outras pessoas também devem sentir conscientemente essas emoções, mas certeza mesmo ninguém tem.

Além da consciência, a emoção apresenta também um aspecto comportamental e fisiológico. Estes dois aspectos são públicos e por isso podem ser observados e quantificados. O componente comportamental está associado a posturas corporais e expressões faciais. O componente fisiológico está associado às reações controladas pelo sistema nervoso autônomo, mais especificamente à porção simpática. Dentre estas reações destacam-se os batimentos cardíacos, alteração da respiração, sudorese (Calder e colaboradores, 2001).

A ansiedade, desta forma, produz um repertório de reações comportamentais e fisiológicas. Tais reações estão ligadas a padrões evolutivos de defesa, pois preparam os organismos a lidarem com alguma ameaça em potencial. Deve-se notar a ansiedade como um componente primordial de um sistema neuronal que se originou em mamíferos mais simples, e se manteve ao longo da evolução das espécies. Tal sistema responsabiliza-se tanto pela detecção de sinais

representativos de perigo no meio ambiente, quanto pela ativação de reações adequadas de defesa (Landeira-Fernandez e colaboradores, 2006).

As reações de medo e ansiedade formam a primeira linha de defesa dos organismos, protegendo-os de perigos que poriam em risco sua integridade e continuidade evolutiva (Kim e Gorman, 2005).

De fato, ansiedade é benéfica ao organismo quando utilizada dentro de certo limite. Tal idéia foi descrita no início do século passado (1908) pelos psicólogos americanos Robert M. Yerkes e John D. Dodson. De acordo com este princípio, existe um ponto ótimo de ansiedade necessário para a melhor realização de uma determinada tarefa.

Graficamente descrita, a relação entre o desempenho de uma atividade e ansiedade adquire a forma de um “U” invertido, significando que, até certo ponto o aumento da ansiedade tem a capacidade de aumentar e melhorar tal desempenho. Obviamente, um aumento acima de um nível adequado para aquela tarefa poderá prejudicar sua execução. Este ponto ótimo é chamado coeficiente de ativação.

Entretanto, disfunções e o funcionamento anormal deste sistema motivacional de defesa provocam os chamados transtornos de ansiedade generalizada (TAG), que martirizam e angustiam a vida de milhões de pessoas em todo o mundo (Kim & Gorman, 2005). Dados levantados pelos institutos de saúde mental mostram que pelo menos 20% da população mundial apresentarão pelo menos um episódio relacionado a transtornos de ansiedade durante a vida (Landeira-Fernandez, 2006; Almeida-Filho e colaboradores, 1997; Arikian & Gorman, 2001)

## 1.1

### **Teorias da emoção**

A ansiedade, assim como o medo, sempre despertou um grande número de indagações ao longo da história da humanidade. Por causa disso, também sempre foi entendida sob uma infinidade de prismas e paradigmas. Atualmente o campo da neurociência se debruçou sobre o tema das emoções, adotando um paradigma calcado na teoria da seleção natural de Charles Darwin, de 1859 (republicado em 2000).

Em 1872, Charles Darwin publicou um livro impressionante: “A expressão das emoções nos homens e nos animais”. Neste livro, que foi o ápice de mais de 34 anos de pesquisas sobre inúmeras espécies animais, Darwin fez duas importantíssimas contribuições ao campo de estudo das emoções. A homologia das expressões emocionais entre os homens e os animais foi a primeira delas. Darwin, através do estudo aprofundado de centenas de figuras de animais, observou uma alta similaridade na forma de exprimir as emoções entre os animais e o homem. (Dalglish, 2004).

A segunda importante contribuição de Darwin foi a noção das “emoções básicas”. Tais emoções fundamentais, que incluem medo, raiva, surpresa e tristeza acompanham indivíduos de diferentes culturas e sociedades (Dalglish, 2004).

Depois de Darwin, uma das primeiras teorias sobre a emoção foi desenvolvida de forma independente pelo filósofo americano William James e pelo fisiologista dinamarquês Carl Lange, em 1884. A teoria “James-Lange” na verdade reverteu a forma usual de se pensar as emoções. Segundo os autores, ao nos depararmos com algum estímulo que represente perigo, nosso organismo primeiro responde fisiologicamente, com todas suas manifestações características. Neste estágio ainda não temos acesso consciente a essas respostas. Somente depois que as mudanças corporais eclodidas através do contato com o estímulo aversivo se tornarem conscientes é que as emoções são interpretadas e definidas subjetivamente.

Walter Cannon (1871-1945) e Philip Bard (1941-1946) revisaram a teoria de James-Lange no início do século vinte. Eles introduziram a noção do “processamento paralelo”, alterando o sistema de feedback proposto pela teoria James-Lange. Na verdade, segundo os autores, as respostas emocionais fisiológicas e conscientes disparadas na presença de um estímulo ameaçador ocorrem de forma paralela. É interessante observar que tais respostas não possuem, na visão destes autores, uma relação causal direta (Pinel, 2005).

Stanley Schachter e Jerome Singer foram dois psicólogos americanos que desenvolveram, em 1962, uma teoria das emoções que, assim como a de James, privilegiou a experiência consciente para a definição de uma emoção. Entretanto, segundo eles, somente a experiência das reações corporais não seria suficiente para se discriminar qual emoção está sendo vivenciada, devido à semelhança entre as reações fisiológicas.

Desse modo, eles propuseram a ação do chamado “rótulo cognitivo”, que seria produzido através das informações que o sujeito adquire do seu meio social para “rotular” suas reações emocionais.

Assim podemos observar que os pesquisadores consideraram dois fatores na produção de uma emoção: o fisiológico e o cognitivo. Como as cognições estão estreitamente vinculadas ao meio social do sujeito, tal teoria preconiza que os estímulos ambientais possuem um significativo impacto na interpretação emocional de um estímulo, mostrando a ambigüidade de qualquer reação emocional.

Heinrich Kluver (1897-1979) e Paul Bucy (1904-1992) observaram, em 1937, um padrão comportamental intrigante em macacos que haviam sofrido remoção de seus lobos temporais. Tal padrão comportamental, chamado posteriormente de Síndrome de Kluver-Bucy, apresenta as seguintes características: alto consumo alimentar, aumento da atividade sexual dirigida a objetos inapropriados, tendência de observação repetida de objetos familiares, ausência de medo. Observou-se que os mesmos macacos que, antes da cirurgia não podiam ser manipulados pelos experimentadores, se tornaram extremamente dóceis depois das lesões. Posteriormente descobriu-se que a maioria destes comportamentos parecia ser resultado de lesões no complexo amigdalóide (Pinel, 2005).

Foi somente em 1956 que Weiskrantz propôs, através de um estudo aprofundado da síndrome de Kluver-Bucy (1938), que o complexo amigdalóide possuía um papel primordial na aquisição e expressão de memórias emocionais. O trabalho original de Kluver-Bucy envolveu a remoção quase completa do lobo temporal de macacos. Weiskrantz, entretanto, mostrou que lesões bilaterais localizadas somente na amígdala destes animais foram suficientes para provocar os comportamentos específicos da síndrome observados inicialmente por Kluver e Bucy. Além disso, a remoção completa da amígdala nos macacos também resultou num forte retraimento social. Outros autores (Kalin, 2001; Bachevalier, 1994), posteriormente também observaram o mesmo fenômeno.

Observa-se que, desde o início do século passado, havia um grande interesse nos mecanismos cerebrais do comportamento emocional. Questões como agressividade, comportamento social, ansiedade, prazer e desprazer eram tidas como extremamente importantes. Mas houve um declínio em tal interesse, devido,

principalmente à chamada “Revolução Cognitiva” em Psicologia, que mudou o foco de interesse para os aspectos puramente cognitivos do funcionamento cerebral. O advento do computador digital facilitou a primazia da cognição como modelo completo para se entender a mente e o cérebro (LeDoux, 1998, 2000; Teixeira, 1998).

Outro problema colocado pelos cientistas cognitivos seria a dificuldade de se estudar as emoções de forma experimental, sem a influência da grande carga de subjetividade que tal processo é capaz de produzir (LeDoux, 1998, 2000; Teixeira, 1998).

A resposta veio através dos chamados modelos animais em psicologia, que simulam, em laboratório, situações que diversos animais enfrentariam no seu ambiente natural, com seu repertório de comportamentos emocionais característico. Além disso, o advento da chamada tomografia computadorizada com emissão de pósitrons proporcionou a possibilidade única de se observar o cérebro humano em funcionamento, abrindo, dessa forma, um leque absolutamente inédito de oportunidades (LeDoux, 1998; 2000).

Tais modelos convergiram para uma série de novas observações e questionamentos. Novos circuitos cerebrais associados à emoção foram sendo descobertos, revelando a primazia no controle de tais circuitos como sendo de uma pequena estrutura subcortical, o chamado Complexo Amigdalóide, ou simplesmente Amígdala.

## **1.2**

### **Modelos animais de ansiedade**

#### **1.2.1**

##### **Condicionamento aversivo**

Um dos maiores problemas encontrados para se estudar o funcionamento cerebral e os circuitos emocionais se deve justamente à complexidade que tal sistema apresenta. O cérebro possui mais de 100 bilhões de neurônios. Cada qual é capaz de fazer ligações, através de seus axônios, com centenas ou milhares de outras células nervosas. O funcionamento cerebral se dá através destas ligações específicas, os chamados circuitos neuronais. A questão está justamente em isolar

um determinado circuito para poder determinar qual é exatamente seu papel, e qual sua função (LeDoux, 1998).

Uma das saídas encontradas foram as chamadas técnicas de condicionamento. Através delas se torna possível determinar previamente um comportamento específico de um animal ou de um ser humano.

A técnica de condicionamento comportamental mais largamente utilizada nas pesquisas atuais é o chamado Condicionamento Clássico, ou Condicionamento Pavloviano. Por utilizar as respostas inatas do animal, os circuitos neurais associados ao medo, ansiedade e pânico são mais frequentemente observados. Desta forma o condicionamento pelo medo, ou aversivo, é uma importante forma de se produzir respostas emocionais por parte dos organismos (LeDoux, 2000).

O condicionamento aversivo está inserido nos chamados modelos animais de ansiedade (Pinel, 2005; Cruz e colaboradores, 1997). Tais modelos são utilizados nas pesquisas psicobiológicas para testes pré-clínicos de compostos ansiolíticos, e no mapeamento dos circuitos neurais responsáveis pelo medo e ansiedade. Segundo Cruz e colaboradores (1997) existem mais modelos animais de ansiedade do que para qualquer outro tipo de condição psiquiátrica.

Segundo Pinel (2005) a psicologia sempre se utilizou de animais para auxiliar a compreensão de processos mentais humanos. O ponto de partida que permite tal afirmação é a teoria da evolução de Charles Darwin (1859). De acordo com este princípio, existe uma continuidade entre as diferentes espécies. O uso de animais permite testar determinadas hipóteses que jamais poderiam ser respondidas utilizando seres humanos como sujeitos experimentais. Existem diversas vantagens na utilização de modelos animais para este tipo de pesquisa, que passam, principalmente, pelo controle das variáveis. Desta forma, a idade dos animais, seu peso, alimentação, temperatura etc, podem ser conhecidas previamente, facilitando a manipulação das técnicas utilizadas.

De acordo com Schultz & Schultz (1992), diversos tipos de animais já foram utilizados como sujeitos experimentais ao longo da história da psicologia. Pombos, gatos e cachorros são apenas alguns exemplos.

Pavlov (1927) delineou, através de seus experimentos com cães, um tipo de aprendizagem associativa que levou posteriormente o seu nome. No condicionamento pavloviano aversivo, um estímulo condicionado discreto

(geralmente uma luz ou um som) fica associado a um estímulo incondicionado (geralmente um choque nas patas). A principal resposta condicionada eliciada pelo estímulo condicionado é uma redução da atividade geral motora, denominada de congelamento. Tal comportamento é uma reação defensiva adaptativa do animal frente a um estímulo aversivo (Landeira-Fernandez, 1996).

Além de estímulos discretos, a resposta de congelamento pode ficar também associada a estímulos contextuais que estão continuamente presentes no ambiente onde o animal recebe o estímulo incondicionado (Fanselow & Lester, 1988; Landeira-Fernandez, 1996). Observam-se também respostas do sistema nervoso autônomo, como variações na pressão sanguínea e dos batimentos cardíacos, além de respostas neuroendócrinas, como liberação de hormônios da glândula pituitária e das glândulas adrenais (LeDoux, 2002).

Apesar da resposta de congelamento ser uma importante medida do medo, diversos outros comportamentos podem resultar do condicionamento aversivo. Segundo Graeff (1993a), existe um espectro de várias reações que os animais podem assumir numa situação aversiva.

Existem basicamente três situações de perigo para um roedor. Quando se encontra num ambiente novo, que não represente perigo imediato, ele não abre mão de sua precaução. O animal continua com uma investigação cautelosa, chamada de avaliação de risco (“risk assessment”, em inglês). Este é o primeiro nível de defesa (potencial), e serve para o roedor coletar informações importantes do ambiente. Se ele se depara com um predador, o segundo nível de defesa é acionado (distal). Neste caso o comportamento específico é a resposta de congelamento (freezing). A terceira e última fase, a chamada proximal, eclode quando ocorre o encontro próximo com o predador. As reações comportamentais são caracterizadas como sendo de raiva e pânico, com muitos pulos e mordidas (Bouton & Bolles, 1980; Graeff, 1990, 1993a; Fanselow & Lester, 1988; Fanselow 1994).

Segundo Bouton & Bolles (1980), tais respostas comportamentais são caracterizadas como Respostas Defensivas Específicas da Espécie (SSDR – Specific Species Defensive Responses, em inglês), sendo acionadas pelos animais quando estes consideram se encontrar numa situação de perigo.

Segundo LeDoux (1998), o condicionamento aversivo já foi utilizado em diversas espécies, desde moscas até seres humanos, e observou-se que ele é eficaz

em muitos grupos de animais. Várias evidências sugerem que os mecanismos moleculares utilizados neste tipo de aprendizagem são similares em diferentes organismos. Uma vez formada a memória emocional através do condicionamento do medo, ela se torna relativamente permanente (Fanselow, 1994; Maren & Chang 2006). Muitas vezes o controle do comportamento do medo pode ser a única saída, ao invés da eliminação do medo em si.

### 1.2.2

#### **A Resposta de congelamento**

Embora os transtornos de ansiedade sejam reações tipicamente humanas, os modelos animais de ansiedade têm se tornado mecanismos extremamente úteis na compreensão dos mecanismos patofisiológicos destes transtornos (ver, por exemplo, Landeira-Fernandez, Cruz e Brandão, 2006). Mais precisamente, a resposta de congelamento associada aos estímulos contextuais apresenta um interessante isomorfismo com o transtorno de ansiedade generalizada humano.

A resposta de congelamento é uma importante medida de medo condicionado. Small (1899) observou que o congelamento é caracteristicamente uma reação de medo do rato. Griffith (1920) concluiu que os ratos exibem a resposta de congelamento na presença de um gato, ou então na presença de estímulos que indicam a existência deste animal, como o odor. Os estudos que utilizaram a resposta de congelamento como sendo uma reação a um estímulo condicionado começaram no final da década de 70. Bouton e Bolles (1980) demonstraram que no condicionamento aversivo, a observação e quantificação do congelamento se mostraram mais eficazes como um instrumento de medição do medo. Isto ocorre pelo fato de que ratos que não receberam o condicionamento aversivo não demonstraram a resposta de congelamento, fornecendo assim uma linha de base mais confiável. Além disso, após uma única sessão de pareamentos de choque e contexto, o rato já exhibe a resposta de congelamento. Condicionamentos mais intensos produzem um congelamento ainda mais robusto, chegando a 100% do tempo de exposição ao contexto (Fendt & Fanselow, 1999).

Para os ratos a resposta de congelamento é um comportamento defensivo altamente específico. O movimento pode facilitar sua identificação por um

predador, funcionando como um estímulo para o ataque. A resposta de congelamento já foi observada até em situações nas quais havia opção de escape (Fanselow & Lester, 1988).

Compostos farmacológicos ansiolíticos, que diminuem a ansiedade em seres humanos, mostraram-se extremamente eficazes em diminuir, ou mesmo abolir a resposta de congelamento dos animais frente a um contexto aversivo. É interessante observar que a dosagem utilizada nas duas situações encontrava-se na mesma faixa daquela utilizadas para seres humanos (Conti e colaboradores, 1990).

### **1.3**

#### **Estruturas neurais relacionadas ao medo e ansiedade**

##### **1.3.1**

##### **Hipocampo e matéria cinzenta periaquedutal**

A memória não reside numa única estrutura anatômica. Ela é resultado de uma série de interações entre diversas estruturas, que compõem um circuito neural. Um circuito neural é um sistema de “entradas” e “saídas” que permitem uma adaptação das respostas do animal ao seu ambiente. (Fendt & Fanselow, 1999)

Quirk e outros (1995) e Maren (2001) demonstraram que o condicionamento aversivo causa mudanças morfológicas nos neurônios da amígdala. De fato, diversas evidências mostram que a amígdala é uma estrutura crítica na plasticidade e na formação de memórias relacionadas ao medo.

Segundo Swanson e Petrovich (1998), as principais conexões que a amígdala do rato faz são com regiões corticais que analisam informações olfatórias. De fato, a parte cortical da amígdala é também chamada de amígdala olfatória. Para os roedores, o uso do olfato é de importância primordial para a detecção de perigo potencial.

Outras estruturas também funcionam como processadoras de “entradas” para a amígdala, participando da produção de comportamentos defensivos específicos. Uma destas estruturas é o hipocampo. O Condicionamento ao contexto, por motivos óbvios, não depende somente de apenas um estímulo condicionado específico, mas de uma série de outros. Segundo LeDoux (2000) a

função de integrar estes estímulos numa relação coerente sempre foi considerada como sendo do hipocampo. Entretanto, novas pesquisas mostram que os estímulos são reunidos antes de chegarem a esta região cerebral. O hipocampo na verdade criaria uma representação espacial do contexto, ou seja, uma relação entre os diversos estímulos. Diversas evidências mostram que o hipocampo assume um papel de receptor de estímulos visuais, olfatórios e auditivos relevantes para o condicionamento aversivo (Sanders e outros, 2003; Rotenberg e Muller, 1997). Gross e Hen (2004) mostraram que um volume hipocampal reduzido aumenta a susceptibilidade do desenvolvimento de transtornos de ansiedade em humanos.

Segundo Wiltgen e colaboradores (2006), lesões no hipocampo podem dificultar a evocação de memórias relacionadas ao medo em ratos, mas não necessariamente interferem no aprendizado de novas memórias. Eles mostraram que, diferentemente de humanos, roedores podem dividir a formação do condicionamento contextual com outras estruturas límbicas.

Além do hipocampo, a matéria cinzenta periaquedutal dorsal (MCPD) e ventral (MCPV) também participam das respostas defensivas. Tais regiões também se localizam próximo à amígdala, e funcionam como gatilhos para diversas respostas motoras e comportamentais.

Oliveira e colaboradores (2004) mostraram que a MCPD é responsável pelo disparo da resposta de congelamento incondicionado. Isto pôde ser observado através de estimulação elétrica desta região, que resultou na alteração comportamental dos ratos. A corrente utilizada para a estimulação variou de 60 Hz, que provocou a resposta de congelamento, até 150 Hz, que provocou a resposta de fuga dos animais, com aumento da defecação e urina. É interessante observar que isto aconteceu mesmo quando a amígdala foi lesionada.

Entretanto, Fanselow (1994) observou que a MCPV também é responsável pela resposta de congelamento do animal. Tal estrutura recebe projeções diretas da amígdala. Diversas evidências sugerem que a porção ventral da matéria cinzenta periaquedutal seja responsável pela resposta de congelamento a estímulos distais, enquanto que a porção dorsal, por ser mais primitiva, elicie a resposta de congelamento para estímulos proximais ou táteis (Oliveira e colaboradores, 1994).

Além destas estruturas, podemos observar também a participação do Sistema septohipocampal na investigação cautelosa do rato em ambientes novos (avaliação de risco) e na resposta de congelamento. O Núcleo Medial da Rafe

também participa da resposta de congelamento. Já o hipotálamo lateral está envolvido nas respostas de luta ou fuga dos animais (Graeff, 1993a).

### 1.3.2

#### **Sistema límbico**

James Papez (1883-1958), através de estudos neuroanatômicos, descreveu, em 1937, um sistema subcortical, que bordeia o tálamo. Tal sistema engloba diversas estruturas, entre suas principais: o complexo amigdalóide, o corpo mamilar, o hipocampo, o fórnix, o córtex cingulado, o septo, o bulbo olfativo e o hipotálamo. Este conjunto de estruturas ficou conhecido como “Circuito de Papez”. O fisiologista sugeriu que os estados de emoção são expressos através da ação das diversas estruturas do circuito sobre o hipotálamo, e que tais emoções são vivenciadas através da ação destas mesmas estruturas sobre o córtex (Pinel, 2005, Kotter & Meyer, 1992).

MacLean (1949) propôs, baseando-se no “Circuito de Papez”, a teoria do sistema límbico. De fato, McLean fez propostas extremamente importantes para sustentar sua teoria do sistema límbico. Segundo ele, existem na verdade três cérebros separados evolutivamente, mas que coexistem no crânio de todos os animais superiores. Estes “cérebros” foram denominados de “Complexo Reptiliano”, “Sistema Límbico” e “Neocortex”.

Uma das estruturas observadas e delimitadas no sistema límbico por MacLean foi um complexo de estruturas localizadas no lobo temporal, atualmente conhecido como “Complexo Amigdalóide”, ou somente Amígdala (LeDoux, 1998).

### 1.3.3

#### **Complexo amigdalóide**

A amígdala é um complexo de núcleos que se encontra no lobo temporal anterior de seres humanos e de outros animais (Amaral e colaboradores, 1992). Um dos primeiros pesquisadores a observar e classificar o hoje denominado “Complexo Amigdalóide” foi o fisiologista alemão Karl Friedrich Burdach, em 1819. Cortes especiais do cérebro revelavam uma massa de matéria cinzenta em

forma de amêndoa, localizada numa região subcortical. Burdach denominou tal massa de “Complexo Amigdalár” (Swanson & Petrovich, 1998).

Após a descoberta de Burdach desta massa de neurônios subcorticais passaram-se cerca de 50 anos de controvérsias sobre em qual parte do cérebro tal complexo deveria estar localizado. Em 1867, outro fisiologista alemão, Theodor Meynert, definiu que a amígdala deveria ser, para fins de classificação, definida como um lobo ventral e temporal, sendo uma extensão do “claustrum”. Segundo este fisiologista, o “Claustrum” seria o limite mais inferior do cérebro (Swanson & Petrovich, 1998).

Mas as controvérsias não pararam por aí. Somente em 1923, por meio de J.B Johnston, que foi introduzida a descrição do complexo que é largamente usada até hoje. Ele comparou exaustivamente um grande número de animais vertebrados. Sua proposta é que a amígdala fosse dividida em dois núcleos primitivos associados ao sistema olfatório (os núcleos central e medial). Além disso, ele observou que existem outros dois núcleos filogeneticamente mais novos, os núcleos lateral e basal (Swanson & Petrovich, 1998).

Depois do início das primeiras observações do complexo amigdalóide, que privilegiavam a localização anatômica e a filogenia desta estrutura, as atenções foram voltadas para a determinação das relações de “entradas” e “saídas” dos diversos grupos neuronais da amígdala. Por causa disso os estudos privilegiaram os tipos de neurotransmissores e receptores localizados nestas vias de “entradas” e “saídas” (Swanson & Petrovich, 1998).

Devido tais observações, que sem dúvida foram muito mais precisas do que aquelas feitas pelos primeiros pesquisadores, determinou-se que o complexo amigdalóide é uma região, basicamente, heterogênea (Swanson & Petrovich, 1998). Os estudos de David Amaral (2002) sobre a amígdala de primatas foram mais largamente adotados, sendo validados para o cérebro do rato por Pitkanen e colaboradores, em 1997. Para fins de classificação a amígdala pode ser dividida em basicamente três grandes áreas: o grupo basolateral, o grupo centro-medial, e o grupo cortical (Gale e colaboradores, 2004). O núcleo maior e mais bem diferenciado é o grupo basolateral. Ele é formado pelos núcleos laterais, os núcleos da base, e os núcleos acessórios da base. Tal grupo possui uma posição privilegiada no cérebro, recebendo informações do neocórtex, tálamo e

hipocampo. De fato, é uma excelente posição para integração sensorial (Fanselow & Gale, 2003).

Ainda segundo Fanselow e Gale (2003), outra parte de grande importância é o núcleo centro-medial. Ele é formado pelos núcleos central e medial. Este núcleo possui importantes conexões com a chamada “stria terminalis”. As células desta região são idênticas às do núcleo centro-medial, o que a denominou de “Amígdala Extendida”. O menor núcleo da amígdala é o grupo cortical, e é também conhecida como a “amígdala olfatória”. Este núcleo recebe informações diretas do bulbo olfatório.

A principal via de entrada das informações sensoriais que chegam a amígdala é o seu núcleo lateral. É através deste núcleo que a amígdala recebe informações do mundo exterior. E a estrutura do complexo amigdalóide que funciona como a via de saída das informações codificadas na amígdala é justamente seu núcleo central (Fanselow & Gale, 2003; Gale e colaboradores, 2004).

No interior da amígdala existem diversas outras estruturas que estão entre o núcleo lateral e o núcleo central. Tais estruturas, como por exemplo, o complexo basolateral, codificam todas as informações de caráter emocional. Cada uma destas subdivisões é capaz de influenciar outras estruturas cerebrais associadas à emoção, como por exemplo, o hipocampo, o córtex frontal e o hipotálamo (Fanselow & Gale, 2003; Gale e colaboradores, 2004, Ledoux 2000; Amaral, 2002).

Estudos neuroquímicos da amígdala (McDonald & Augustine, 1993; Sun & Cassel, 1993) revelaram os neurotransmissores mais encontrados nas suas diversas subdivisões. Utilizando-se de imunohistoquímica para o neurotransmissor inibitório GABA e para proteínas que convertem o glutamato em GABA (a chamada GAD), observou-se a notável presença de uma densa população de neurônios da amígdala, que se estendem de forma ventral e ininterruptamente através do núcleo central e do núcleo medial desta estrutura, que utilizam o neurotransmissor GABA. É interessante observar que tais núcleos terminam no limite ventro-medial do hemisfério cerebral (Swanson & Petrovich, 1998).

Em contraste às células do núcleo central e medial, robustamente GABAérgicas, em outras partes da amígdala encontram-se dispersamente apenas

alguns neurônios GABAérgicos, provavelmente envolvidos na formação de circuitos locais. Segundo McDonald & Augustine (1992) e Sun & Cassel (1993) os neurônios encontrados em outras subdivisões da amígdala são, provavelmente, glutamatérgicos (utilizam o neurotransmissor excitatório glutamato). Tais evidências são fortes sugestões de que uma parte da amígdala (seus núcleos central e medial) é subcortical (estriatal), enquanto que suas outras partes são corticais.

Desta forma, evidências bastante consideráveis nos mostram que grande parte das projeções corticais (as chamadas células piramidais) da amígdala utiliza o glutamato como neurotransmissor, enquanto que as projeções subcorticais usam o GABA. Segundo Swanson e Petrovich (1998), se isso for verdade, significa que as projeções não GABAérgicas da amígdala não fazem parte do córtex.

Entretanto, a característica mais importante e mais marcante da amígdala é, sem dúvida, a sua capacidade de processar, codificar e controlar todas as informações de caráter emocional que chegam ao cérebro. Tal estrutura possui grande influência na circuitaria neural que envolve as respostas emocionais. Praticamente todo estímulo sensorial recebe uma avaliação rápida e precisa deste complexo. Ele possui várias conexões com diferentes partes do cérebro, adquirindo um alto poder de decisão frente a estímulos ameaçadores, sobrepujando inclusive o córtex frontal (Blanchard & Blanchard, 1972; Kim e colaboradores, 1993; Campeau & Davis, 1995; Fanselow & Gale, 2003; Davis, 1992; Ledoux, 1998, 2000, 2002; Ledoux e colaboradores 1990a; 1990b; Fanselow, 1994; Fanselow & Maren, 1996; Fanselow & Ledoux, 1999; Gale e colaboradores, 2004; Mayer & Fanselow, 2003, McGaugh e colaboradores, 1996).

Nos vertebrados complexos, entre os quais os seres humanos se incluem, a amígdala desempenha um papel primordial no armazenamento e na formação de memórias associadas a eventos emocionais. Este processo de consolidação de memória é denominado de “Potenciação de Longo Prazo”, e provoca mudanças estruturais importantes nos neurônios da amígdala (Amunts e colaboradores, 2005).

### 1.3.4

#### Participação da amígdala no condicionamento aversivo

Sabe-se hoje que o condicionamento a estímulos discretos (e.g. Luz ou som) ou estímulos contínuos (contextuais) dependem da integridade do complexo amigdalóide. Tal estrutura sub-cortical tem sido amplamente estudada, e seu papel na aquisição e expressão dos comportamentos defensivos do rato já foi demonstrado por diversos autores (Kim e outros 1993; Fanselow e Fendt, 1999; Fanselow, 2003; Oliveira e colaboradores, 2004, Walker & Davis, 2002).

O envolvimento da amígdala na resposta de congelamento ao contexto previamente associado ao choque foi primeiramente demonstrado por Blanchard & Blanchard (1972). Outros estudos mostraram que a amígdala também possui uma participação crucial no condicionamento pelo medo utilizando-se estímulos auditivos (Iwata e outros, 1986).

Com base em observações feitas após a realização da amigdalectomia bilateral em macacos, Gaffan e Harrison (1987) defenderam que a amígdala é especialmente importante na mediação do controle do comportamento por reforços condicionados. Estudos conduzidos em humanos submetidos à ablação cirúrgica da amígdala geralmente produzem informações limitadas devido ao uso de amostras não controladas, mas tendem a mostrar atenuação da agressão e incapacidade de responder a estímulos que normalmente provocariam medo (Ledoux, 1998).

O complexo basolateral da amígdala, particularmente o núcleo basal e lateral, é responsável pela eliciação da resposta de congelamento do animal (Fendt & Fanselow, 1999). De fato, Fanselow e Dale (2003) demonstraram que lesões na região frontotemporal da amígdala, que incluem seu núcleo basal e lateral, causam uma diminuição significativa nas respostas de congelamento do animal. Tais resultados também foram obtidos até mesmo um ano e meio após a primeira sessão de treinos, a chamada fase de aquisição.

Gale e colaboradores observaram, em 2004, que o complexo basolateral da amígdala está intimamente envolvido no armazenamento das memórias relacionadas ao medo em ratos. Descobriu-se que memórias de alto valor hedônico (prazer/desprazer) podem ser, além de armazenadas, codificadas nesta mesma estrutura. Ratos lesionados bilateralmente na amígdala basolateral

demonstraram um sério déficit no reconhecimento de contextos com alto valor emocional.

Kim e colaboradores (1993) também demonstraram que lesões extensivas na amígdala em ratos provocaram uma atenuação na resposta de congelamento dos animais. Além disso, a aplicação de Lidocaína, Muscimol e Diazepam na amígdala também bloqueou a expressão da resposta de congelamento (Helmstetter, 1992, 1993; Helmstetter & Bellgowan, 1994).

## 1.4

### **A produção de linhagens com alta e baixa emocionalidade**

Grandes diferenças comportamentais e fisiológicas são encontradas entre indivíduos de populações humanas ou animais. Tais diferenças relacionam-se com a capacidade que cada indivíduo possui para enfrentar situações estressantes ou desafiadoras, além de sua resistência ou vulnerabilidade a agentes patogênicos (Steimer e colaboradores, 2005).

Sabe-se hoje que a emocionalidade possui um grande fator hereditário em diferentes espécies animais, como por exemplo, em camundongos (Calderone e colaboradores, 1997) e em humanos (Grillon e colaboradores, 1998). No rato, diversos estudos também demonstraram tal caráter hereditário da reação emocional frente a perigos presentes no meio externo capazes de produzir diferentes tipos de respostas de defesa (Grahame, 2000; Landgraaf & Wigger, 2002, Fernandez-Teruel e colaboradores, 2002).

Na tentativa de se elucidar as influências genéticas que contribuem para a ocorrência de comportamento defensivo de animais, utiliza-se um procedimento de seleção de linhagens obtidas através de sucessivos cruzamentos de animais de uma dada população que apresentem altos ou baixos valores extremos do traço desejado. Cepas, por sua vez, podem ser geradas através do cruzamento entre irmãos e irmãs de uma população específica, e que possuam algum traço semelhante, por gerações seguidas. Desta forma, geralmente após vinte gerações, os indivíduos de uma cepa se tornam isogênicos, ou seja, geneticamente idênticos entre si (Grahame, 2000).

Quando uma seleção genética ocorre baseando-se nos extremos do fenótipo desejado designa-se uma seleção bi-direcional. Neste sentido as duas linhagens divergentes irão progressivamente mostrar diferenças maiores através das gerações no que diz respeito ao traço desejado, e nos genes que definem tal traço. Entretanto, em relação aos outros traços característicos da população, e seus respectivos genes, as duas linhagens devem permanecer similares. Desta forma, no caso da resposta defensiva de um animal frente a um contexto aversivo, a criação selecionada resultaria em duas linhagens que possuem variações dos alelos dos genes relacionados a tal comportamento, e que possuiriam genes similares que não estão relacionados a esta resposta, como por exemplo, a cor da pelagem (Grahame, 2000).

De fato, a seleção de animais com base no desempenho em um determinado teste, resulta em linhagens com consistentes padrões comportamentais através das gerações. Além disso, este processo de seleção tem a capacidade de influenciar o padrão de uma série de respostas fisiológicas subjacentes ao traço selecionado (Steimer e colaboradores, 2005).

Os modelos animais mais utilizados para investigar processos relacionados com emocionalidade estão associados ao comportamento exploratório do rato, e da sua reatividade a ambientes novos ou potencialmente aversivos. O campo aberto, por exemplo, possibilita a observação de diversas ações dos roedores, como locomoção, urinação, defecação, congelamento, pulos e corridas, além do tempo despendido em cada setor da arena. Tal modelo permite também a testagem de diversos agentes farmacológicos no comportamento do animal. Além do campo aberto, ainda utiliza-se bastante o teste da caixa de transição claro e escuro, que é um modelo importante para a testagem da ansiedade no camundongo. Outro teste consagrado é o labirinto em cruz elevado, que possibilita, além da testagem de diversos agentes farmacológicos, a utilização de variáveis etológicas na descrição dos comportamentos dos roedores. Outros testes, como a interação social e os testes de conflito, que podem utilizar choques para supressão de respostas condicionadas, também constam no repertório comportamental para a seleção de traços fenotípicos desejados (para uma revisão, ver Ramos & Mormède, 1998).

Os ratos romanos (Roman High e Low), por exemplo, foram inicialmente selecionados a partir de uma cepa Wistar, utilizando-se como critério a resposta de

esquiva ativa numa caixa de vai-e-vem (Bignami, 1965). Estas linhagens já foram exaustivamente estudadas em diversas dimensões comportamentais, e através da utilização de outros modelos, além da formação de outras sub-linhagens (Steimer e colaboradores, 1999, 2005; Giorgio e colaboradores, 2007).

Um outro par de linhagens importantes, e que se tornou clássico nos estudos genéticos, se caracteriza pela reatividade do rato no campo aberto. Desenvolvidos por Broadhurst, em 1954, as linhagens denominadas de Maudsley Reativos e Não-reativos se caracterizam pela notável diferença na taxa de defecação no campo aberto, sendo que os animais da linhagem de baixa reatividade apresentam uma defecação próxima de zero, enquanto que a linhagem divergente, mais reativa, possui uma taxa de defecação maior. Além desta variável, a locomoção pelo campo aberto também foi observada, e se mostrou divergente entre os grupos (Ramos & Mormède, 1998).

Utilizando-se do labirinto em cruz elevado, desenvolveu-se na Universidade de Leipzig, nos anos de 1980, duas linhagens de animais com extremos no comportamento defensivo. Chamadas de HAB (High Anxiety Related Behavior) e LAB (Low Anxiety Related Behavior), estas linhagens também se mostraram divergentes no teste do campo aberto e no teste do nado forçado (Liebsch e colaboradores, 1998; Landgraf & Wigger, 2002).

Ramos e colaboradores desenvolveram, em 2003, duas linhagens de ratos que se caracterizam pelos divergentes níveis de comportamentos defensivos no campo aberto, no labirinto em cruz elevado e na caixa de transição claro e escuro (Ramos e colaboradores, 2003).

Num recente estudo, Ponder e colaboradores (2007) utilizaram o condicionamento clássico pavloviano para a seleção de extremos fenotípicos numa população de camundongos. O traço selecionado foi a resposta de congelamento dos animais, primeiramente ao contexto da caixa, e num segundo momento, a um barulho associado ao choque. Variáveis como a sensibilidade ao choque também foram consideradas neste estudo. Observou-se que as diferentes intensidades de choque produziram padrões comportamentais semelhantes nas duas linhagens selecionadas.