

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**ANÁLISE MORFOLÓGICA NEURONAL E DA
DENSIDADE DE ESPINHOS DENDRÍTICOS DA
AMÍGDALA MEDIAL DE RATAS DURANTE
O CICLO ESTRAL**

Káren Morgana Rigoti

Porto Alegre
2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

**ANÁLISE MORFOLÓGICA NEURONAL E DA
DENSIDADE DE ESPINHOS DENDRÍTICOS DA
AMÍGDALA MEDIAL DE RATAS DURANTE
O CICLO ESTRAL**

Káren Morgana Rigoti

Orientador: Prof. Dr. Alberto Antônio Rasia Filho

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Matilde Achaval Elena

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Porto Alegre

2002

*Não basta ter belos sonhos para realizá-los.
Mas ninguém realiza grandes obras se não for capaz de sonhar grande. Podemos mudar o nosso destino, se nos dedicarmos à luta pela realização de nossos ideais. É preciso sonhar, mas com a condição de crer em nosso sonho; de examinar com atenção a vida real; de confrontar nossa observação com nosso sonho, de realizar escrupulosamente nossa fantasia. Sonhos, acredite neles.*

Lenin

Agradecimentos

A Deus, pela vida e por me possibilitar concluir este trabalho.

Ao Prof. Dr. Alberto Antônio Rasia Filho, pela oportunidade e orientação.

À Profa. Dra. Matilde Achaval Elena, pela dedicação e aprendizado.

À Dra. Wania A. Partata, pelas valiosas sugestões.

Aos professores que no seu saber muito me ensinaram.

À Cristina Fabian, pela imensurável colaboração e por sua amizade.

Ao Máximo, meu esposo, pela abdicção, paciência e pelo amor.

Aos meus pais Lourdes e Eduardo Paulo por tudo que fizeram e fazem por mim.

À minha irmã Rochele, pelo auxílio e incentivo.

Ao amigo Luciano Rodrigues, pelo apoio sempre prestado.

Ao amigo Günter, pela valiosa e prestativa contribuição.

À amiga Erica, pela amizade, por compartilhar idéias e pelo incentivo nas horas difíceis.

Aos amigos Márcia, Taís, Giordano e Nara pela amizade.

Aos colegas de laboratório de histofisiologia pela acolhida e pelo agradável convívio.

A todos aqueles que, de forma direta ou indireta, permitiram que eu alcançasse este objetivo.

À Universidade Luterana do Brasil, pelas horas de pesquisa concedidas.

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

1	INTRODUÇÃO.....	12
1.1	Amígdala.....	12
1.2	Amígdala Medial.....	16
1.2.1	<i>Localização e Divisão.....</i>	16
1.2.2	<i>Citoarquitetura da Amígdala Medial.....</i>	19
1.2.3	<i>Função da Amígdala Medial.....</i>	24
1.2.4	<i>Interação Morfofuncional da Amígdala Medial.....</i>	31
2	OBJETIVOS.....	36
2.1	Gerais.....	36
2.2	Específicos.....	36
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.1	Animais.....	37
3.2	Procedimento Cirúrgico e Histológico.....	37
3.3	Aquisição de Dados.....	38
3.3.1	<i>Seleção dos Neurônios para Determinação de sua Morfo- logia Geral.....</i>	38
3.3.2	<i>Desenho dos Espinhos Dendríticos.....</i>	39
3.4	Análise Estatística.....	40
4	RESULTADOS.....	42
4.1	Morfologia dos neurônios da Amígdala Medial de Ratas em	

Diestro.....42

4.2 Densidade de Espinhos Dendríticos dos Neurônios da Amígdala Medial.....

5 DISCUSSÃO

5.1 Morfologia dos Neurônios dos Subnúcleos da Amígdala Medial de Ratas em Diestro

5.2 Densidade de Espinhos Dendríticos

6 CONCLUSÃO

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreviaturas

AMBI	Amígdala Basolateral
ACe	Amígdala Central
AL	Amígdala Lateral
AMe	Amígdala Medial
AMeAD	Região Ântero-Dorsal da Amígdala Medial
AMeAV	Região Ântero-Ventral da Amígdala Medial
AMePD	Região Pósterio-Dorsal da Amígdala Medial
AMePV	Região Pósterio-Ventral da Amígdala Medial
AMePDc	Porção Central da Amígdala Medial Pósterio-Dorsal
BNSTi	Porção Intermediária do Núcleo Próprio da Estria Terminal
BL	Amígdala Basolateral
BM	Amígdala Basomedial
Co	Amígdala Cortical
Epm	Erro Padrão da Média
GAL	Glutamato Descarboxilase
GABA	Ácido Amino Gama Butírico
HPA	Eixo Hipotálamo - Hipófise - Adrenocortical
LTD	Atividade Diminuída a Longo Prazo
LTP	Atividade Potencializada a Longo Prazo
NMDA	N - Metil - D - Aspartato
PA	Potencial de Ação
PL	Amígdala Lateral Posterior
SN	Sistema Nervoso
SNC	Sistema Nervoso Central
TO	Trato Óptico
TQ	Transmissores Químicos
VMN	Núcleo Ventromedial do Hipotálamo

Lista de Figuras

Figura 1	Corte coronal do encéfalo do rato no qual pode-se observar o aspecto oval da amígdala e sua localização no lobo temporal.....	13
Figura 2	Cortes coronais do encéfalo do rato onde pode-se observar os quatro subnúcleos a saber: AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV.....	19
Figura 3	Cortes coronais do encéfalo do rato adaptado de Paxinos e Watson (1998) para ilustrar as figuras que serviram como referência para localização dos subnúcleos da Ame.....	41
Figura 4	Fotomicrografias de neurônios da AMeAD de ratas na fase de diestro.....	48
Figura 5	Desenhos de neurônios da AMeAD de ratas em diestro.....	49
Figura 6	Fotomicrografias de neurônios da AMeAV de ratas em diestro.....	50
Figura 7	Desenho de neurônios da AMeAV de ratas em diestro.....	51
Figura 8	Fotomicrografia de neurônios da AMePD de ratas em diestro.....	52
Figura 9	Desenho dos neurônios da AMePD de ratas em diestro.....	53
Figura 10	Fotomicrografia de neurônios da AMePV de ratas em diestro.....	54
Figura 11	Desenho de neurônios da AMePV de ratas em diestro.....	55
Figura 12	Fotomicrografias onde pode-se comparar os neurônios dos quatro subnúcleos da Ame.....	56
Figura 13	Fotomicrografias onde pode-se verificar os espinhos dendríticos de neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMePD e AMePV de ratas na fase de diestro.....	57
Figura 14	Fotomicrografias de neurônios e respectivos espinhos dendríticos da AMePD de ratas em diestro.....	58
Figura 15	Desenhos de espinhos dos primeiros 40 μ m dendríticos de neurônios da AMePD de ratas na diferentes fases do ciclo	

	estral	59
Figura 16	Desenhos de espinhos dos primeiros 40 μm dendríticos de neurônios da AMePD de ratas em diestro	59
Figura 17	Densidade de espinhos dendríticos (média \pm erro padrão da média) estudados nas três subregiões da amígdala medial durante a fase de diestro quando comparada aos valores da AMeAD e AMePV	60
Figura 18	Densidade de espinhos dendríticos (média \pm erro padrão da média) estudados nas três subregiões da amígdala medial durante a fase pró-estro.....	60
Figura 19	Densidade de espinhos dendríticos (média \pm erro padrão da média) estudados nas três subregiões da amígdala medial durante a fase de estro.....	61
Figura 20	Densidade de espinhos dendríticos (média \pm erro padrão da média) estudadas nas três subregiões da amígdala medial durante a fase de metaestro.....	61
Figura 21	Densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) por micrômetro dendrítico na região ântero-dorsal da amígdala medial de ratas estudadas em diestro (D), pró-estro (E) e metaestro (M).....	62
Figura 22	Densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) por micrômetro dendrítico na região póstero-dorsal da amígdala medial de ratas estudadas em diestro (D), pró-estro (P), estro (E) e metaestro (M)	62
Figura 23	Densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) por micrômetro dendrítico na região póstero-ventral da amígdala medial de ratas estudadas em diestro (D), pró-estro (P), estro (E) e metaestro (M).	63

Lista de Tabela

Tabela 1	Comparação dos tipos celulares presentes na AMe quanto ao tamanho, forma do soma, número de dendritos primários, número de dendritos secundários por dendrito primário, existência de espinhos e localização.....	45
-----------------	---	----

RESUMO

A amígdala medial (AMe) é um núcleo superficial do complexo amigdalóide, ocupando seu aspecto rostromedial. A AMe modula uma série de comportamentos, além de modular a memória e o aprendizado associado a estímulos olfativos e visuais. Em ratos, é uma estrutura sexualmente dimórfica e está dividida em quatro subnúcleos: ântero-dorsal (AMeAD), ântero-ventral (AMeAV), pósterodorsal (AMePD) e póstero-ventral (AMePV). A AMe apresenta células com características morfológicas variadas e receptores para hormônios gonadais amplamente e heterogeneamente distribuídos entre todos os seus subnúcleos. O presente trabalho teve como objetivos caracterizar a morfologia dos neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV de ratas na fase de diestro e verificar a densidade de espinhos dendríticos de neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMePD e AMePV de ratas nas fases de diestro, pró-estro, estro e metaestro. Para tal, foram utilizadas ratas Wistar (N=24) que, após a identificação da fase do ciclo estral, foram anestesiadas e perfundidas, tiveram seus encéfalos retirados e seccionados (cortes coronais de espessura de 100 e 200 μm), submetidos à técnica de Golgi. A seguir, os neurônios foram selecionados e desenhados com auxílio de câmara clara acoplada a um fotomicroscópio. Na avaliação da morfologia dos neurônios, observou-se que eles são do tipo multipolar, células estreladas e *bitufted*, sendo encontrados em todos os subnúcleos da AMe de ratas na fase de diestro além de células com corpos celulares arredon-

dados, fusiformes, piriformes, ovais e com características piramidais. Para a quantificação da densidade de espinhos dendríticos, foram desenhados os primeiros 40 μm de 8 ramos dendríticos de 6 fêmeas por fase do ciclo estral e por subregião da AMe. Os resultados da contagem dos espinhos dendríticos foram submetidos a ANOVA de uma via e ao teste de Newman-Keuls. Verificou-se que, em diestro, a densidade de espinhos nas regiões AMeAD, AMePD e AMePV, foi maior quando comparada às demais fases do ciclo estral. Além disso, em diestro, a AMePD apresentou a maior densidade quando comparada com as regiões AMeAD e AMePV. O estudo mostrou que os neurônios da AMe de ratas estudadas na fase de diestro apresentaram morfologia variada e a densidade de espinhos dendríticos variou na AMeAD, AMePD e AMePV durante o ciclo estral de ratas, especialmente na AMePD. Os resultados obtidos sugerem a plasticidade induzida por esteróides sexuais na morfologia e na fisiologia da AMe de ratas.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Amígdala

A amígdala, ou complexo amigdalóide, constitui-se de núcleos subcorticais que se situam no lobo temporal, lateral ao hipotálamo e ventral ao estriado, no encéfalo de mamíferos. Em primatas, é caracterizada como uma massa ovóide de substância cinzenta, localizada na porção terminal e rostral da formação hipocampal, tendo como limite anterior o corno temporal do ventrículo lateral (ALHEID et al., 1995; de OLMOS; HEIMER, 1999). Em ratos, é composta por núcleos e subnúcleos que formam uma complexa rede estrutural interrelacionada e multifuncional, uma vez que está envolvida na modulação de diversos comportamentos e ajustes vegetativos (ALHEID et al., 1995; EVERITT, 1995; PAXINOS; WATSON, 1998; RASIA-FILHO et al., 1999; SWANSON; PETROVICH, 1998) (Fig. 1).

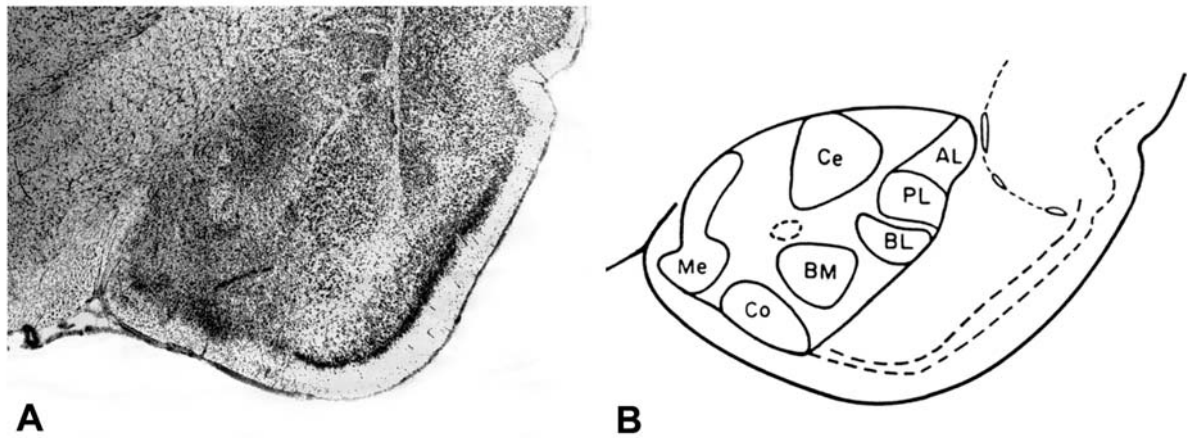


Fig. 1 - Cortes coronais do encéfalo do rato onde é possível observar o aspecto oval da amígdala e sua localização no interior do lobo temporal (A e B). As divisões da amígdala correspondem às primeiras descrições desse complexo nuclear, onde tem-se: Me - amígdala medial, Ce - amígdala central, AL - amígdala lateral anterior, PL - amígdala lateral posterior, BL - amígdala basolateral, BM - amígdala basomedial, Co - amígdala cortical. Obtido em MELONE et al. (1984).

O termo amígdala foi empregado, primeiramente, para se referir a uma região do cérebro de mamíferos formada por um conjunto de núcleos em forma de amêndoa, de onde surgiu seu nome (SWANSON; PETROVICH, 1998). Foram os estudos de Johnston, Humphrey e Crosby, conforme Kamal e Tömböl (1975), os primeiros a descrever que a estria terminal representa a maior via de ligação entre a amígdala e as regiões médio-basais do telencéfalo, sobre a organização citoarquitetônica da amígdala na escala evolucionária, bem como suas divisões. Estes autores sugeriram que a amígdala estava dividida em uma região córtico-medial e outra basolateral. A primeira, constituída pelos núcleos central, medial e cortical, representando a área filogeneticamente mais antiga desta região nuclear; e a segunda, composta pelos núcleos basal e lateral, representando a região mais recente na escala evolutiva. Além desses núcleos, foi referida a existência de um terceiro grupo, denominado de amígdala anterior, do qual faziam parte os núcleos late-

rais do tracto olfativo, áreas de transição e núcleos não classificados. Estudos mais recentes sobre a classificação da amígdala de ratos apresentam-na dividida em quatro regiões que, segundo a sua citoarquitetura são: 1) amígdala “expandida”, denominada assim por se estender além de seus limites anatômicos. Subdivide-se nos núcleos central e medial; 2) amígdala com características corticais, subdividida em porção basolateral e em porções que se ligam às vias olfativas e vomeronasal; 3) região de transição, localizada entre a porção ventral dos núcleos da base e a amígdala “expandida”; e 4) núcleos ainda não classificados, constituídos por um grande grupo de células dispersas na substância branca e no interior do núcleo próprio da estria terminal (ALHEID et al., 1995; de OLMOS et al., 1985). Os limites anatômicos externos da amígdala e a classificação de suas subdivisões permanecem, no entanto, ainda controversos (SWANSON; PETROVICH, 1998).

A amígdala, por sua natureza heterogênea, é objeto de interesse de inúmeros cientistas e sua morfologia, fisiologia e organização são constantemente revistas (AMARAL, 1992; de OLMOS et al., 1985; McDONALD, 1992; PRICE, 1987). Atribui-se à amígdala de ratos funções como: respostas a estímulos gerados por medo e ansiedade, percepções de estímulos olfativos e hormonais, modulação de comportamento reprodutivo e participação na aquisição do aprendizado e da memória condicionada (ARMONY et al., 1995; DAVIS, 2000; EVERITT, 1995; GUILLAMÓN; SEGOVIA, 1997; KLING; BROTHERS, 1992; KONDO; ARAI, 1995; LABAR; LeDOUX, 1997; LeDOUX, 1992; MASCÓ; CARRER, 1980; PITKÄNEN, 2000; QUIRK et al., 1995; RASIA-FILHO et al., 1991; SWANSON; PETROVICH, 1998; WOOD; NEWMAN, 1995). Para participar dessas atividades, a amígdala possui a capacidade de receber diferentes informações sensoriais, tanto interoceptivas, quanto exteroceptivas (estímulos olfativos, auditivos e visuais), que acabam por modificar sua

atividade e estimular diversas regiões do sistema nervoso (SN), em resposta ao estímulo inicial (DAVIS, 2000; KLING; BROTHERS, 1992; KNUEPFER et al., 1995; LeDOUX, 1992; QUIRK et al., 1995). Assim, a amígdala apresenta a capacidade de adequar a relação do animal com seu ambiente, modulando o comportamento social e conjugando-o com alterações vegetativas e neuroendócrinas. Por exemplo, quando o animal está frente a um estímulo aversivo visual ou auditivo, impulsos nervosos provenientes do tálamo e do córtex cerebral chegam às regiões lateral e basolateral (AMBI) da amígdala. A seguir, são transmitidos ao núcleo central da amígdala (ACe) e este envia eferências para o hipotálamo e para o tronco encefálico, onde as respostas comportamentais relacionadas com o medo e as respostas vegetativas simpáticas e parassimpáticas são organizadas. Isso faz com que o animal fique preferentemente em posição imóvel, aumente sua atenção com relação ao ambiente, torne-se taquipnéico e taquicárdico, apresente elevação de sua pressão arterial, possa defecar e urinar, e aumentar a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (DAVIS, 2000).

Em ratos, a amígdala é uma estrutura sexualmente dimórfica. Este dimorfismo pode ser evidenciado na comparação entre a área total da AMe de ratos e ratas, sendo que a AMe de ratos é maior do que a AMe de fêmeas (HINES et al., 1992; MALSBURY; MCKAY, 1994; MIZUKAMI et al., 1983; NISHIZUKA; ARAI, 1981a; NISHIZUKA; ARAI, 1982). Tal dimorfismo pode ser regulado pela ação de hormônios gonadais (GOMEZ; NEWMAN, 1991; MIZUKAMI et al., 1983; NISHIZUKA; ARAI, 1981a; 1981b; NISHIZUKA; ARAI, 1983; RASIA-FILHO et al., 1999). Este núcleo, junto a outras estruturas do sistema nervoso central (SNC), possui neurônios com características morfológicas variadas e que apresentam receptores para hormônios esteróides amplamente distribuídos em seus subnúcleos (GRAY; BINGAMAN, 1996;

LI et al., 1997; ÖSTERLUND,1998; SAR; STUMPF, 1973; SHERIDAN, 1979; SIMERLY et al., 1990). Esses hormônios, devido à sua capacidade de gerar alterações nos circuitos neurais, influenciam na plasticidade do SNC e causam alterações morfológicas, tais como: modificam o número de neurônios, promovem a maturação neuronal e do crescimento de neuritos, propiciam a sinaptogênese e a formação de circuitos neurais (ARAI; MATSUMOTO, 1978; ARNOLD; BREEDLOVE,1985; ARNOLD; JORDAN, 1988; NISHIZUKA; ARAI,1982b), alteram o comprimento dendrítico, a arborização dendrítica e o número de espinhos dendríticos (FRANKFURT et al., 1990; GOULD et al., 1990; NISHIZUKA; ARAI, 1981a; SILVA et al., 2000; TORAN-ALLERAND, 1984; WOOLEY et al., 1990; WOOLEY; McEWEN, 1993). No entanto, os efeitos sobre os dendritos e espinhos dendríticos variam de um sexo para outro e de uma região para outra no SNC (EVERITT, 1995; RASIA-FILHO et al.,1999; WOOLEY; McEWEN, 1993). Deve-se considerar que todas essas alterações podem ser permanentes na vida do animal (GORSKI, 2000; HINES et al., 1992; MIZUKAMI et al., 1983; PILGRIM; REISERT, 1992).

1.2 Amígdala Medial

1.2.1 Localização e Divisão

A AMe é um dos núcleos superficiais do complexo amigdalóide, ocupando seu aspecto rostromedial. É formada por uma coluna proeminente de células que surgem em justaposição à superfície lateral de fibras que ascendem o trato óptico

(ALHEID et al., 1995). Inicia medial e posteriormente ao núcleo do trato olfativo, estendendo-se caudalmente até o aparecimento do corno temporal do ventrículo lateral. Neste nível, ela situa-se dorso-medialmente ao pólo cefálico da área de transição amígdalo-hipocampal, formando a região medial da parede anterior desta porção do ventrículo. Ao longo de toda sua extensão, a AMe encontra-se lateralmente e em íntimo contato com a região ventro-lateral do trato óptico (T.O.). Seu limite rostral com a amígdala anterior e lateralmente com as camadas profundas do núcleo cortical anterior não estão claramente definidos (ALHEID; HEIMER, 1988; ALHEID et al., 1995; PITKÄNEN, 2000).

Dorso-lateralmente, a AMe é separada da porção medial da ACe por uma região pobre em células, a qual é substituída mais ventral e caudalmente pelo núcleo próprio da estria terminal (ALHEID et al., 1995). Caudalmente, o grupo de núcleos intercalados da amígdala separa a AMe da AMBl. Também caudalmente e em posição dorsal, grupos de fibras que ascendem dentro da estria terminal são interpostos entre a AMe e outros núcleos amigdalóides (ALHEID et al., 1995; PAXINOS; WATSON, 1998).

Na literatura, a AMe tem sido subdividida de diferentes maneiras, segundo critérios de cada autor. Pitkänen (2000) sugere que este núcleo seja formado por três regiões: rostral, central (porção dorsal e ventral) e caudal. Já Alheid et al. (1995) e Paxinos e Watson (1998), dividem a amígdala nos subnúcleos ântero-dorsal (AMeAD), ântero-ventral (AMeAV), pósterodorsal (AMePD) e póstero-ventral (AMePV) (Fig. 2). E, ainda, em função de suas conexões, a AMe pode ser organizada em uma região rostral ou anterior, da qual fazem parte a AMeAD, AMeAV e AMePV, e uma região caudal ou posterior, formada pela AMePD (CANTERAS et al., 1995).

Foi observado que a neurogênese na AMe em ratos ocorre até aproximadamente o 16º dia de vida intra-uterina. Inicia-se antes nas regiões anterior e ventral, o que provavelmente se relaciona com o estabelecimento de conexões com o sistema olfativo (BAYER, 1980). Baseados nisso, Wood e Newman (1995) propuseram que a região anterior da AMe estaria sendo influenciada principalmente por informações olfativas, e a região posterior, pelos hormônios gonadais, embora essa divisão anátomo-funcional não seja absolutamente rígida. Isso porque, há receptores para esteróides sexuais e conexões sinápticas recíprocas em todas as subregiões da AMe (LI et al., 1997; ÖSTERLUND, 1998; PITKÄNEN, 2000; SHUGHRUE et al., 1997; SIMERLY et al., 1990; WOOD; NEWMAN, 1995).

Todavia, a distribuição de receptores para hormônios sexuais na AMe não é uniforme. Neurônios com receptores para andrógenos estão presentes em todos os subnúcleos da AMe, porém a maior concentração é observada da parte média à posterior desse núcleo (SHERIDAN, 1979). Neurônios com receptores dos tipos α e β para estrógenos são encontrados na AMePD (LI et al., 1997; ÖSTERLUND, 1998; SIMERLY et al., 1990), mas há descrições da presença destes receptores, tanto na região anterior como na região posterior da AMe (LI et al., 1997; ÖSTERLUND, 1998; SHUGHRUE et al., 1997). Na AMe, entre 80 a 90% dos neurônios que possuem receptores para estrógenos também possuem para andrógenos (GRECÓ et al., 1998). Mas, interessante é que na AMePD é observada maior quantidade de neurônios expressando colecistoquinina, substância P e angiotensina II (LIND; GANTEN, 1990; SIMERLY et al., 1990). Essas diferenças neuroquímicas nos subnúcleos da AMe são indícios de que a inter-relação entre eles, e deles com outras regiões do SNC, podem ser distintas (CANTERAS et al., 1995; PITKÄNEN, 2000).

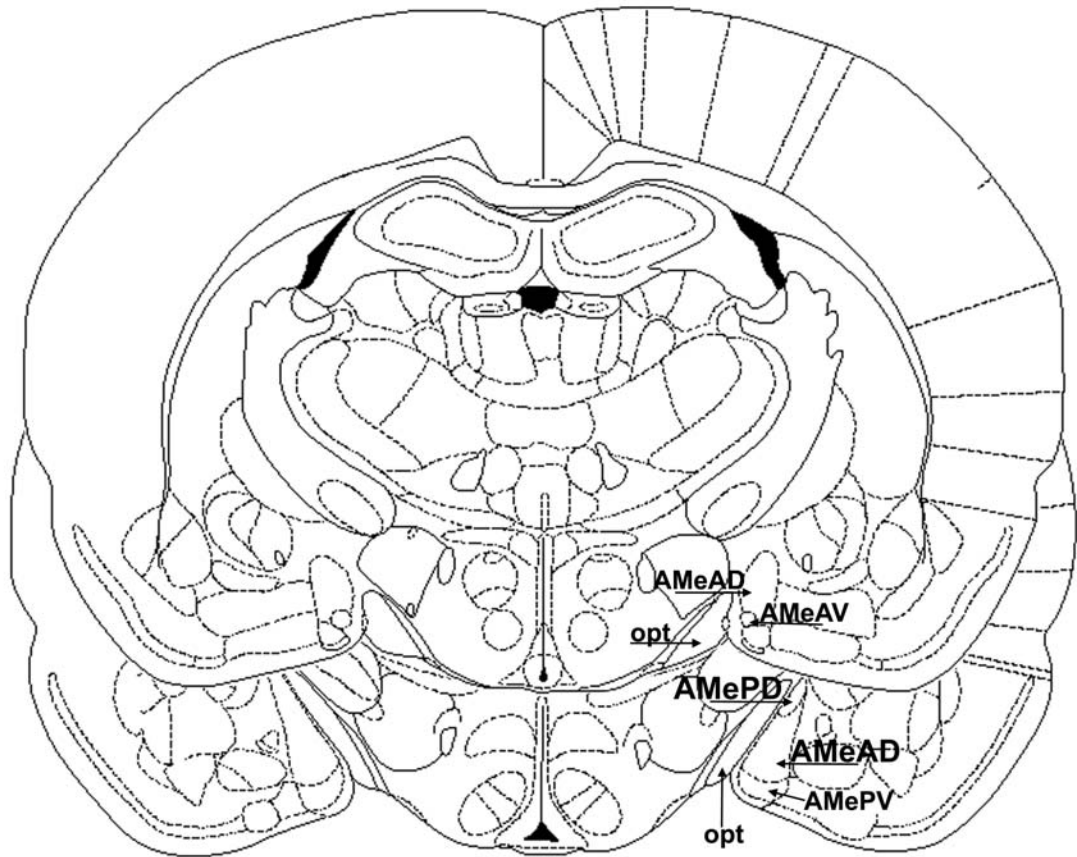


Fig. 2 - Cortes coronais do encéfalo do rato onde pode observar os quatro subnúcleos da AMe, a saber: AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV. Adaptado do atlas de Paxinos e Watson (1998), equivale às figuras 28 e 31 deste atlas. Opt – trato óptico.

1.2.2 Citoarquitetura da Amígdala Medial

A morfologia dos neurônios da AMe tem sido estudada pelo método de Golgi, técnica que, quando bem sucedida, impregna corpo celular, axônio, dendritos e espinhos de aproximadamente 1-10% de todos os neurônios de uma determinada região do SNC (WOOLLEY; McEWEN, 1993). Por meio dessa técnica foram estudados neurônios da AMe de gatos (HALL, 1972; PRICE, 1987; TÖMBÖL;

SZAFRANSKA-KOSMOL, 1972), cachorros (MUKHINA; LEONTOVICH, 1970), camundongos (VALVERDE, 1962) e ratos (de OLMOS et al., 1985; PRICE, 1987; YU, 1969). Nesses estudos foram observadas semelhanças histológicas nas células da AMe das diferentes espécies e a presença de apenas um tipo celular, que são neurônios multipolares, sendo eles muito parecidos ao principal tipo celular encontrado na subdivisão medial da ACe (KÄMAL; TÖMBÖL, 1975; McDONALD, 1992).

Desta forma, os neurônios multipolares da AMe são de tamanho pequeno (corpos celulares com 8-10 μm de diâmetro) e médio (corpos celulares com 10-15 μm de diâmetro) (McDONALD, 1992; RASIA-FILHO et al., 1999), ou uniformemente pequenos (GOMEZ; NEWMAN, 1991; KAMAL; TÖMBÖL, 1975), havendo a possibilidade de se encontrar células grandes em direção à porção rostro-dorsal deste núcleo (ALHEID et al., 1995). Seus corpos celulares podem ser ovais (McDONALD, 1992) ou fusiformes (KAMAL; TÖMBÖL, 1975; GOMEZ; NEWMAN, 1991). Neurônios multipolares do tipo *bitufted*, com dois ramos dendríticos primários (FERNANDEZ-GALAZ et al., 1997), e do tipo estrelado, com três ou mais ramos dendríticos originados do soma neuronal, também foram descritos como característicos dos subnúcleos da AMe (JONES; COWAN, 1983; RASIA-FILHO et al., 1999). As células *bitufted* usualmente apresentam dois dendritos primários que originam poucos ramos, os quais se estendem a longas distâncias dentro da AMe (ALHEID et al., 1995; McDONALD, 1992; MILHOUSE; de OLMOS, 1981). Os ramos dendríticos são definidos como sendo longos (GOMEZ; NEWMAN, 1991; McDONALD, 1992) ou de comprimento variável (NARKIEWICZ et al., 1978; RASIA-FILHO et al., 1999), grossos, razoavelmente retilíneos e pouco numerosos. A esparsa arborização dendrítica é uma característica peculiar à AMe, porém esta diferenciação não é válida quando se pretende distinguir esse núcleo da substância inominada, área amigdalóide ante-

rior e porção medial da ACe, pois os neurônios de todas estas regiões adjacentes são muito parecidos aos da AMe (McDONALD, 1992).

Muitos dendritos da AMe estendem-se ao longo da superfície pial de uma maneira oblíqua ou perpendicular. Alguns dendritos, localizados na porção profunda, mais lateral da AMe, são orientados paralelamente às fibras da estria terminal adjacente. Estes dendritos são geralmente de células *bitufted*. A densidade de espinhos varia de pouca a moderada e equivale à densidade encontrada na porção lateral da ACe (MILHOUSE; de OLMOS, 1981; NARKIEWICZ et al., 1978).

Nos casos em que os axônios dos neurônios da AMe foram impregnados pela prata em toda sua extensão, foi observado que eles dirigiam-se medialmente em direção ao núcleo basal ou em direção à estria terminal (KAMAL; TÖMBÖL, 1975; TÖMBÖL; SZAFRANSKA - KOSMAL, 1972). Também é comum aos axônios dos neurônios da AMe seguir um curso sinuoso e originar ramos colaterais, com poucas ramificações que são distribuídos nas proximidades de seus corpos celulares. Esses axônios entram na estria terminal e, por esta razão, os neurônios têm sido classificados como de projeções longas (KAMAL; TÖMBÖL, 1975; VALVERDE, 1962). Além de projetarem-se para a estria terminal, os axônios da AMe dirigem-se para a “ansa peduncularis”. Essas eferências, especificamente as da porção posterior da AMe, terminam na área medial da região posterior do núcleo próprio da estria terminal e são consideradas conexões densas e bidirecionais (CANTERAS et al., 1995; VALVERDE, 1962). Botões terminais com vesículas sinápticas do tipo achatadas foram observados nos axônios dos neurônios da AMe de gatos. Tanto a AMe quanto a ACe, apresentam muitos botões sinápticos com este tipo de vesículas. Os botões terminais são freqüentemente grandes e, ocasionalmente, muito alongados. As

vesículas são densamente distribuídas, algumas são ovais, outras são esféricas (NARKIEWICZ et al., 1978).

Os subnúcleos AMeAV e AMePD caracterizam-se por apresentar denso conjunto de células de tamanho médio, enquanto a AMeAD e AMePV apresentam células isomórficas. A AMePD, particularmente em direção à sua região ventral, apresenta células que se distribuem em três colunas orientadas paralelamente em relação à superfície do núcleo. A primeira coluna é a coluna superficial ou coluna medial (AMePDm), sendo formada por células agrupadas e com tamanho médio, e a segunda coluna, profunda, é a coluna mais lateral (AMePDI), também formada por células de tamanho médio densamente agrupadas, mas menores com relação à primeira coluna. A terceira coluna está arranjada de modo a constituir uma coluna intermediária de células (AMePDi), também de tamanho médio e que forma uma matriz que separa e orienta as duas outras colunas (ALHEID et al., 1995). A AMe encontra-se envolta, medial e ventralmente, por uma camada de células mais dispersas, denominada originalmente de camada molecular (NISHIZUKA; ARAI, 1983).

A AMe pode ser diferenciada do núcleo cortical anterior e porção intramigdalóide do núcleo próprio da estria terminal pela forte reação de Timm (técnica que cora botões sinápticos contendo zinco), e do núcleo póstero-lateral, núcleo cortical póstero-medial e área de transição amígdalo-hipocampal, por uma reação fraca de Timm, sendo separada da ACe por uma zona pobre em células (ALHEID et al., 1995).

Quanto à neuroquímica da AMe, dentre outras substâncias, foi observada uma reação fraca à colinesterase, com exceção de sua camada molecular. Essa reatividade inicia na borda da AMe que se limita com o núcleo cortical e o núcleo cortical póstero-lateral servindo como marco divisório entre a AMe e estes dois nú-

cleos. Na AMeAD, essa faixa torna-se reduzida para uma fina borda fortemente corada. Esta borda contorna a margem lateral do trato óptico (NISHIZUKA; ARAI, 1983; OBERTO et al., 2001; WONG; MOSS, 1992).

Vários transmissores químicos (TQ) e neuromoduladores são encontrados na AMe, predominantemente na porção caudal da AMePD. Em ratos e hamsters, este sistema envolve numerosos neurônios secretores de substância P (ECKERSELL; MICEVICH, 1997; HOLT, 1997; SWANN; NEWMAN, 1992) e alguns neurônios produtores de encefalinas e somatostatina (LU et al., 1995). Células contendo arginina-vasopressina e colecistoquinina são abundantes nos subnúcleos da AMe, porém estas substâncias não foram identificadas na amígdala de hamster, o que denota variação de uma espécie para outra (ADAMEC, 1991; MALSBUY; McKAY, 1994; NEWMAN, 1999). As células da porção central da amígdala medial pósterodorsal (AMePDc) apresentam imunorreatividade característica para dopamina (ASMUS et al., 1992).

Tanto as conexões da AMeAD com a região pósterointermediária da estria terminal, quanto com a região pósteromedial da estria terminal formam um circuito que contém neurônios que produzem glutamato descarboxilase (GAD), enzima que converte glutamato em GABA (OBERTO et al., 2001; STEFANOVA, 1998; WATANABE et al., 1995; WONG; MOSS, 1992). A imunohistoquímica para GABA e a hibridização *in situ* para GAD revelaram uma banda densa de neurônios que se estendem ventralmente e ininterruptamente através dos núcleos caudado, putâmen, ACe e AMe, terminando ao longo da extremidade ventromedial do hemisfério cerebral. Outras regiões da amígdala apresentam neurônios GABAérgicos dispersos, muitos dos quais estão provavelmente envolvidos em circuitos locais (LU et al., 1995; McDONALD, 1992; WONG et al., 1993). Estes dados sugerem que

projeções extrínsecas da amígdala posterior (ACe e AMe) são predominantemente GABAérgicas, enquanto da amígdala anterior (basolateral e cortical) são glutamatérgicas (SWANSON; PETROVICH, 1998).

1.2.3 Função da Amígdala Medial

A AMe tem sido descrita como uma região moduladora da memória condicionada e aprendizado onde o componente emocional esteja envolvido (AGGLETON; BLINDT, 1989; ALLEN; ALLEN, 1974; CANTERAS et al., 1995; GALLAGHER; HOLLAND, 1994; PEINADO-MANZANO, 1990; RASIA-FILHO et al., 2000; ROOZENDAAL; McGAUGH, 1996; SHINDOU et al., 1993; WATANABE et al., 1995), como observado em testes com esquivas inibitórias (LIANG et al., 1982; McGAUGH, 1992; ROOZENDAAL; McGAUGH, 1996), nas respostas neuroendócrinas a um evento estressor (DAYAS et al., 1999; LU et al., 1995; McGAUGH, 1992; SUMMERS et al., 2000) e em uma série de testes de comportamentos sociais, tais como o agressivo (BLOCK et al., 1980; DIELENBERG et al., 2001; HINES et al., 1992; SIEGEL; BRUTUS; 1990; SLODDART-APTER; McDONNELL, 1980; VOCHTELOO; KOOLHAAS, 1987), defensivo (BOLHUIS, 1984; SHAIKH et al., 1993), sexual (DOMÍNGUEZ; HULL, 2001; KONDO, 1992; ; KONDO; ARAI, 1995; MEISEL; SACHS, 1994; NEWMAN, 1999; RASIA-FILHO et al., 1991; WONG et al., 1993) e maternal (FLEMING et al., 1980; MORGAN et al., 1999; NUMAN et al., 1993; SHEEHAN et al., 2000).

A AMe, junto com outros núcleos amigdalóides, está envolvida no aprendizado influenciado pela emoção e respostas condicionadas (AGGLETON; BLIND, 1989; CANTERAS et al., 1995; SHINDOU et al., 1993; WATANABE et al., 1995). A AMe,

associada à AMBI, está relacionada à indução da formação da memória modulada pelos glicocorticóides (ROOZENDAAL; McGAUGH, 1996). Isto é observado quando situações emocionais excitantes, tais como a exposição do animal a seu predador natural, iniciam uma cadeia de eventos fisiológicos envolvendo a liberação de hormônios adrenomedulares (como a epinefrina) e a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenocortical (HPA), resultando em aumento de corticosterona sanguínea (HARVEY et al., 1984; ROOZENDAAL; McGAUGH, 1996). Muitos estudos têm determinado que glicocorticóides modulam os processos de memória em animais treinados em uma variedade de testes de aprendizado (BOHUS; de KLOET, 1981; LUINE et al., 1993; MITCHELL; MEANEY, 1991), bem como em humanos (NEWCOMER et al., 1994). Esta modulação se dá por dois sistemas de receptores para corticosterona: os mineralocorticóides e os glicocorticóides (de KLOET et al., 1988; de KLOET, 1991). A AMe, a ACe e a AMBI apresentam alta densidade desses dois receptores (ALLEN; ALLEN, 1974) e acredita-se que, por isto, essas regiões estejam relacionadas a esse tipo de processamento mnemônico.

Assim, o envolvimento da AMe, junto à AMBI, na memória e aprendizado, sob efeito de glicocorticóides, foi avaliado nos estudos em que ratos com lesão neuroquímica na AMBI e AMe foram treinados em testes de esQUIVA inibitória. Tais animais receberam, após treino, corticosterona e dexametasona e, então, a retenção da memória foi avaliada. Foi observado que os ratos com lesão na AMe e AMBI apresentaram semelhante desempenho de retenção da memória (ROOZENDAAL; McGAUGH, 1996).

O aprendizado modulado pela AMe está relacionado a estímulos olfativos (HESS et al., 1997; HINES et al, 1992; McGAUGH, 1992). Em experimentos onde foram comparados diferentes estágios da discriminação do aprendizado olfativo em

ratos, foi detectado um aumento da proteína c-fos neste núcleo durante a exploração anogenital inicial feita pelo macho em fêmeas. No entanto, durante o treino da discriminação olfativa, a expressão de c-fos na AMe mostrou-se baixa em comparação a outros núcleos amigdalóides. Pode-se observar, com isso, que a ativação da AMe se alterna, comparativamente aos outros núcleos amigdalóides, conforme a demanda da tarefa e os estágios de aprendizado (HESS et al., 1997).

A AMe mostra-se importante nas atividades neuroendócrinas hipotalâmicas durante uma resposta emocional. Em roedores, as respostas do eixo HPA para o estresse são seguidas pela ativação de células secretórias de ocitocina, um dos hormônios relacionados com o estresse (MIYATA et al., 1995). A AMe parece reger respostas de liberação de ocitocina, bem como o eixo HPA, na presença de um estresse emocional (DAYAS et al., 1999; McGAUGH et al., 1992). Isso foi observado quando lesões excitotóxicas na AMe de ratos suprimiram respostas do eixo HPA quando esses animais foram expostos a um efeito estressor (isolamento) bloqueando também, a neurosecreção de ocitocina nos núcleos supra-óptico e paraventricular. Os achados deste estudo demonstraram que a AMe é o primeiro local, dentro da amígdala, responsável pelo controle do HPA e pelas respostas secretórias ocitocinérgicas frente a um evento estressor emocional incondicionado (DAYAS et al., 1999).

Além do envolvimento em respostas ao estresse, em gatos e ratos está bem estabelecido o papel da AMe na regulação do comportamento agressivo e defensivo relacionado com informações sensoriais (BLOCK; GORSKI, 1988; DIELENBERG et al., 2001; KOOLHAAS et al., 1980; SIEGEL et al., 1986; SIEGEL; BRUTUS, 1990; SLODDART-APTER et al., 1980). Ratos submetidos à lesão eletrolítica bilateral na AMe foram colocados em uma caixa para disputa de território. Observou-se que os ratos lesa-

dos apresentaram diminuição do comportamento agressivo quando comparados aos controles (VOCHTELOO; KOOLHAAS, 1987). Em outros modelos experimentais, onde o comportamento defensivo é desencadeado pelo odor de um predador como, por exemplo, o cheiro de um gato quando colocado próximo ao rato, somente a AMePV pareceu estar envolvida (SHEEHAN et al., 2000). Porém, em testes aversivos onde o odor não foi o fator preponderante para produzir o comportamento defensivo, regiões do complexo amigdalóide que participam nas respostas de ansiedade, como a ACe, AMBI e a AMePD, encontraram-se ativadas (DIELENBERG et al., 2001).

Sabe-se que, em ratos, a AMe constitui o primeiro componente facilitatório do sistema límbico para a expressão do comportamento defensivo e o ataque predatório (SHAIKH et al., 1993). Esta função foi observada quando a AMe e o hipotálamo medial e lateral foram estimulados eletricamente e, como resultado, concluiu-se que a AMe apresentava uma importante aferência monossináptica excitatória ao hipotálamo medial, promovendo a expressão do comportamento agressivo. Está descrito que este comportamento, pelo menos em parte, é mediado via substância P, uma vez que esta substância está presente no hipotálamo medial de ratos e existem células imunorreativas à substância P na AMe (CUELLO; KANAZAVA, 1978; HARLAN et al., 1989; McLEAN et al., 1985; SWANN; NEWMAN, 1992).

Ademais, o controle do comportamento social e sexual também envolve a AMe e, acredita-se que isto ocorra possivelmente a partir de estímulos olfativos (KLING; BROTHERS, 1992; KONDO, 1992; KONDO; ARAI, 1995). Em ratos, aferências quimiossensoriais do bulbo olfativo, do órgão vomeronasal (DOMÍNGUEZ; HULL, 2001; KONDO, 1992; KONDO; ARAI, 1995; LEHMAN; WINANS, 1982; PFAUS; HEEB,

1997; WONG et al., 1993), do hipocampo (CANTERAS et al., 1995; McDONALD et al., 1999) projetam-se para a AMe. Esse subnúcleo por sua vez, processa tais informações olfativas e as envia para áreas motoras e neuroendócrinas do telencéfalo basal, para o tronco encefálico, bem como para a área pré-óptica medial e outros núcleos hipotalâmicos (CANTERAS et al., 1995; DOMINGUEZ; HULL, 2001; KONDO; ARAI, 1995; LEHMAN; WINANS, 1982; WOOD, 1997). Devido às aferências provenientes do órgão vomeronasal, via bulbo olfativo e acessório, a AMe pode ser essencial na modulação de comportamentos que requeiram ativação quimiossensorial, como o comportamento sexual (DOMINGUEZ et al., 2001; TAKAHASHI; GLADSTONE, 1988). Hamsters machos, que sofreram lesão na AMe, perderam o comportamento de acasalamento e diminuíram a investigação anogenital nas fêmeas (LEHMAN; WINANS, 1982; TAKAHASHI; GLADSTONE, 1988).

Existem descrições em que ratas submetidas à lesão na AMe, quando colocadas junto a ratos, mostraram redução da ocorrência de atividade pré-copulatória (exploração olfativa) e aumento na duração da cópula. Após a cópula, elas buscaram seus companheiros de acasalamento menos freqüentemente, quando comparadas às ratas submetidas à lesão fictícia. Tais ratas foram colocadas também junto a outras e apresentaram diminuição do comportamento ofensivo dentro do grupo, quando comparadas ao grupo controle (LEHMAN; WINANS, 1982). Detectou-se, assim, que lesões na AMe causam alterações significativas nos modelos de respostas sociais e sexuais de ratas, e sugeriu-se que a AMe poderia ser um componente neural do sistema inibitório de regulação do comportamento copulatório de ratas (TAKAHASHI; GLADSTONE, 1988; VOCHTELOO; KOOLHAAS, 1987).

Já em ratos, a AMe facilita as respostas aos estímulos sexuais. Lesões nesta área afetaram o comportamento sexual desses animais, produzindo diminui-

ção da frequência de ejaculações, aumento do número de intromissões precedendo a primeira ejaculação e aumento do intervalo entre as intromissões, quando comparados a animais não lesionados (KONDO, 1992). Estudos mais detalhados sugerem que os subnúcleos da AMe apresentam diferentes papéis na regulação do comportamento sexual masculino (DOMÍNGUEZ et al., 2001; NEWMAN, 1999). Isto foi observado quando ratos, com lesão na AMePD, reduziram o comportamento copulatório e perderam a ereção peniana desencadeada pelo odor da fêmea em estro (KONDO et al., 1999). Investigação anogenital, realizada por machos nas fêmeas, leva a um aumento da ativação da proteína c-fos na AMePD e na divisão medial da AMBI. A proteína c-fos também mostrou-se aumentada na AMePD de ratos após a ejaculação (COLLIN et al., 1997). Ratos com lesão da AMeAD diminuíram suas atividades copulatórias e de investigação olfativa, enquanto ratos com lesão da AMePD apresentaram decréscimo na investigação anogenital e um aumento na latência para ejaculação e intromissões precedendo a primeira ejaculação (DOMÍNGUEZ et al., 2001; NEWMAN, 1999).

Há descrições de que células pertencentes ao circuito que incluía a AMeAD e a porção intermediária do núcleo próprio da estria terminal (BNSTi), assim como a AMePDc com a porção pósteromedial do núcleo próprio da estria terminal (BNSTpm), apresentaram aumento na produção de proteína c-fos de forma diferenciada após comportamentos sociais. Ou seja, agrupamentos de células na AMePDc e BNSTpm exibem aumento da imunorreatividade à c-fos relacionada à investigação quimiossensorial ou ejaculações, enquanto neurônios da AMeAD e BNSTi mostraram generalizado e equivalente aumento na produção de proteína c-fos após acasalamento e encontro agressivo entre machos (NEWMAN, 1999).

Também no comportamento maternal foi observado o envolvimento da AMe, quando tal atividade era desencadeada por estímulos olfativos e sensoriais. O comportamento maternal depende de sinais olfativos que ativam a AMe durante a interação da mãe com os filhotes (FLEMING et al., 1994; NUMAN et al., 1993). Ratas com lesão na AMe reduzem o contato com os filhotes, enquanto a exposição ao filhote induz a ativação da proteína c-fos nesta região (KIRKPATRICK et al., 1994 a; 1994 b). Estimulação *kindling-like* na amígdala (um dos procedimentos que serve para gerar aumento de atividade neural e sináptica) promove agressão, rejeição aos filhotes, ansiedade e também inibe o comportamento maternal em ratas (ADAMEC, 1991; BAWDEN; RACINE, 1979). Existem descrições sobre a ocorrência de latências mais curtas para o início do comportamento maternal em ratas virgens com lesão na AMe, ou nas projeções olfativas para AMe, quando comparadas a ratas não lesionadas, comprovando a relação dessas estruturas neste tipo de comportamento (FLEMING et al., 1980).

Baseado no exposto acima, há indícios que a AMe de roedores, onde o sistema de transmissão vomeronasal é modulado por neurônios sensíveis a estrógenos e andrógenos, faz parte de um sistema integrado, que controla o comportamento maternal e sexual de machos e fêmeas, bem como algumas formas de agressão (Hines et al., 1992). De fato, subnúcleos da AMe podem apresentar um papel inibitório sobre o comportamento maternal em ratas. Isso envolve projeções da AMe para os núcleos hipotalâmicos anterior e ventromedial, de forma direta ou indireta, em um circuito neural que desencadeia a inibição pelo processamento de informações olfativas (SHEEHAN et al., 2001). A AMePD e regiões hipotalâmicas mediais são apontadas como as principais áreas inibitórias do comportamento maternal em experimentos usando a proteína c-fos para identificar regiões encefálicas mais ativa-

das pela exposição de ratas nulíparas a filhotes de outras ratas (SHEEHAN et al., 2000). Estudos subseqüentes, no entanto, apontam a AMePV e o hipotálamo anterior como as áreas preferentemente envolvidas nesta inibição (SHEEHAN et al., 2001).

1.2.4 Interação Morfofuncional da Amígdala Medial

A AMe, por ser uma área sexualmente dimórfica em ratos, vai apresentar diferenças neuroquímicas, morfológicas e nas conexões de suas células entre machos e fêmeas. Esse dimorfismo tem sido relacionado à ação de hormônios gonadais, já que a AMe apresenta neurônios com ampla quantidade de receptores para esteróides sexuais (HINES et al., 1992; PFAUS; HEEB, 1997; SIMERLY et al., 1990;). Isto é importante porque diferenças morfológicas nos neurônios, induzidas por hormônios gonadais, foram evidenciadas em algumas outras regiões do SNC, como por exemplo, no núcleo hipotalâmico ventromedial (VMN), que constitui uma importante estrutura na mediação do comportamento sexual de “lordose” e é dependente de hormônios em ratas (FRANKFURT et al., 1990; MURPHY; SEGAL, 1996; WONG et al., 1993). Neste núcleo foi observada uma diferença significativa na densidade de espinhos dendríticos nos neurônios de ratas ovariectomizadas. Esses animais apresentaram poucos espinhos em dendritos primários, quando comparadas às ratas ovariectomizadas tratadas com estrógeno, às ovariectomizadas tratadas com estrógeno e progesterona, e às intactas (McEWEN, 1990). Em ratas, a densidade de espinhos dendríticos de neurônios do VMN apresentou plasticidade notável ao longo do ciclo estral, sendo que na fase de diestro e pró-estro essa densidade foi significativamente menor (FRANKFURT et al., 1990).

Variações morfológicas mediadas por hormônios gonadais também foram verificadas nos neurônios da AMe, onde foi observado que o tamanho deste núcleo, o número de espinhos dendríticos e a quantidade de receptores nicotínicos para acetilcolina, é maior em ratos do que em ratas (ARIMATSU et al., 1981; HINES et al., 1992; NISHIZUKA; ARAI, 1981a; RASIA-FILHO et al., 1999). Ainda neste sentido, parece ser o neurópilo (dendritos, espinhos dendríticos, células da glia e conexões sinápticas) o local das mudanças morfológicas dos neurônios da AMe (RASIA-FILHO et al., 1999). Variações na quantidade de actina e tubulina neuronal (MATSU-MOTO, 1992) ou reorganização de microtúbulos são sugeridas como sendo a base das modificações apresentadas pelas células nervosas (WOOLF et al., 1991).

Historicamente, os dendritos têm uma função estrutural relacionada à seleção e estabelecimento de conexões sinápticas. Seu papel na integração de sinais elétricos passivos e ativos recebe cada vez maior atenção (SHEPHERD, 1999; WOOLF et al., 1991). Os dendritos apresentam formas e tamanhos variados, estão presentes em todas as espécies com SN e continuam a se desenvolver após o nascimento de acordo com o estabelecimento de circuitos neurais. A diversidade da excitabilidade dendrítica aumenta com a sua variação morfológica e distribuição de seus canais iônicos. Algumas destas alterações são rápidas, outras são a longo prazo, como por exemplo, as permanentes mudanças na função dendrítica mediada pelo crescimento e formação de espinhos (HÄUSSER et al., 2000).

Estes dados passam a ter especial relevância ao se entender que o neurônio pode desempenhar várias ações de acordo com suas conexões sinápticas, forma, propriedade da membrana e atividade elétrica (EVERITT, 1995; RASIA-FILHO et al., 1999; WOOLLEY; McEWEN, 1993). Alterações na estrutura e função do SN são parte das ações que os esteróides sexuais possuem para modulação da ativida-

de neural de ratos adultos (GOMEZ; NEWMAN, 1991; LUQUIN et al., 1993; MALSURY; McKAY, 1994; McEWEN et al., 1999). Essas mudanças são exemplificadas em trabalhos onde neurônios do hipocampo ou no VMN modificam-se pela retirada ou pela administração de hormônios gonadais em ratas adultas (FRANKFURT et al., 1990; WOOLLEY; McEWEN, 1993). Em níveis fisiológicos, a própria variação hormonal detectada durante o ciclo estral da rata é capaz de modificar a morfologia e a funcionalidade dos neurônios hipotalâmicos (FRANKFURT et al., 1990; GARCIA-SEGURA et al., 1989). Em hamsters, a castração resultou na diminuição da arborização dendrítica, da área do soma e do percentual de dendritos terciários além de reduzir a densidade de espinhos dendríticos e do comprimento de dendritos terminais, quando comparados a machos controle (GOMEZ; NEWMAN, 1991).

A arborização dendrítica desempenha um papel chave na integração de entradas e saídas sinápticas com a atividade intrínseca do neurônio. Ela promove um importante substrato para propriedades passivas ou ativas do neurônio para gerar uma ampla variedade de tipos de processamento de informações (SHEPHERD, 1999a; 1999b; SEGAL; ANDERSEN, 2000). O padrão de arborização dendrítica pode refletir a atividade sináptica da célula nervosa como, por exemplo, arborizações amplas significam uma maior superfície de contatos sinápticos para o neurônio; e dendritos de menor diâmetro podem representar maior resistência para propagação do impulso nervoso (ANDERSEN, 2000; HÄUSSER et al., 2000; SEGAL; KOCK; ZADOR, 1993; SHEPHERD, 1999a; 1999b).

Os dendritos podem apresentar protusões denominadas de espinhos que juntamente com ele influenciam a atividade celular. Os espinhos dendríticos são referidos como especializações pós-sinápticas (BRADLEY et al., 1999) e constituem uma unidade de entrada ou de saída de atividade sináptica (WOOLF et al., 1991).

São estruturas que desempenham papel essencial na transmissão sináptica rápida e em processos dependentes de atividades, tais como atividade potencializada a longo prazo (LTP) ou diminuída a longo prazo (LTD), que podem ser as bases do aprendizado e da memória (KOCH; ZADOR, 1993; SHEPHERD, 1996). Apresentam função importante na regulação de cálcio intracelular, que é lançado para os ramos dendríticos após a atividade sináptica em situações fisiológicas o que lhe confere propriedades neuroprotetoras (GOLD; BEAR, 1994; GUTHRIE et al., 1991; HARRIS; KATER, 1994; KOCH; ZADOR, 1993; KORKOTIAN; SEGAL, 1998; SEGAL, 1995a; 1995b; SHEPHERD, 1996). São considerados indicadores da atividade sináptica realizada por um neurônio, pois tem-se que um espinho usualmente representa uma sinapse (KANDEL; SIEGELBAUM, 2000; SHEPHERD, 1996; SHEPHERD, 1999a; 1999b). A distribuição, a densidade, a forma e o tamanho destes espinhos juntamente com o padrão de arborização dendrítica estão diretamente relacionados à função da célula nervosa (WOOLF et al., 1991). Assim, o estudo da morfologia neuronal e da densidade de espinhos dendríticos dos subnúcleos da AMe ajudará a elucidar a atividade neuronal local e a proporcionar o entendimento da magnitude das funções mediadas por tais sub-regiões.

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

Caracterizar a morfologia de neurônios de todos subnúcleos da AMe de ratas em diestro e verificar a densidade de espinhos dendríticos na AMeAD, AMePD e AMePV desses animais em diferentes fases do ciclo estral. Isto deve servir para confirmar os dados morfológicos previamente publicados na literatura, mas também deve, originalmente, indicar o caráter dinâmico existente na densidade de espinhos dendríticos nestas regiões.

2.2 Específicos

- Descrever a morfologia geral de neurônios da AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV de ratas em diestro;
- Determinar a densidade de espinhos nos primeiros 40 μm dendríticos, por ser medida fidedigna deste parâmetro, dos neurônios da AMeAD, AMePD e AMePV de ratas em diestro, pró-estro, estro e metaestro.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizadas ratas Wistar (N = 24) adultas (3 - 6 meses de vida), provenientes e mantidas no biotério do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS. Esses animais permaneceram em grupos (até 5 por caixa), com acesso livre à comida e à água. A temperatura foi mantida em torno de 20°C e o ciclo claro/escuro com 12 horas cada.

3.2 Procedimento Cirúrgico e Histológico

Foi realizado esfregaço vaginal para identificação da fase do ciclo estral das ratas em diestro, pró-estro, estro e metaestro. Cada uma destas fases distingue-se pela preponderância de tipos celulares característicos, que são: células queratinizadas no estro, leucócitos em diestro, células epiteliais em pró-estro ou a mescla dos três tipos celulares no metaestro (NELSON, 1995).

Após isto, 6 ratas em cada fase foram sacrificadas na tarde de seus respectivos ciclos. Essas fêmeas foram anestesiadas com Tiopental[®] (50 mg/Kg) por via intraperitoneal e submetidas à técnica de Golgi modificada, como descrito por

Gabbott e Smoguy (1984) e Woolley e McEwen (1993). Para a realização desta técnica, as ratas foram perfundidas por via transcardíaca com paraformaldeído a 4% e ácido pícrico a 1,5% diluídos em tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4). Após, os encéfalos foram retirados e fixados na mesma solução por 24 horas, sendo seccionados em vibratomo (Leica) em cortes coronais de 100 µm e 200 µm de espessura. Foi utilizado como referencial anatômico o atlas das coordenadas estereotáxicas do encéfalo do rato de Paxinos e Watson (1998). Os cortes foram imersos em dicromato de potássio a 3%, por 24 horas e resguardados da luz. A seguir, os cortes foram lavados em água destilada, colocados em lamínulas sobrepostas e mergulhados em nitrato de prata a 1,5% por no mínimo 48 horas, ao abrigo da luz. Novamente, os cortes foram lavados com água destilada e então montados em lâminas histológicas, desidratados em álcool, clareados em xilol e cobertos com bálsamo do Canadá e lamínulas.

3.3 Aquisição de Dados

3.3.1 Seleção dos Neurônios para Determinação de sua Morfologia Geral

Foram desenhados e fotografados neurônios da AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV de ratas em diestro. Os cortes histológicos foram estudados com o auxílio de microscópio óptico (NIKON OPTIPHOT-2, Japan) e a localização da AMe foi baseada nas descrições de Alheid et al. (1995) e de Paxinos e Watson (1998) (Fig. 3). Para a precisa localização da AMe secções, contendo este núcleo e suas subdivisões, foram projetadas em desenhos esquemáticos de cortes coronais do encéfalo do rato, que correspondiam às figuras 26 a 33 do atlas de Paxinos e Watson (1998).

A AMeAD encontrava-se entre as figuras 26 a 30 situadas entre 1,80 a 2,56 mm posterior à sutura bregmática; a AMeAV encontrava-se entre as figuras 27 e 29, 1,88 a 2,30 mm posterior à sutura bregmática; a AMePD e AMePV encontravam-se nas figuras 31 a 33, situadas a 2,80 e 3,30 mm posterior à sutura bregmática.

Os neurônios desenhados obedeceram aos seguintes critérios de aceitação: localizavam-se no interior dos subnúcleos AMeAD, AMeAV, AMePD, AMePV; encontravam-se afastados dos limites dos subnúcleos aos quais pertenciam; estavam bem impregnados pela prata e relativamente isolados dos demais neurônios. Seguindo-se à seleção, os neurônios foram desenhados manualmente, com o auxílio de câmara clara acoplada a fotomicroscópio em aumento de 450 X.

Ainda, para obtenção de uma medida aproximada do tamanho do corpo neuronal utilizou-se ocular micrométrica Zeiss e procedeu-se à mensuração do diâmetro de 70 neurônios por subnúcleo da AMe.

3.3.2 Desenho dos Espinhos Dendríticos

No desenho dos espinhos dendríticos, a AMe foi primeiramente localizada. Para isto, foram utilizadas as descrições de Alheid et al. (1995) e o atlas de Paxinos e Watson (1998) (Fig. 3), conforme procedimento anterior. Os cortes histológicos foram estudados com auxílio de microscópio óptico (Nikon Optiphot - 2, Japan). As secções contendo tal núcleo e suas divisões também foram projetadas em desenhos esquemáticos de cortes coronais do encéfalo do rato.

Os neurônios destes cortes, que obedeceram aos seguintes critérios de aceitação, foram então desenhados: encontravam-se inequivocamente nos subnú-

cleos AMeAD, AMePD e AMePV, tinham seus corpos celulares afastados dos bordos destes subnúcleos, apresentavam seus dendritos e espinhos dendríticos bem impregnados pela prata, os dendritos diminuía de tamanho à medida que se afastavam do soma e estavam relativamente isolados das células vizinhas. Os neurônios da AMeAV não foram avaliados por este subnúcleo ser de tamanho muito pequeno, o que resulta em dificuldades técnicas para adequado estudo dos espinhos dendríticos. Ademais, pela técnica de Golgi, poucos neurônios foram adequadamente impregnados, restringindo o número de células que se enquadravam nos critérios de aceitação para este tipo de estudo.

Uma vez realizada a seleção, os primeiros 40 μm dendríticos e seus respectivos espinhos foram desenhados manualmente, com auxílio de câmara clara acoplada a fotomicroscópio em aumento de 1250X.

Para estudo da densidade de espinhos dendríticos foram selecionados os primeiros 40 μm dendríticos porque eles se mostraram representativos da densidade ao longo de todo comprimento dendrítico, como observado em estudo-piloto (RASIA-FILHO et al., 1999).

3.4 Análise Estatística

Os dados obtidos na contagem da densidade de espinhos dendríticos nos subnúcleos da AMe, de acordo com as fases do ciclo estral, foram submetidos ao teste da análise de variância (ANOVA) de uma via. Após, foi aplicado o teste *post-hoc* de Newman-Keuls para identificação do subnúcleo ou da fase do ciclo estral, onde se encontravam as variações estatisticamente significativas. O índice de significância para este estudo foi estabelecido como $p \leq 0,05$.

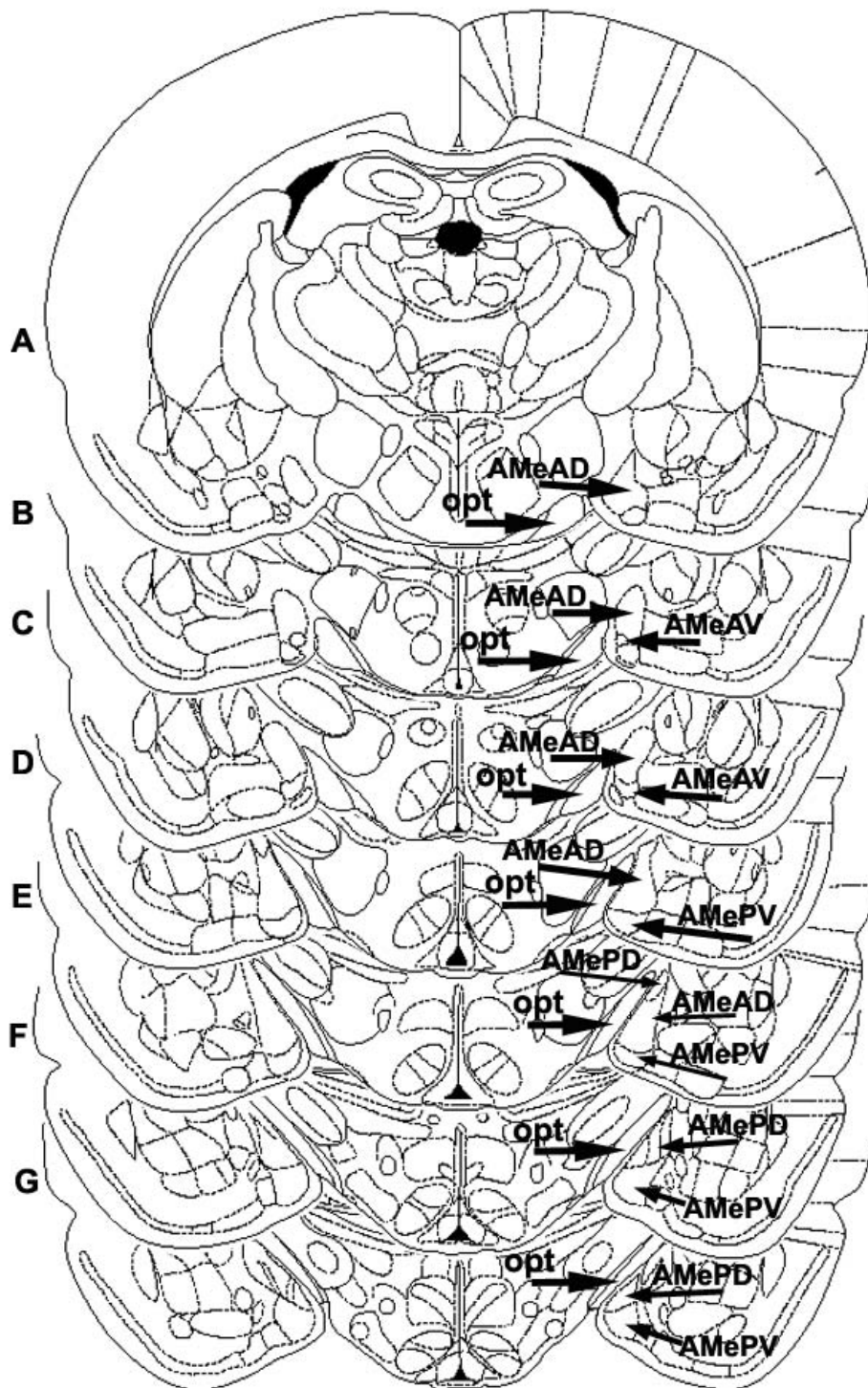


Fig. 3 – Cortes coronais do encéfalo do rato que serviram de referência na identificação dos subnúcleos AMeAD, AMeAV, AMePD, AMePV para o desenho e fotomicrografias dos neurônios da Ame. Adaptado de PAXINOS e WATSON (1998), equivale às figuras 26 a 33 deste Atlas.

4 RESULTADOS

4.1 Morfologia dos Neurônios da Amígdala Medial de Ratas em Diestro

Na AMe observam-se neurônios multipolares do tipo *bitufted*, estrelados, com características piramidais, ou ainda neurônios com corpos celulares arredondados, alongados, ovais ou piriformes. Os dendritos são de comprimento variado, de pobre arborização e semelhante orientação. Distinguem-se neurônios com ou sem espinhos em uma mesma região. Esse padrão morfológico se repete em cada um dos subnúcleos estudados, ou seja, na fase de diestro, os neurônios parecem ter uma morfologia bastante similar (Fig. 12 A, B, C e D).

Na tentativa de deixar mais clara a descrição dos neurônios das sub-regiões da AMe eles serão divididos, quanto à forma do soma e número de dendritos, em quatro grupos: grupo I – células *bitufted*; grupo II – células estreladas; grupo III – células com características piramidais; grupo IV – células com corpos celulares alongados, arredondados, ovais ou piriformes.

As células do grupo I - *bitufted*, apresentam somas ovais, fusiformes, arredondados ou alongados (Fig. 6 A; 7 A e B; 10 A e B; 12 A, B e D). Originam dois ramos dendríticos primários de diferentes comprimentos em cada extremo do corpo celular,

donde advém sua nomenclatura, que se dirigem ventralmente e dorsalmente no interior do subnúcleo a que pertencem. Tais dendritos, quando curtos, quase sempre se ramificavam próximo ao soma em dois dendritos secundários longos, sendo que muitos deles mantêm a mesma orientação do dendrito de origem (Fig. 7 A, e B; 10 A e B; 12 A, B e D). É comum encontrar os dendritos ventrais, tanto os primários como os secundários, descendo obliquamente em direção ao T.O. ou descendo paralelamente ao T.O. em direção à superfície pial (Fig. 6 A; 7 A e B; 10 A e B; 12 D). Houve, no entanto, dendritos secundários e terciários dispostos difusamente nos subnúcleos estudados.

As células do grupo II - neurônios estrelados, possuem soma de forma estrelada (Fig. 4 B; 6 A), também descrito como multiangular. Elas apresentam 3 a 4 dendritos primários, raramente mais do que isso. Os dendritos primários, da mesma forma que as células *bitufted*, são de diferentes comprimentos. Eles se dispõem radialmente no interior dos subnúcleos (Fig. 5 C; 6 A; 7 C; 9 A; 12 A, B e C), porém pelo menos dois deles seguem ventralmente e, nesse trajeto, colocam-se obliquamente ao T.O. e se dirigem para o mesmo, ou posicionam-se paralelamente ao T.O. e se dirigem para a superfície pial. Esse padrão celular é similar ao encontrado nas células *bitufted* (Fig. 5 C; 6 A; 7 C; 9 A; 11A). Por fim, alguns dos dendritos primários ou secundários seguem de forma perpendicular para o T.O. (Fig. 9 A; 11 A).

As células do grupo III - neurônios com características piramidais, foram encontrados em maior quantidade na AMeAD, AMePD e AMePV. Essas células apresentavam corpo triangular e três dendritos primários, dois basais e um apical que podiam, todos os três, ser longos ou curtos (Fig. 4 A; 5 B; 8 B; 12 A). Via-se que os dendritos basais estavam voltados ventralmente ou dorsalmente no interior dos subnúcleos. O dendrito primário basal medial, geralmente, seguia para o T.O., bem

como o secundário. Já o dendrito primário apical ou dirigia-se perpendicularmente à superfície pial ou perpendicularmente à região dorsal do subnúcleo (Fig. 4 A; 5 B; 8 B; 12 A).

As células do grupo IV - correspondem aos neurônios que apresentam corpos celulares alongados (Fig. 8 C; 11 B e C), arredondados (Fig. 5 A; 9 C; 12 C), ovais (Fig. 9 B; 12 A e C) ou piriformes (Fig. 4 B; 8 B; 10 B). Essas células possuem 3 a 4 dendritos primários e as mesmas características quanto à arborização e orientação dendrítica das células estreladas, diferindo destas somente na forma do corpo celular ou seja, pelo menos dois dos dendritos dispõem-se obliquamente ou perpendicularmente ao T.O. seguindo para o mesmo ou dirigindo-se à superfície pial e nesse trajeto posicionando-se paralelamente ao T. O. (Fig. 8 B e C; 10 B; 11 B e C; 12 A e C).

Como características comuns aos quatro grupos celulares observam-se: neurônios de tamanho pequeno ou médio; dendritos de sinuosidade variada em um mesmo neurônio sendo que alguns deles eram quase retilíneos e outros tortuosos (Fig. 5 C; 6 A; 7 B e C; 9 A; 10 A); quando os neurônios apresentavam espinhos, estes eram homoganeamente distribuídos ao longo da árvore dendrítica (Fig. 13 A, B, C e D) e em menor quantidade no corpo celular. Estes espinhos possuíam formas variadas e eram aparentemente maiores no soma e nos dendritos primários. Os axônios encontravam-se pouco visíveis e, quando acontecia de terem sua porção proximal impregnada, seu segmento inicial emergia do soma neural. Poucas vezes, porém, foram observados axônios surgindo de uma célula.

Achado peculiar a AMePD é o de encontrar mais próximo do seu bordo medial, justaposto ao T.O., menos corpos celulares, porém, nesse mesmo local, visualiza-se mais prolongamentos neuronais (Fig. 8 A).

As figuras 4 a 11 mostram os neurônios de cada um dos subnúcleos da AMe de ratas estudadas na fase de diestro. Nestas ilustrações é possível verificar as características descritas acima. A figura 12 serve para comparar as células das quatro subregiões da AMe e observar que os tipos celulares encontrados se repetem nos subnúcleos estudados. Cabe ressaltar, novamente, que a principal diferença morfológica está na forma do corpo celular e no número de dendritos primários.

Na tabela abaixo são comparados os diferentes tipos celulares encontrados nos quatro subnúcleos da AMe.

Tabela 1 - Na primeira coluna encontram-se as variáveis: tamanho neuronal, forma do soma, orientação dendrítica, número de dendritos primários, número de dendritos secundários por dendrito primário, presença de espinhos em dendritos ou no soma e localização. Na primeira linha encontra-se a organização neuronal por grupo: grupo I – células *bitufted*, grupo II – células estreladas, grupo III – células com características piramidais, grupo IV – células com corpos celulares alongados, arredondados, ovais ou piriformes.

	GRUPO I	GRUPO II	GRUPO III	GRUPO IV
Tamanho Neuronal	pequeno ou médio	pequeno ou médio	pequeno ou médio	pequeno ou médio
Forma do Soma	fusiformes, ovais, arredondados, alongados	estrelado ou multian-gular	triangular	alongado, arredon-dado, oval, piriforme
Orientação Dendrítica	perpendicular, paralelo ou oblíquo ao trato optico	perpendicular, para-lelo ou oblíquo ao tra-to óptico	perpendicular, para-lelo ou oblíquo ao trato óptico	perpendicular, para-lelo ou oblíquo ao trato óptico
Nº Dendritos Primá-rios	2	3-4	3	3-4
Nº Dendritos Se-cundários por Den-drito Primário	2	2	2	2
Espinhas em Den-dritos e no Soma	com ou sem	com ou sem	com ou sem	com ou sem
Localização – Sub-núcleos	AMeAD AMeAV AMePD AMePV	AMeAD AMeAV AMePD AMePV	AMeAD AMeAV AMePD AMePV	AMeAD AMeAV AmePD AMePV

4.2 Densidade de Espinhos Dendríticos dos Neurônios da Amígdala Medial

Os resultados mostraram que, em diestro, a densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) na AMeAD foi de $1,25 \pm 0,06$; na AMePD foi de $2,15 \pm 0,09$; e, na AMePV foi de $1,56 \pm 0,09$ (Fig. 17). Em pró-estro a densidade de espinhos na AMeAD foi de $1,05 \pm 0,03$; na AMePD foi de $1,40 \pm 0,07$; e, na AMePV foi de $1,35 \pm 0,05$ (Fig. 18). Em estro a densidade de espinhos na AMeAD foi de $1,16 \pm 0,04$; na AMePD foi de $1,31 \pm 0,05$; e, na AMePV foi de $1,27 \pm 0,04$ (Fig. 19). E, em metaestro, a densidade de espinhos na AMeAD foi $1,27 \pm 0,05$; na AMePV foi de $1,22 \pm 0,03$; na AMePD foi de $1,27 \pm 0,05$ (Fig. 20).

A análise estatística mostrou que há diferença na densidade de espinhos dendríticos de acordo com a fase do ciclo estral na AMeAD [F (3,188) = 3,76, $p = 0,01$], na AMePD [F (3,188) = 34,66, $p < 0,001$] e na AMePV [F (3,188) = 6,68, $p < 0,001$]. Na AMeAD, os valores na fase de diestro foram maiores do que em pró-estro (teste de Newman-Keuls, $p < 0,05$) mas idênticos às outras fases (teste de Newman-Keuls, $p < 0,05$; Fig. 21). Na AMePD o valor na fase de diestro foi maior que em outras fases (teste de Newman-Keuls, $p < 0,001$; Fig. 22), o mesmo ocorrendo para a AMePV (teste de Newman-Keuls, $p < 0,02$; Fig.13 A, B, C e D; Fig. 23).

Além disso, estudando-se a densidade de espinhos dendríticos por sub-região da AMe ao longo das fases do ciclo estral, observou-se que há diferença entre os subnúcleos em diestro [F (2,141) = 28,34, $p < 0,001$; Fig. 17], em pró-estro [F (2,141) = 11,02; $p < 0,001$; Fig. 18], mas não em estro [F (2,141) = 2,33; $p = 0,10$;

Fig.19] ou em metaestro [$F(2,141) = 0,41$; $p = 0,66$; Fig.20; 15 A, B, C e D]. No primeiro caso, em diestro, a sub-região AMePD apresentou maiores densidades de espinhos que a AMeAD e a AMePV (teste de Newman-Keuls, $p < 0,02$; Fig.14 A, B, C e D; 16 A., B e C; 22); e, em pró-estro, a AMePD também apresentou maior densidade de espinhos que a AMeAD e AMePV (teste de Newman-Keuls, $p < 0,001$; Fig. 18).

Fig. 4 - Fotomicrografia de neurônios da AMeAD de ratas na fase de diestro. A - soma de um neurônio com características piramidais (seta preta) com dendritos primários (setas brancas curtas) de diferentes comprimentos. Dois desses dendritos primários também originam dois dendritos secundários (setas brancas finas apotam para dendrito basal esquerdo e dendrito apical) onde pode-se verificar que estes são mais longos com relação aos dendritos primários de origem, são de diferente sinuosidade e se orientam em diferentes direções. B – soma de um neurônio estrelado (seta preta superior). Observa-se na mesma fotomicrografia célula com corpo piriforme (seta preta) com quatro dendritos primários (dois deles estão apontados com setas brancas). Onde novamente verifica-se a variação de comprimento dos dendritos primários e sua ramificação em dois dendritos secundários (dendrito primário ventral). Observa-se que o dendrito primário ventral segue em direção à superfície pial. C - corte coronal do encéfalo do rato, corresponde à figura 26 do atlas de Paxinos e Watson (1998), identificando a AMeAD, subnúcleo ao qual pertencem os neurônios descritos em A e B. opt-trato óptico, ic- cápsula interna. Barra = 20 μ m. Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D – dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 5 - Desenhos de neurônios da AMeAD de ratas na fase de diestro. A - neurônio com corpo celular arredondado. Nele é possível observar a variação do comprimento dos dendritos primários e suas diferentes sinuosidade e orientações. Nessa célula, observa-se que o dendrito primário ventral dirige-se obliquamente para o trato óptico e divide-se em dois dendritos secundários de comprimento maior com relação ao dendrito primário de origem. Um desses dendritos secundários dirige-se perpendicularmente ao trato óptico, enquanto o outro dirige-se à superfície pial, paralelamente ao trato óptico. B – neurônio com característica piramidal, nele verifica-se novamente a existência de dendritos primários de comprimento variado e esses quando arborizam originam dois dendritos secundários. Os dendritos ventrais se dirigem à superfície pial, paralelamente ou obliquamente ao trato óptico. C – neurônio estrelado, com três dendritos primários de comprimento variado. Os dois dendritos primários mais longos (mediais) se dirigem obliquamente ao trato óptico. Pode-se observar nas três células: A, B e C que os dendritos primários quando curtos se dividem em dois dendritos secundários e que, pelo menos um desses dendritos dirige-se ao trato óptico obliquamente ou perpendicularmente. Barra = 20 μm . Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 6 - Fotomicrografia de neurônios da AMeAV de ratas em diestro. A – célula estrelada (ponta de seta) com quatro dendritos primários (um deles apontado pela seta branca) de comprimentos variados sendo que três deles arborizam-se em dois dendritos secundários longos (setas cinzas) em relação ao dendrito de origem. Verifica-se que tanto os dendritos primários quanto os secundários na célula estrelada se dispõem radialmente no interior da AMeAV. Observa-se célula *bitufted* com corpo celular oval (seta preta) que origina dendritos primários em cada um de seus extremos (setas brancas) e alguns ramos dendríticos cruzando sob ela. B – corte coronal do encéfalo do rato correspondendo à figura 29 do atlas de Paxinos e Watson (1998), no qual pode-se localizar a AMeAV, subnúcleo ao qual pertencem as células descritas em A. opt- trato óptico, ic- cápsula interna. Barra = 20 μ m. Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 7 - Desenho de neurônios da AMeAV de ratas em diestro. A e B - são células *bitufted* com corpos celulares fusiformes. Evidencia-se dendritos primários curtos dividindo-se em dois dendritos secundários de maior comprimento quando comparados aos primários de origem. Vê-se que predomina a orientação paralela ao trato óptico tanto dos dendritos primários como dos secundários. C - célula estrelada na qual visualiza-se dendritos primários longos e curtos; quando curtos, estes originam dois dendritos secundários que orientam-se radialmente no interior do subnúcleo. Barra = 20 μm . Cruz - serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L - lateral.

Fig. 8 - Fotomicrografia de neurônios da AMePD de ratas em diestro. A – a área retangular destacada revela a disposição dos neurônios deste subnúcleo, onde pode-se observar maior quantidade de prolongamentos celulares próximos ao trato óptico (opt) e corpos celulares mais concentrados na região central e lateral da AMePD. Nota-se também as distintas morfologias desses neurônios. B – soma de um neurônio piriforme (seta preta), soma de uma célula com características piramidais (ponta de seta) e dendritos primários basais que se dirigem para a borda medial do subnúcleo, ou seja, para o trato óptico (setas brancas). C – soma de um neurônio com corpo celular alongado (seta preta) que apresenta três dendritos primários, destes, dois deles são curtos e originam dois dendritos secundários de diferentes comprimentos e direções (setas brancas). D – corte coronal do encéfalo do rato que corresponde à figura 32 do atlas de Paxinos e Watson (1998) que identifica AMePD, subnúcleo ao qual pertencem os neurônios descritos em A, B e C. Barra = 20 μ m. Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 9 - Desenho dos neurônios da AMePD de ratas em diestro. A - célula estrelada com dois dendritos primários curtos e um longo. Os dendritos primários curtos arborizam em dois dendritos secundários longos com relação ao primário de origem. Vê-se que os dendritos apresentam orientação radial. B – célula com soma oval, também com três dendritos primários de diferentes comprimentos, na qual pode-se observar que um dos dois dendritos primários dirige-se ventralmente e obliquamente ao trato óptico e também que apenas um dos dendritos primários divide-se em dois dendritos secundários próximo ao soma. C – célula com corpo arredondado que origina três dendritos primários curtos que se dividem cada qual em dois dendritos secundários de comprimento e sinuosidade variada. A arborização oriunda da região ventral do corpo celular dirige-se obliquamente ao trato óptico ou perpendicularmente à superfície pial. Barra = 20 μm . Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 10 - Fotomicrografia de neurônios da AMePV de ratas em diestro. A – célula *bitufted* com soma oval (seta preta) originando dendrito primário curto que divide-se em dois dendritos secundários (seta branca). Os dendritos primários deste neurônio encontram-se paralelos ao trato óptico. B – célula com soma piriforme (ponta de seta), célula *bitufted* (seta cinza) originando dendritos primários de diferentes comprimentos, sendo que um deles origina dendritos terciários (setas brancas) que seguem obliquamente para o trato óptico. C – corte coronal da AMe do encéfalo do rato, corresponde à figura 31 do atlas de Paxinos e Watson (1998) localizando a AMePV, subnúcleo onde os neurônios descritos em A e B são encontrados. Barra: A = 10 μm ; B = 20 μm . Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 11 - Desenho de neurônios da AMePV de ratas em diestro. A - célula estrelada, B e C - células com corpos celulares alongados. Observa-se nos três tipos celulares três a quatro dendritos primários de comprimentos variados. Os dendritos primários, quando se dividem, originam dois dendritos secundários a diferentes distâncias do soma. Vê-se nas três células que parte dos seus dendritos se dirigem obliquamente (A, B e C) ou perpendicularmente ao trato óptico (A). Barra = 10 μ m. Cruz - serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L - lateral.

Fig. 12 - Fotomicrografias onde é possível comparar os neurônios dos quatro subnúcleos da AMe. A – AMeAD: neurônio com características piramidais (seta preta curta), células *bitufted* (setas pretas longas), neurônio com corpo oval (ponta de seta), célula piriforme (seta branca). B – célula estrelada (ponta de seta): dendritos primários curtos (setas brancas pequenas) que originam dois dendritos secundários dispostos radialmente (setas brancas com pontas largas); neurônios *bitufted* (seta preta curta inferior): célula com corpo alongado originando três dendritos primários (seta preta curta superior). C - pode-se identificar neurônios com corpo arredondado (seta preta fina) e seus dendritos primários de diferentes comprimentos (setas brancas curtas), neurônios com corpos ovais (ponta de seta) com três a quatro dendritos primários (seta branca longa). D – célula *bitufted* com corpo oval (seta preta fina) e seus dois dendritos primários diferentes no comprimento e na espessura, bem como na orientação (setas brancas finas). Observa-se que do dendrito primário localizado dorso-lateralmente originam-se dois dendritos primários que seguem direções diferentes (seta branca grossa). Barras = 20 μ m. Cruz – serve para mostrar a orientação dos neurônios no subnúcleo. D - dorsal, V - ventral, M - medial, L – lateral.

Fig. 13 - Fotomicrografias onde pode-se verificar os espinhos dendríticos de neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMePD e AMePV de ratas na fase de diestro, fase na qual foi observada a maior densidade de espinhos dendríticos. A e C - espinhos dendríticos (setas brancas) de neurônios da AMeAD. B - espinhos dendríticos (setas brancas) de neurônios da AMePV. D - espinhos dendríticos (setas brancas) de neurônios da AMePD. A, B e C: Barra = 20 μm ; D: Barra = 10 μm .

Fig. 14 - Fotomicrografias de neurônios da AMePD de ratas em diestro. A – espinhos em dendritos primários de neurônio com corpo oval (seta branca e preta). B e D – espinhos dendríticos (setas pretas) em diferentes aumentos. C – espinhos em dendrito primário (seta preta) de neurônio com corpo arredondado. Barra = 10 μ m.

Fig. 15 - Desenhos dos espinhos dos primeiros 40 μ m dendríticos de neurônios da AMePD de ratas. A – neurônio da AMePD de rata em diestro. B – neurônio da AMePD de rata em estro. C – neurônio da AMePD de rata em pró-estro. D – neurônio da AMePD de rata em metaestro. S = soma. Barra = 11,44 μ m.

Fig.16 - Desenhos dos espinhos dos primeiros 40 μ m dendríticos de neurônios da AMe de ratas em diestro. A – espinhos dendríticos de neurônio da AMeAD. B – espinhos dendríticos de neurônio da AMePD. C – espinhos dendríticos de neurônio da AMePV. Barra = 11,01 μ m.

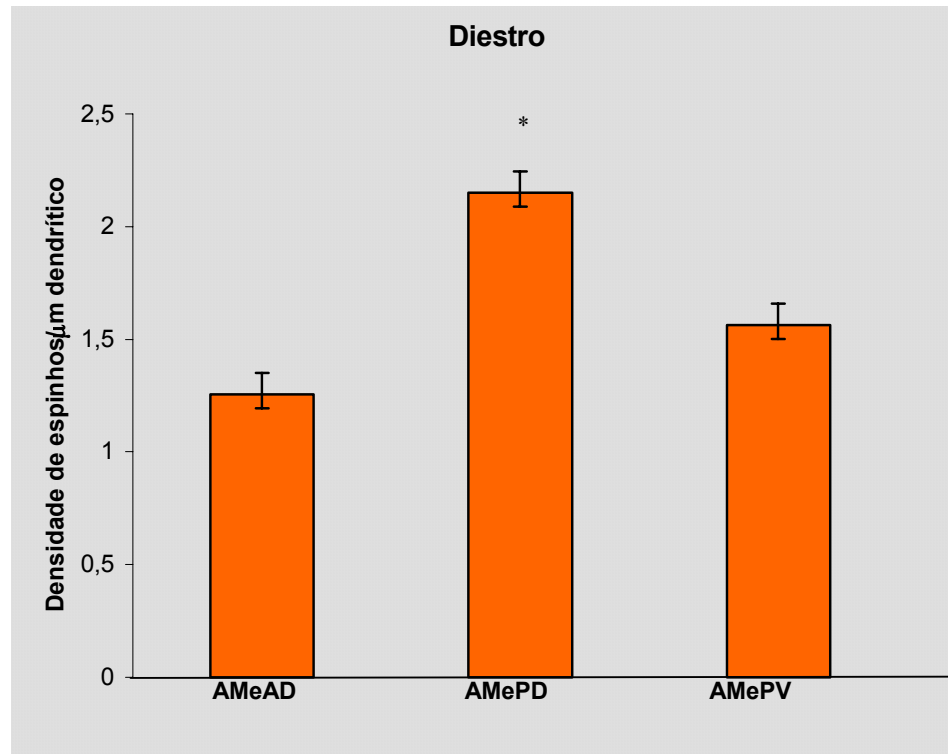


Fig. 17 - Densidade de espinhos dendríticos (média ± erro padrão da média) estudadas nas três sub-regiões da amígdala medial durante a fase de diestro. * = $p < 0,05$ quando comparada aos valores da AMeAD e AMePV.

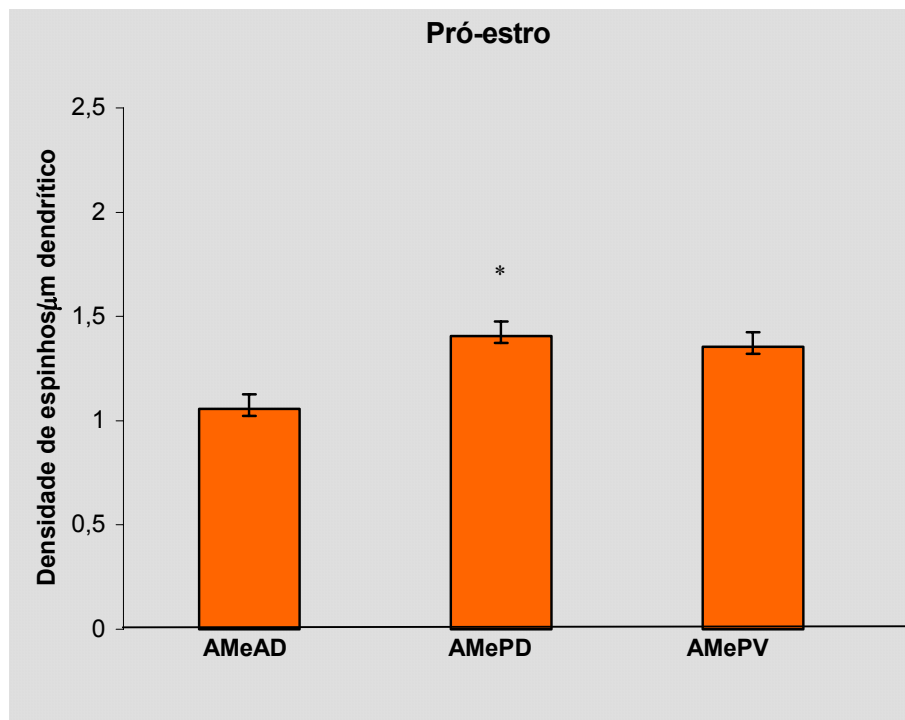


Fig. 18 - Densidade de espinhos dendríticos (média ± erro padrão da média) estudadas nas três sub-regiões da amígdala medial durante a fase de pró-estro. * = $p < 0,05$ quando comparados aos demais valores.

da AMeAD e AMePV.

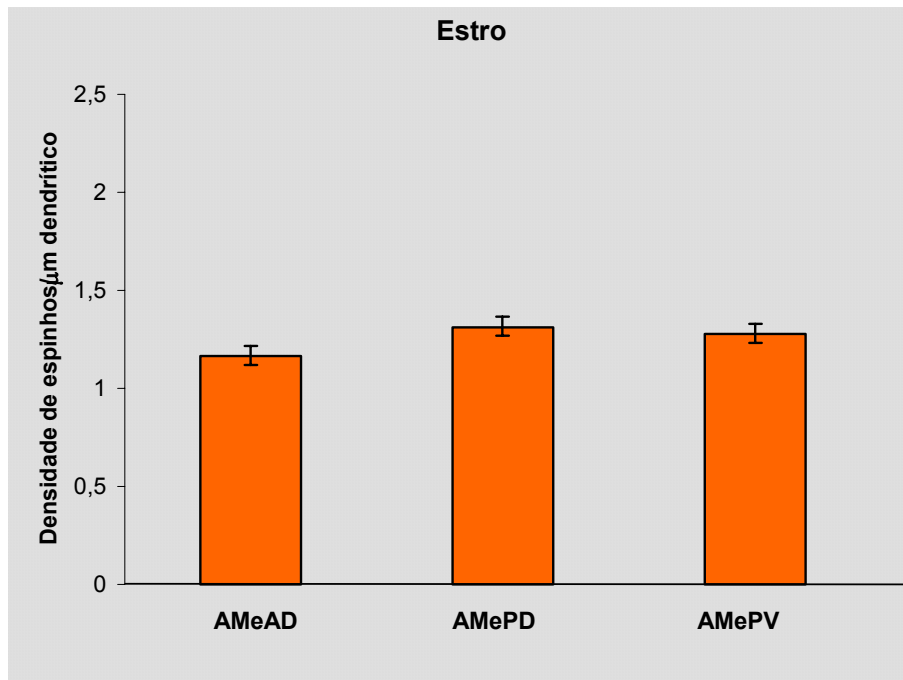


Fig. 19 - Densidade de espinhos dendríticos (média \pm erro padrão da média) estudadas nas três sub-regiões da amígdala medial durante a fase de estro. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as sub-regiões.

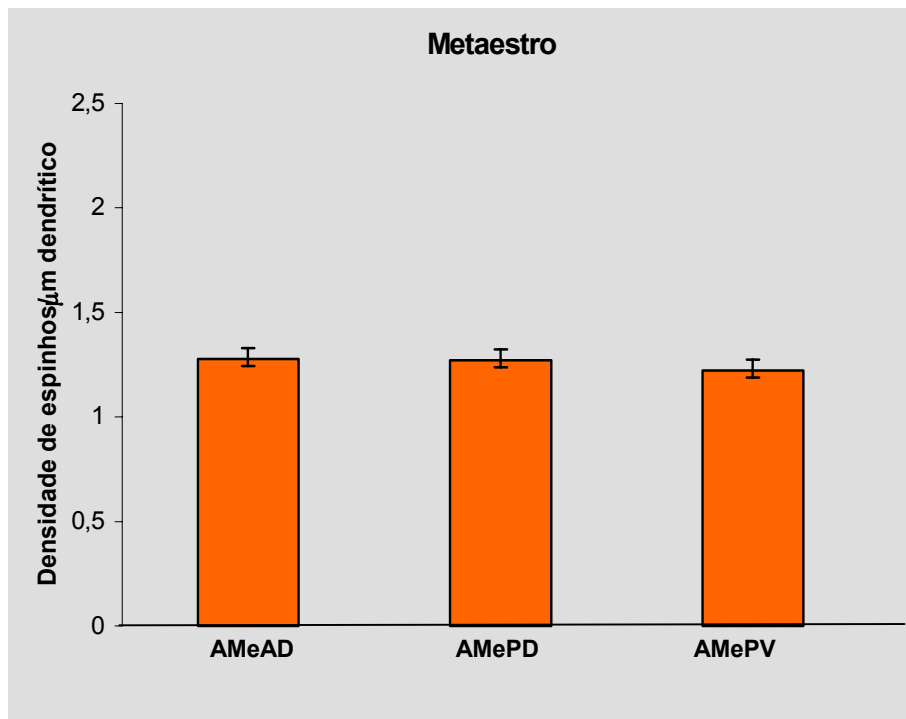


Fig. 20 - Densidade de espinhos dendríticos (média \pm erro padrão da média) estudadas nas três sub-regiões da amígdala medial durante a fase de metaestro. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as três sub-regiões.

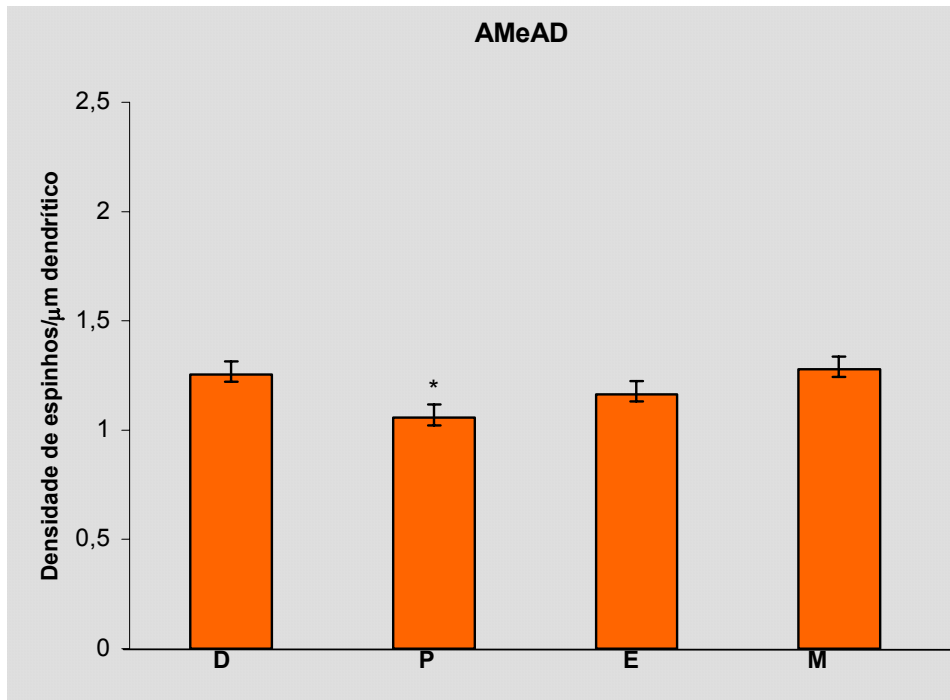


Fig. 21 - Densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) por micrômetro dendrítico na região ântero-dorsal da amígdala medial de ratas estudadas em diestro (D), pró-estro (P), estro (E) e metaestro (M). * = $p < 0,05$ quando comparados aos valores de diestro.

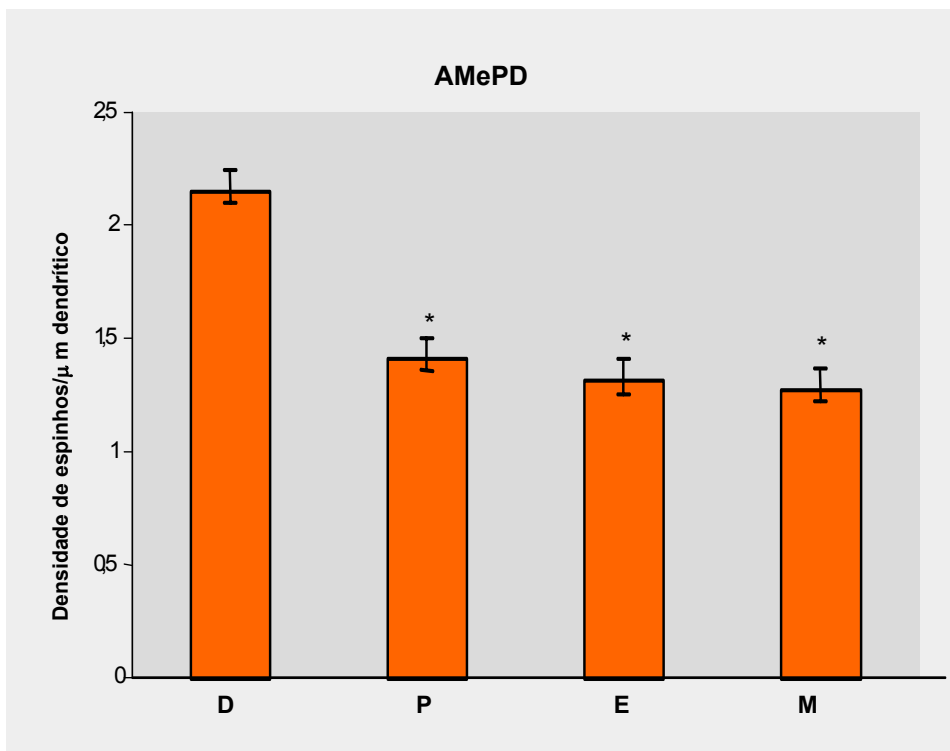


Fig. 22 - Densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) por micrômetro dendrítico na região póstero-dorsal da amígdala medial de ratos estudados em diestro (D), pró-estro (P), estro (E) e metaestro (M).

* = $p < 0,05$ quando comparados aos valores de diestro.

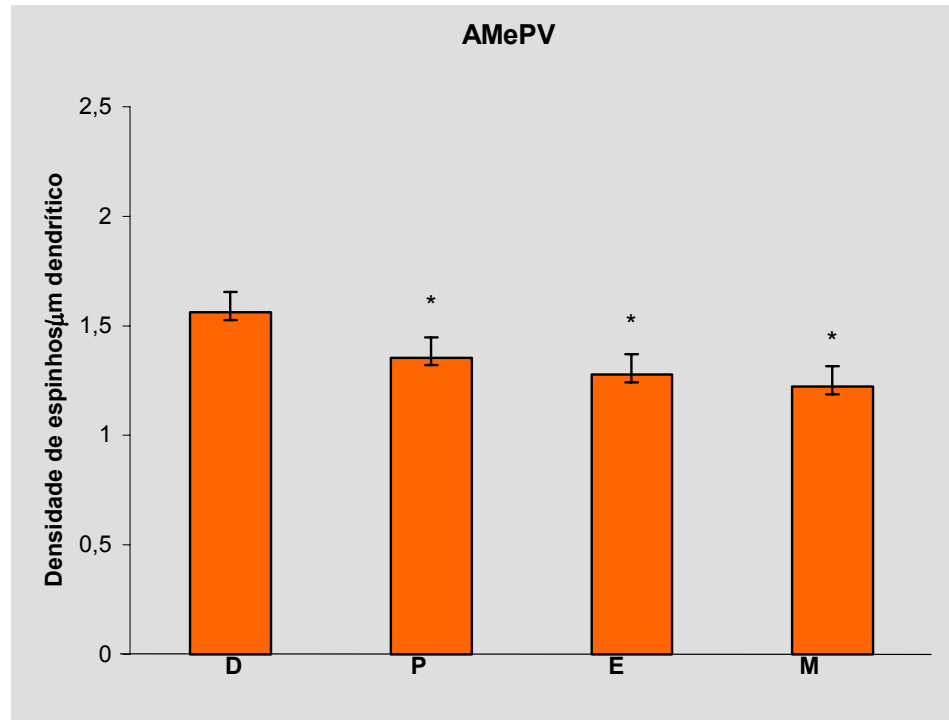


Fig. 23 - Densidade de espinhos (média \pm erro padrão da média) por micrômetro dendrítico na região póstero ventral da amígdala medial de ratos estudados em diestro (D), pró-estro (P), estro (E) e metaestro (M).
* = $p < 0,05$ quando comparados aos demais valores de diestro.

5 DISCUSSÃO

5.1 Morfologia dos Neurônios dos Subnúcleos da Amígdala Medial de Ratas em Diestro

Os neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV na fase de diestro são multipolares do tipo *bitufted*, estrelados, ou com corpos celulares ovais, arredondados, piriformes, alongados, fusiformes e ainda com características que lembram células piramidais. Os tipos celulares encontrados estão de acordo com as descrições prévias sobre a morfologia dos neurônios da AMe (GOMEZ; NEWMAN, 1991; JONES; COWAN, 1983; KAMAL; TÖMBÖL, 1975; McDONALD, 1992), com exceção das células com soma piriforme das quais não se tem referência como constituintes da AMe. Os neurônios na AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV, são de tamanho pequeno e médio de acordo com referências anteriores (ALHEID et al., 1995; KAMAL; TÖMBÖL, 1975). Neurônios do tipo *bitufted*, erroneamente descritos como neurônios bipolares (McDONALD, 1992), têm corpo celular arredondado, oval ou fusiforme, dados que conferem com os obtidos por Alheid et al.,(1995) e McDonald et al. (1992). Os dendritos primários desses neurônios, na sua maioria, encontram-se paralelos ao T.O. e arborizam em dois dendritos secundários que podem ser longos ou curtos. Quando eles são curtos arborizam em longos dendritos terciários. Essa arborização coincide com as

descritas por Alheid et al., 1995, Kamal e Tömböl (1975) e McDonald (1992), uma vez que esses autores já sugeriam que os dendritos primários dos neurônios da AMe arborizavam-se em poucos dendritos secundários e terciários, mas que estes se estendiam a longas distâncias dentro da AMe. O dendrito primário de um extremo celular segue em direção ventral ficando perpendicular à superfície pial; o outro dendrito primário dirige-se dorsalmente no interior do subnúcleo apresentando disposição semelhante à encontrada por Milhouse e de Olmos (1981) e McDonald (1992).

Neurônios estrelados, com características piramidais, com corpos celulares arredondados, alongados, ovais ou piriformes, podem estar orientados de forma semelhante às células *bitufted* ou, ainda, podem estar dispostos radialmente no interior do seu respectivo subnúcleo, como já referido por McDonald (1992). As células estreladas, bem como as células com corpos celulares arredondados, alongados, ovais ou piriformes na AMe arborizam-se em três ou quatro dendritos primários de comprimento variado, sendo que cada um deles, usualmente, ramifica-se em dois dendritos secundários. Quando estes últimos não se arborizam próximos ao soma eles são longos, alcançando os subnúcleos vizinhos ou, ainda, regiões mais distantes. As células com características piramidais apresentam os dendritos basais ou o dendrito apical voltados ventralmente e estes seguem obliquamente para o T.O. ou colocam-se paralelamente ao T.O. dirigindo-se à superfície pial. Os dendritos dessas células também apresentam diferentes comprimentos, mas os dendritos secundários e terciários tendem a ser mais longos com relação aos dendritos primários, o que está de acordo com Gomez e Newman (1991) e McDonald (1992). É característica dos dendritos dos neurônios da AMe serem sinuosos ou retilíneos. Há células com ou sem espinhos nos quatro subnúcleos. Os espinhos quando presentes podem ser

vistos no corpo celular ou distribuídos uniformemente ao longo da árvore dendrítica, porém, não em grande quantidade como já registrado por Kamal e Tömböl (1975) e Narkiewikz et al. (1978). Verifica-se que os espinhos de dendritos grossos costumam ser grandes, já os espinhos de dendritos de menor diâmetro são pequenos, porém mais numerosos, como já descrito por Milhouse e de Olmos (1981). Consta na literatura que os axônios, quando é possível identificá-los, são longos e dirigem-se para o T.O. (KAMAL; TÖMBÖL, 1975) no entanto, os axônios não foram evidenciados neste estudo. A presença de neurônios mutipolares com corpos celulares de morfologia variada constitui padrão celular dos quatro subnúcleos estudados. Tem-se então, que todos subnúcleos da AMe são constituídos por neurônios multipolares do tipo *bitufted*, estrelados, com características piramidais, com corpos celulares alongados, arredondados, ovais ou piriformes confirmando dados anteriores de que os neurônios da AMe apresentam características morfológicas variadas (ALHEID et al., 1995; GRAY; BINGAMAN, 1996; GOMEZ; NEWMAN, 1991; RASIA-FILHO et al., 2000).

As diferenças morfológicas dos neurônios da AMe de ratas em diestro, identificadas no presente trabalho foram, especialmente, quanto à forma do corpo celular, quanto ao número de dendritos e quanto à existência ou não de espinhos no corpo celular e nos ramos dendríticos. Não foram encontradas referências que relacionassem a morfologia do soma e a fisiologia celular, e suposições com relação a esse aspecto morfológico são difíceis de serem feitas. Quanto ao número de dendritos, pode-se pensar que células que apresentam arborizações mais fartas proporcionam maior superfície de contato sináptico. Todos os tipos celulares encontrados na AMe porém, apresentavam pobre arborização dendrítica e muitos deles não possuíam espinhos o que poderia sugerir inicialmente baixa probabilidade

sináptica na AMe na fase de diestro. Esse mesmo estudo, no entanto, aponta que em diestro a densidade de espinhos dendríticos na AMeAD, AMePD e AMePV é maior. Ou seja, mesmo que alguns neurônios não apresentem espinhos, a densidade deles, quando ocorrem, é maior na fase de diestro. Isso sugere que em diestro, comparada com as demais fases, a atividade sináptica nesses quatro subnúcleos poderia estar aumentada, já que um espinho geralmente promove uma sinapse (KANDEL; SIEGELBAUM, 2000; SHEPHERD, 1996; SHEPHERD, 1999a; 1999b).

A AMe apresenta importantes conexões recíprocas intramigdalóides, com áreas corticais, com a estria terminal, *ansa peduncularis*, áreas septais, núcleo próprio da estria terminal, hipotálamo (área pré-óptica, hipotálamo anterior, área tuberal e mamilar) bulbo olfativo acessório, núcleos talâmicos, além de projeções para o tronco encefálico (CANTERAS et al., 1995; PITKÄNEN, 2000). No presente estudo entretanto, os axônios não foram bem impregnados pela prata impossibilitando estabelecer as aferências e eferências de cada tipo neuronal estudado. Estudos da morfologia dos neurônios por subnúcleo da AMe nas demais fases do ciclo estral bem como estudos hodológicos fazem-se necessários para que se possa ampliar discussão sobre o tema.

5.2 Densidade de Espinhos Dendríticos

Na análise quantitativa da densidade de espinhos dendríticos, verificou-se que os neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMePD e AMePV apresentam variações na densidade de seus espinhos ao longo do ciclo estral. Mudanças na densidade de espinhos dendríticos de neurônios de diferentes regiões do SNC durante o ci-

clo estral já foram previamente descritas (MURPHY; SEGAL, 1996; NISHIZUKA; ARAI, 1981a; NISHIZUKA; ARAI, 1982; SEGAL; ANDERSEN, 2000; WOOLEY et al., 1990), com grandes variações já observadas em um período de 24 horas (SEGAL; ANDERSEN, 2000). Os esteróides sexuais agem no genoma da célula, para promover alterações na expressão gênica e na síntese proteica (MURDACH; GORSKI, 1991; TORAN-ALLERAND, 1984). Para que isto aconteça, esses hormônios ligam-se a receptores preferentemente encontrados no núcleo da célula. Lá, estabelecem contato com o sítio de reconhecimento, ocorrendo aumento da duplicação do DNA, o que culmina em aumento da síntese da proteína correspondente (McEWEN, 1990; MURDACH; GORSKI, 1991; MURPHY; SEGAL, 1996; TORAN-ALLERAND, 1984). Os esteróides sexuais também podem gerar efeitos não gênicos ao alterar o potencial de membrana neuronal e o metabolismo de TQ. Quando esses efeitos ocorrem dentro de segundos a poucos minutos após a administração do esteróide, elas são ditas ações não gênicas, enquanto efeitos que demoram vários minutos ou dias, consideram-se ações gênicas (McEWEN et al., 1999). Pesquisas apontam para uma via indireta de ação de hormônios gonadais sobre a morfologia celular (CALIZO; FLANAGAN-CATO, 2000; SEGAL; ANDERSEN, 2000). Esses estudos se referem a ação de hormônios esteróides sobre células do VMN e indicam que a densidade de espinhos seja regulada por entradas aferentes moduladas por estrógenos sobre dendritos específicos. Esta sugestão resultou da observação de que alterações morfológicas ocorreram com a variação de esteróides gonadais em células que não apresentavam receptores para hormônios esteróides (CALIZO; FLANAGAN-CATO, 2000).

A influência de hormônios gonadais, como o estradiol, na densidade de espinhos dendríticos de células piramidais, pode ser modificada pela alteração dos

níveis de esteróides ovarianos (GOULD et al., 1990; WOOLLEY; McEWEN, 1993; WOOLLEY et al., 1997). Estradiol induziu o aumento da densidade de espinhos sobre dendritos apicais e basais destas células e o aumento da densidade de espinhos apresentou-se associado ao aumento de sinapses axo-espinhosas indicando que novos espinhos formam novos contatos sinápticos (WOOLLEY; McEWEN, 1993). Estradiol promoveu mudanças nos espinhos dendríticos e na densidade sináptica e conseqüente alterações na fisiologia do hipocampo, o que sugere que o aumento do número de espinhos dendríticos e da densidade sináptica resulta em aumento da excitabilidade do neurônio (WOOLLEY et al., 1990), e o limiar de disparo da célula diminui a ocorrência de LTP, principalmente quando o nível de estradiol é elevado (WOOLLEY et al., 1997).

Sabe-se que cerca de 40% das vesículas sinápticas dos neurônios da AMe de gatos são do tipo achatadas. As vesículas dos neurônios da AMe são densamente distribuídas, algumas são ovais, outras são esféricas. Botões com vesículas achatadas estabelecem contatos usualmente simétricos, alguns deles com o pericário, mas predominantemente sobre a haste dendrítica e sobre finos ramos dendríticos. Os contatos sinápticos com os espinhos dendríticos ocorrem em menor quantidade, pois há poucos espinhos nos dendritos dos neurônios da AMe. Botões sinápticos com vesículas achatadas foram observados fazendo contato simétrico, sendo que em alguns locais na AMe, botões contendo este tipo de vesícula foram vistos fazendo conexões com mais de um espinho. Já botões com vesículas esféricas, que usualmente se ligam à base do espinho, formam contatos sinápticos assimétricos (NARKIEWICZ et al., 1978). Vesículas achatadas poderiam estar relacionadas a sinapses inibitórias e vesículas esféricas a sinapses excitatórias, servindo de indicativo da atividade sináptica local (SHEPHERD, 1999).

O mecanismo pelo qual estradiol promove a formação de novos espinhos não é totalmente claro. Estradiol induziu a formação de espinhos sobre células piramidais do hipocampo *in vitro*, onde neurônios mantidos por vários dias em cultura tiveram aumentada em 20 vezes a densidade de espinhos quando comparados ao controle (WOOLLEY et al., 1997). Nos estudos sobre a variação na densidade de espinhos dendríticos durante o ciclo estral de ratas nos neurônios do hipocampo foi observado que a alta densidade de espinhos coincide com os altos níveis de estrógenos (WOOLLEY et al., 1990; WOOLLEY; McEWEN, 1993) e a administração de estradiol em ratas ovariectomizadas causou considerável elevação na densidade de espinhos nos neurônios desta mesma região (SILVA et al., 2000). Variação na densidade de espinhos desencadeada por hormônios esteróides também foram observadas no VMN (FRANKFURT et al., 1990; MURPHY; SEGAL, 1996). Estudos em que ratos foram expostos a α e β estradiol e progesterona tiveram como resultados a presença de modificações morfológicas nos neurônios do VMN. Essas alterações se deram exclusivamente na densidade de espinhos de neurônios expostos a β estradiol e isto ocorreu logo nas primeiras 48 horas após administração de estradiol, seguidas de outro pico de 4 dias após esta administração (MURPHY; SEGAL, 1996). Outro experimento sobre a variação da densidade de espinhos dendríticos de neurônios do VMN durante o ciclo estral de ratas mostrou que nessa região a densidade de espinhos apresenta-se significativamente mais baixa em diestro quando comparada ao pró-estro (FRANKFURT et al., 1990).

No presente estudo, verificou-se que há aumento na densidade de espinhos dendríticos nos neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMePD e AMePV na fase de diestro. Estes dados coincidem aos encontrados no hipocampo, onde houve maior densidade de espinhos quando os estrógenos encontravam-se mais elevados

(WOOLLEY et al., 1990), mas diferem dos dados obtidos no VMN, onde os espinhos se encontravam em maior densidade em pró-estro (FRANKFURT et al., 1990), quando tanto estrógenos quanto progesterona estavam com seus níveis mais elevados (NELSON, 1995). Vê-se que hormônios gonadais agem de formas distintas de acordo com a região do SNC como já descrito por WOOLLEY e McEWEN (1993), EVERITT (1995) e WOOLLEY et al. (1997).

Espinhos dendríticos apresentam-se em maior densidade na AMePD. Talvez isto se deva por este subnúcleo apresentar maior densidade de receptores para estrógenos com relação aos demais subnúcleos da AMe (SIMERLY et al., 1990) e, novamente devemos lembrar que em diestro as concentrações deste hormônio encontram-se em elevação (NELSON, 1995).

Já foi estabelecido que os estrógenos, quando administrados nos primeiros dias após o nascimento, promovem a formação específica de sinapses na haste dendrítica na AMe de ratos. Tratamento com estrógenos nos primeiros 20 – 30 dias de vida pós-parto aumentou a sinaptogênese na AMe, embora não tenha ocorrido diferença significativa no número de sinapses entre as ratas estrogenizadas e o controle nos primeiros 11 dias após o nascimento. A estrogenização não influenciou a formação de sinapses sobre os espinhos dendríticos ou sobre o soma. A alta incidência deste tipo de sinapse persiste na vida adulta do animal e serve de evidência da plasticidade sináptica no desenvolvimento da AMe gerada pela ação de estrógenos (NISHIZUKA; ARAI 1981a; NISHIZUKA; ARAI, 1982).

A densidade de espinhos dendríticos aumentada dos neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMePV e de forma mais acentuada na AMePD, na fase de diestro, sugerem que, possivelmente, estes mudem dinamicamente sua atividade ao longo de poucos dias, dado que os espinhos dendríticos são considerados alvos sinápti-

cos, representando papel pré-sináptico e pós-sináptico tanto em sinapses excitatórias quanto inibitórias (GAMBLE; KOCH, 1987; HARRIS; KATER, 1994; SHEPHERD, 1999a; 1999b), aumentando a área total de superfície de contato dendrítico (KOCH; ZADOR, 1993; WOOLF et al., 1991) e, conseqüentemente, a capacitância da membrana (JASLOVE, 1992; SHEPHERD, 1996). Entende-se que maior densidade destas estruturas equivale a maior número de sinapses, já que o número de espinhos pode ser um forte indicador da densidade sináptica sobre um neurônio alvo (SEGAL; ANDERSEN, 2000).

Os espinhos dendríticos equivalem a uma unidade individual de entrada e saída do neurônio (GAMBLE; KOCK, 1987; HARRIS; KATER, 1994; SHEPHERD, 1999a; 1999b; WOOLF et al., 1991) e têm papel importante na mediação de sinapses de maior duração e na modificação passiva do potencial sináptico, uma vez que atenuam o mesmo, mantêm a corrente constante, amplificam o potencial pós-sináptico excitatório e produzem impedância no dendrito de origem (HARRIS; KATER, 1994; JASLOVE, 1992; JONTES; SMITH, 2000; KOCK; ZADOR, 1993; SHEPHERD, 1996; VOLFOVSKY et al., 1999). Dadas estas propriedades dos espinhos dendríticos, supõe-se que o número de sinapses vai estar aumentado nos subnúcleos AMeAD, AMePV e AMePD na fase de diestro e que as sinapses ocorridas nos espinhos dendríticos apresentam características distintas das ocorridas nas demais regiões do neurônio (tronco dendrítico, soma, axônios). E, ainda pode-se pensar que a AMePD, por apresentar maior quantidade de espinhos do que as demais regiões da AMe, possa também apresentar maior densidade sináptica com relação aos demais subnúcleos. Espinhos dendríticos estão relacionados ao processamento temporal de informações (COLLIN et al., 1997; JONTES; SMITH, 2000; KOCH; ZADOR, 1993; TROMALD; HULLENBERG, 1997) e a existência de maior quantidade deles pode

indicar um maior processamento de informações na AMeAD, AMePV e, especialmente na AMePD, na fase de diestro.

A AMe recebe aferências olfativas provenientes do bulbo olfativo e do bulbo olfativo acessório e, a seguir, projeta para o núcleo ventromedial do hipotálamo (CANTERAS et al, 1995; PITKÄNEN, 2000), área que, junto com a AMe, está envolvida na modulação do comportamento reprodutivo e que também alteram sua morfologia de acordo com as variações hormonais (FRANKFURT et al., 1990; KALIMULINA, 1989). A presença de maior densidade de espinhos dendríticos na fase de diestro pode significar maiores entradas de estímulos sensoriais na amígdala, uma vez que maior densidade de espinhos implicam em aumento do campo receptivo sináptico (KOCK; ZADOR, 1993; WOOLF et al., 1991) e em maior número de disparos sinápticos (HARRIS; KATER, 1994; TROMMALD; HULLENBERG, 1997). Conexões intrínsecas intramigdalóides, ou seja, entre seus núcleos e sub-núcleos (PITKÄNEN, 2000), podem estar aumentadas e reforçando a modulação feita pela AMe dos comportamentos desencadeados por estímulos olfativos, tais como o maternal, o agressivo e o reprodutivo.

Os espinhos também apresentam isolamento bioquímico durante as sinapses, realizam síntese local de proteínas, por apresentarem ribossomos em suas bases (KOCK; ZADOR, 1993; SEGAL; ANDERSEN, 2000; SHEPHERD, 1996) e, supostamente, apresentam papel neuroprotetor, pois graduam os índices neurotóxicos de cálcio no interior do neurônio (GAMBLE; KOCK, 1997; KORKOTIAN; SEGAL, 1998; MURPHY; SEGAL, 1996b; SEGAL, 1995; SHEPHERD, 1996; TROMMALD; HULLENBERG, 1997). Poder-se-ia supor com isto que, na fase de diestro, os sub-núcleos estudados da AMe estão providos em maior intensidade de todas estas fun-

ções, embora a razão fisiológica disto ainda não esteja clara, como acontece para o hipocampo (WOOLLEY et al., 1990; WOOLLEY; McEWEN, 1993).

Não somente a densidade de espinhos implica nas alterações funcionais mediadas por eles, mas também sua morfologia (TROMMALD; HULLENBERG, 1997). O espinho apresenta bulbo ou cabeça e pescoço (SEGAL; ANDERSEN, 2000) e modificações destes dois elementos podem influenciar diretamente na sinapse desencadeada neste espinho, como por exemplo, variações do diâmetro do pescoço modulam a corrente sináptica (WOOLF et al., 1991) e variações no comprimento do pescoço produzem variações na impedância de vários espinhos (TROMMALD; HULLENBERG, 1997). Espinhos curtos são mais estreitamente unidos e refletem mais intensamente mudanças na concentração de Ca^{2+} do dendrito de origem, enquanto espinhos com pescoço longo regulam sua concentração de Ca^{2+} independentemente de seu dendrito de origem (SEGAL; ANDERSEN, 2000). A resistência de entrada no ramo dendrítico aumenta com a distância do soma, e a resistência do pescoço dos espinhos também deve aumentar com a distância do corpo celular (HARRIS; STEVENS, 1989; HARRIS; KATER, 1994; WOOLF et al., 1991). A descrição precisa da morfologia dos espinhos somente pode ser feita com estudos de microscopia eletrônica e, portanto, não se sabe o quanto estes parâmetros poderiam influenciar na atividade da AMeAD, AMePV e AMePD, embora não seja desconsiderada sua importância.

No presente estudo foi analisada a densidade de espinhos dendríticos nos 40 primeiros micrômetros dendríticos. Esta maior densidade de espinhos próximos ao soma se reflete na funcionalidade dos espinhos, uma vez que espinhos proximais requerem mudanças maiores de condutâncias para moderadas despolarizações, as quais aumentam lentamente à medida que se propagam para espinhos vizinhos. Os

espinhos proximais não respondem ao aumento da condutância do dendrito de origem até que grandes mudanças sejam aplicadas, apresentam menor resistência de entrada no ramo dendrítico e ainda, a resistência do pescoço do espinho dendrítico proximal é menor, quando comparada à dos espinhos distais (WOOLF et al., 1991).

Os dados apresentados mostram que há plasticidade neuronal na AMe, relacionada à densidade dos espinhos dendríticos, determinadas pelas variações das concentrações de hormônios gonadais como acontece no hipocampo (MURPHY; SEGAL, 1996; SINGH et al., 1994; WOOLLEY et al., 1990) e no VMN (FRANKFURT et al., 1990; GOULD et al., 1990). Estes resultados vão ao encontro da literatura, que descreve os espinhos dendríticos como unidades de plasticidade sináptica por apresentarem papel modulador da propagação sináptica dentro do dendrito; por estarem envolvidos na memória (região de LTP/LTD) (LYNCH et al., 1983; MALENKA et al., 1988); por apresentarem mudanças mecânicas rápidas (JONTES; SMITH, 2000; SHEPHERD, 1996; TROMMALD; HULLENBERG, 1997); por representarem disparos sinápticos associados à amplificação local destes impulsos e seguida de condução pseudosaltatória; e por aumentar a distância intersináptica (TROMMALD; HULLENBERG, 1997).

Parece ser o neuropilo o principal local da plasticidade gerada por hormônios gonadais na AMe (BELTRAMINO; TALEINSNIK, 1978; RASIA-FILHO et al., 1999). Neste estudo, nossos resultados reforçam esta sugestão, uma vez que ocorreu variação do número de espinhos dendríticos e estes são elementos do neuropilo do SNC. Na avaliação dos resultados, também é importante ressaltar que a técnica histológica utilizada (Golgi) é uma técnica aleatória que impregna de 1-10% dos neurônios de uma determinada região, e ela não diferencia neurônios com ou sem re-

ceptores para hormônios esteróides (GABBOTT; SOMOGUY, 1984; JACOB; SCHEIBEL, 1993; WOOLLEY; McEWEN, 1993). Portanto, não se pode afirmar que as alterações encontradas são exclusivas da ação de hormônios gonadais e que elas ocorram em todos os neurônios dos subnúcleos estudados. Como os resultados não parecem ser heterogêneos é possível que eles representem dados de uma mesma população neuronal.

Ademais, as conseqüências funcionais destas alterações morfológicas precisam ser avaliadas por testes eletrofisiológicos e comportamentais como os realizados no estudo de Bradley et al. (1999). Tais autores verificaram a influência funcional de hormônios esteróides através de testes comportamentais. Para isto, ratas adultas ovariectomizadas foram submetidas a testes de aprendizado no *water-maze*, apresentando deficiência de aprendizado, resultado revertido quando administrado estradiol. Poder-se-ia supor que as funções mediadas pela AMe possam mudar ao longo de poucos dias, uma vez que seu elemento de conectividade sináptica (espinho) sofre alterações quantitativas durante o ciclo estral. Os presentes resultados apontam, portanto, para novas investigações onde se busque relacionar morfologia e função neuronais relacionadas com cada subnúcleo da AMe de ratas.

6 CONCLUSÃO

Os neurônios dos subnúcleos AMeAD, AMeAV, AMePD e AMePV são multipolares do tipo *bitufted*, estrelados, ou ainda com corpos celulares arredondados, fusiformes, piriformes, alongados, ovais e com características piramidais. O padrão de arborização e orientação dendrítica, forma e tamanho do soma neuronal e distribuição dos espinhos dendríticos varia entre os neurônios de um mesmo subnúcleo da AMe de ratas adultas na fase de diestro, e esta variação mantém-se nas quatro sub-regiões estudadas.

Há alterações na densidade de espinhos dendríticos na AMeAD, AMePD e AMePV nas diferentes fases do ciclo estral, sendo que ocorre maior densidade de espinhos dendríticos em todos subnúcleos estudados, na fase de diestro. Esta alteração ocorre de forma mais pronunciada na AMePD nesta mesma fase. Os resultados obtidos sugerem a plasticidade induzida por esteróides sexuais na morfologia e fisiologia da AMe.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMEC, R.E. The effects of corticotrophin releasing factor (CRF) and handling stress on behavior in the elevated plus-maze test of anxiety. **J. Psychopharmacol.**, v. 5, p. 175-186, 1991.

AGGLETON, J.P.; BLINDT, M.S. Effects of Amygdaloid and Amygdaloid-Hipocampal Lesions on Object Recognition and Spatial Working Memory in Rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 103, n. 5, p. 962-974, 1989.

ALHEID, G.F.; HEIMER, L. New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: the striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. **Neuroscience**, v. 27, n. 1, p. 1-39, 1988.

ALHEID, G.F.; DE OLMOS, J.S.; BELTRAMINO, C.A. Amygdala and extended amygdala. In: PAXINOS, G. **The Rat Nervous System**. San Diego, Academic Press. p. 495-598, 1995.

ALLEN, J.P.; ALLEN, C.F. Role of the amygdaloid complexes in the stress-induced release of ACTH in the rat. **Neuroendocrinology**, v. 15, n. 3-4, p. 220-230, 1974.

AMARAL, D.G. Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. In: J.P. AGGLETON. **The Amygdala: Neurobiological Aspects of Emotion, Memory and Mental Dysfunction**, Wiley-Liss, New York., p. 1-66, 1992.

ARAI, Y.; MATSUMOTO, A. Synapse formation of the hypothalamic arcuate nucleus during post-natal development in the female rat and its modification by neonatal estrogen treatment. **Psychoneuroendocrinology**, v. 3, n. 1, p. 31-45, 1978.

ARIMATSU, Y.; SETO, A.; AMANO, T. Sexual dimorphism in α -bungarotoxin binding capacity in the mouse amygdala. **Brain Res.**, v. 213, n. 2, p. 432-437, 1981.

ARMONY, J.L.; SERUAN-SCHREIBER, D.; COHEN, J.D.; LeDOUX, J.E. An Anatomically constrained neural network model of fear conditioning. **Behav. Neurosci.**, v. 109, n. 2, p. 246-257, 1995.

ARNOLD, A.P.; BREEDLOVE, S.M. Organizational and activational effects of sex steroids on brain and behavior: **A reanalysis. Horm. Behav.**, v. 19, n. 4, p. 469-498, 1985.

ARNOLD, A.P.; JORDAN, A.P. Hormonal organization of neural circuits. In: "Frontiers in Neuroendocrinology". Vol. 10, **Raven Press**, NY, 1988.

ASMUS, S.E.; KINCAID, A.E.; NEWMAN, S.W. A species-specific population of tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the medial amygdaloid nucleus of the Syrian hamster. **Brain Research**, v. 575, n. 2, p. 199-207, 1992.

BAWDEN, H.; RACINE, R. Effects of Bilateral Kindling or Subthreshold Stimulation of the Amygdala or Septum on Muricide, Ranacide, Intraspecific Aggression and Passive Avoidance in the Rat. **Physiol. Behav.**, v. 22, p. 115-123, 1979.

BAYER, S.A. Quantitative 3H-thymidine radiographic analyses of neurogenesis in the rat amygdala. **J. Comp. Neurol.**, v. 194, n. 4, p. 845-875, 1980.

BELTRAMINO, C.; TALEISNIK, S. Facilitatory and inhibitory effects of electrochemical stimulation of the amygdala on the release of luteinizing hormone. **Brain Research**, v. 144, n. 1, p. 95-107, 1978.

BLOCH, G.J.; GORSKI, R.A. Estrogen/Progesterone treatment in adulthood affects the size of several components of the medial preoptic area in the male rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 275, n. 4, p. 613-622, 1988.

BLOCK, C.H.; SIEGEL, A.; EDINGER, H. Effects of amygdaloid stimulation upon trigeminal sensory fields of the lip that are established during hypothalamically-elicited quiet biting attack in the cat. **Brain Res.**, v. 197, n. 1, p. 39-55, 1980.

BOHUS, B.; de KLOET, E.R. Adrenal steroids and extinction behavior: Antagonism by progesterone, deoxycorticosterone and dexamethasone of a specific effect of corticosterone. **Life Sci.**, v. 28, n. 4, p. 433-440, 1981.

BOLHUIS, J.R. The corticomедial amygdala and learning in an agonistic situation in the rat. **Physiol. Behav.**, v. 32, p. 575-579, 1984.

BRADLEY, M.C.; YABIBNIA, G.; BREEDLOVE, S.M. A brain sexual dimorphism controlled by adult circulating androgens. **Neurobiology**, v. 96, p. 7538-7540, 1999.

CALIZO, L.H.; FLAGANAN-CATO, L.M. Estrogen selectively regulates spine density within the dendritic arbor of rat ventromedial hypothalamic neurons. **J Neurosci.**, v. 20, n. 4, p. 1589-1596, 2000.

CANTERAS, N.S.; SIMERLY, R.B.; SWANSON, L.W. Organization of projections from the medial nucleus of the amygdala: A PHAL study in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 360, p. 213-245, 1995.

COLLIN, C.; MIYAGUCHI, K.; SEGAL, M. Dendritic spine density and LTP induction in cultured hippocampal slices. **J. Neurophysiol.**, v. 77, n. 3, p. 1614-1623, 1997.

CROSBY, E.C.; HUMPHREY, J.; LAVET, E.W. In: **Correlative Anatomy of the Nervous Systems**. Ed. The Macmillan Company N.Y., p. 388-393, 1962.

CUELLO, A.C.; KANAZAWA, I. The distribution of substance P immunoreactive fibers in the rat central nervous system. **J. Comp. Neurol.**, v. 178, n. 1, p. 129-156, 1978.

DAVIS, M. The role of the amygdala in conditioned fear. In: AGGLETON, J.P. **The Amygdala**. New York, Wiley-Liss., p. 255-306, 2000.

DAYAS, C.V.; BULLER, K.M.; DAY, T.A. Neuroendocrine responses to an emotional stressor: Evidence for involvement of the medial but not the central amygdala. **European Journal of Neuroscience**, v. 11, p. 2312-2322, 1999.

de KLOET, E.R.; de KOCK, S.; SCHILD, V.; VELDHUIS, H.D. Antigluocorticoid RU38486 attenuates retention of a behavior and disinhibits the hypothalamic-pituitary-adrenal axis at different sites. **Neuroendocrinology**, v. 47, n. 2, p. 109-115, 1988.

de KLOET, E.R. Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control. **Frontiers in Neuroendocrinology**, v. 12, p. 95-164, 1991.

de OLMOS, J.; ALHEID, G.F.; BELTRAMINO, C.A. Amygdala. In: PAXINOS, G. (Ed.). **The Rat Nervous System**, Australia., p. 223-234, 1985.

de OLMOS, J.S.; HEIMER, R.L. The concepts of the ventral striatopallidal system and extended amygdala. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 877, p. 1-32, 1999.

DIELENBERG, R.A.; HUNT, G.R.; MCGREGOR, L.S. When a Rat Smells a Cat: The distribution of FOS immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. **Neuroscience**, v. 104, n. 4, p. 1085-1097, 2001.

DOMINGUEZ J.M.; RIOLO, J.V.; XU, Z.; HULL, E.M. Regulation by the medial amygdala of copulation and medial preoptic dopamine release. **J. Neurosci.**, v. 21, p. 349-355, 2001.

DOMINGUEZ, J.M.; HULL, E.M. Stimulation of the medial amygdala enhances medial preoptic dopamine release: implications for male rat sexual behavior. **Brain Research**, v. 917, p. 225-229, 2001.

ECKERSELL, C.B.; MICEVYCH, P.E. Opiate receptors modulate estrogen-induced cholecystokinin and tachykinin but not enkephalin messenger RNA levels in the limbic system and hypothalamus. **Neuroscience**, v. 80, n. 2, p. 473-485, 1997.

EVERITT, B. Limbic lobe and olfactory pathways. In: BERRY, M.M.; BANNISTER, L.H.; STANDRING, S.M. **Gray's Anatomy**. London, Churchill Livingstone., p. 1115-

1141, 1995.

FERNANDEZ-GALAZ, M.C.; PARDUCZ, A.; NAFTOLIN, G.; TORRES-ALEMAN, J.; GARCIA-SEGURA, L.M. Interaction of gonadal steroids and growth factors in brain sex differentiation. **Biomed. Rev.**, v. 7, p. 67-74, 1997.

FLEMING, A.S.; VACCARINO, F.; LUEBRE, C. Amigdaloid inhibition of maternal behavior in the nulliparous female rat. **Physiol. Behav.**, v. 25, n. 5, p. 731-742, 1980.

FLEMING, A.S.; KORSMIT, M.; DELLER, M. Rat pups are potent reinforcers of the maternal animal: effects of experience, parity, hormones and dopamine function. **Psychobiology**, v. 22, p. 44-53, 1994.

FRANKFURT, M.; GOULD, E.; WOOLLEY, C.; McEWEN, B.S. Gonadal steroids modify dendritic spine density in ventromedial hypothalamic neurons: a Golgi study in the adult rat. **Neuroendocrinology**, v. 51, n. 5, p. 530-535, 1990.

GABBOTT, P.L.; SOMOGUY, J. The "single" section Golgi-impregnation procedure: methodological description. **J. Neurosci. Methods.**, v. 11, n. 4, p. 221-230, 1984.

GALLAGHER, M.; HOLLAND, P. C. The amygdala complex: multiple roles in associative learning and attention. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 91, p. 11771-11776, 1994.

GAMBLE, E.; KOCH, C. The dynamics of free calcium in dendritic spines in response to repetitive synaptic input. **Science.**, v. 236, n. 4806, p. 1311-1315, 1987.

GARCIA-SEGURA, L.M.; TORRES-ALEMAN, I.; NAFTOLIN, F. Astrocytic shape and glial fibrillary acidic protein immunoreactivity are modified by estradiol in primary rat hypothalamic cultures. **Brain Res. Dev.**, v. 47, n. 2, p. 298-302, 1989.

GOLD, J.I.; BEAR, M.F. A model of dendritic spine Ca^{2+} concentration exploring possible bases for a sliding synaptic modification threshold. **Proc. Natl Acad. Sci. USA.**, v. 91, n. 9, p. 3941-3945, 1994.

GOMEZ, D.M.; NEWMAN, S.W. Medial Nucleus of the Amygdala in the Adult Syrian Hamster: A Quantitative Golgi Analysis of Gonadal Hormonal Regulation of Neuronal

Morphology. **The Anatomical Record.**, v. 231, p. 498-509, 1991.

GORSKI, R. Sexual differentiation of the nervous system. In: **Principles of Neural Sciences**. KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.H. & JESSEL, T.M., New York, McGraw Hill., 1131-1148, 2000.

GOULD, E.; WOOLLEY, C.S.; FRANKFURT, M.; McEWEN, B.S. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. **J. Neurosci.**, v. 10, n. 4, p. 1286-1291, 1990.

GRECÓ, B.; EDWARDS, D.A; MICHAEL, R.P.; CLANCY, N.A. Androgen receptors and estrogen receptors are colocalized in male rat hypothalamic and limbic neurons that express Fos immunoreactivity induced by mating. **Neuroendocrinology**, v. 67, n. 1, p. 18-28, 1998.

GREEN, E.J.; JURASKA, J.M. The dendritic morphology of hippocampal dentate granule cells varies with their position in the granule cell layer: a quantitative Golgi study. **Exp. Brain Res.**, v. 59, n. 3, p. 582-586, 1985.

GRAY, T.S.; BINGAMAN, E.W. The amygdala: corticotropin-releasing factor, steroids, and stress. **Crit. Rev. Neurobiol.**, v. 10, n. 2, p. 155-168, 1996.

GUILLAMÓN, A.; SEGOVIA, S. **Sex Differences in the Vomeronasal System Brain Research Bulletin.**, v. 44, n. 4, p. 377-382, 1997.

GUTHRIE, P.B.; SEGAL, M.; KATER, S.B. Independent regulation of calcium revealed by imaging dendritic spines. **Nature**, v. 354, n. 6348, p. 76-80, 1991.

HALL, E. Some aspects of the structural organization of the amygdala. In: ELEATHERIOU B.E. (ed.). **The Neurobiology of the Amygdala**. Plenum Press, New York., p. 95-121, 1972.

HARLAN, R.E.; GARCIA, M.M.; KRAUSE, J.E. Cellular localization of substance P- and neurokinin A-encoding preprotachykinin mRNA in the female rat brain. **J. Comp. Neurol.**, v. 287, n. 2, p. 179-212, 1989.

HARRIS, K.M.; STEVENS, J.K. Dendritic spines of CA1 pyramidal cells in the rat hippocampus: serial electron microscopy with reference to their biophysical characteristics. **J. Neurosci.**, v. 9, n. 8, p. 2982-2997, 1989.

HARRIS, K.M.; KATER, S.B. Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. **Ann. Rev. Neurosci.**, v.17, p. 314-371, 1994.

HARVEY, S.; PHILIPS, J.G.; REES, A.; HALL, T.R. Stress and adrenal function. **Journal of Experimental Zoology**, v. 232, n. 3, p. 633-645, 1984.

HÄUSSER, M.; SPRUSTON, N.; STUART, G.J. Diversity and Dynamics of Dendritic Signaling. **Science.**, v. 290, p. 739-744, 2000.

HESS, U.S.; GALL, C.M.; LYNCH, G.; GRANGER, R. Differential patterns of c-fos mRNA expression in amygdala during successive stages of odor discrimination learning. **Learn. Mem.**, v. 4, n. 3, p. 262-283, 1997.

HINES, M.; ALLEN, L.S.; GORSKI, R.A. Sex differences in subregions of the medial nucleus of the amygdala and the bed nucleus of stria terminalis of the rat. **Brain Res.**, v. 579, p. 321-326, 1992.

HOLT, A.G. Immunocytochemical identification of met – and leu-enkephalin positive neurons within mating and agonistic relevant brain nuclei of the male Syrian hamster: modulation by gonadal steroids and social behaviors. **Ph.D. Thesis. University of Michigan.** Ann. Arbor. Michigan.1997.

JACOBS, B.; SCHEIBEL, A.B. A quantitative dendritic analysis of Wernicke's area in humans. I. Lifespan changes. **J. Comp. Neurol.**, v. 327, n. 1, p. 83-96, 1993.

JASLOVE, S.W. The integrative properties of spiny distal dendrites. **Neuroscience**, v. 47, n. 3, p. 495-519, 1992.

JONES, E.G.; COWAN, W.M. The nervous tissue. In: WEISS, L. **Histology. Cell and Tissue Biology.** New York, Elsevier., p. 282-370, 1983.

JONHSTON, J.B. Further Contributions to the Study of the Evolution of the Forebrain. **J. Compl. Neurol.**, v. 35, p. 337-481, 1923.

JONTES, J.D.; SMITH, S.J. Filopodia, spines, and the generation of synaptic diversity. **Neuron.**, v. 27, p. 11-14, 2000.

KALIMULLINA, L.B. The reaction of neurons of the amygdaloid complex in the dynamics of the estrous cycle. **Problemy Endokrinologii.**, v. 35, n. 5, p. 60-64, 1989.

KAMAL, A M.; TÖMBÖL, T. Golgi Studies on the Amygdaloid Nuclei of the Cat. **J. Hirnforschung.**, v. 16, p. 175-201, 1975.

KANDEL, E.R.; SIEGELBAUM, S.A. Synaptic Integration. In: **Principles of Neural Science**. KANDEL, E.; SCHWARTZ, J.H.; JESSEL, T.M. New York. Mc Graw Hill., p. 207-228, 2000.

KIRKPATRICK, B.; CARTER, C.S.; NEWMAN, S.W.; INSEL, T.R. Axon sparing lesions of the medial nucleus of the amygdala decrease affiliative behaviors in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*); behavioral and anatomical specificity. **Behavioral Neuroscience**. v.,108, p. 501-513, 1994 a.

KIRKPATRICK, B.; KIM, J.W.; INSEL, T.R.. Limbic system fos expression associated with paternal behavior. **Brain Research.**, v. 658, p. 112-118, 1994 b.

KLING, A.S.; BROTHERS, L.A. The amygdala and social behavior. In: AGGLETON, J.P. (ed). **The Amygdala**. New York. Wiley-Liss., p. 353-377, 1992.

KNUEPFER, M.M.; EISMANN, A.; SCHÜTZE, I.; STUMPF, H.; STOCK, G. Responses of single neurons in amygdala to interoceptive and exteroceptive stimuli in conscious cats. **Ann. J. Physiol.**, v. 268, n. 3, Pt 2, p. R666-75, 1995.

KOCH, C.; ZADOR, A. The function of dendritic spines: Devices subserving biochemical rather than electrical compartmentalization. **J. Neurosci.**, v.13, n. 2, p. 413-422, 1993.

KONDO, Y. Lesions of the medial amygdala produce severe impairment of

copulatory behavior in sexually inexperienced male rats. **Physiol. Behav.**, v. 51, p. 939-943, 1992.

KONDO, Y.; ARAI, Y. Funcional association between the medial amygdala and the medial preoptic area in regulation of mating behavior in the male rat. **Physiol. Behav.**, v. 57, p. 69-73, 1995.

KOOLHAAS, J.M.; SCHUURMAN, T.; WIEPKEMA, P.R. The organization of intraspecific agonistic behavior in the rat. **Prog. Neurosci.**, v. 15, n. 3, p. 247-268, 1980.

KORKOTIAN, E.; SEGAL, M. Fast confocal imaging of calcium released from stores in dendritic spines. **Eur. J. Neurosci.**, v. 10, n. 6, p. 2076-2084, 1998.

LABAR, K.S.; LeDOUX, J.E. Emotion and the brain: an overview. In: FEINBERG, T.E. & FARAH, M.J. **Behavioral Neurology and Neuropsychology**. New York, McGraw Hill., p. 675-689, 1997.

LeDOUX, J.E. Emotion and amygdala. In: AGGLETON, J.P. **The Amygdala**. New York, **Wiley-Liss.**, p. 339-352, 1992.

LEHMAN, M.N.; WINANS, S.S. Vomeronasal and Olfactory pathways to the amygdala controlling male hamster sexual behavior: Autoradiographic and behavioral analyses. **Brain Res.**, v. 240, n. 1, p. 27-41, 1982.

LI, X.; SCHWARTZ, P.E.; RISSMON, E.F. Distribution of estrogen receptor- β -like immunoreactivity in rat forebrain. **Neuroendocrinol.**, v. 66, n. 2, p. 63-67, 1997.

LIANG, K.C.; McGAUGH, J.L.; MARTINEZ, J.L.; JENSEN, R.A.; VASQUEZ, B.J.; MESSING, R.B. Post-training amygdaloid lesions impair retention of an inhibitory avoidance response. **Behavioral Brain Research.**, v. 4, n. 3, p. 237-249, 1982.

LIND, R.W.; GANTEN, D. Angiotensin. In: BJÖRKLUND, A.; HÖKFELT, T.; KUCHAR, M.J. (Eds.). **Handbook of Chemical Neuroanatomy: Neuropeptides in the CNS**. Vol. 9, Part II. Elsevier, Amsterdam, 1990.

LU, Y.; HATTORI, Y.; MORIWAKI, A.; HAYASHI, Y.; HORI, Y. Inhibition of neurons

in the rat medial amygdaloid nucleus in vitro by somatostatin. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, v. 73, p. 670-674, 1995.

LUINE, V.N.; SPENCER, R.L.; McEWEN, B.S. Effects of chronic corticosterone ingestion on spatial memory performance and hippocampal serotonergic function. **Brain. Res.**, v. 616, n. 1-2, p. 65-70, 1993.

LUQUIN, A.B.; NAFTOLIN, F.; GARCIA-SEGURA, L.M. Natural fluctuation and gonadal hormone regulation of astrocyte immunoreactivity in dentate gyrus. **J. Neurobiol.**, v. 24, n. 7, p. 913-924, 1993.

LYNCH, G.; LARSON, J.; KELSO, S.; BARRIONUEVO, G.; SCHOTTLER, F. Intracellular injections of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. **Nature**, v. 305, n. 5936, p. 719-721, 1983.

MALENKA, R.C.; KAUER, J.A.; ZUCKER, R.S.; NICOLL, R.A. Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. **Science**, v. 242, n. 4875, p. 81-84, 1988.

MALSBURY, C.W.; McKAY, K. Neurotrophic effects of testosterone on the medial nucleus of the amygdala in adult male rats. **J. Neuroendocrinol.**, v. 6, n. 1, p. 57-69, 1994.

MASCÓ, D.H.; CARRER, H.F. Sexual receptivity in female rats after lesions or stimulation in different amygdaloid nuclei. **Physiol. Behav.**, v. 24: 1073-1080, 1980.

MATSUMOTO, A. Sex steroid induction of synaptic reorganization in adult neuroendocrine brain. **Rev. Neurosci.**, v. 3, p. 287-306, 1992.

McDONALD, A.J. Cell types and intrinsic connections of the amygdala. In: AGGLETON, J.P. **The Amygdala**. New York, Wiley-Liss., p. 67-92, 1992.

McDONALD, A.J.; SHAMMAH-LAGNADO, S.J.; SHI, C.; DAVIS, M. Cortical afferents to the extended amygdala. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 877, p. 309-338, 1999.

McGAUGH, J.L. Involvement of the amygdala in neuromodulatory influences on memory storage. In: AGGLETON, J.P. (Ed.). **The Amygdala: Neurobiological**

Aspects of Emotion, Memory and Mental Dysfunction. Wiley-Liss, New York., p. 431-451, 1992.

McEWEN, B.S. Endocrine effects on the brain and their relationship to behavior. In: **Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects.** Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers., p. 1007-1026, 1990.

McEWEN, B.S.; TANAPAT, P.; WEILAND, N.G. Inhibition of dendritic spine induction on hippocampal CA1 pyramidal neurons by a nonsteroidal estrogen antagonist in female rats. **Endocrinology**, v. 140, n. 3, p. 1044-1047, 1999.

McLEAN, S.; SKIRBOLL, L.R.; PERT, C.B. Comparison of substance P and enkephalin distribution in rat brain: An overview using radioimmunocytochemistry. **Neuroscience**, v. 14, n. 3, p. 837-852, 1985.

MEANEY, M.J.; AITKEN, D.H.; DHATAGNAR, S.; SAPOLSKY, R.M. Postnatal handling attenuates certain neuroendocrine, anatomical and cognitive dysfunctions associated with aging in female rats. **Neurobiol. Aging**., v. 12, n. 1, p. 31-38, 1991.

MEISEL, R.L.; SACHS, B.S. The Physiology of male sexual behavior. In: KNOBIL, E.; NEILL, I.D. **The physiology of reproduction.** New York: Raven., p: 3-105, 1994.

MELONE, J.H.; TEITELBAUM, S.A.; JONHSON, R.E.; DIAMOND, M.C. The rat amygdaloid nucleus: a morphometric right-Left study. **Experimental Neurology**., v. 86, p. 293-302, 1984.

MILHOUSE, O.E.; de OLMOS, J. Aspects of the neuronal organization of the amygdala. In: BEM-ARI, Y. (ed). **The Amygdala Complex.** Amsterdam: Elsevier/ North Holland Biomedical Press., p. 33-43, 1981.

MITCHELL, J.B. MEANEY, M.J. Effects of corticosterone on response consolidation and retrieval in the forced swim test. **Behavioral Neuroscience**, v. 105, n. 6, p. 798-803, 1991.

MIYATA, S.; ITOL, T.; ISHIYAMA, M.; NAKASHIMA, T.; KIYOHARA, T. Temporal

changes of c-fos expression in oxytocinergic magnocellular neuroendocrine cells of the rat hypothalamus with restraint stress. **Brain Res. Bull.**, v. 37, n. 4, p. 391-395, 1995.

MIZUKAMI, S.; NISHIZUKA, M.; ARAI, Y. Sexual difference in nuclear volume and its ontogeny in the rat amygdala. **Exp. Neurol.**, v. 79, p. 569-575, 1983.

MORGAN, H.D.; WATCHUS, J. A.; MILGRAM, N.W.; FLEMING, A. S. The long lasting effects of electrical stimulation of the medial preoptic area and medial amygdala on maternal behavior in female rats. **Brain Research.**, v. 99, p. 61-73, 1999.

MUKHINA, IuK.; LEONTOVICH, T.A.; Neuronal structure of some amygdaloid nuclei in dogs. **Arkev Anatomy Histology Embriology (Moscow)**, v. 59, n. 8, p. 62-70, 1970.

MURDACH, F.E.; GORSKI, J. The role of ligand in estrogen receptor regulation of gene expression. **Moll. Cell. Endocrinol.**, v. 78, p. C103-C108, 1991.

MURPHY, D.D.; SEGAL, M.; Regulation of dendritic spine density in cultured rat hippocampal neurons by steroid hormones. **J. Neurosci.**, v. 16, n. 13, p. 4059-4068, 1996.

NARKIEWICZ, O.; JURANIEC, J.; WRZOLKOWA, T. The Distribution of Axon Terminals with Flattened Vesicles in the Nuclei of the Amygdaloid Body of the Cat. **J. Hizzforsch.**, v. 19, p. 133-143, 1978.

NELSON, R.J. **An Introduction to Behavioral Endocrinology**. Sunderland: Sinauer Associates, cap. 6, p. 231-288, 1995.

NEWCOMER, J.W.; CRAFT, S.; HERSHY, T.; ASKINS, K.; BARDGETT, M.E. Glucocorticoid-induced impairment in declarative memory performance in adult humans. **J. Neurosci.**, v. 14, p. 2047-2053, 1994.

NEWMAN, S.W. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A

node in the mammalian social behavior network. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 877, p. 242-257, 1999.

NISHIZUKA, M.; ARAI, Y.; Organizational action of estrogen on synaptic pattern in the amygdala: implications for sexual differentiation of the brain. **Brain Research**, v. 213, p. 422-426, 1981a.

NISHIZUKA, M.; ARAI, Y. Sexual dimorphism in synaptic organization in the amygdala and its dependence on neonatal hormone environment. **Brain Research**, v. 212, p. 31-38, 1981b.

NISHIZUKA, M.; ARAI, Y. Synapse formation in response to estrogen in the medial amygdala developing in the eye. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 79, n. 11, p. 7024-7026, 1982.

NISHIZUKA, M.; ARAI, Y. Intrinsic connections in the medial amygdala as revealed by complete deafferentation. **Neuroscience Letters**, v. 35, p. 247-251, 1983.

NUMAN, M.; NUMAN, M.J.; ENGLISH, J.B. Excitotoxic aminoacid injections into the medial amygdala facilitate maternal behavior in virgin female rats. **Hormones and Behavior**, v. 27, p. 56-81, 1993.

OBERTO, A.; PANZICA, G.C.; ALTRUDA, F.; EVA, C. GABAergic and NPY-Y network in the medial amygdala: a neuroanatomical basis for their functional interaction. **Neuropharmacology**, v. 41, p. 639-642, 2001.

ÖSTERLUND, M. Differential distribution and regulation of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA within the female rat brain. **Mol. Brain Res.**, v. 54, p. 175-180, 1998.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. San Diego, **Academic Press**, 1998.

PEINADO-MANZANO, M.A. The role of the amygdala and the hippocampus in working memory for spatial and non-spatial information. **Behavioural Brain Research**, v. 38, p. 117-134, 1990.

PFAUS, J.G.; HEEB, M.M. Implications of Immediate-Early Gene Induction in the Brain Following Sexual Stimulation of Female and Male Rodents. **Brain Research Bulletin**, v. 44, n. 4, p. 397-407, 1997.

PILGRIM, C.; REISERT, I. Differences between male and female brains- developmental mechanisms and implications. **Horm. Metab. Res.**, v. 24, p. 353-359, 1992.

PITKÄNEN, A. Connectivity of the rat amygdaloid complex. In: AGGLETON, J.P. **The Amygdala**. Oxford University-Press., p. 31-115, 2000.

PRICE, C. **The Limbic Region II: The amygdaloid complex**. In **Handbook of Chemical Neuroanatomy**. BJÖKLUND, A; HÖKFELT, T. and SWANSON, L.W. (eds.). Elsevier, Amsterdam, v. 5, p. 279-388, 1987.

QUIRK, G.J.; REPA, C.; LeDOUX, J.E. Fear conditioning enhances short latency auditory responses of lateral amygdala neurons: parallel recordings in the freely behaving rat. **Neuron**, v. 15, p. 1029-1039, 1995.

RASIA-FILHO, A.A.; PERES, T.M.; CUBILLA-GUTIERREZ, F.H.; LUCION, A.B. Effect of estradiol implanted in the corticomедial amygdala on the sexual behavior of castrated male rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 24, p. 1041-1049, 1991.

RASIA-FILHO, A.A.; LONDERO, R.G.; ACHAVAL, M. Effects of gonadal hormones on the morphology of neurons from the medial amygdaloid nucleus of rats. **Brain Research Bulletin**, v. 48, p. 173-183, 1999.

RASIA-FILHO, A.A.; LONDERO, R.G.; ACHAVAL, M. Funcional activities of the amygdala: an overview. **J. Psych. Neurosc.**, v. 25, n. 1, p. 14-23, 2000.

ROOZENDAAL, B.; McGAUGH, J.L. Amygdaloid Nuclei Lesions Differentially Affect Glucocorticoid-Induced Memory Enhancement in an Inhibitory Avoidance Task. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 65, p. 1-8, 1996.

SAR, M.; STUMPF, W.E. Autoradiographic localization of radioactivity in the rat brain after the injection of 1,2-³H-testosterone. **Endocrinology**, v. 92, p. 251-256, 1973.

SEGAL, M. a. Imaging of calcium variations in living dendritic spines of cultured rat hippocampal neurons. **J. Physiol.**, v. 486, p. 283-295, 1995a.

SEGAL, M. b. Dendritic spines for neuroprotection: a hypothesis. **Trends Neurosci.**, v. 11, p. 468-471, 1995b.

SEGAL, M.; ANDERSEN, P. Dendritic spines shaped by synaptic activity. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 10, p. 582-586, 2000.

SHAIKH, M.B.; STEINBERG, A.; SIEGEL, A. Evidence that substance P is utilized in medial amygdaloid facilitation of defensive rage behavior in the cat. **Brain Research**, v. 625, p. 283-294, 1993.

SHEEHAN, T.P.; CIRRITO, J.; NUMAN, M.J.; NUMAN, M. Using c-fos Immunocytochemistry to Identify Forebrain Regions That May Inhibit Maternal Behavior in Rats. **Behav. Neurosc.**, v. 114, n. 2, p. 337-352, 2000.

SHEEHAN, T.; PAUL, M.; AMARAL, E.; NUMAN, M.J.; NUMAN, M. Evidence that the Medial Amygdala Projects to the Anterior/Ventromedial Hypothalamic Nuclei to Inhibit Maternal Behavior in Rats. **Neuroscience**, v. 106, n. 2, p. 341-356, 2001.

SHEPHERD, G.M. Information processing in dendrites. In: Fundamental Neuroscience. ZIGMOND, J.M.; BLOOM, F.E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J.L. **Academic Press**, San Diego, California., p. 363-388, 1999.

SHEPHERD, G.M. Eletrolonic propestrties of axons and dendrites. In: Fundamental Neuroscience. ZIGMOND, J.M.; BLOOM, F.E.; LANDIS, S.C.; ROBERTS, J.L.; SQUIRE, L.R. **Academic Press**, San Diego, California., p. 107-127, 1999.

SHEPHERD, G.M. The Dendritic Spine: A Multifunctional Integrative Unit. **Journal of Neurophysiology**, v. 75, n. 6, p. 2197-2210, 1996.

SHERIDAN, P.J. The nucleus interstitialis stria terminalis and the nucleus amygdaloideus medialis: prime targets for androgen in the rat forebrain. **Endocrinology**, v. 104, n. 1, p. 130-136, 1979.

SHINDOU, T.; WATANABE, S.; YAMAMOTO, K.; NAKANISHI, H. NMDA receptor-dependent formation of long-term potentiation in the rat medial amygdala neuron in *na in vitro* slice preparation. **Brain Research Bulletin.**, v. 31, p. 667-672, 1993.

SHUGHRUE, P.J.; LANE, M.V.; MERCHENTHALER, I. Comparative distribution of estrogen receptor- α and β mRNA in the rat central nervous system. **J. Comp. Neurol.**, v. 388, p. 507-525, 1997.

SIEGEL, A.; BRUTUS, M. Neural substrates of aggression and rage in the cat. In: EPSTEIN, A.N.; MORRISON, A.R. (Eds). **Progress in Psychobiology and Physiological Psychology**, 14th Ed. Academic Press, San Diego, CA., p. 135-233, 1990.

SIEGEL, A.; BRUTUS, M.; SHAIKH, M.B. Effects of amygdaloid seizures upon aggressive behavior elicited from the hypothalamus of the cat. In: OOMURA, Y. (Ed.). **Emotions: Neuronal and Chemical Control.**, p. 219-230, 1986.

SILVA, I.; MELLO, L.E.; FREYMÜLLER, E.; HAIDAR, M.A.; BACARAT, E.C. Estrogen, progesterone and tamoxifen increase synaptic density of the hippocampus of ovariectomized rats. **Neuroscience Letters**, v. 291, p. 183-186, 2000.

SIMERLY, R.B.; CHANG, C.; MURAMATSU, M.; SWANSON, L.M. Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA containing cells in the rat brain: an *in situ* hybridization study. **J. Comp. Neurol.**, v. 294, p. 76-95, 1990.

SINGH, V.B.; KALIMI, M.; PHAW, T.H.; BOADLE-BIBER, M.C. Intracranial dehydroepiandrosterone blocks the activation of tryptophan hydroxylase in response to acute sound stress. **Molecular and Cellular Neurosciences.**, v. 5, p. 176-181, 1994.

SLODDART-APTER, S.L.; McDONNELL, M.F. Septal and amygdalar efferents to the hypothalamus which facilitate hypothalamically elicited intraspecific aggression and associated hissing in the cat. An autoradiographic study. **Brain Research.**, v. 193, p. 19-32, 1980.

STEFANOVA, N. Y - Aminobutyric acid-immunoreactive neurons in the amygdala of the rat – Sex differences and effect of early postnatal castration. **Neuroscience Letters.**, v. 255, p. 175-177, 1998.

SUMMERS, C.H.; LARSON, E.T.; RONAN, P.J.; HOFMANN, P.M.; EMERSON, A.J.; RENNER, K.J. Serotonergic Responses to Corticosterone and Testosterone in the Limbic System. **General and Comparative Endocrinology.**, v. 117, p. 151-159, 2000.

SWANN, J.M.; NEWMANN, S.W. Testosterone regulates substance P within neurons of the medial nucleus of the amygdala, the bed nucleus of the stria terminalis and medial preoptic area of the male golden hamster. **Brain Research.**, v. 590, p. 18-28, 1992.

SWANSON, L.M.; PETROVICH, G.D. What is the amygdala? **Trends neurosc.**, v. 21, p. 323-331, 1998.

TAKAHASHI, L.K.; GLADSTONE, C.D. Medial Amygdaloid Lesions and the Regulation of Sociosexual Behavioral patterns Across the Estrous Cycle in Female Golden Hamsters. **Behav. Neurosc.**, v. 102, n. 2, p. 268-275, 1988.

TÖMBÖL, T.; SZAFRANSKA-KOSMAL, A. A Golgi study of the amygdaloid complex in the cat. **Acta Neurobiol. Exp.**, v. 32, p. 835-848, 1972.

TORAN-ALLERAND, C.D. On the genesis of sexual differentiation of the central nervous system: Morphogenetic consequences of steroid exposure and possible role of alpha-fetoprotein. **Prog. Brain. Res.**, v. 61, p. 63-98, 1984.

TROMMALD, M.; HULLEBERG, G. Dimensions and Density of Dendritic Spines From Rat Dentate Granule Cells Based on Reconstructions From Serial Electron Micrographs. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 377, p. 15-28, 1997.

VALVERDE, F. Intrinsic organization of the amygdaloid complex. A Golgi study in the mouse. **Trab. Inst. Cajal. Invest. Biol. (Madrid)**., v. 54, p. 291-314, 1962.

VOCHTELOO, J.D.; KOOLHAAS. J.M. Medial amygdala lesions in male rats reduce aggressive behavior: Interference with experience. **Physiology & Behavior**, v. 41, p. 99-102, 1987.

VOLFOVSKY, N.; PARNAS, H.; SEGAL, M.; KORKOTIAN, E. Geometry of dendritic spines affects calcium dynamics in hippocampal neurons: theory and experiments. **J. Neurophysiol.**, v. 82, p. 450-462, 1999.

WATANABE, Y.; IKEGAYA, Y.; SAITO, H.; ABE, K. Roles of GABAA, NMDA and muscarinic receptors in induction of long-term potentiation in the medial and lateral amygdala in vitro. **Neuroscience Research**., v. 21, p. 317-322, 1995.

WONG, M.; CHEN, Y.; MOSS, R.L. Excitatory and inhibitory synaptic processing in the accessory olfactory system of the female rat. **Neuroscience**., v. 56, p. 355-365, 1993.

WONG, M.; MOSS, R. Modulation of single-unit activity in the rat medial amygdala by neurotransmitters, estrogen priming, and synaptic inputs from the hypothalamus and midbrain. **Synapse**., v. 10, p. 94-102, 1992.

WOOD, R.I. Thinking about networks in the control of male hamster sexual behavior. **Horm. Behav.**, v. 32, p. 40-45, 1997.

WOOD, R.L.; NEWMAN, S.W. Hormonal influence on neurons of the mating behavior pathway in male hamster. In: MICIVYCH, P.E. & HAMMER Jr, R.P. **Neurobiological Effects of Sex Steroid Hormones**. New York, Cambridge., p. 3-39, 1995.

WOOLEY, C.S.; GOULD, E.; McEWEN, B.S. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. **Brain Res.**, v. 531, p. 225-231, 1990.

WOOLEY, C.S.; McEWEN, B.S. Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 336, p. 293-306, 1993.

WOOLEY, C.S.; WEILAND, N.; McEWEN, B.S.; SCHWARTZKROIN, P.A. Estradiol Increases the Sensivity of Hippocampal CA1 Pyramidal Cells to NMDA Receptor-Mediated Synaptic Input: Correlation with Dendritic Spine Density. **The Journal of Neuroscience**, v. 17, n. 5, p. 1848-1859, 1997.

WOOLF, T.B.; SHEPHERD, G.M.; GREER, C.A. Local Information Processing in Dendritic Trees: Subsets of Spines in Granule Cells of the Mammalian Olfactory Bulb. **J. Neurosci.**, v. 11, n. 6, p. 1837-1854, 1991.

YU, H. "The Amygdaloid Complex in the Rat", masters thesis. **University of Ottawa**, Ottawa., 1969.