



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE ÁCIDO GAMA-
AMINOBUTÍRICO (GABA), SOMATOSTATINA E HISTAMINA
NA AMÍGDALA MEDIAL PÓSTERO-DORSAL SOBRE O
COMPORTAMENTO SEXUAL DE RATOS MACHOS**

Alexandre Paim de Oliveira

Porto Alegre

2008



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE ÁCIDO GAMA-AMINOBUTÍRICO
(GABA), SOMATOSTATINA E HISTAMINA NA AMÍGDALA MEDIAL
PÓSTERO-DORSAL SOBRE O COMPORTAMENTO SEXUAL DE
RATOS MACHOS**

Alexandre Paim de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Alberto Antônio Rasia Filho

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

2008

Dedico esta dissertação a minha esposa Micheli e ao meu filho Gustavo pela compreensão, incentivo e parceria durante todo o período deste trabalho. É por eles que realizo todos os meus esforços. Dedico também a minha mãe Maria Lúcia por ter me ensinado que o conhecimento é o único caminho para a conquista de uma vida digna.

“Conhecer é uma ação efetiva, ou seja, uma efetividade operacional no domínio de existência do ser vivo.”

Humberto R. Maturana

Francisco J. Varela

(A árvore do conhecimento: as bases biológicas da compreensão humana)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alberto Rasia Filho, a minha total gratidão por me oportunizar a realização de um curso de pós-graduação, pela paciência e dedicação. Também pela demonstração incansável que fazer ciência é algo muito sério.

Aos meus colegas do laboratório de Fisiologia da FFFCMPA, em especial, Carolina Böettge, Edson Quagliotto, Helinton Neckel, Ramiro Barcos, Elisa de Leon, Daniela Haas, Deise, Aline Dal'Oglio e para os recém chegados Rodrigo e Vitor e, todos os alunos de iniciação científica pela colaboração e, principalmente, a amizade.

A aluna de medicina e bolsista no meu projeto de pesquisa, Fernanda Fernandes, pela sua enorme disposição e dedicação às atividades do nosso experimento.

À Prof^a. Dra Macia Giovenardi que me ofereceu a primeira oportunidade de trabalhar com neurociências. Também pela sua dedicação no bom andamento das atividades do laboratório de fisiologia da UFCSPA.

Ao Prof^o Dr Pedro Dal'Lago pela sua demonstração de companheirismo de preocupação com todos os alunos do nosso laboratório.

Ao meu amigo Dirson Stein, por ter me ensinado muitas técnicas no início dos meus experimentos, por se mostrar sempre disposto a ajudar e pelos seus cuidados

e dedicação aos animais do biotério da Unisinos, onde comecei a trabalhar com neurociências.

Aos meus colegas do laboratório do Hospital de Pronto Socorro de Porto Alegre que sempre se mostravam disponíveis a me ajudar nas trocas de plantões para que eu pudesse desenvolver as minhas atividades no mestrado.

À Profa. Dra. Matilde Achaval pela colaboração no empréstimo do vibrátomo e pelo uso do laboratório de Histofisiologia Comparada do Departamento de Ciências Morfológicas da UFRGS.

Às técnicas do laboratório de Fisiologia e Bioquímica Carmen Rocha e no preparo de alguns dos materiais empregados.

Ao funcionário do biotério, Mário, pela disposição em me ajudar no acasalamento dos ratos.

A todas as amigas que fizeram parte e que de alguma forma colaboraram para o desenvolvimento do trabalho e participaram da convivência durante esses anos.

Ao professores, funcionários e colegas do PPG em Neurociências pela oportunidade, ensinamentos e amizades.

A todos os funcionários da UFCSPA, que de uma forma ou de outra, mantive contato durante o meu mestrado.

SUMÁRIO

ABREVIATURAS	7
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO	16
INTRODUÇÃO	20
Amígdala.....	20
Amígdala medial.....	25
Comportamento Sexual.....	37
O Ácido gama-aminobutírico (GABA).....	41
A somatostatina.....	46
A histamina.....	49
Objetivos.....	54
MATERIAL E MÉTODOS	55
Animais.....	55
Ambiente experimental.....	56
Registro comportamental.....	57
Cirurgia estereotáxica e tratamento farmacológico.....	59
Análise histológica.....	61
Análise estatística.....	63
RESULTADOS	64
DISCUSSÃO	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

ABREVIATURAS

AA	Amígdala anterior
AAP	Área amígdalar piriforme
ABL	Amígdala basolateral
ABLa	Amígdala basolateral anterior
ABLI	Amígdala basolateral lateral
ABLp	Amígdala basolateral posterior
ABMa	Amígdala basomedial anterior
ABMp	Amígdala basomedial posterior
ACe	Amígdala central
ACO	Amígdala cortical
ACOa	Amígdala cortical anterior

ACOm	Amígdala cortical medial
ACOI	Amígdala cortical lateral
ACOp	Amígdala cortical posterior
ACOpm	Amígdala cortical póstero-medial
ACOpI	Amígdala cortical póstero-lateral
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
AL	Amígdala lateral
α -MSH	α -melanocortina
AMe	Amígdala medial
AMeAD	Amígdala medial ântero-dorsal
AMeAV	Amígdala medial ântero-ventral
AMePD	Amígdala medial póstero-dorsal
AMePV	Amígdala medial póstero-ventral
AOB	Bulbo olfativo acessório
ATC	Área tegmental central
ATV	Área tegmental ventral
Bi	Núcleo basal, subdivisão intermediária
BMmc	Núcleo basomedial, subdivisão magnocelular

BMpc	Núcleo basomedial, subdivisão parvocelular
BNST	Núcleo intersticial da estria terminal
BO	Bulbo olfatório
BOT	Núcleo intersticial do trato olfatório
Bpc	Núcleo basal, subdivisão parvocelular
BST	Núcleo próprio da estria medial
CEc	Núcleo central, subdivisão capsular
CEI	Núcleo central, subdivisão lateral
CEm	Núcleo central, subdivisão medial
COa	Núcleo cortical, subdivisão anterior
COp	Núcleo cortical, subdivisão posterior
DNA	Ácido desoxirribonucléico
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GABA-T	α -oxoglutarato transaminase
GAD	Ácido glutâmico-descarboxilase
GH	Hormônio do crescimento
HIST	Histamina
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal
In	Núcleos intercalados
Ld	Núcleo lateral, subdivisão dorsal
Lvl	Núcleo lateral, subdivisão ventrolateral
Lvm	Núcleo lateral, subdivisão ventromedial

MAPK	Proteinoquinase ativada por mitógenos
Md	Núcleo medial, subdivisão dorsal
MPOA	Área pré-óptica medial
Mv	Núcleo medial, subdivisão ventral
NAC	Núcleo accumbens
NTS	Núcleo do trato solitário
Pir	Córtex piriforme
POMC	Pré-opiomelanocortina
PTPase	fosfatase
SNC	Sistema nervoso central
SOM	Somatostatina
ST	Estria terminal
THIP	6,7-tetrahidroisonazolo [5,4c]-piridin-3-ol
TO	Trato óptico

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Classificação dos núcleos que compõe a amígdala do rato com suas subdivisões anatômicas e seus componentes principais	23
FIGURA 2: Representação esquemática de cortes coronais do encéfalo do rato onde se pode observar os quatros subnúcleos da amígdala medial.....	27
FIGURA 3: Esquema demonstrativo das conexões externas da Ame.	29
FIGURA 4: Esquema proposto para descrever a circuitaria neural envolvida no comportamento sexual de ratos	35
FIGURA 5: Representação esquemática para exemplificar um registro comportamental da atividade sexual de ratos machos.....	39
FIGURA 6: Esquema das reações responsáveis pela síntese, conservação e metabolismo do GABA.	42
FIGURA 7: Representação da estrutura molecular dos agonistas naturais de somatostatina.	46
FIGURA 8: Representação esquemática da síntese de histamina e de sua degradação no sistema nervoso de mamíferos.....	50
FIGURA 9: Fotomicrografia de corte coronal da parte médio-ventral do encéfalo de rato para identificação do trajeto da cânula implantada.....	62
FIGURA 10: Dados de mediana e intervalos interquartil para a latência do comportamento de investigar as genitais feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....	71

FIGURA 11: Dados de mediana e intervalos interquartil para a frequência do comportamento de investigar as genitais feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA , somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....72

FIGURA 12: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da frequência do comportamento de investigar as genitais ^{*} feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....73

FIGURA 13: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da frequência do comportamento de investigar as genitais feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....74

FIGURA 14: Dados de mediana e intervalos interquartil para a latência do comportamento de montas sem movimento pélvicos feito por machos em período pré- microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....75

FIGURA 15: Dados de mediana e intervalos interquartil para a frequência do comportamento de montas sem movimentos pélvicos feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....76

FIGURA 16: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da latência do comportamento de montas sem movimento feito por machos em período pré-

microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....77

FIGURA 17: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da frequência do comportamento de montas sem movimento feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....78

FIGURA 18: Dados de mediana e intervalos interquartil para a latência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....79

FIGURA 19: Dados de mediana e intervalos interquartil para a frequência do comportamento de investigar as genitais feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....80

FIGURA 20: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da latência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....81

FIGURA 21: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da frequência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....82

FIGURA 22: Dados de mediana e intervalos interquartil para a latência do comportamento de intromissão feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....83

FIGURA 23: Dados de mediana e intervalos interquartil para a frequência do comportamento de intromissões feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....84

FIGURA 24: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da latência do comportamento de intromissões feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....85

FIGURA 25: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da frequência do comportamento de intromissões feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....86

FIGURA 26: Dados de mediana e intervalos interquartil para a latência do comportamento de ejaculação feito por machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....87

FIGURA 27: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da latência do comportamento de ejaculação feito por machos em período pré-microinjeção e após

a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....88

FIGURA 28: Dados de mediana e intervalos interquartil para a duração do período refratário de machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....89

FIGURA 29: Dados da média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual da duração do período refratário de machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....90

FIGURA 30: Dados da média \pm desvio padrão para os índices copulatórios de machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....91

FIGURA 31: Dados da média \pm desvio padrão para a eficiência copulatória de machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....92

FIGURA 32: Dados da média \pm desvio padrão para o intervalo interintromissões de machos em período pré-microinjeção e após a microinjeção de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina na AMePD de ratos.....93

RESUMO

A amígdala medial pósterio-dorsal (AMePD) é um subnúcleo da amígdala medial (AMe) que participa do controle do comportamento reprodutivo em mamíferos (HEEB e YAHR, 2000; SIMMONS e YAHR, 2003). O presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito da microinjeção do ácido gama-aminobutírico (GABA), somatostatina e histamina na AMePD no comportamento sexual de ratos machos. Foram utilizados 25 ratos Wistar, com cerca de 3 meses de idade, mantidos em laboratório e em condições padrão, com água e comida *ad libitum*, temperatura em torno de 22° C e ciclo claro/escuro de 12 h cada. Depois que os ratos passaram por um registro da atividade copulatória pré-microinjeção, os animais foram anestesiados e submetidos à cirurgia estereotáxica para a colocação unilateral da cânula-guia no encéfalo do rato situada a 2 mm da AMePD direita. Cinco dias após as microinjeções, os ratos foram microinjetados com solução fisiológica (n = 6), de GABA, na dose de 100 µg (n = 7), de somatostatina na dose de 1µM (n = 4) ou de histamina na dose de 100 nM (n = 8). Após 10 minutos de realizadas as microinjeções, fêmeas receptivas eram colocadas com os machos, quando, então, eram analisadas a latência e a frequência dos seguintes comportamentos:

investigação genital, monta sem movimentos pélvicos, monta com movimentos pélvicos, intromissão, ejaculação e período refratário pós-ejaculação. A seguir os animais eram perfundidos por via transcardíaca, seus encéfalos eram removidos e seccionados em cortes coronais em vibrátomo. Tais secções foram analisadas histologicamente e somente os animais com a localização exata das microinjeções na AMePD foram usados. A mediana e os intervalos interquartis da latência e frequência dos comportamentos analisados para os grupos que receberam solução fisiológica, GABA, somatostatina e histamina foram comparadas pelo teste de Mann-Whitney. Os dados dos comportamentos antes da cirurgia (controle pré-injeção) e após a microinjeção na AMePD, em cada grupo experimental, foi submetida ao teste não-paramétrico de Wilcoxon. As comparações entre os 4 grupos experimentais em período pré-microinjeção e após as microinjeções foram feitas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Os percentuais de modificação de cada parâmetro comportamental estudado como resultado das microinjeções na AMePD, calculados como a relação “valor obtido no teste pós-microinjeção menos o valor obtido no teste pré-microinjeção dividido pelo valor obtido no teste pré-microinjeção multiplicado por 100” ($\frac{\text{pós-pré}}{\text{pré}} \times 100$), foram transformados (como \log_{10}) e comparados entre os 4 grupos experimentais pelo teste da análise da variância (ANOVA) de uma via complementado pelo teste de Dunnett (o grupo que recebeu salina serviu como controle para as comparações *post hoc* dos efeitos das microinjeções). Os valores calculados para “índice copulatório”, “eficiência copulatória” e “intervalo inter-intromissões” para os dados obtidos pós-microinjeções na AMePD nos 4 grupos experimentais foram submetidos ao teste da ANOVA de uma via e, quando necessário, pelo teste *post hoc* de Tukey. O nível de significância foi estabelecido

em $p < 0,05$. Nos ratos que receberam a microinjeção de GABA ocorreram diferenças significativas nos comportamentos de latência para investigar os genitais ($p = 0,02$), na frequência de investigar os genitais ($p = 0,01$), na latência para montas com movimentos pélvicos ($p = 0,02$) e na latência para intromissão ($p = 0,04$) sendo todos com valores menores quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo. A variação percentual da latência para investigar os genitais mostrou uma diferença significativa entre os grupos para animais microinjetados com GABA quando comparado com o grupo controle (valores menores; $p = 0,02$). Esses resultados mostram uma ação de facilitação na fase pré-copulatória do comportamento sexual masculino promovida por neurônios gabaérgicos. Nos ratos que receberam a microinjeção de somatostatina ocorreram diferenças significativas na variação percentual para os comportamentos de latência para montas com movimentos pélvicos ($p = 0,03$) e na latência para intromissões ($p = 0,03$) ambos com valores menores e quando comparados com o grupo controle. Os animais que receberam somatostatina na AMePD também demonstraram uma tendência em diminuir a latência para montas com movimentos pélvicos ($p = 0,06$), para a latência e frequência de para intromissões ($p = 0,06$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo. Desse modo, a somatostatina parece estimular o comportamento sexual de ratos machos e, da mesma forma que o GABA, podem estar atuando na inibição de neurônios do AMePD que, por sua vez, sejam eferências inibitórias para outras áreas encefálicas envolvidas na atividade copulatória de machos. A microinjeção de histamina gerou diferenças significativas na frequência de montas sem movimentos pélvicos nos grupos pré-microinjeção ($p = 0,01$) e pós-microinjeção ($p = 0,05$) quando comparados entre os grupos

experimentais. Na comparação com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo, os animais microinjetados com histamina demonstraram diferença significativa da latência para a ejaculação. Além disso, tal neurotransmissor relacionou-se com uma tendência à diminuição nos valores obtidos para frequência de ocorrência do comportamento de investigar os genitais ($p = 0,06$). Os presentes dados sugerem que as três substâncias que potencialmente poderiam estar inibindo a gênese ou modulando para menos a emissão do comportamento sexual de ratos machos não geraram os efeitos esperados inicialmente indicando que o papel no comportamento sexual feito pelo AMePD parece ser muito mais modulatório do que crucial para a atividade copulatória de machos.

INTRODUÇÃO

Amígdala

A amígdala, ou complexo amigdalóide, constitui-se de núcleos subcorticais que se situam na porção medial do lobo temporal, lateral ao hipotálamo, ventral ao estriado e estendendo-se até a parte terminal do corno inferior do ventrículo lateral no encéfalo de mamíferos (KNAPSKA, 2007).

Ao longo do tempo, diversas formas de divisão para a amígdala foram propostas, existindo até o momento considerável debate sobre sua subdivisão em núcleos em várias espécies animais (SWANSON; PETROVICH, 1998; NEWMAN, 2002, PITKÄNEN et al., 2000; RASIA-FILHO et al., 2000, 2004a). Outro motivo de discussão refere-se aos limites anatômicos extremos da amígdala, os quais permanecem ainda controversos (SWANSON; PETROVICH, 1998; de OLMOS et al., 1999; NEWMAN, 2002; de OLMOS et al., 2004). Prince e colaboradores (1987)

propuseram um esquema único de classificação dos núcleos amigdalianos de ratos, gatos e macacos dividindo a amígdala desses animais em três grandes porções: 1) núcleo basolateral (ABL), do qual fariam parte os subnúcleos lateral (ABLI), basal, e basal acessório e que estariam amplamente interconectados com o neocórtex; 2) porção cortical medial (ACOM), que corresponderia aos subnúcleos cortical, à amígdala medial (AMe, tema desta dissertação e para a qual dar-se-á maior atenção a seguir), o córtex periamigdalóide e o núcleo do trato olfatório lateral, relacionados com o sistema olfativo principal e acessório; e, por último, 3) o núcleo central (ACe) e área amigdalóide anterior (AA), que estariam envolvidos com atividades “vegetativas” que, neste texto, serão tratadas como simpáticas e parassimpáticas (para comentário sobre o termo “vegetativo”, veja-se RASIA-FILHO, 2006).

Swanson e Petrovich (1998) sugeriram que a amígdala pudesse agrupar um número de núcleos que parece ser partes diferenciadas do córtex cerebral, do claustró e do estriado, pertencendo a quatro sistemas funcionais: 1) do simpático e parassimpático, composto pela ACe; 2) cortical fronto-temporal, composto pelos núcleos ABL e ABL anterior (ABLa) e ABLI; 3) do bulbo olfatório acessório (AOB), formado pela AMe e, 4) olfatório principal, relacionado com os demais núcleos. Em outras palavras, estruturalmente, a amígdala poderia se consistir de uma divisão estriatal, constituída pela AA e pela AMe e a ACe, e de uma divisão cortical que corresponderia à ABLa e posterior (ABLp), aos núcleos basomedial anterior (ABMa) e posterior (ABMp), cortical pósteromedial (ACOp_m) e pósterolateral (ACOp_l), cortical anterior (ACOa), lateral (ACO_l) e posterior (ACOp), área

amigdalóide piriforme (AAP) e área piriforme de transição (SWANSON; PETROVICH, 1998; PETROVICH et al., 2001).

Estudos recentes (McDONALD, 1998), sobre a classificação da amígdala em ratos apresentam-na dividida em três regiões (Figura 1), de acordo com critérios citoarquitetônicos, quimioarquitetônicos e de suas conexões, a saber: 1) amígdala basolateral, que é constituída por uma extensão ventromedial da camada mais profunda do córtex cerebral (núcleos lateral, basal e basolateral); 2) amígdala centromedial, que é uma extensão ventromedial especializada do estriado (sendo dividida em ACe e AMe , assim como da parte amigdalóide do núcleo intersticial da estria terminal - BNST -) e, 3) amígdala com características corticais, que é subdividida em porções relacionadas com as vias olfativa e vomeronasal (McDONALD, 1998; SWANSON; PETROVICH, 1998; KNAPSKA et al, 2007). Além disso, a amígdala também possui regiões de transição, situadas entre a porção ventral do estriado e o hipocampo, núcleos intercalados e, núcleos ainda não classificados (ALHEID et al, 1995; de OLMOS et al., 2004). Ainda neste sentido, uma classificação das mais utilizadas foi sugerida por de Olmos e colaboradores (como revisado em de Olmos et al., 2004) que considera a AMe e a ACe como pertencentes à “amígdala expandida”, pois ambos os núcleos parecem ter estruturas homólogas que avançam os limites anatômicos da amígdala. Qualquer que seja o modelo atual de estudo da organização da amígdala, no entanto, sugere que ela não é nem uma unidade funcional nem estrutural, mas sim é definida como um conjunto

heterogêneo de grupos celulares nos hemisférios cerebrais (PETROVICH e SWANSON, 1998).

Segundo PRICE (2003), do ponto de vista funcional, todas as conexões do complexo amigdalóide podem ser divididas em três sistemas: o primeiro sistema

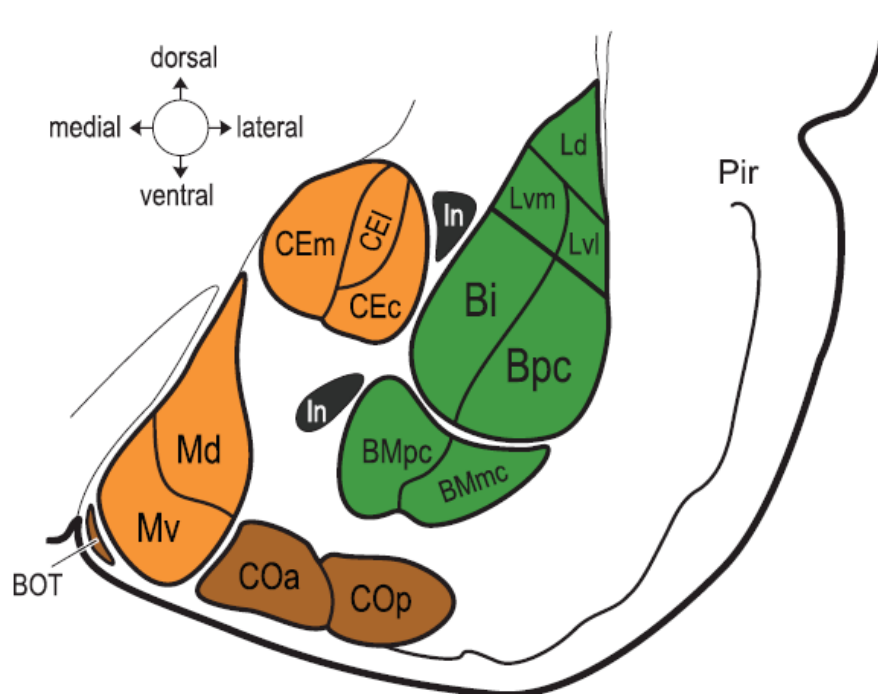


Figura 1. Desenho esquemático da parte ventral do encéfalo do rato, a partir de secção coronal. Divisões e subdivisões da amígdala de ratos. O complexo amigdalóide podendo ser dividido em três grupos: amígdala basolateral (verde); amígdala centromedial (laranja), e amígdala cortical (marrom). Os núcleos intercalados são indicados em preto (In). BOT, núcleo intersticial do trato olfatório; CEc, núcleo central, subdivisão capsular; CEI, núcleo central, subdivisão lateral; CEm, núcleo central, subdivisão medial; COa, núcleo cortical, subdivisão anterior;

Cop, núcleo cortical, subdivisão posterior; Bi, núcleo basal, subdivisão intermediária; Bpc, núcleo basal, subdivisão parvocelular; BMmc, núcleo basomedial, subdivisão magnocelular; BMpc, núcleo basomedial, subdivisão parvocelular; Ld, núcleo lateral, subdivisão dorsal; Lvm, núcleo lateral, subdivisão ventromedial; Lvl, núcleo lateral, subdivisão ventrolateral; Md, núcleo medial, subdivisão dorsal; Mv, núcleo medial, subdivisão ventral; Pir, córtex piriforme. Figura adaptada de KNAPSKA et al (2007).

fornece informações sensoriais para a amígdala sendo composto principalmente de projeções recíprocas e conexões dos núcleos amígdalóides com o córtex olfatório e vias viscerais ascendentes; o segundo sistema forma eferências dos núcleos amígdalóides para o hipotálamo e estruturas do tronco encefálico, os quais modulam funções viscerais relacionadas a estímulos emocionais significantes tanto de origem própria do animal ou advindas do ambiente; e o terceiro sistema é composto pelas conexões dos núcleos amígdalóides com áreas corticais cerebrais, talâmicas e com os núcleos da base. Desse modo, os diferentes núcleos da amígdala tornam-se aptos a receber diferentes informações sensoriais, tanto interoceptivas quanto exteroceptivas (estímulos olfativos, auditivos e visuais, por exemplo), que acabam por modificar sua atividade e estimular diversas regiões do sistema nervoso central (SNC) em resposta ao estímulo inicial, adequando a relação do animal com seu ambiente, modulando o comportamento social e/ou emocional e conjungando-o com alterações vegetativas e neuroendócrinas (KLING E BROTHERS, 1992; LEDOUX, 1982; QUIRK et al, 1995; DAVIS, 2000; RASIA-FILHO et al., 2000; KNAPSKA et al, 2007). Baseado em suas conexões intrínsecas e extrínsecas, Gallagher e Chiba (1996) sugeriram que a amígdala “não é somente importante para a regulação dos

estados emocionais internos que motivam comportamentos, mas pode também ser importante para a avaliação cognitiva do índice emocional de sinais perceptivos complexos”. De fato, em ratos, esses núcleos desempenham uma variedade de funções, incluindo a modulação de eventos emocionais (LeDoux, 1992), respostas a estímulos gerados por medo e ansiedade (QUIRK et al, 1995; DAVIS, 2000; CANTERAS et al., 1997; RASIA-FILHO, 2007) percepções de estímulos olfativos e hormonais (EVERITT, 1995) modulação do comportamento reprodutivo (KLING e BROTHERS, 1992; KONDO e ARAI, 1995; WOOD e NEWMAN, 1995; GUILLAMÓN e SEGOVIA, 1997; RASIA-FILHO et al., 2004.), comportamento agressivo (RASIA-FILHO, 2008) e participação na aquisição do aprendizado e da memória condicionada (IZQUIERDO e MEDINA, 1997; SWANSON e PRETOVICH, 1998; PITKÄNEN, 2000).

Amígdala Medial

Em ratos, a AMe é uma estrutura heterogênea e é um dos núcleos superficiais do complexo amigdaliano que, ao longo de sua extensão, está em contato direto com a região lateral do TO e ventral à estria terminal (ST) em sua parte mais posterior. A AMe encontra-se em posição medial e posterior ao núcleo do trato olfatório e, como limite posterior, localiza-se aproximadamente onde surgem os ventrículos cerebrais (de OLMOS et al., 2004). Dorsalmente a AMe é separada da porção medial da ACe por uma região pobre em células, a qual é substituída mais

ventralmente e caudalmente pelo BNST (ALHEID et al., 1995). Caudalmente, o grupo de núcleos intercalados (In) da amígdala separa a AMe da ABL. Também caudalmente, e em posição dorsal, grupos de fibras que trafegam pela ST apresentam-se interpostas entre a AMe e outros núcleos adjacentes da amígdala (ALHEID et al., 1995; PETROVICH et al., 2000; PITKÄNEN, 2000; de OLMOS et al., 2004).

Conforme Pitkänen (2000), a AMe poderia ser dividida em três regiões: 1) rostral; 2) central (porção dorsal e ventral) e, 3) caudal. Alheid et al. (1995), Canteras et al. (1995) e de Olmos et al. (2004) dividem-na nos subnúcleos ântero-dorsal (AMeAD), ântero-ventral (AMeAV), pósterodorsal (AMePD) e póstero-ventral (AMePV; Figura 2). E, em função de suas conexões, ela pode ser organizada em uma região rostral ou anterior, da qual fazem parte a AMeAD, AMeAV e AMePV, e uma região caudal ou posterior, constituída pela AMePD (CANTERAS et al, 1995, veja-se comentário crítico a esse respeito em Dall'Óglio et al., 2008a,b). Resultados mais recentes e achados hodológicos funcionais não permitem considerar a AMeAD e a AMePV como se fossem componentes de uma única região “ventral” (Dall'Óglio et al., 2008).

A AMePD, situada de forma adjacente ao TO e ventral à ST na parte do telencéfalo ventral (Figura 3), em cortes histológicos coronais corados pela técnica de Nissl aparece com a forma de um triângulo alongado, com uma base ventral

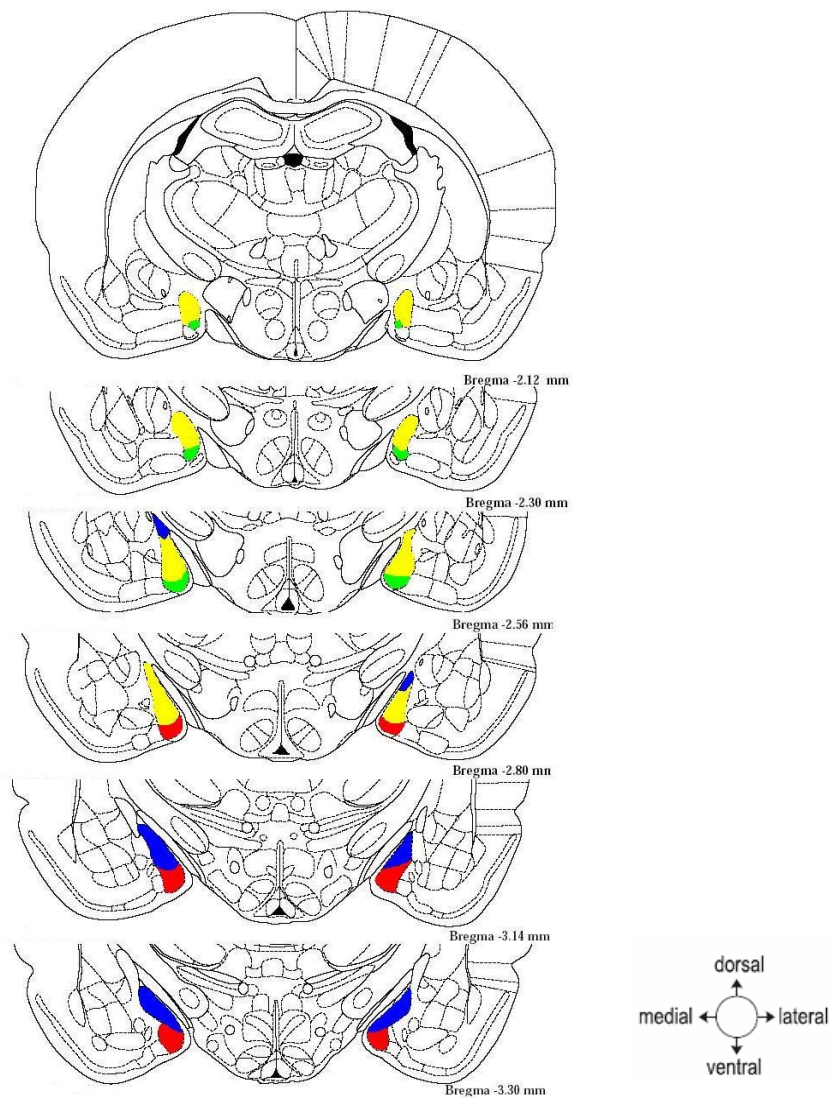


Figura 2: Representação esquemática de cortes coronais do encéfalo do rato onde se pode observar os quatro subnúcleos da amígdala medial, a saber: ântero-dorsal (AMeAD, em amarelo), ântero-ventral (AMeAV, em verde), póstero-dorsal (AMePD, em azul) e póstero-ventral (AMePV, em vermelho). Os valores em mm colocados no lado direito das imagens referem-se às distâncias posteriores ao bregma. As coordenadas espaciais referem-se ao hemisfério que aparece no lado direito e são dorsal (D), ventral (V), medial (M) e lateral (L). Figuras adaptadas do atlas do encéfalo do rato de PAXINOS e WATSON (1998), reproduzida com a autorização de QUAGLIOTTO (2006).

que se estende no terço caudal da AMe (ALHEID et al., 1995; de OLMOS et al., 2004). A AMePD apresenta, como característica citoarquitetônica, uma região de células densas medialmente, as quais se estendem superficialmente e profundamente, e que estão separadas por uma região intermediária de células esparsas e relativamente distantes de uma terceira coluna de células orientadas paralelamente e mais lateralmente já no bordo provável deste subnúcleo (ALHEID et al., 1995; de OLMOS et al., 2004; Figura 3). A parte celular da AMePD tem no contorno medial uma “camada molecular” constituída de poucas células e que se estreita dorsalmente e rostralmente até desaparecer por completo na AMeAD (de OLMOS et al., 2004). Esta “camada molecular” corresponde ao feixe de axônios que forma a via eferente do núcleo próprio da via olfatória acessória (de OLMOS et al., 2004) e que, de forma equivocada, foi incluída como constituinte da AMePD em estudo recente (GUIRADO et al., 2008).

A maioria das aferências neuronais que chegam aos subnúcleos da AMe são provenientes diretamente do AOB, que envolve estímulos de ferômonios que atuam no órgão vomeronasal (OTTERSEN et al., 1980; PITKÄNEN, 2000; WESTBERRY, 2003). Basicamente, demais aferências são provenientes do córtex cerebral pré-frontal, do BST e de vários núcleos do hipotálamo, algumas claramente recíprocas, envolvidos com a modulação da atividade neuroendócrina e da emissão de vários comportamentos como o sexual, o defensivo e o alimentar (McDONALD, 1998; PETROVICH et al., 2001; DONG et al., 2001; CHAI et al., 2005).

Há, também, aferências mais modestas de regiões do telencéfalo basal, as quais possuem conexões recíprocas com a AMe, e de núcleos do tálamo, da região dorsal da ponte relacionada com informações somáticas e viscerais, de grupos celulares da rafe mesencefálica e do locus ceruleus (JONES et al., 1977, 1999; AZMITIA et al., 1978; OTTERSEN et al., 1979,1980, 1981; GROOVE, 1988; OHTAKE et al., 1989; HERBERT et al., 1990; McDONALD, 1998; PITKÄNEN, 2000; KNAPSKA et al., 2007; Figura 3).

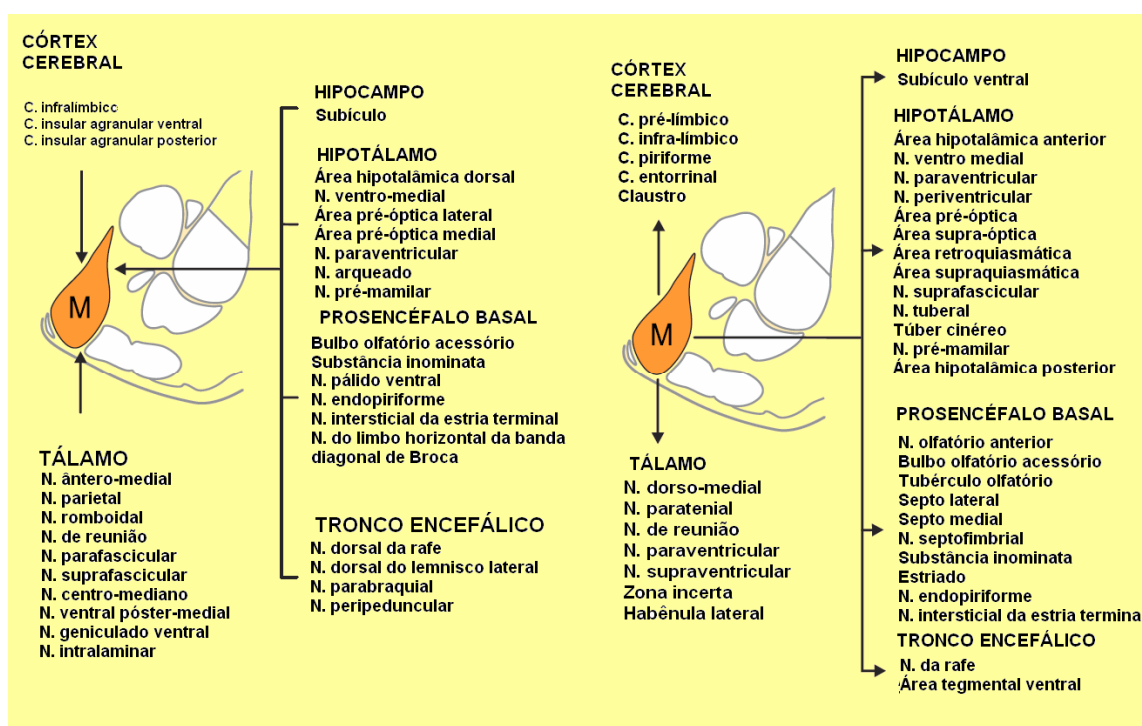


Figura 3: Conexões externas da AMe. Figura modificada de KNAPSKA (2007).

Grande parte dos axônios de projeção deixa a AMe via ST ou pela “ansa peduncularis” (via amígdalo-fugal) indo, a seguir, em direção a regiões telencefálicas ou diencefálicas. A AMeAD pode utilizar a “ansa peduncularis”, enquanto a AMePV e a AMePD valem-se da ST como via eferente proponderante (SWANSON et al., 1979; de OLMOS et al., 2004; SIMERLY, 2004). Para suas funções, os subnúcleos da AMe se relacionam com outros núcleos intra-amigdalianos, como a AA, a ACe, o ABL, os núcleos corticais, a AL, o núcleo posterior (zona de transição amígdala-hipocampal), a AAP e o trato olfatório acessório, e com uma grande quantidade de estruturas encefálicas como o AOB, núcleo olfatório anterior, córtex pré-frontal, córtex piriforme, núcleo endopiriforme, a faixa diagonal de Broca, o estriado e o claustró, o núcleo accumbens, a área septal, área entorrinal e o subículo, a substância inominata, o BST e seus componentes, vários núcleos hipotalâmicos (pré-óptico, anterior, ventro-medial, dorso-medial, lateral, arqueado, periventricular, posterior e pré-mamilar ventral), vários núcleos talâmicos, a área tegmental ventral e os núcleos da rafe (CANTERAS et al., 1995; McDONALD, 1998; PETROVICH et al., 2001; DONG et al., 2001; CAVALCANTE et al., 2006, Figura 3).

Outros dados imunocitoquímicos, Wood e Newman (1995) propuseram que a região anterior da AMe estaria principalmente sendo influenciada por informações olfativas e a região posterior, pelos hormônios gonadais. Essa divisão anátomo-funcional não é absolutamente restritiva, porque há receptores para esteróides sexuais e conexões sinápticas recíprocas em todas as regiões da AMe (LEHMAN et al., 1982; ÖSTERLUND et al., 1998; NEWMAN, 2002; SIMERLY, 2004). Não

obstante, as regiões anterior e posterior da AMe devem ser estudadas separadamente a fim de que particularidades tanto morfológicas quanto funcionais dos subnúcleos nessas duas porções possam ser melhor detectados. Isto é, ao contrário de identificar propriedades únicas para uma mesma estrutura heterogênea como é a AMe, com esse maior detalhamento é possível que diferenças sutis entre seus subnúcleos possam ser encontradas (LEHMAN et al., 1982; NEWMAN, 2002; MAREN, 1996; ÖSTERLUND et al., 1998; RASIA-FILHO et al., 1999, 2002, 2004a; SIMERLY, 2004; DALL'OGGIO et al., 2008a).

Os subnúcleos da AMe podem modular respostas a estímulos estressantes que são seguidas por respostas neuroendócrinas de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), como revisado em Marcuzzo et al. (2007). A presença de catecolaminas liberadas pela adrenal na circulação sanguínea em uma situação de estresse é percebida por terminações vagais que atingem o núcleo do trato solitário (NTS) e, deste, chegam ao complexo amigdaliano (McGAUGH et al., 1996). Isto modifica a ação da AMe e da ABL na consolidação de memórias condicionadas conjugando, em paralelo, atividades inatas e aprendidas (ALLEN et al., 1974; BENNETT et al., 1985; BEALIEU et al., 1987; AGLETON et al., 1989; McGAUGH, 1992). Isto foi notavelmente observado em situações emocionais como a exposição do animal ao seu predador natural (HARVEY et al., 1984; KLING et al., 1992; KNUEPFER et al., 1995; McGAUGH, 1992). Neste mesmo sentido, é interessante que a lesão da ACe, da AMe e do ACO em ratos aumentou a investigação social em seus próprios predadores (BLANCHARD et al., 1972) e gerou uma perda total da

retenção da informação necessária para a adaptação comportamental relacionada com a dominação social (BOLHUIS et al., 1984). Outros estudos verificaram que lesões excitotóxicas na AMe de ratos suprimem respostas do eixo HPA quando os animais são expostos a um evento estressor (isolamento social do animal estudado), bloqueando também a liberação de ocitocina nos núcleos supra-óptico e paraventricular do hipotálamo (MIYATA, 1995; DAYAS et al., 1999). Os achados deste último estudo mostram, de forma muito importante, 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).

A AMePD, além de ter conexão sináptica com a AL, a ABL e a ACe, estabelece conexões sinápticas recíprocas com o córtex entorrinal, o qual envia conexões para os componentes do sistema olfatório, inclusive a ABL (CANTERAS et al., 1995; SMITH et al., 1996; VINADER-CAEROLS et al., 1998; PETROVICH et al., 2001). Isso poderia colocar a AMePD em condição direta para modular o circuito que emite projeções entre o hipocampo, outros núcleos amigdalianos e a formação de memória declarativa de longa-duração, inclusive no que diz respeito a relações sociais como ocorre para a reprodução (CANTERAS et al., 1995; PETROVICH et al., 2001). Ainda, a AMePD é influenciada por informações vomeronasais provenientes do AOB que chega, primeiramente, na AMeAD (BRESSLER, 1996; GUILLAMÓN et al., 1997; McDONALD, 1998; MEREDITH e WESTBELLY, 2004). A AMePD, por sua vez, reconhece a relevância social do estímulo olfativo e, vias núcleos intercalados da amígdala, determinam se a AMePD será estimulada ou não (MEREDITH;

WESTBERRY, 2004). Essa aferência à AMePD envolve um componente direto excitatório e interneurônios locais inibitórios (BIAN et al., 2008), que, a seguir, ativam vias de projeção ao hipotálamo igualmente ou excitatórias ou inibitórias (CARRER et al., 1978; POLSTON et al., 2004; BIAN et al., 2008). Como resultante, a AMePD, processa informações olfatórias oriundas do órgão vomeronasal e do bulbo olfatório, e essas são enviadas para áreas motoras e neuroendócrinas envolvendo diferentes núcleos do hipotálamo e, a seguir, também para o tronco encefálico (LEHMAN et al., 1982; CANTERAS et al., 1995; KONDO et al., 1995; DOMÍNGUEZ et al., 2001; PETROVICH et al., 2001).

A AMe tem sido descrita como uma região moduladora da memória e do aprendizado onde o componente emocional esteja envolvido (ALLEN e ALLEN, 1974; AGGLETON E BLINT, 1989; SHINDOU et al, 1993; CANTERAS et al, 1995; WATANABE et al, 1995; ROOZENDAAL e MCGAUGH, 1996; RASIA-FILHO et al, 2000). Isso foi observado em testes de esquiva inibitório (ROOZENDAAL e McGaugh, 1996), nas respostas neuroendócrinas a um evento estressor (McGaugh, 1992; LU et al, 1995; DAYAS et al, 1999) e em uma série de testes de comportamentos sociais, tais como o agressivo (SLODDART-APTER et al, 1980; VOCHTELOO e KOOLHAAS, 1987; SIEGEL e BRUTS 1990; HINES et al, 1992; DIELENBERG et al, 2001), defensivo (SHAIKH et al, 1993; BOLHUIS, 1984), sexual (RASIA-FILHO et al, 1991; KONDO, 1992; WONG et al, 1993; MEISEL e SACHS, 1994; KONDO e ARAI, 1995; NEWMAN, 1999; DOMINGUEZ e HULL, 2001) e maternal (NUMAN et al, 1993; MORGAN et al, 1999; SHEEHAN et al, 2000).

O controle do comportamento reprodutivo também envolve a AMe e acredita-se que isto ocorra possivelmente a partir de estímulos olfativos (KLING & BROTHERS, 1992; KONDO e ARAI, 1995). Em ratos, aferências quimiossensoriais do bulbo olfativo e do órgão vomeronasal projetam-se para a AMe (LEHMAN e WINANS, 1982; KONDO, 1992; WONG et al, 1993; KONDO e ARAI, 1995; DOMÍNGUEZ e HULL, 2001). Esse núcleo por sua vez, processa tais informações olfativas e as envia, direta ou indiretamente BNST, para áreas motoras e neuroendócrinas do tronco encefálico, à área pré-óptica medial (MPOA) e outros núcleos hipotalâmicos associados (Figura 4) (LEHMAN e WINANS, 1982; CANTERAS et al, 1995; KONDO e ARAI, 1995; WOOD, 1997; DOMÍNGUEZ e HULL, 2001; PETROVICH et al, 2001). Informação sensorial dos genitais também estimulam à AMe via área tegmental central (ATC, também chamada de tegmento dorsolateral; SIMERLY e SWANSON, 1986; BAUM e EVERITT, 1992).

Em ratos, a AMe facilita as respostas comportamentais aos estímulos sexuais (HULL e DOMINGUEZ, 2002) . Sua atividade é mostrada em estudos que revelam padrões da expressão de c-fos após estímulos sexuais (KNAPSKA et al, 2007). Além disso, lesões nos subnúcleos da AMe afetam o comportamento sexual de ratos, produzindo diminuição da frequência de ejaculações, aumento do número de intromissões precedendo a primeira ejaculação e aumento do

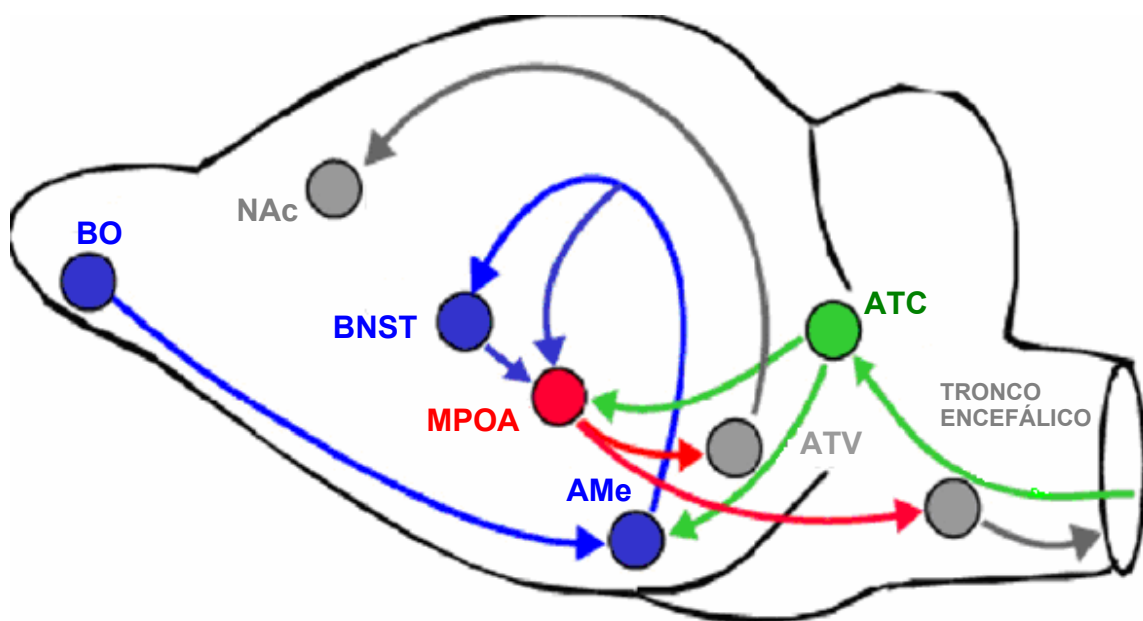


Figura 4: Esquema proposto para descrever a circuitaria neural envolvida no comportamento sexual de ratos. A estimulação olfativa é recebida pelo bulbo olfatório (BO) que projeta axônios para a amígdala medial (AMe). Esta reenvia a informação para o núcleo intersticial da estria terminal (BNST) e para a área pré-óptica medial (MPOA). Adicionalmente, a MPOA e a AMe recebem informações somatosensoriais via área tegmental central (ATC). Por sua vez, a MPOA projeta axônios para a área tegmental ventral (ATV), tronco encefálico e indiretamente ao núcleo accumbens (NAc; via ATV). Figura modificada de HULL e DOMINGUEZ (2006).

intervalo entre as intromissões, quando comparados com animais não lesionados (KONDO, 1992)

Estudos mais detalhados, contudo, sugerem que os subnúcleos da AMe apresentam diferentes papéis na regulação do comportamento sexual masculino

(NEWMAN, 1999; DOMINGUEZ et al, 2001; DE CASTILHOS et al., 2006). Ratos machos mostram ativação da AMePD, quando expostos a odores de uma fêmea em estro (HOSOKAWA e CHIBA, 2005; KNAPSKA et al, 2007). Além disso, expressão da proteína Fos na AMePD foi demonstrada em ratos, hamsters e gerbilos quando retornam a ambientes associados com atividade sexual prévia, demonstrando que a AMePD parece estar presente nos aspectos iniciais do comportamento sexual (investigar genitais, por exemplo) e na formação de memória social para a reprodução (HEEB e YAHR, 1996, 2000; KOLLACK e NEWMAN, 1997). Outros estudos também demonstram a participação da AMePD de machos em atividades como investigação genital para identificação de receptividade sexual feminina, montas, intromissões e, sobretudo, na ejaculação (COLLEN, 1996; HEEB e YAHR, 2000). Ratos com lesão na AMePD apresentaram decréscimo na investigação genital, na frequência de montas e um aumento na latência para ejaculação e intromissões precedendo a primeira ejaculação (NEWMAN, 1999; HEEB e YAHR, 2000; DOMINGUEZ et al, 2001), Coolen et al (1996) demonstraram que subregiões da AMePD estão envolvidas nos diferentes aspectos o comportamento copulatório masculino. Isto fica evidente quando ocorre a ativação de parte mais medial da AMePD (próximo ao TO) relacionada com intromissões sem ejaculação e a ativação de parte mais lateral da AMePD gerada da ocorrência de ejaculação (COOLEN et al, 1996; VEENING e COLLEN, 1998, 2005). A investigação genital também estimula a parte medial da AMePD quando ratos e hamsters são expostos a odores de fêmeas em estro (HEEB e YAHR, 2000). Esta ativação é prevenida quando ocorre a retirada do órgão vomeronasal, demonstrando que a parte medial da AMePD pode envolver um processamento de informações sensoriais complexos, de feromônios e de

aferências sensoriais somáticas, provenientes da área genital (FERNANDEZ–FEWELL, 1994). A parte caudal da AMePD também pode estar relacionada à saciedade sexual (PARFITT e NEWMAN, 1998), sugerindo que esta subregião da AMePD pode estar envolvida na inibição do comportamento sexual (PFAUS, 1999). Ocorre, no entanto, que este tópico ainda está sob investigação e carece de mais dados experimentais quanto à base neurofisiológica de sua ocorrência. Em parte, a presente dissertação procurará abordar alguns desses aspectos e a modulação neuroquímica inibitória do comportamento sexual masculino pela AmePD.

Comportamento Sexual

A seqüência de comportamentos sexuais em ratos machos ocorre, preferentemente, durante o período escuro do dia (HARLAN et al, 1980) e inicia pela atividade pré-copulatória de investigar os genitais da fêmea (RASIA-FILHO, 1994; HULL e DOMINGUEZ, 2007). Machos virgens dispendem um tempo (latência) maior para investigação olfativa da região genital da rata, enquanto, com machos sexualmente experientes, é freqüente constatar que a latência para esse comportamento é muito pequena, ou mesmo não é realizado (SACHS e MEISEL, 1988).

Conforme descrição prévia (RASIA-FILHO, 1994), a atividade copulatória do macho inicia-se quando este coloca suas patas dianteiras no dorso da fêmea. A rata,

por sua vez, responde com exacerbação da lordose lombar e deslocando sua cauda para um dos lados, expondo seus genitais. Tal atividade do macho é denominada de monta. A atividade de monta pode estar ou não associada a movimentos pélvicos. A monta com movimentos pélvicos se caracteriza por movimentos rápidos (HULL e DOMINGUEZ, 2007). Nessa situação, se o pênis do rato consegue penetrar a vagina da fêmea, ele realiza movimentos profundos, que duram 200-300 ms, e que são seguidas de movimento de “desmonta” rápida e nítida (BEYER et al, 1981; HULL e DOMINGUEZ, 2007). Tal comportamento passa a ser chamado de “intromissão”. Como a visualização direta da penetração peniana é difícil nas situações habituais de observação dos animais, o termo intromissão se refere aos padrões motores associados à provável ocorrência da penetração peniana (RASIA-FILHO, 1994; RASIA-FILHO e LUCION, 1996). Normalmente, as montas e intromissões iniciam-se poucos segundos após a colocação de uma fêmea com um macho, e tal atividade copulatória ocorre em séries de contatos genitais que são intercalados por períodos de separação completa entre os parceiros. Nesse intervalo, os machos promovem limpeza de seus genitais ou do restante do corpo e continuam com a exploração do ambiente onde se encontram. Após várias intromissões (em média de 7-10 intromissões) ocorre uma ejaculação, que, sob o ponto de vista comportamental, caracteriza-se por uma intromissão mais profunda e demorada (750-2000 ms) que é acompanhada da abdução das patas dianteiras do macho e de uma desmonta lenta (BEYER et al, 1981; RASIA-FILHO, 1994; HULL e DOMINGUEZ, 2007). Segue-se a isso um período onde o rato não apresenta atividade copulatória por cerca de 4 a 8 minutos, chamado de período refratário pós-ejaculatório, que termina quando ocorre nova monta ou intromissão (RASIA-FILHO, 1994; RASIA-FILHO e LUCION, 1996).

Durante os primeiros 50-75% do período refratário, o macho não copulará novamente e emitirá vocalizações ultrassônicas de 22 KHz (HULL e DOMINGUEZ, 2007). Após 7-8 ejaculações, os ratos machos alcançam a saciedade e usualmente não copulam novamente por 1 a 3 dias (HULL e DOMINGUEZ, 2007). Um modelo esquemático de registro do comportamento de atividade copulatória de ratos machos ao longo do tempo está representado na Figura 5.

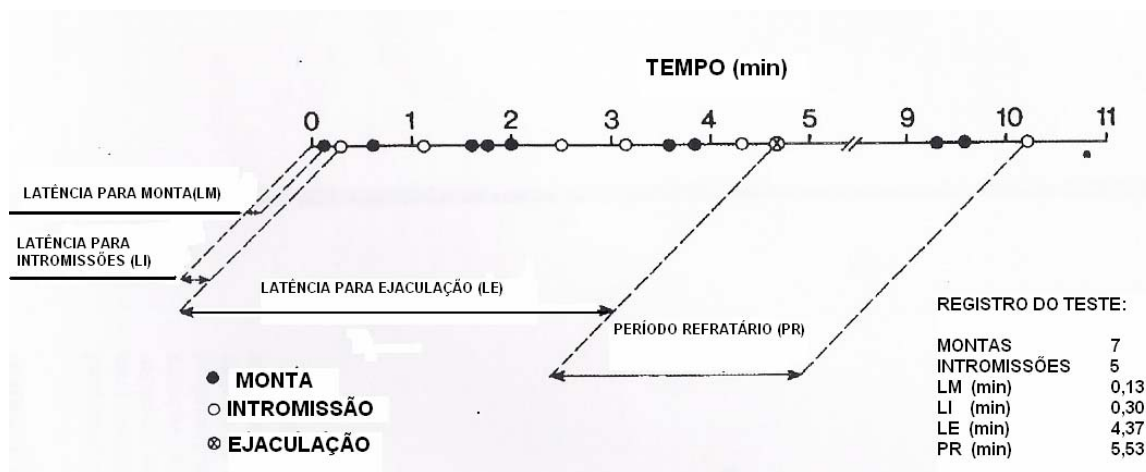


Figura 5: Representação esquemática para exemplificar um registro comportamental da atividade sexual de ratos machos ao longo de vários minutos após contato com uma fêmea adulta receptiva. Figura modificada de LARSSON e AHLENIUS (1997).

A fêmea, por sua vez, é capaz de interferir na atividade copulatória do macho (MADLAFOUSEK et al, 1976; MCCLINTOCK e ADLER, 1978). As ratas demonstram sua receptividade por seqüências comportamentais que incluem investigação dos genitais do macho, pequenas corridas e pulos dentro da caixa, vocalizações, exposição de partes do corpo ao macho e contatos físicos efêmeros. Para o estudo da atividade sexual do macho é necessário, portanto, que a fêmea esteja

sexualmente receptiva, ou seja, que aceite o macho para atividade reprodutiva (EDWARDS, 1970; RASIA-FILHO, 1994).

Tanto a investigação genital como a latência para que ocorra a primeira monta são parâmetros para avaliação da atividade pré-copulatória e isso dá idéia da “motivação” do macho para o comportamento sexual (BAUM, 1992; RASIA-FILHO, 1994). A medida da atividade copulatória envolve a latência para a primeira intromissão e ejaculação, as freqüências de montas com e sem movimentos pélvicos e de intromissões durante um determinado tempo, além do período de inatividade sexual após a ejaculação (SACHS e MEISEL, 1988; RASIA-FILHO, 1994). Dessa maneira, alguns conceitos são importantes para que se possa entender adequadamente o comportamento sexual de ratos machos. Por exemplo, em animais intactos, denomina-se “facilitação” do comportamento sexual quando: a) ocorre diminuição do número de montas, do número de intromissões ou do intervalo de tempo entre as intromissões que precedem a ejaculação; b) quando há redução na latência para ejaculação ou maior freqüência de ejaculações em determinado período de tempo; e c) quando se reduz a duração do período pós-ejaculatório.

Para avaliar adequadamente o comportamento sexual, deve-se estabelecer a relação entre o tempo de registro do comportamento e as atividades que devem ser observadas. Dois tipos de registro podem ser feitos: os que limitam a duração da sessão de observação pela ocorrência de uma seqüência comportamental e os que limitam a observação por um tempo pré-determinado. Na primeira abordagem, os animais podem demorar muito tempo para realizar determinado comportamento e,

com isso, o experimento corre o risco de se tornar bastante cansativo e pouco produtivo. Pelo último método, dados incompletos e conclusões inadequadas podem ser obtidos se o tempo de aquisição for insuficiente. Como habitualmente, ratos ejaculam cerca de 10 a 20 minutos após o contato inicial com a fêmea e o período de inatividade sexual pós-ejaculatória é (na maioria dos ratos) de no máximo 8 minutos, registros de 30 minutos são geralmente adequados (RASIA-FILHO, 1994; RASIA-FILHO e LUCION, 1996).

O ÁCIDO GAMA-AMINO BUTÍRICO (GABA)

O neurotransmissor clássico ácido gama-aminobutírico (GABA; Figura 6) atua como maior transmissor inibitório no SNC de mamíferos adultos (OLSEN e BETZ, 2006). A molécula de glicose é o principal precursor do GABA. O primeiro passo para a formação do GABA é a transaminação do α -cetoglutarato, formado pelo metabolismo da glicose no ciclo de Krebs, pela α -oxoglutarato transaminase (GABA-T), isto fará glutamato. A ácido glutâmico descarboxilase (GAD) atua sobre o glutamato, catalizando a descarboxilação do mesmo, para formar o GABA. As formas GAD₆₅ e GAD₆₇ servem como marcadores para células que produzem GABA no SNC (OLSEN, 2006). O GABA é metabolizado pela GABA-T formando succinato semialdeído. Para manter a síntese de GABA, a transaminação ocorre quando está presente o α -cetoglutarato, que pode usar o grupo amino removido do próprio GABA. A liberação de GABA dentro da fenda sináptica é estimulada por despolarização do elemento pré-sináptico. A difusão de GABA na fenda possui o

objetivo de atingir receptores específicos, sendo a sua ação encerrada por recaptação pelos axônios terminais pré-sinápticos e células gliais (OLSEN E BETZ, 2006). No entanto, Existem três tipos de receptores para GABA, chamados de 1) GABA_A, 2) GABA_B e 3) GABA_C (ENZ, 2001; OLSEN E BETZ, 2006). Eles se diferenciam pelas suas propriedades farmacológicas, eletrofisiológicas e bioquímicas.

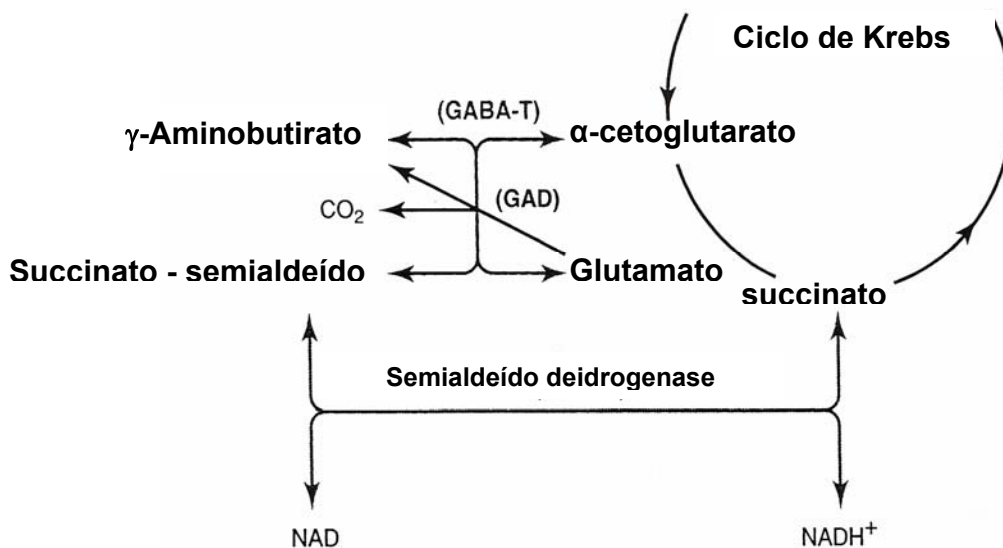


Figura 6: Reações responsáveis pela a síntese, conservação e metabolismo do GABA. Modificado de OLSEN (2006).

Receptores GABA_A estão diretamente ligados a um canal seletivo para íons Cl⁻. O GABA_A media a condução deste íon através da membrana, promovendo hiperpolarização da membrana celular. O receptor GABA_B age sobre os canais da membrana indiretamente via proteína G. A sua ação está na abertura específica de canais de K⁺ para redução da voltagem neuronal e são encontrados também em

terminais pré-sinápticos, onde devem modular a transmissão sináptica. (OLSEN e BETZ, 2006). Receptores GABA_C foram encontrados na medula espinhal dorsal (JOHNSTON et al., 1975; DREW et al., 1984; NISTRÌ e SIVILOTTI, 1985, 1989; DREW e JOHNSTON, 1992; STRATA e CHERUBINI, 1994), na retina de mamíferos (POLENZANI et al., 1991; WOODWARD et al., 1992, 1993; ENZ, 2001) e no complexo amigdalóide (ANDREW et al.; 2001). Do mesmo modo que os receptores GABA_A, os receptores GABA_C são ionotrópicos e promovem a condutância dos íons Cl⁻ (ENZ, 2001)

O papel dos tipos de receptores do GABA no controle do comportamento sexual foram analisados em estudos farmacológicos prévios. Por exemplo, a administração intraperitoneal de 6,7-tetrahydroisozaxolone [5,4c]-pyridin-3-ol (THIP), um agonista dos receptores GABA_A, inibe o comportamento sexual de ratos, embora, este efeito inibitório não foi bloqueado pela administração simultânea de bicuculina, antagonista dos mesmos tipos de receptores (AGMO e PAREDES, 1985). Além disso, a estimulação específica de receptores GABA_A inibiu o comportamento sexual somente com doses que também reduziram muito o comportamento exploratório (PAREDES et al, 1998). Estes dados sugerem a hipótese que o receptor GABA_A poderia não estar envolvido diretamente no comportamento sexual masculino (AGMO e PAREDES, 1985; PAREDES et al, 1998). Por outro lado, a estimulação de receptores GABA_B por baclofen, agonista dos receptores GABA_B, em altas doses reduz a ocorrência do comportamento sexual masculino (AGMO e PAREDES, 1985). Tais dados indicam que receptores GABA_B poderiam ser os principais responsáveis por ações inibitórias nesse comportamento (AGMO e GIORDINO, 1985). Paredes e

Agmo (1989) demonstraram que a administração de baclofen inibiu o comportamento sexual sem modificar interações sociais ou comportamento exploratório. Baclofen também foi capaz de inibir o reflexo peniano durante a cópula (LEIPHEIMER E SACHS, 1988; BITRAN et al, 1989). Mas, o uso de CGP35348, um antagonista dos receptores GABA_B, bloqueou os efeitos do baclofen sobre o comportamento sexual e se mostrou sem efeito sobre o mesmo comportamento quando administrado sozinho (PAREDES e AGMO e, 1995). Estes resultados tornam incerto o controle fisiológico do receptor GABA_B sobre o comportamento sexual, parecendo que a ação inibitória de baclofen sobre este comportamento em ratos machos se dá quando em nível farmacológico, mas não fisiológico, pois do contrário, a desativação dos receptores GABA_B pelo seu antagonista poderia estimular o comportamento sexual, o que não ocorreu.

Alternativamente, a observação de que concentrações de GABA no líquido céfalo-raquidiano de ratos aumentou após ejaculação sugere que o GABA está relacionado à inibição do comportamento pós-ejaculatório (QURESHI e SÖDERSTEN, 1986). Antagonistas dos receptores do GABA, quando injetadas na MPOA, estimularam a atividade sexual masculina em ratos, reforçando a idéia que o sistema gabaérgico pode exercer uma função inibitória sobre tal comportamento (FERNANDEZ-GUASTI et al, 1985). Microinjeções de muscimol, agonista total dos receptores GABA_A, na MPOA gerou uma forte inibição dos comportamentos de monta e intromissão e na latência para a ejaculação quando comparado com ratos injetados com solução fisiológica (FERNÁNDEZ-GUASTI, et al., 1986; SIMMONS e

YAHR, 2003). Injeções de bicuculina na MPOA foram capazes de diminuir a latência para a ejaculação e a frequência de intromissões (FERNANDEZ-GUASTI et al, 1985).

Nitecka (1987) demonstrou que células e fibras nervosas localizadas em todos núcleos amigdalóides apresentam imunoreatividade a GAD. O complexo amigdalóide é rico em neurônios imunorreativos ao GABA e de seus receptores (OTTERSEN et al., 1986; NITECKA e BEM-ARI, 1987; McDONALD e PEARSON, 1989; PARÉ e SMITH, 1993). Estudos revelaram a existência de dimorfismo sexual no número desses neurônios, fêmeas possuindo maior número de células imunoreativas ao GABA nos núcleos medial, cortical, central e basolateral do que machos (STEFANOVA, 1998). Evidências anatômicas em conjunto com dados eletrofisiológicos sugerem que projeções extrínsecas de núcleos central e medial são predominantemente gabaérgicos (SWANSON e PETROVICH, 1998; POLSTON et al., 2004). Já está relatado na literatura que a microinjeção de 8-OH-DPAT, agonista dos receptores 5-HT_{1A} da serotonina diretamente na AMePD direita é capaz de modificar a atividade copulatória de ratos (de CASTILHOS, et al, 2006), mas não há nenhum dado na literatura do efeito da microinjeção de GABA na AMePD e sua repercussão na atividade copulatória de machos, sendo esse portanto, um dos objetivos desta dissertação.

A SOMATOSTATINA

Somatostatina (Figura 7) é um polipeptídeo cíclico proveniente como um pré-própeptídeo do qual derivam duas isoformas biologicamente ativas, um tetradecapeptídeo (SOM-14) e sua forma N-terminal extendida (SOM-28) tendo suas ações mediadas por receptores com alta afinidade acoplados à proteína G (SRIKANT & PATEL, 1981; SELMER et al, 2000; OLIAS et al, 2004; MEIS et al, 2005). Em mamíferos, seis distintos subtipos de receptores para somatostatina,

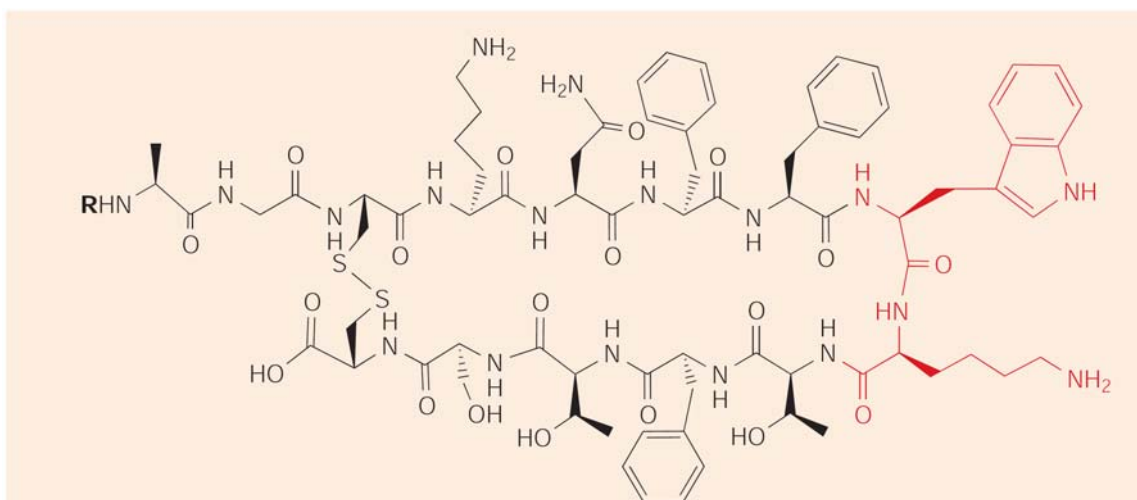


Figura 7: Estrutura molecular dos agonistas naturais de somatostatina SOM – 14 e SOM-28. Figura modificada de WECKBECKER (2003).

denominados sst_1 , sst_{2A} , sst_{2B} , sst_3 , sst_4 e sst_5 , têm sido identificados por tecnologias de DNA recombinante (BRUNO et al, 1992; MEYERHOF et al, 1992; O'CARROL et al, 1992; YAMADA et al, 1992). A seqüência da sinalização intercelular via ativação da proteína G acoplada nos receptores da somatostatina é complexa

(WECKBECKER et al., 2003) e envolve basicamente três enzimas chaves: adenilciclase, fosfotirosine fosfatase (PTPase) e proteinoquinase ativada por mitógenos (MAPK) (WECKBECKER et al., 2003). Essas enzimas são moduladas por mudanças nos níveis intracelulares dos íons cálcio e potássio (WECKBECKER et al., 2003). Dentre eles, sst_1 , sst_2 , sst_3 e sst_5 são altamente expressos na amígdala de ratos (KONG et al, 1994; BREDER et al, 1992; PEREZ et al, 1994; SENARIS et al, 1994; RAULF et al, 1994; STROH et al, 1999). Mais precisamente, na AMe, encontram-se moderados níveis de sst_{2A} (DOURNAUD et al, 1998).

A Somatostatina é, particularmente, abundante na amígdala, habênula, septo, tubérculo olfatório e no hipocampo; com níveis intermediários no córtex cerebral, estriado e substância nigra (SCHINDLER et al,1996); e baixos, no cerebelo e no bulbo olfatório (EPELBAUM, 1986). Na amígdala de ratos, altos níveis de somatostatina foram detectados por estudos radioimunológicos (BENOIT et al, 1982). Em ratos, muitos neurônios não-piramidais da amígdala apresentam imunorreatividade para somatostatina (McDONALD & PEARSON, 1989), assim como, vários interneurônios locais (ROBERTS et al, 1982). De fato, somatostatina está distribuída por todo o complexo amigdaliano com alguns núcleos apresentando altas concentrações de somatostatina (LEROUX et al, 1993). Além disso, a amígdala é ricamente innervada por numerosos terminais nervosos aferentes imunorreativos à somatostatina (ROBERTS et al, 1982) tendo um efeito inibitório sobre a secreção do hormônio do crescimento a partir da hipófise anterior (BRAZEAU et al, 1973; BERTHERAT et al, 1995). A partir de diversos estudos histoquímicos demonstram-se a presença de somatostatina em diversos neurônios

do SNC, sugerindo uma função neurotransmissora e/ou neuromodulatória desse peptídeo (SCHINDLER et al, 1996; MARCOS et al, 1998) com funções neuroendócrinas e comportamentais (TANNENBAUM, 1985; EPELBAUM et al, 1994). Entre suas ações neurofisiológicas estão incluídas a modulação de canais de K^+ (SCHARFMAN & SCHWARTZKROIN, 1988; SCHWEITZER et al, 1993) e de Ca^{++} em neurônios do SNC (SAH, 1990; WANG et al, 1990; ISHIBASHI & AKAIKE, 1995) e do periférico (IKEDA & SCHOFIEL, 1989; BEECH et al, 1992; GOLARD & SIEGELBAUM, 1993; SHAPIRO & HILLE, 1993, MERINEY et al, 1994). A liberação de somatostatina de neurônios e células secretoras depende usualmente de despolarização da membrana ou do aumento da concentração citosólica de Ca^{++} , sendo desencadeada por diversos secretagogos, incluindo-se diversos íons, hormônios e fatores de crescimento e (PATEL, 1999). A liberação de somatostatina é afetada por uma variedade de transmissores químicos incluindo dopamina, acetilcolina, GABA (CHIHARA et al, 1979), serotonina ou também do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF) (KAKIGI & MAEDA, 1992) enquanto ela é capaz de modificar a liberação de diversos neurotransmissores em diferentes áreas do SNC (SCHINDLER, 1999), como por exemplo, inibindo a saída de noradrenalina à fenda sináptica em núcleos do hipotálamo de ratos (GÖTHERT, 1980). A ação da somatostatina é, no entanto, complexa, pois ela também promove a liberação de dopamina do estriado (CHESSELET & REISINE, 1983; HATHWAY et al, 1998), noradrenalina no córtex cerebral e de serotonina em porções corticais cerebrais, hipocâmpais e hipotalâmicas de ratos (TANAKA & TSUJIMOTO, 1981). A somatostatina nos diversos núcleos amigdalóides pode funcionar como um neurotransmissor inibitório, já que sua microinjeção diretamente na amígdala

preveni a propagação de convulsões temporais (HIGUCHI et al, 1986). Foi também demonstrado que a somatostatina é, freqüentemente, co-liberada juntamente com o GABA em neurônios hipocampais ou terminais axonais da amígdala basolateral ou central de ratos (VEZZANI & HOYER, 1999; McDONALD & MASCAGNI, 2002; SAHA et al, 2002). Estudos mostram que a grande maioria dos neurônios somatostatinérgicos na BLA exibe imreatividade ao GABA (66-82% dependendo do subnúcleo; MCDONALD e MASCAGNI, 2002) Nos neurônios da AMe a somatostatina exerce ação inibitória, atuando diretamente sobre seus receptores ou indiretamente envolvendo sinapses gabaérgicas via receptores GABA_A (LU et al, 1995). A relação da somatostatina na modulação do comportamento sexual de ratos é desconhecida até o presente momento, sendo esse é o segundo objetivo específico desta dissertação.

A HISTAMINA

A histamina é liberada de neurônios localizados exclusivamente no núcleo tuberomamilar do hipotálamo e emitem projeções para praticamente todas as regiões do encéfalo e parte da medula espinhal (PANULA et al., 1984; WATANABE et al., 1984; BROWN et al., 2000). Duas vias ascendentes e uma via descendente foram identificadas a partir deste núcleo hipotalâmico (PANULA et al., 1989). as vias ascendentes ventrais permanecem sobre a superfície do cérebro, fornecendo

inervação para hipotálamo, banda diagonal de Broca, área septal e bulbo olfatório, enquanto a via dorsal deixa, segue o lado lateral do terceiro ventrículo para inervar o tálamo, o hipocampo, a amígdala e estruturas rostrais do cérebro (BROWN et al., 2000; HOUGH e LEURS, 2006)

Como revisado por Hough e Leurs (2006) a histamina é sintetizada a partir da descarboxilação do aminoácido L-histidina pela enzima histidina descarboxilase. Isoladamente não existe nenhum mecanismo de captação para a histamina, sendo sua ação interrompida por metilação enzimática. Quando o sistema de recaptação para a histamina encontra-se na menor ação, é necessária a atividade complementar da enzima histamina N-metiltransferase para catabolização em em telemetil-histamina. A telemetil-histamina é degradada pelo ácido telemetilimidazoleacético pela ação da combinação da monoamina-oxidase e do aldeído desidrogenase.

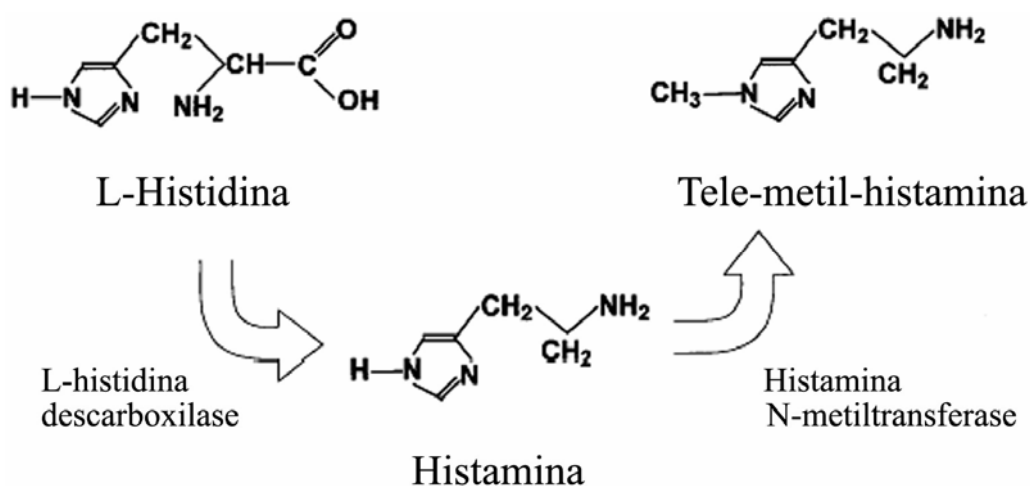


Figura 8: Representação esquemática da síntese da histamina (lado esquerdo da figura) e de sua degradação (lado direito da figura) no sistema nervoso de mamíferos. As substâncias precursora e final estão no topo da figura e as enzimas necessárias para as etapas bioquímicas na sua parte inferior. Adaptada de BROWN et al. (2000).

A histamina possui 4 tipos de receptores, nomeados de H₁-H₄ (ALVAREZ e RUARTE, 2002; BACCIOTTINI et al., 2002; CANGIOLI et al., 2002). a síntese e a liberação da histamina estão sob do controle da atividade do neurônio pré-sináptico, quer seja pela frequência de potenciais de ação, quer seja pela atividade do autoreceptor inibitório H₃, localizados no soma e terminais dos axônios de neurônios histaminérgicos (ARRANG et al., 1983; ITOH et al., 1991; PRAST et al., 1994b). Outros mecanismos estão igualmente descritos, como é o caso da liberação da HA em regiões alvo ser afetada pela ação inibitória muscarínica M₁ (GULAT MARNAY et al., 1989b; ARRANG et al., 1991; PRAST et al., 1994b), por α₂-adrenoreceptores (GULAT MARNAY et al., 1989a; ARRANG et al., 1991; PRAST et al., 1991), pelos receptores 5HT_{1A} (OISHI et al., 1992), pelos receptores opióides κ e μ ou pelos receptores para galanina (ARRANG et al., 1991), assim como pelo controle excitatório executado pelos receptores μ-opióides (ITOH et al., 1988a). Ativado por si mesma, a histamina parece atuar inibindo correntes de influxo de Ca⁺⁺ e reduzindo a frequência e a amplitude de potenciais de ação em suas células/territórios alvos (TAKESHITA et al., 1998) Está, no entanto, esta ação na dependência do tipo de receptor, densidade e afinidade em cada região a ser inervada pelos terminais histaminérgicos (HOUGH e LEURS, 2006). A alta densidade de receptores H₁ está

presente em núcleos do hipotálamo, AMe e áreas do hipocampo, núcleo accumbens, camada molecular do córtex cerebelar, área prostroma e núcleo do trato solitário no bulbo (BROWN et al., 2000; TAKESHITA; SAKATA; MUNAKATA; TISHIBASHI; AKAIKE et al., 1988; SCHWARTZ; et al., 1991; FOLKOW, B.; HALLBÄCK-NORLANDER, M.; MARTNER, J.; NORDBORG, C., 1982). Ativação dos receptores H₁ promove despolarização e aumento da frequência de potenciais de ação em neurônios-alvo no tálamo ou no córtex cerebral (HASS, 1992; BROWN, et al., 2000). Hiperpolarização ou depressão na frequência de potenciais de ação mediados por receptores H₁ no hipocampo já foram descritos (HAAS, 1981; HAAS et al., 1991), no entanto, possivelmente por um mecanismo de ação envolvendo a ativação de condutância do K⁺ (WEIGER et al., 1997). Altas densidades do receptor de tipo H₂ são encontradas nos núcleos da base, no hipocampo e na formação parahipocampal e na amígdala (TRAIFFORT et al., 1992; VIZUETE et al., 1997; BROWN et al., 2000). Uma hipotética ação desses receptores na amígdala seria a de aumentar a liberação local de glutamato (HUANE et al., 1996). Os receptores H₃ são autoreceptores inibitórios sobre o neurônio pré-sináptico e regula a liberação da histamina, uma ação possivelmente mediada por uma redução do influxo de cálcio através dos canais de cálcio tipo N, nas terminações nervosas (BROWN et al., 2000). Altas densidades de receptores H₃ são encontradas no núcleo accumbens, estriado, tubérculo olfatório, substância nigra, ACe. ABL e AL e moderadamente na AMe (RYU et al., 1995; HONRUBIA et al., 2000; KARISTEDT et al., 2001; BROWN et al., 2000). O perfil farmacológico do receptor H₄ é muito similar com o receptor H₃ (ODA et al., 2000; LIU et al., 2001), embora não tenha sido encontrado na amígdala (HOUGH e LEURS, 2006).

Dentre outras ações, a histamina está envolvida no comportamento alimentar, na termorregulação, na atividade locomotora e no mecanismo de sono e vigília (BROWN, 2000; HOUGH e LEURS, 2006), ou estimula a liberação de pré-opiomelanocortina (POMC), peptídeo precursor dos hormônios adrenocorticotrófico (ACTH), β -endorfina, β -lipotropina e α -melanocortina (α -MSH), assim como na liberação de vasopressina, ocitocina e prolactina (BUGAJSKI and GADEK, 1983; BUGAJSKI and JANUSZ, 1983; KNIGGE et al., 1986, 1987, 1988c; KJAER et al., 1992a; KAMEI et al., 1993b; TSUJIMOTO et al., 1993a,b; KJAER et al., 1994b,c; KNIGGE et al., 1995). Ao contrário, a histamina possui uma ação inibitória sobre a liberação de tireotrofina e do hormônio do crescimento (NETTI et al., 1982; TUOMINEN et al., 1983, 1985; NETTI et al., 1993; GRILLI et al., 1996). Assim, a histamina, dependendo da concentração no sítio pós-sináptico e no tipo de receptor que irá atuar, tanto pode aumentar como diminuir a transmissão sináptica excitatória sobre a amígdala via receptores H₃ pré-sinápticos (JIANG et al., 2005).

Infelizmente, a relação da histamina com o comportamento sexual de ratos ainda é pouco conhecida. Par et al (2003) demonstrou que o acasalamento entre camundongos nocaute para L- histidine decarboxilase não gerou gestação das fêmeas em trinta dias, mas quando os machos nocaute eram substituídos por camundongos normais, a gestação ocorria normalmente. Este dado demonstra que a histamina é essencial para a reprodução, possuindo um papel importante no comportamento sexual de machos ou na sua fertilidade (PAR et al, 2003). Além disso, a administração intracerebroventricular de um inibidor da síntese de histamina

e de fármacos anti-histamínicos, antagonistas dos receptores H₁, reduziram a receptividade sexual em ratas (DONOSO e BROITMAN, 1979). Ratos expostos à difenidramina, fármaco anti-histamínico capaz de bloquear receptores do tipo H₁, durante o período pré-natal, apresentaram alterações no comportamento sexual de fêmeas e machos na fase adulta. Ou seja, as fêmeas apresentaram um aumento no quociente de lordose, enquanto os machos diminuíram o número de ejaculações até 30 minutos após a primeira intromissão, aumentando a latência para a ejaculação e o número de montas feitas pelo macho na fêmea (CHIAVEGATTO et al., 1989). Não está descrito o que ocorre quando a histamina é microinjetada na AmePD sobre o comportamento sexual de ratos machos. Como o GABA, a somatostatina e a histamina podem exercer ações inibitórias, as primeiras hipóteses de trabalho desta dissertação foram neste sentido. Como será descrito nos resultados e na discussão. Esforços adicionais foram necessários para conciliar os dados obtidos com tais hipóteses.

OBJETIVOS

Geral: Busca-se avançar nos conhecimentos a respeito da participação de uma área específica do SNC, a AMePD, de ratos machos e a contribuição de diferentes transmissores químicos na modulação do comportamento sexual.

Específico: Verificar o efeito das microinjeções de GABA, somatostatina e histamina na AmePD para avaliar os diferentes parâmetros do comportamento sexual de ratos machos adultos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 25 ratos Wistar machos com cerca de 3 meses de idade, pesando entre 290 g e 350 g , provenientes do biotério da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Os animais foram mantidos em grupos, com 3-4 ratos por caixa, em ambiente com temperatura de cerca de 22° C e ciclo claro/escuro de 12 horas cada (as luzes permaneciam acesas das 5 h às 17 h). Água e comida foram oferecidas à vontade. Antes de iniciar os experimentos, permitia-se o acasalamento dos machos com fêmeas adultas durante três semanas para aquisição de experiência sexual. Fora deste período, os machos permaneciam sem a presença de fêmeas em suas respectivas caixas de criação.

Foram utilizados 15 ratas Wistar fêmeas, pesando entre 250 g e 300 g. As fêmeas Wistar utilizadas para o registro do comportamento sexual tinham cerca de 3

meses de idade no início do experimento e eram mantidas sob as mesmas condições de criação que os machos. As ratas eram inicialmente ovariectomizadas e, eram induzidas à receptividade sexual por injeção subcutânea seqüencial de cipionato de estradiol (Ginestrol, Köning), na dose de 10 µg, e de acetato de midroxiprogesterona/ciopnato de estradiol (Cyclofemina, Millet Roux), na dose de 500 µg (48h e 6h antes do teste com os machos, respectivamente). Previamente à observação e registro comportamental, as fêmeas eram testadas com machos com alta atividade sexual, utilizando-se no experimento somente aquelas em que o comportamento de “lordose” era bastante nítido e freqüente.

Ambiente Experimental

Somente para o registro do comportamento sexual, os ratos foram colocados em caixas de observação com 50 x 50 x 35 cm de tamanho. Tais caixas tinham suas paredes transparentes de modo a permitir a total visualização dos animais. Os registros da atividade sexual eram realizados nas caixas de observação durante as primeiras horas do período escuro, de acordo com Rasia-Filho (1994). Ou seja, os ratos eram trazidos do biotério e permaneciam durante uma hora no local de experimentação onde seriam realizados os registros para sua adaptação. Após este período, eram iniciados os registros do comportamento sexual, o que ocorria a partir das 18 h e 30 min. Todos os experimentos eram filmados para posterior verificação dos resultados. Durante toda duração do experimento o ambiente era iluminado com

luz vermelha e mantinha-se silêncio para evitar que fatores ambientais interferissem nos resultados obtidos.

Registro Comportamental

Inicialmente, cada macho ficava sozinho na caixa de observação por 10 min como período de exploração e adaptação ao novo ambiente. A seguir, a fêmea receptiva era colocada na caixa e então iniciava-se o registro do comportamento sexual.

Os parâmetros comportamentais masculinos estudados foram os seguintes:

- a) Latência e frequência de cheirar genital: o macho se aproximava e fazia exploração olfativa da região genital da fêmea;
- b) Latência e frequência de montas (com e sem movimentos pélvicos): o macho colocava suas patas dianteiras no dorso da fêmea e podia ou não realizar movimentos pélvicos ritmados;
- c) Latência e frequência de intromissões: quando, além da monta, o macho realizava movimentos pélvicos e introduzia o pênis na vagina da fêmea, encerrando esse comportamento com movimento vigoroso de “desmonta” da fêmea;

- d) Latência de ejaculação: tempo decorrido desde a primeira intromissão até a ocorrência da ejaculação;

- e) Duração do período refratário: quando os animais, após a ejaculação, permaneciam sexualmente inativos até que ocorresse uma nova monta com ou sem movimentos pélvicos ou intromissão (RASIA-FILHO, 1994)

Desses parâmetros, obtiveram-se os seguintes índices: a) variação percentual (pós – pré/pré x 100); b) índice “copulatório” (montas + intromissões/tempo de duração do teste – período refratário); c) “eficiência copulatória” (intromissões/tempo de duração do teste – período refratário); e d) intervalo interintromissões (latência para ejaculação/ número de intromissões) (DE CASTILHOS et al., 2006; HEEB e YAHR, 2000).

Baseado no fato citado anteriormente de que ratos ejaculam cerca de 10 a 20 minutos após o contato inicial com a fêmea e o período refratário é de no máximo 8 minutos, registros de 30 minutos são geralmente adequados (RASIA-FILHO, 1994; RASIA-FILHO e LUCION, 1996). Desse modo, os critérios para o término da sessão de registro, de acordo com Ahlenius e Larsson (1984) e Rasia-Filho e Lucion (1996) foram: a) registros com 30 min de duração, após a introdução da fêmea, caso os machos exibissem intromissão, mas não alcançassem a ejaculação ou, b) quando acabava o período refratário pós-ejaculação (com uma nova intromissão ou monta)

se a ejaculação tivesse ocorrido antes de 30 min de registro. Se não houvesse nenhuma intromissão em 15 minutos o teste também era encerrado.

Registros do comportamento sexual de cada rato foram feitos em período controle antes de qualquer procedimento cirúrgico, valendo-se esses valores para parte da análise estatística dos efeitos das substâncias microinjetadas na AMePD. Após esses registros os animais ficavam em suas caixas de criação pelo período de 1-2 dias até serem submetidos à cirurgia estereotáxica, como será descrito a seguir.

Cirurgia Estereotáxica e Tratamento Farmacológico

Para esta cirurgia, os animais foram anestesiados com xilazina (80 mg/kg) e ketamina (10 mg/kg) ambos injetados por via intraperitoneal. Após, os animais foram colocados em aparelho estereotáxico (Kopf Instruments, EUA). As coordenadas para colocação unilateral da cânula-guia no lado direito do encéfalo do rato foram as seguintes: 3,2 mm posterior do bregma; 3,6 mm lateral à sutura sagital; e 5,7 mm abaixo da dura-máter. O lado direito foi escolhido baseado nos dados prévios de estudos realizados em nosso laboratório sobre o controle da pressão arterial em ratos (QUAGLIOTTO, 2006; NECKEL, 2007) e, mais especificamente para o comportamento sexual, com base em De Castilhos et al. (2006) que demonstraram que a AMePD direita é capaz de modular a ocorrência do comportamento de ejaculação pela ação direta de agonista 8-OH-DPAT dos receptores 5-HT_{1A} da serotonina. Embora, Cooke (2003) tenha demonstrado que a AMePD possui

lateralidade, ou seja, que há diferenças em relação a volume e tamanho neuronal entre os lado direito e esquerdo, nenhum estudo mostrou, até o momento, que há diferenças funcionais entre os dois lados. As cânulas mediam 14 mm de comprimento e 0,7 mm de espessura. A cânula ficava localizada 2 milímetros acima da AMePD para que não ocorresse lesão da mesma. Depois de 4-5 dias de recuperação pós-operatória, os machos eram novamente testados com as fêmeas para estudo de seu comportamento sexual. Neste momento, os animais receberam pela cânula-guia microinjeções de solução fisiológica (0,3 μ l; n = 6), ou de GABA (Sigma Chemicols Co. EUA), na dose de 100 μ g (diluído em solução fisiológica e em mesmo volume de 0,3 μ l; n = 7), ou de somatostatina (Sigma-Aldrich, EUA) na dose de 1 μ M (diluído em solução fisiológica e em mesmo volume de 0,3 μ l; n = 4) ou de histamina (Sigma Chemical Co. EUA) na dose de 100 nM (diluído em solução fisiológica e em mesmo volume de 0,3 μ l; n = 8). Tal doses utilizadas foram as mesmas descritas como capazes de gerar resultados em estudos prévios e são valores próximos das doses fisiológicas encontradas em estudos com microdiálise em núcleos amigdalóides de ratos adultos ou em áreas encefálicas próximas a eles (ITOH et al., 1991; MAJCHRZAK et al.,1992; CHIKAI et al, 1993; LU et al, 1995; MOCHIZUKI et al., 1990; MOMIYAMA e ZABORSZKY, 2005; JIANG et al., 2005). As microinjeções foram realizadas com uma agulha, conectada a uma seringa de Hamilton de 5 μ l, por um tubo fino de polipropileno. O deslocamento de uma pequena bolha no interior do tubo serviu de indicativo da microinjeção. Além disso, era testada a passagem e saída de líquido pela microagulha antes e após o mesmo procedimento no encéfalo do rato. Após a injeção, esperava-se 1 min com a agulha

no local-alvo e somente então o animal era colocado dentro da caixa de observação. Após 9 minutos da microinjeção iniciava-se o registro do comportamento sexual em período teste.

Análise Histológica

Após os experimentos, os ratos foram anestesiados com uma dose excessiva de tiopental (50 mg/kg) sódico via intraperitoneal. Os ratos foram perfundidos via transcardíaca com solução fisiológica a 0,9% e a seguir formol a 10% (300 ml ao total). Os encéfalos foram então removidos e permaneceram em solução com 10% de formol para conservação até serem seccionados em vibrátomo (Tpi Vibratome 1000, Dinamarca), em cortes coronais com 60 μ m de espessura, colocados em lâminas gelatinizadas e submetidas à técnica de coloração da hematoxilina-eosina. Resumidamente, para tanto, os cortes foram colocados em água destilada e, a seguir, em hematoxilina de Mayer durante 8 min. Após isso, lavavam-se os cortes em água corrente, deixando-os em água destilada por 20 min e, então, os cortes eram, um a um, mergulhados em eosina, álcool 96° GL e 100° GL, carboxilol e xilol. A seguir, colocava-se bálsamo do Canadá (Soldam, Porto Alegre) sobre os cortes e cobria-os com lamínula. Os cortes eram deixados à temperatura ambiente para que pudessem secar e serem posteriormente estudados à microscopia de luz para localização do trajeto da cânula e de microagulha de injeção no encéfalo do animal.

Os cortes foram analisados histologicamente e comparados com atlas do encéfalo do rato (PAXINOS e WATSON, 1998). Somente os animais com as cânulas implantadas adequadamente de modo que a injeção de solução fisiológica ou de alguma das substâncias testadas (GABA, somatostatina ou histamina) atingiu a AMePD foram considerados “no alvo”. Em torno de 40% dos ratos microinjetados eram “ratos-alvos”. Microinjeções que atingiram a vizinhança da AMePD (incluindo a zona de transição amígdalo-hipocampal, a amígdala basolateral, a região ventromedial estriatal ou a parte mais medial do trato óptico) compuseram grupo heterogêneo para servir como controle “não-alvo” das microinjeções. No presente trabalho, as distâncias de espalhamento por difusão das substâncias microinjetadas não foram diretamente avaliadas. Mas, além do grupo “não-alvo”, estudo prévio empregando a mesma metodologia não encontrou efeito sobre o comportamento sexual em regiões adjacentes à AMePD (de CASTILHOS, et al., 2006).

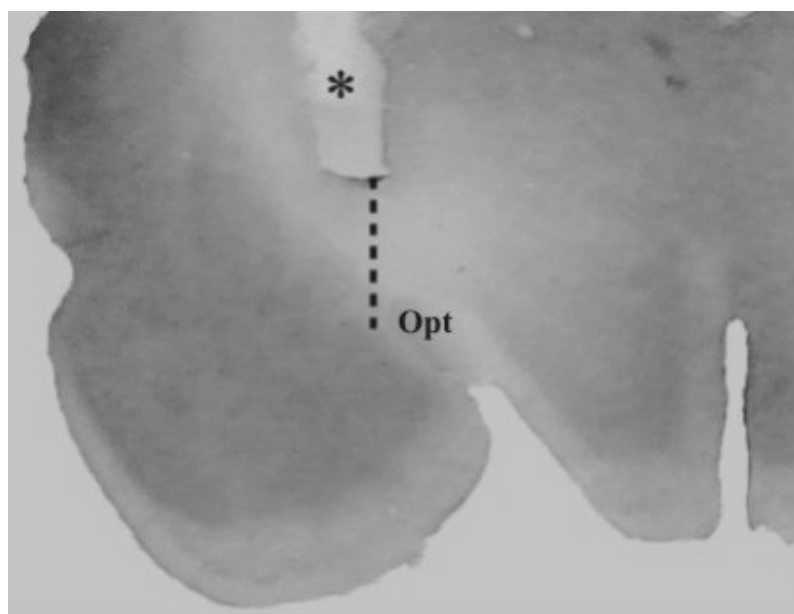


Figura 9. Fotomicrografia de corte coronal da parte médio-ventral do encéfalo de rato para identificação do trajeto da cânula implantada (*). Em pontilhado, o trajeto provável, muito mais discreto, da agulha de microinjeção até a parte superior da amígdala medial pósterodorsal direita próximo ao trato óptico (Opt). Técnica histológica de hematoxilina-eosina. Reproduzida com a autorização de QUAGLIOTTO (2006).

Análise Estatística

Os diferentes parâmetros do comportamento sexual de ratos machos foram analisados pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon, comparando-se os valores obtidos em período pré-microinjeção, como controle dentro de cada grupo experimental, e pós-microinjeção na AMePD separadamente para cada um dos 4 grupos estudados (i.e, os quais receberam microinjeção de salina, GABA, somatostatina ou histamina nas doses descritas). As comparações entre os 4 grupos experimentais em período pré-microinjeção e após as microinjeções foram feitas pelo teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Os percentuais de modificação de cada parâmetro comportamental estudado como resultado das microinjeções na MePD, calculados como a relação “valor obtido pós-microinjeção - valor obtido pré-microinjeção/valor obtido pré-microinjeção x 100”, foram transformados (como log10) e comparados entre os 4 grupos experimentais pelo teste da análise da variância (ANOVA) de uma via complementado pelo teste de Dunnett (o grupo que recebeu salina serviu como controle para as comparações *post hoc* dos efeitos das microinjeções). Aqui, será empregado o termo “variação percentual” para esses

dados de forma mais livre, apesar de representarem valores transformados. Por fim, os valores calculados para “índice copulatório”, “eficiência copulatória” e “intervalo inter-intromissões” para os dados obtidos pós-microinjeções na AMePD nos 4 grupos experimentais foram submetidos ao teste da ANOVA de uma via e, se necessário, pelo teste *post hoc* de Tukey. Em todos os casos, o nível de significância estatística estabelecido *a priori* foi de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Os resultados cuja distribuição não apresentaram uma normalidade nos dados e que foram analisados por testes não paramétricos serão apresentados como mediana e intervalos interquartis. Os demais dados, como média \pm desvio padrão. Os gráficos correspondentes aos comportamentos descritos a seguir serão apresentados após este texto e nas Figuras 9 a 31.

Investigar genitais: quanto ao comportamento de investigar os genitais da fêmea, houve diferença significativa na latência de sua ocorrência no grupo que recebeu GABA na AMePD (menor após a microinjeção; $p = 0,02$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 10). Para o mesmo comportamento não houve diferença significativa nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,17$), somatostatina ($p = 0,28$) ou histamina ($p = 0,46$). As comparações entre os grupos experimentais não

apresentaram diferença significativa nem no período pré-microinjeção ($p = 0,14$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,56$; Figura 10). Quanto à frequência do comportamento de investigar os genitais da fêmea, ocorreu uma tendência à significância no grupo que recebeu histamina (valores menores; $p = 0,06$) e um menor número de vezes de ocorrência dessa atividade nos ratos que receberam GABA na AMePD ($p = 0,01$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 11). Não houve diferença significativa na sua ocorrência nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,27$) e somatostatina ($p = 0,28$). As comparações entre os grupos experimentais não evidenciaram diferença significativa nem no período pré-microinjeção ($p = 0,26$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,60$; Figura 11). A variação percentual da latência para investigar os genitais das fêmeas mostrou uma diferença significativa entre os grupos estudados [$F(3,24) = 3,65$; $p = 0,02$] e o teste *post hoc* mostrou que os resultados obtidos nos ratos microinjetados com GABA na AMePD apresentaram menores valores do que o grupo microinjetado com salina na AMePD ($p = 0,02$), enquanto os demais grupos não foram diferentes do grupo controle ($p > 0,4$; Figura 12). Não houve diferença significativa quanto à variação percentual na frequência de ocorrência do comportamento de investigação dos genitais da fêmea entre os 4 grupos experimentais microinjetados na AMePD [$F(3,24) = 1,77$; $p = 0,18$; Figura 13].

Monta sem movimentos pélvicos: quanto ao comportamento de monta sem movimentos pélvicos, não houve diferença significativa na latência de sua ocorrência nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,67$), GABA ($p = 0,23$), somatostatina ($p = 0,18$) ou histamina ($p = 0,22$) quando comparados com os valores

pré-microinjeção em cada grupo, respectivamente (Figura 14). As comparações entre os grupos experimentais apresentaram diferença significativa no período pré-microinjeção (menor no grupo que compôs subsequentemente o grupo microinjetado com histamina na AMePD; $p < 0,01$), mas não no período pós-microinjeção ($p = 0,10$; Figura 14). Quanto à frequência desse mesmo comportamento, não houve diferença significativa na sua ocorrência nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,34$), GABA ($p = 0,68$), somatostatina ($p = 0,15$) ou histamina ($p = 0,10$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 15). As comparações entre os grupos experimentais evidenciaram diferença significativa no período pré-microinjeção ($p < 0,01$) e no período pós-microinjeção ($p = 0,05$), com os valores nitidamente menores no grupo que recebeu histamina (Figura 15). A variação percentual da latência para ocorrência de monta sem movimentos pélvicos não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados [$F(3,24) = 2,20$; $p = 0,11$; Figura 16]. Igualmente, não houve diferença significativa quanto à variação percentual na frequência de ocorrência desse comportamento entre os 4 grupos experimentais microinjetados na AMePD [$F(3,24) = 0,93$; $p = 0,44$; Figura 17].

Monta com movimentos pélvicos: quanto ao comportamento de monta com movimentos pélvicos, houve diferença significativa na latência de sua ocorrência nos grupos microinjetados com solução fisiológica (valores maiores após microinjeção; $p = 0,02$) e GABA (valores menores pós-microinjeção; $p = 0,02$), tendência à significância estatística no grupo microinjetado com somatostatina (valores menores; $p = 0,06$), mas não no que recebeu histamina na AMePD ($p = 0,17$) quando

comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo, respectivamente (Figura 18). As comparações entre os grupos experimentais, no entanto, não apresentaram diferença significativa nem no período pré-microinjeção ($p = 0,21$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,30$; Figura 18). Quanto à frequência desse mesmo comportamento, não houve diferença significativa na sua ocorrência nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,33$), GABA ($p = 0,60$), somatostatina ($p = 0,46$) ou histamina ($p = 0,75$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 19). As comparações entre os grupos experimentais não evidenciaram diferença significativa no período pré-microinjeção ($p = 0,24$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,62$; Figura 19). A variação percentual da latência para ocorrência de monta com movimentos pélvicos apresentou diferença significativa entre os grupos estudados [$F(3,24) = 3,80$; $p = 0,02$] e o teste *post hoc* mostrou que os resultados obtidos nos ratos microinjetados com GABA ($p = 0,01$) ou somatostatina ($p = 0,03$) na AMePD apresentaram menores valores do que o grupo microinjetado com solução fisiológica na AMePD, enquanto o grupo microinjetado com histamina não foi diferente do grupo controle ($p > 0,12$; Figura 20). Não houve diferença significativa quanto à variação percentual na frequência de ocorrência desse comportamento entre os 4 grupos experimentais microinjetados na AMePD [$F(3,24) = 1,35$; $p = 0,28$; Figura 21].

Intromissão: quanto ao comportamento de intromissão, houve uma tendência à significância estatística na latência de sua ocorrência no grupo microinjetado com somatostatina (valores menores; $p = 0,06$) e valores diferentes nos animais que receberam GABA (menores após a microinjeção; $p = 0,04$) quando

comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo, mas não houve diferença significativa para o mesmo comportamento nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,46$) ou histamina ($p = 0,86$; Figura 22). As comparações entre os grupos experimentais não apresentou diferença significativa nem no período pré-microinjeção ($p = 0,36$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,61$; Figura 22). Quanto à frequência desse mesmo comportamento, houve e uma tendência à significância no grupo que recebeu somatostatina (valores menores; $p = 0,06$), mas não houve diferença significativa nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,91$), GABA ($p = 0,45$) ou histamina ($p = 0,20$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 23). As comparações entre os grupos experimentais não evidenciaram diferença significativa no período pré-microinjeção ($p = 0,19$) ou no período pós-microinjeção ($p = 0,24$; Figura 23). A variação percentual da latência para ocorrência de intromissão apresentou diferença significativa entre os grupos estudados [$F(3,24) = 2,90$; $p = 0,05$] e o teste *post hoc* mostrou que os resultados obtidos nos ratos microinjetados com somatostatina na AMePD são menores ($p = 0,03$) do que os do grupo microinjetado com solução fisiológica, enquanto o grupo microinjetado com GABA apresentou uma tendência à significância estatística (valores menores; $p = 0,07$; Figura 24). Não houve diferença significativa quanto à variação percentual na frequência de ocorrência desse comportamento entre os 4 grupos experimentais microinjetados na AMePD [$F(3,24) = 1,78$; $p = 0,18$; Figura 25].

Ejaculação: quanto a ejaculação, houve diferença significativa para a ocorrência de sua latência no grupo que recebeu histamina na AMePD (menores

valores pós-microinjeção; $p = 0,01$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 26), mas não houve diferença significativa na sua ocorrência nos grupos microinjetados com solução fisiológica ($p = 0,75$), GABA ($p = 0,23$) ou somatostatina ($p = 0,14$). Não obstante, as comparações entre os grupos experimentais não apresentaram diferenças significativas nem no período pré-microinjeção ($p = 0,19$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,24$; Figura 26). A variação percentual da latência para ocorrência de ejaculação não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados [$F(3,24) = 0,81$; $p = 0,50$; Figura 27].

Período refratário: quanto ao tempo de duração do período refratário após a ejaculação, não houve diferença significativa na latência de sua ocorrência nos grupos microinjetados com salina ($p = 0,75$), GABA ($p = 0,17$), somatostatina ($p = 0,71$) ou histamina ($p = 0,72$) quando comparados com os valores pré-microinjeção em cada grupo respectivo (Figura 28). As comparações entre os grupos experimentais igualmente não apresentaram diferenças significativas nem no período pré-microinjeção ($p = 0,63$) nem no período pós-microinjeção ($p = 0,44$; Figura 28). A variação percentual desse comportamento não apresentou diferença significativa entre os grupos estudados [$F(3,24) = 0,86$; $p = 0,47$; Figura 29].

Por fim, não houve significância estatística nos resultados obtidos pós-microinjeção na AMePD de solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina para o “índice copulatório” [$F(3,24) = 1,03$; $p = 0,39$], para a “eficiência copulatória”

[F(3,24) = 0,60; p = 0,61] ou para o “intervalo inter-intromissões” [F(3,24) = 1,19; p = 0,33; Figuras 30-32].

Além disso, não foram observadas mudanças comportamentais relevantes naqueles animais que compuseram o grupo “não-alvo” e que foram microinjetados com solução fisiológica, GABA, somatostatina ou histamina (dados não apresentados).

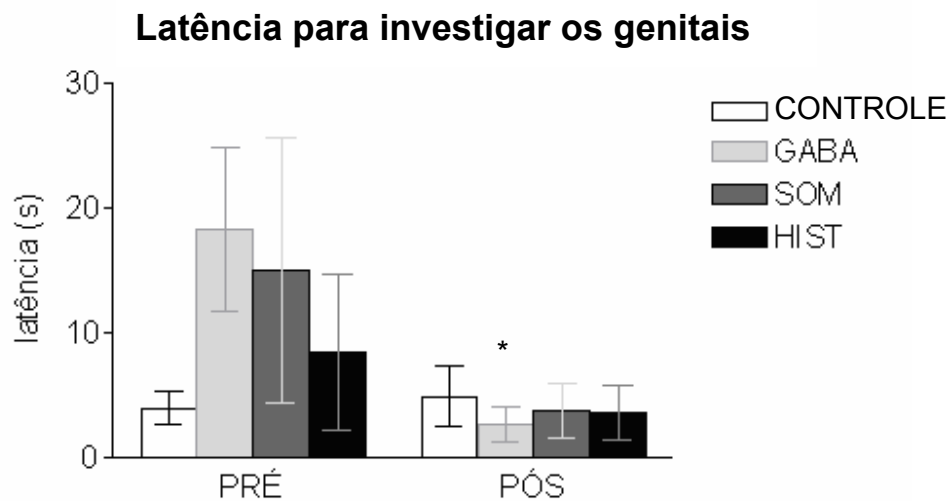


Figura 10: Latência do comportamento de investigar os genitais feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado ao grupo pré-microinjeção dentro do mesmo grupo experimental.

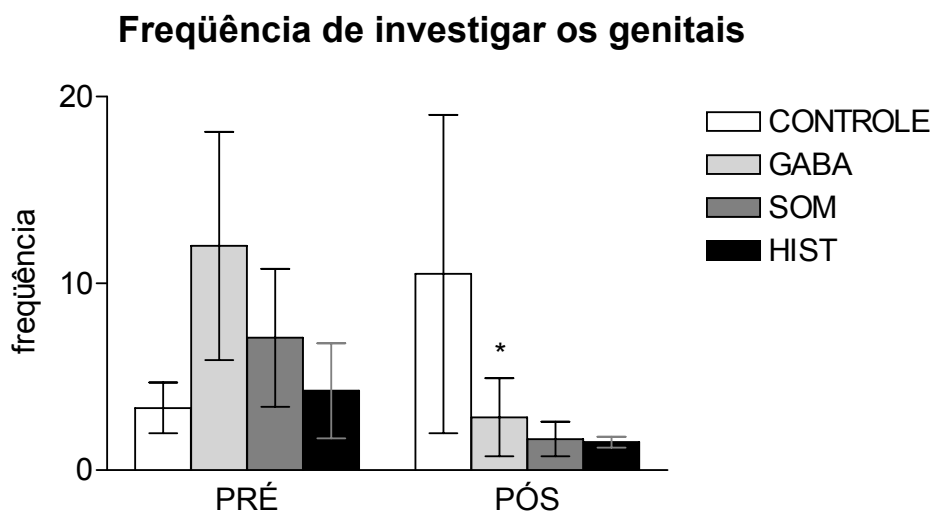


Figura 11: Frequência do comportamento de investigar os genitais feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado ao grupo pré-microinjeção dentro do mesmo grupo experimental.

Varição percentual da latência para investigar os genitais

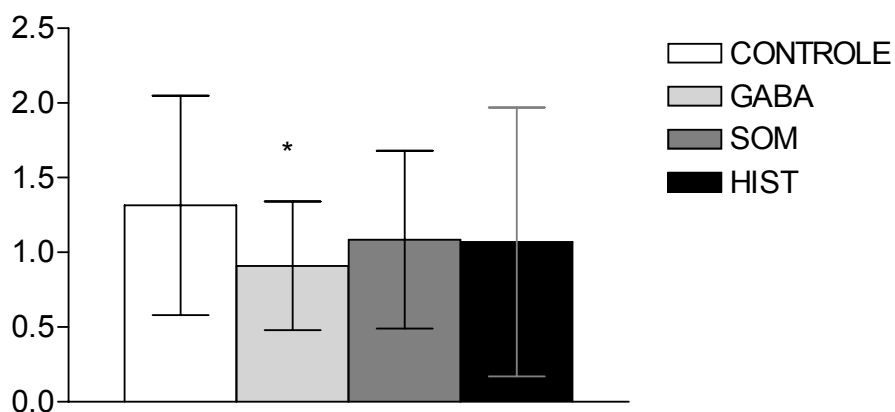


Figura 12: Variação percentual da latência do comportamento de investigar os genitais feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado com o grupo controle.

Varição percentual da frequência para investigar os genitais

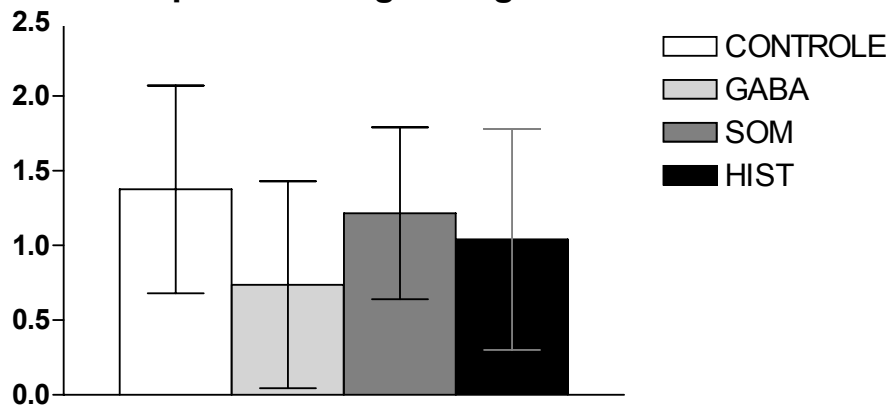


Figura 13: Variação percentual da frequência do comportamento de investigar os genitais feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

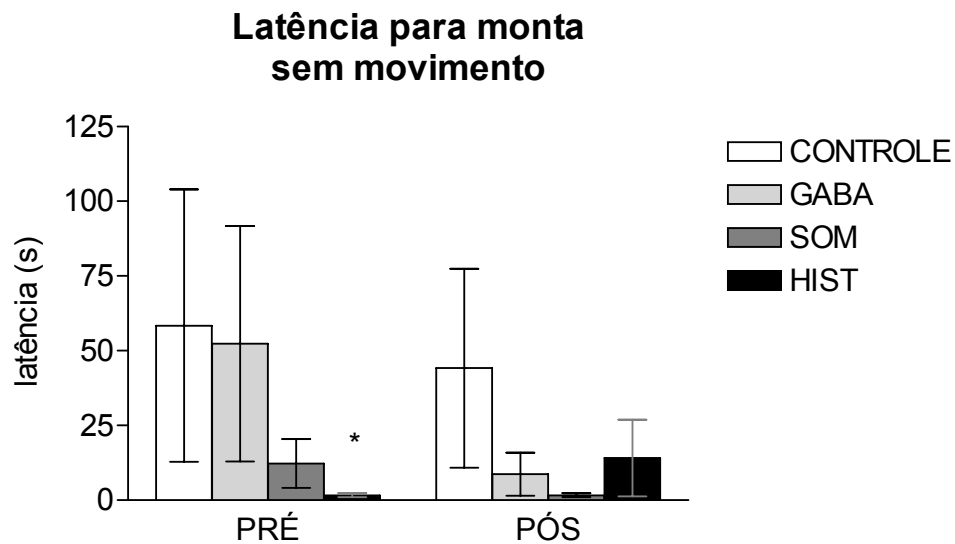


Figura 14: Latência do comportamento de montas sem movimento pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado entre os grupos experimentais.

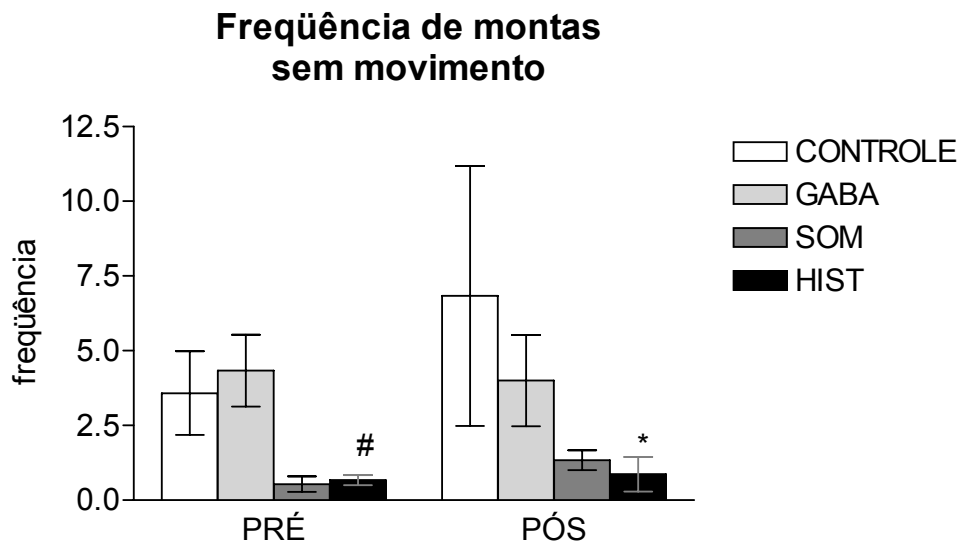


Figura 15: Frequência do comportamento de montas sem movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 µl; n = 6), GABA (100 µg/0,3 µl; n = 7), somatostatina (SOM; 1 µM/0,3 µl; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 µl; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado entre os grupos experimentais. # $p \leq 0,01$ quando comparado entre os grupos experimentais

Varição percentual da latência de montas sem movimento

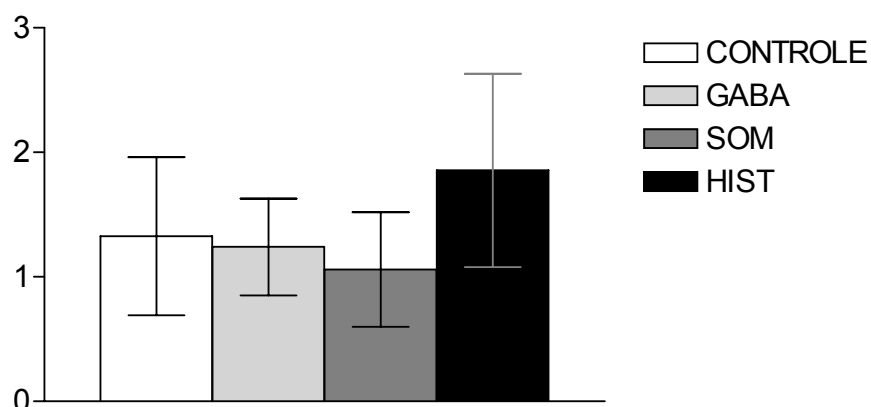


Figura 16: Variação percentual da latência do comportamento de montas sem movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais

Varição percentual da frequência de montas sem movimento

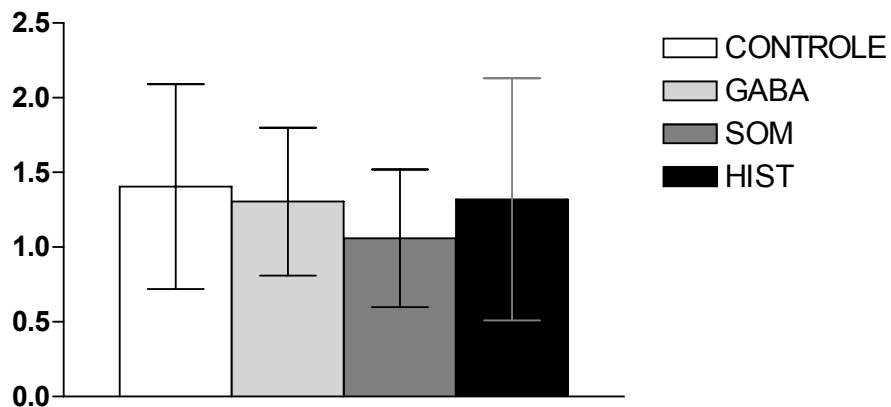


Figura 17: Varição percentual da frequência do comportamento de montas sem movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais

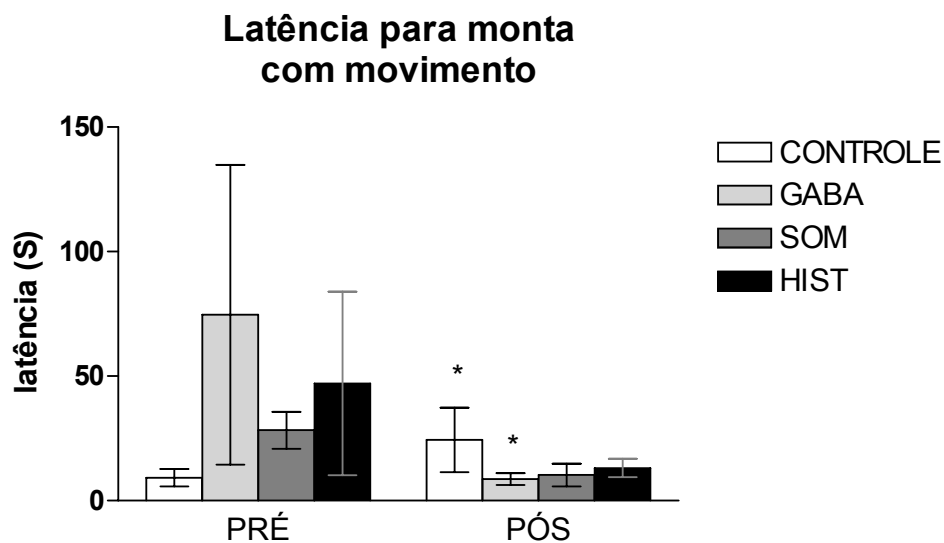


Figura 18: Latência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado ao grupo pré-microinjeção dentro do mesmo grupo experimental.

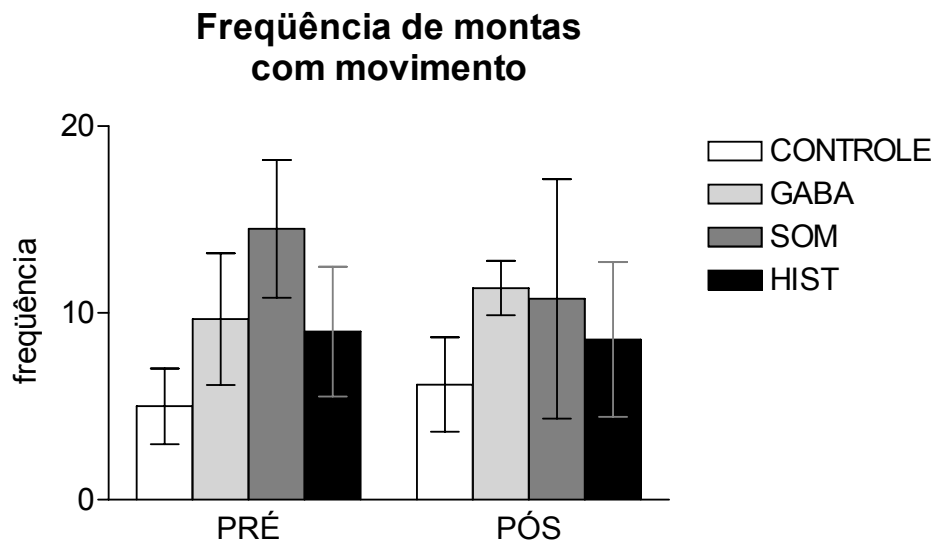


Figura 19: Freqüência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significante entre os dados dos grupos experimentais

Varição percentual da latência para monta com movimento

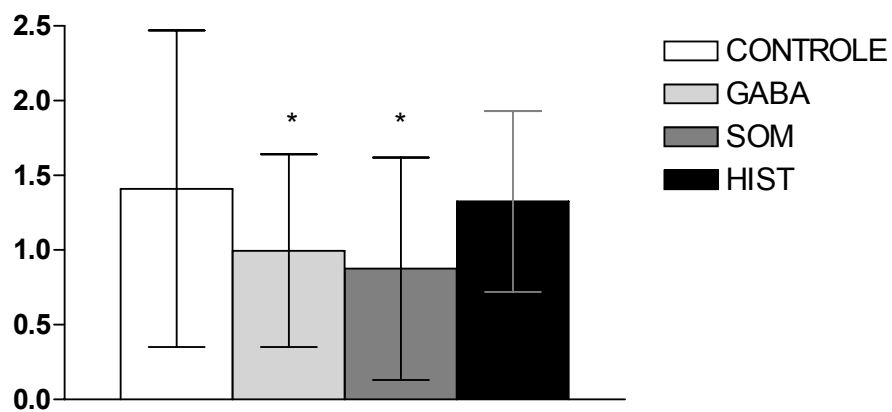


Figura 20: Variação percentual da latência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado entre os grupos experimental.

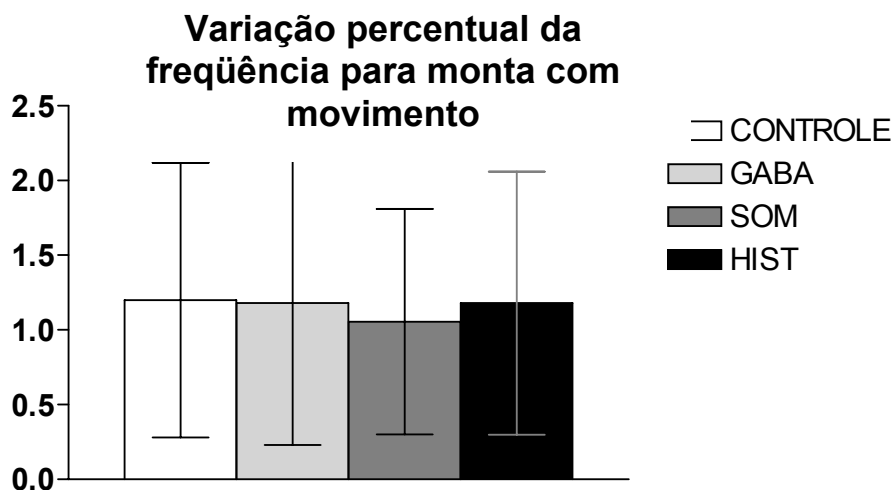


Figura 21: Variação percentual da frequência do comportamento de montas com movimentos pélvicos feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

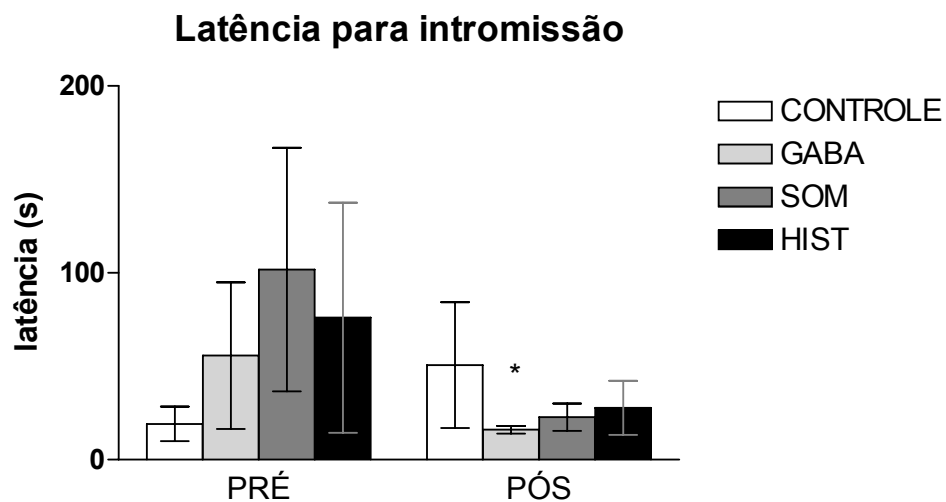


Figura 22: Latência do comportamento de intromissão feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado ao grupo pré-microinjeção dentro do mesmo grupo experimental.

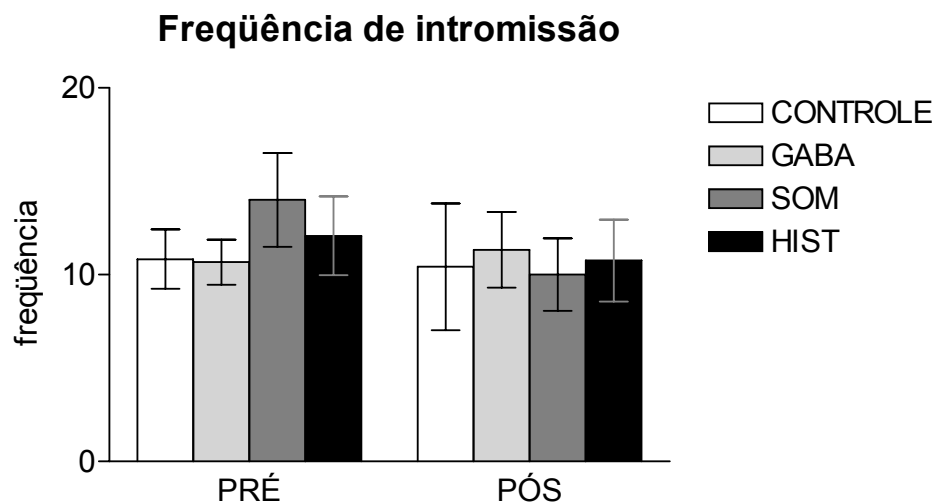


Figura 23: Frequência do comportamento de intromissões feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

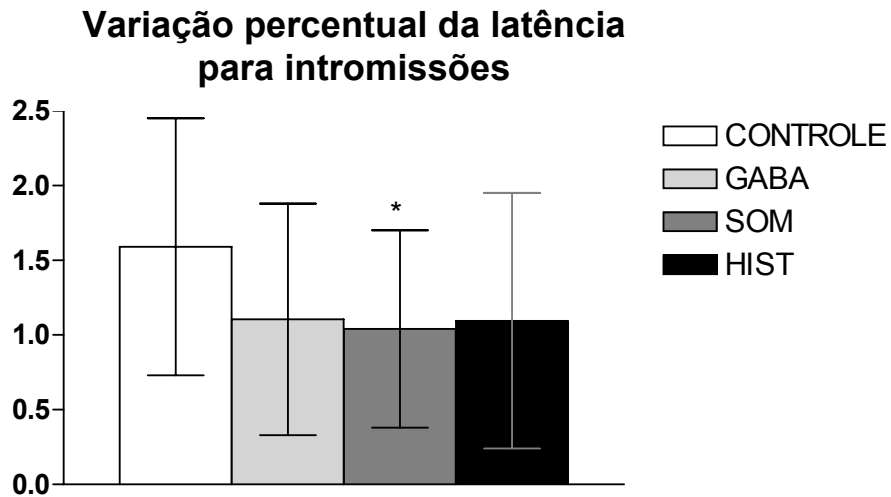


Figura 24: Varição percentual da latência do comportamento de intromissões feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para a variação percentual para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado ao grupo controle.

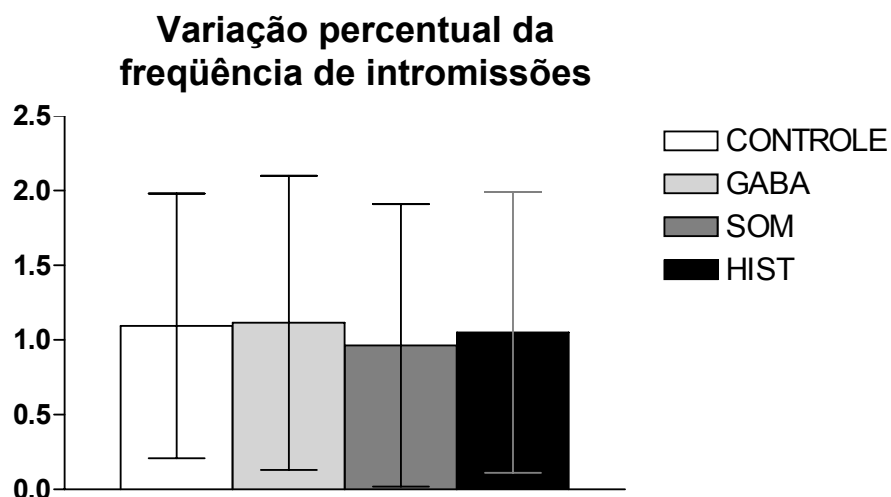


Figura 25. Variação percentual da freqüência do comportamento de intromissões feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

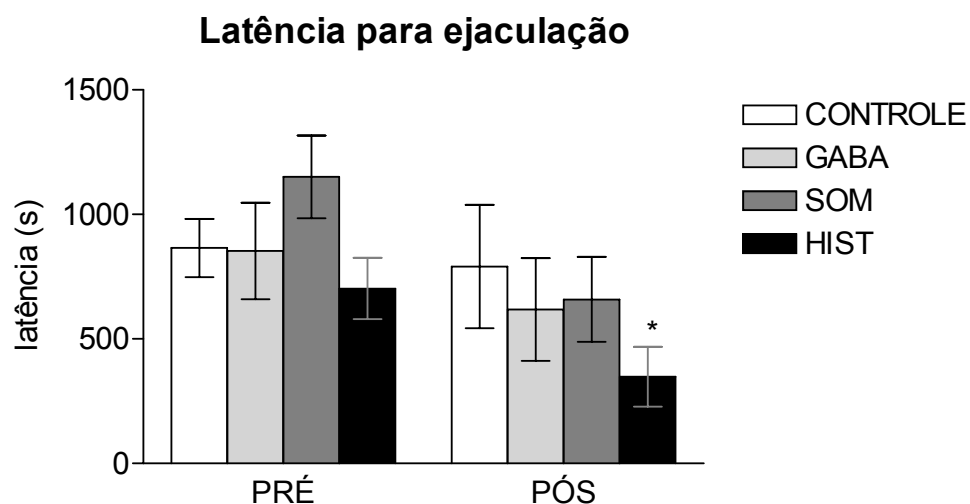


Figura 26. Latência do comportamento de ejaculação feito por machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. * $p \leq 0,05$ quando comparado ao grupo pré-microinjeção dentro do mesmo grupo experimental.

Varição percentual da latência para a ejaculação

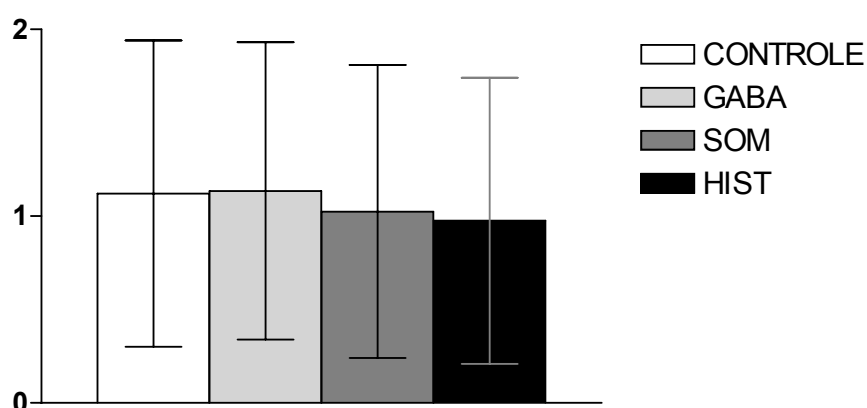


Figura 27: Variação percentual da latência do comportamento de ejaculação feito por machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significante entre os dados dos grupos experimentais.

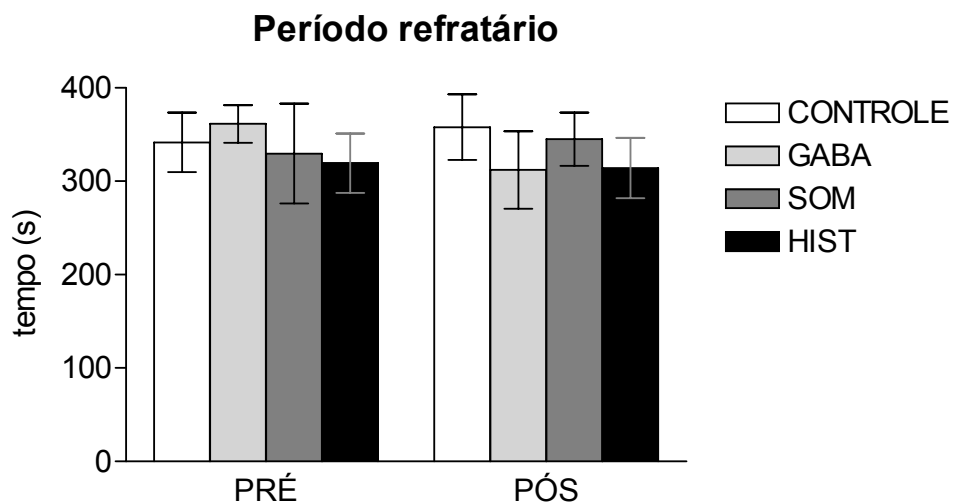


Figura 28: Duração do período refratário de machos onde os dados estão representados por mediana e intervalos interquartil para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

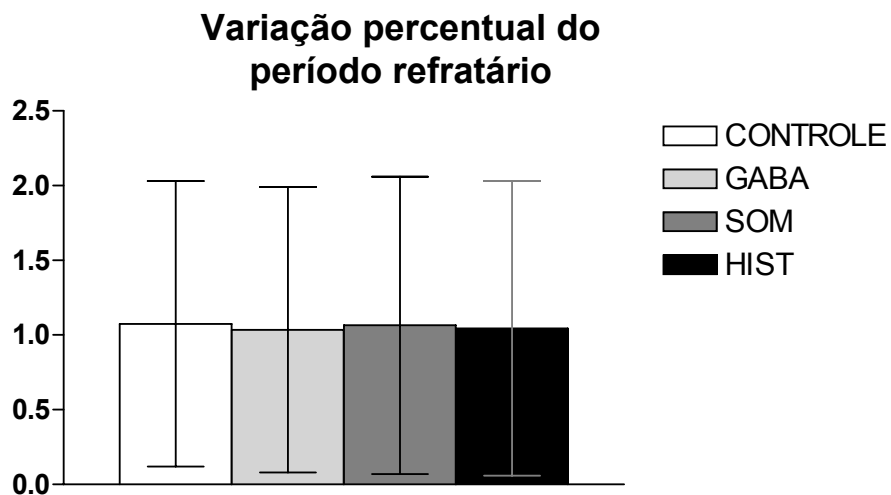


Figura 29: Variação percentual da duração do período refratário de machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão (dados submetidos à transformação logarítmica para valores positivos) para o período pré- microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

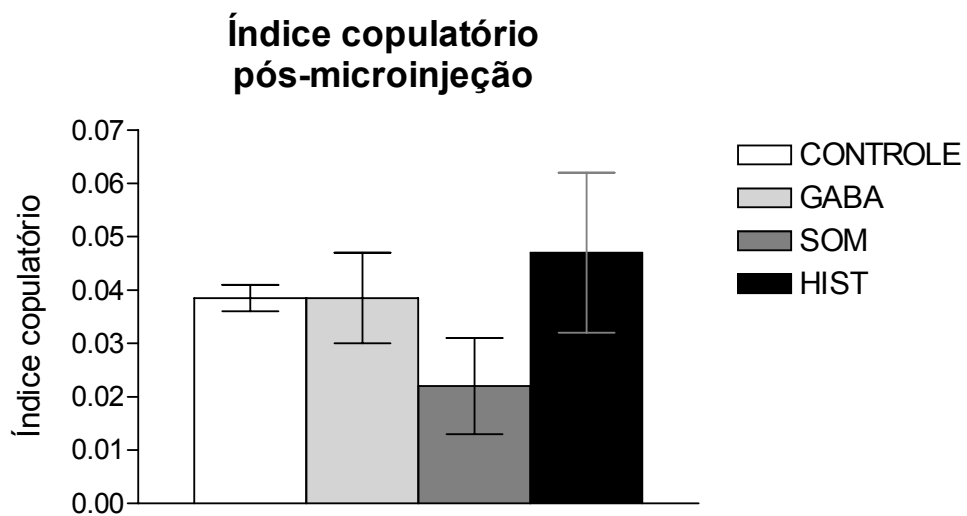


Figura 30: Índices copulatórios de machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

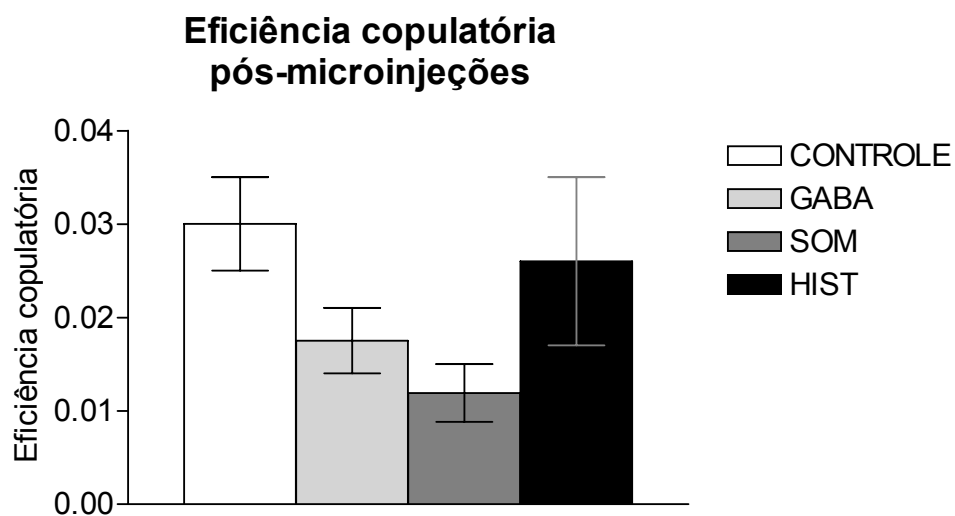


Figura 31: Eficiência copulatória de machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão para o período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dados dos grupos experimentais.

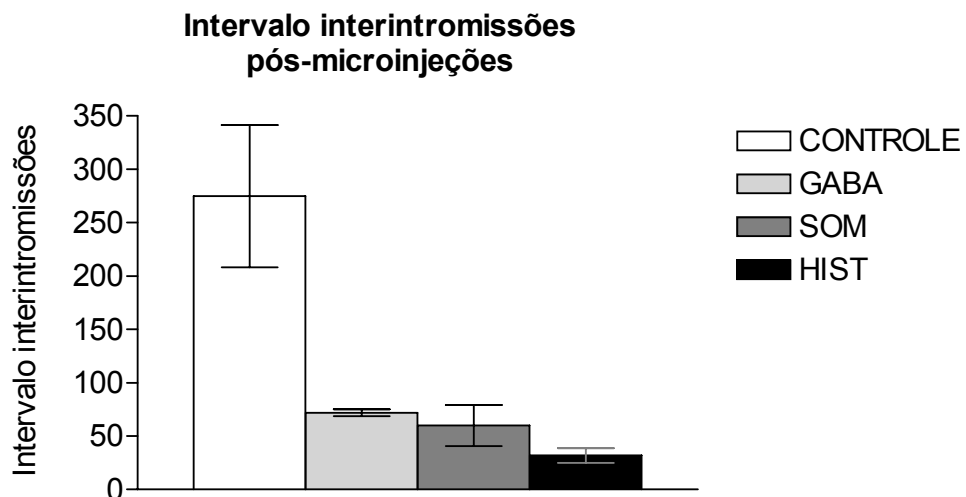


Figura 32: Intervalo interintromissões de machos onde os dados estão representados por média \pm desvio padrão para o em período pré-microinjeção (PRÉ) e após a microinjeção (PÓS) de solução fisiológica (controle; 0,3 μ l; n = 6), GABA (100 μ g/0,3 μ l; n = 7), somatostatina (SOM; 1 μ M/0,3 μ l; n = 4) ou histamina (HIST; 100 nM/0,3 μ l; n = 8) na AMePD de ratos. Não houve diferença estatisticamente significante entre os dados dos grupos experimentais.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a microinjeção de solução fisiológica não gerou efeitos estatisticamente significativos sobre os diferentes parâmetros do comportamento sexual de ratos machos, servindo, com isso, como controle para os efeitos dos transmissores químicos estudados, tais como: GABA, somatostatina e histamina. A única exceção a esse comentário refere-se ao aumento na latência do comportamento de monta com movimentos pélvicos onde valores mais elevados foram obtidos após a microinjeção solução fisiológica na AMePD, para o que não há uma explicação inequívoca e parece ser um achado fortuito. Isso parece ser realmente o caso, porque esses valores de aumento da latência não foram estatisticamente diferentes dos obtidos nos demais grupos experimentais pós-microinjeção, o que poderia ter ocorrido, já que nos demais 3 grupos experimentais os dados obtidos são menores que no grupo que recebeu solução fisiológica. Ademais, a frequência de montas com movimentos pélvicos e os índices copulatórios estudados aqui tampouco evidenciaram diferenças entre os demais grupos, onde esses dados de monta com movimentos pélvicos poderiam afetar as comparações.

O grupo que recebeu microinjeção de GABA, quando comparado com os valores pré-microinjeção, como controle “interno” dos resultados para cada rato em

cada grupo experimental, tal neurotransmissor foi capaz de diminuir a latência e a frequência do comportamento de investigar os genitais da fêmea além de ter gerado uma redução nos valores percentuais calculados pela relação do desempenho pré-microinjeção *versus* pós-microinjeção, bem como reduziu a latência para a ocorrência de montas com movimentos pélvicos e para a primeira intromissão.

Os primeiros dados relacionados com o comportamento de investigação dos genitais da fêmea podem indicar que o GABA foi capaz de reduzir a atividade pré-copulatória de machos quando atua na AMePD. Os dados de latência para a primeira monta com movimento pélvico podem sinalizar uma facilitação do comportamento copulatório, o que também pode estar relacionado com o fato do rato dispender menos tempo com atividades pré-copulatórias e mais cedo iniciar a relação sexual com a fêmea. Porém, quando comparados os valores desses parâmetros comportamentais sexuais entre os 4 grupos aqui estudados, quase nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada. Somente os valores percentuais de latência para o comportamento de monta com movimento pélvico mostrou-se diferente do grupo controle no período teste pós-microinjeção. Isso sugere que, se fossem tomadas somente as comparações intra-grupo, e ao contrário do que se havia postulado inicialmente, o GABA pode aumentar alguns parâmetros do comportamento sexual masculino; todavia, como os valores não apresentaram valores estatisticamente diferentes entre os grupos experimentais e, onde se encontra outro tipo de controle para esse experimento, esse efeito parece ser mais restrito à modulação da latência para monta com movimento pélvico. Essa atividade sexual de machos carece, então, de um melhor entendimento no contexto da

atividade sexual do animal. Ela poderia ser entendida tanto como um aumento da atividade copulatória, quanto por uma inibição da capacidade do animal de apresentar intromissões e conseguir atingir a ejaculação. Como não houve diferenças entre os grupos experimentais na latência de ejaculação (embora tendência à significância tenha sido detectada para diminuir essa latência) ou na duração do período refratário, nem nos índices de desempenho copulatório, parece ser mais provável que o GABA esteja promovendo uma pequena facilitação na atividade sexual de ratos. Isto vem ao encontro dos resultados de redução da latência para a primeira intromissão quando comparados os valores pré-microinjeção com os valores obtidos pós-microinjeção. Para elucidar se o mecanismo de ação do GABA é direto ou indireto precisar-se-ão de novos experimentos com metodologia adicional para esclarecer esses resultados. Isso porque as ações poderiam ser diretamente excitatórias do GABA sobre os neurônios do AMePD, o que é raro em animais no período pós-natal imediato (CHERUBINI, 1991), ou pode muito bem tratar-se de uma inibição de outra inibição local, resultando numa resposta comportamental de desinibição/excitação como a observada. Neurônios gabaérgicos estão densamente representados na AMePD e são ativados na atividade copulatória de ratos, principalmente na ejaculação (SIMMONS e YAHR, 2003). Além disso, vias de eferências da AMePD para a MPOA, como as que envolvem o núcleo intersticial da estria terminal postero-medial (BNSTpm), apresentam densa quantidade de fibras gabaérgicas e também são ativados após ejaculação (SIMMONS e YAHR, 2003). Neste sentido, a microinjeção na MPOA de muscimol, agonista dos receptores GABA_A, gerou inibição do comportamento sexual de ratos, enquanto microinjeções nessa mesma área de antagonistas da ação gabaérgicas, como a picrotoxina ou a

bicuculina, promoveram estimulação da atividade copulatória (FERNÁNDEZ-GUASTI, et al., 1986; SIMMONS e YAHR, 2003). Assim, possivelmente, o GABA pode estar atuando sobre interneurônios que compõem as projeções entre a AMePD e a MPOA. E, como está descrito que GABA é somente efetivo dentro de poucos minutos após a sua administração dentro do encéfalo de ratos, devido a sua rápida metabolização e recaptção (CURTIS e JOHNSTON, 1974; ENNA e MAGGI, 1979; KOELLA, 1981), isto poderia explicar a ação do GABA preferencialmente nos processos iniciais do comportamento sexual de ratos, como descrito nesta dissertação.

No grupo que recebeu microinjeção de somatostatina, quando comparados com os valores pré-microinjeção, tal neuropeptídeo promoveu uma tendência à diminuir os valores de latência para monta com movimentos pélvicos, mas uma redução significativa na variação percentual calculados pela relação do desempenho pré-microinjeção *versus* pós-microinjeção quando comparados aos dados obtidos nos ratos que receberam microinjeção de solução fisiológica no AMePD. Esses primeiros dados devem ser interpretados com cautela porque este é o mesmo parâmetro comportamental onde a microinjeção da solução fisiológica gerou aumento aparentemente ao acaso da latência para sua ocorrência. Com isso, é possível que este resultado somente tenha se tornado estatisticamente diferente do grupo controle porque este apresentou valores maiores do que o esperado no período pós-microinjeção. Sendo esta argumentação correta e condizente com o que realmente ocorreu após microinjeção de somatostatina no AMePD, poder-se-ia argumentar de idêntica forma quanto aos achados observados no grupo que

recebeu microinjeção de GABA. Neste momento, torna-se necessário aumentar o número de ratos estudados no grupo destinado a receber microinjeção de somatostatina para que se avalie se a tendência estatística de diminuição dos valores representa um achado real de diferença entre os valores pré-microinjeção e após esta. Esses dados futuros servirão igualmente para embasar a discussão sobre os resultados no grupo que recebeu GABA no AMePD.

Ainda neste grupo estudado, somatostatina induziu uma clara tendência à redução da latência para a primeira intromissão, no seu valor percentual dados pela relação dos resultados pré-microinjeção *versus* pós-microinjeção, e na frequência de ocorrência deste mesmo comportamento até a ocorrência de ejaculação. Não foram encontradas, todavia, diferenças estatisticamente significativas quando os valores deste grupo foram comparados com os dos demais grupos experimentais, tanto em período pré-microinjeção como após a microinjeção. Esses dados sugerem igualmente a necessidade de se aumentar o “n” neste grupo experimental específico; mas, repetindo o que já se havia observado no grupo anterior que recebeu microinjeção de GABA, os presentes resultados são contrários à hipótese inicial de trabalho. Originalmente, supôs-se que a somatostatina deveria exercer uma ação inibitória sobre os neurônios do AMePD, com base em dados eletrofisiológicos que demonstravam exatamente isso. Ou seja, por meio de registros de atividade neuronal na AMe de ratos, cerca de 80% da atividade inibitória exercida localmente deveria ser de tipo somatostatinérgica (EPELBAUM et al., 1979). Experimentos adicionais devem procurar elucidar se a somatostatina pode estar inibindo neurônios do AMePD que, por sua vez, sejam eferências inibitórias

(SWANSON E PETROVICH, 1998; CHAI ET AL., 2005) e a resultante desta atividade seja a desinibição de áreas-alvo relacionadas com a ocorrência da atividade copulatória masculina. Ou, se a microinjeção de somatostatina diretamente na AMePD, apesar de se ter utilizado uma concentração próximo da fisiológica, representa um evento improvável de ocorrer isoladamente da liberação de outro(s) neurotransmissor(es) locais e envolvidos com o processamento temporal das informações feromonais, hormonais e gêmito-sensoriais nos machos durante relação social/reprodutiva com fêmeas sexualmente receptivas. Os presentes resultados compõem alguns dos poucos dados que existem na literatura e que podem ser utilizados para se correlacionar com a ação da somatostatina no comportamento sexual especificamente neste subnúcleo da AMe. Espera-se que novos dados sirvam para alicerçar e desenvolver novas pesquisas neste assunto. Ainda mais porque McDonald e Mascagni (2002) descreveram que cerca de 80% dos neurônios somatostinérgicos são igualmente gabaérgicos na ABL de ratos. Se isso igualmente ocorre na AMePD e se ambos transmissores químicos promovem idênticos efeitos sobre o comportamento sexual de machos ainda precisa ser descoberto.

O grupo que recebeu microinjeção de histamina, quando comparado com os valores pré-microinjeção, tal neurotransmissor relacionou-se com uma tendência a diminuição dos valores obtidos para frequência de ocorrência do comportamento de investigar os genitais das fêmeas e clara redução na latência para ejaculação no período pós-microinjeção. Adicionalmente, a diferença no período controle pré-microinjeção *versus* pós-microinjeção mostrou que este grupo apresenta valores menores inicialmente quanto à latência para monta sem movimentos pélvicos, o que

parece não apresentar significado biológico relevante. Não obstante, isso se configura também em menores valores de frequência deste comportamento tanto no período pré-microinjeção quanto pós-microinjeção quando comparado os 4 grupos experimentais entre si. Esses dados sugerem que os ratos que aleatoriamente compuseram o grupo microinjetado com histamina no AMePD já apresentavam menor latência para a primeira monta sem movimentos pélvicos do que os ratos dos demais grupos, o que se manteve igualmente evidente no período pós-microinjeção. Desses resultados obtidos, chama a atenção a redução no tempo para ocorrência de ejaculação quando os dados são comparados intra-grupo, mas não quando os valores foram comparados entre os grupos experimentais, incluindo-se aqui o controle. Isso sugere que ou a histamina não está gerando maiores efeitos sobre o comportamento sexual quando microinjetada no AMePD, ou é preciso tomar em consideração que as comparações dentro de cada grupo buscam controlar por efeitos que podem ficar “diluídos” quando outros grupos são estudados conjuntamente e sem grandes diferenças entre si. Novamente, outros experimentos são necessários, como por exemplo, testar os efeitos diretos da microinjeção de agonistas e antagonistas de histamina sobre os seus receptores específicos na funcionalidade de neurônios do AMePD. Isso foi feito indiretamente, quando da microinjeção de histamina (na mesma dose que a utilizada na presente dissertação) ou de agonista dos receptores H3 no AMePD de ratos não sedados e que se demonstrou uma ação de aumento da amplitude da resposta pressórica reflexa mediada pelos barorreceptores (QUAGLIOTTO, 2007). Esse último resultado sugeri que a histamina pode estar aumentada e há a possibilidade de uma resposta de pressão arterial aumentada acompanhar a gênese e a ocorrência de algum

comportamento que o AMePD estivesse diretamente relacionado (QUALIOTTO, 2006). Conjuntamente, poder-se-ia sugerir que maior atenção seja dada ao achado de que a histamina reduz a latência para ejaculação quando comparado aos valores que os próprios ratos deste grupo apresentavam originalmente, no período controle pré-microinjeção. A hipótese inicial sobre a ação da histamina era de que ela deveria ser inibitória sobre o comportamento sexual de ratos quando microinjetada no AMePD. Aqui pode-se pensar, que como um todo, há uma inibição/desinibição da atividade neuronal local no AMePD ou de seus axônios de eferência para gerar respostas de facilitação da atividade copulatória de machos. Jiang (2005) demonstrou que, em baixas concentrações extracelulares, a histamina pode estimular ou inibir da transmissão sináptica excitatória na ABL via receptores de tipo H_3 . Futuros experimentos descreverão se a histamina está atuando em diferentes receptores na AMePD, se sua liberação local é dependente também de células da glia ou de outras não-neuronais e, muito importante, se a histamina está modulando a co-liberação de outros neurotransmissores que poderiam igualmente afetar a ocorrência do comportamento sexual de ratos machos. Neste sentido, se ela aumentasse a liberação de serotonina dos terminais axonais locais na AMePD poderia ocorrer uma facilitação do comportamento de ejaculação, como descrito por de Castilhos et al. (2006) que demonstraram a ação do agonista 8-OH-DPAT dos receptores $5-HT_{1A}$ promove tal efeito. Neste momento, os presentes resultados sugerem que a histamina microinjetada na AMePD pode reduzir a latência para a ejaculação quando se comparam os dados intra-grupo experimental.

Os resultados obtidos nesse trabalho apontam para um papel modulatório da AMePD no comportamento sexual, mais do que uma ação crucial para a atividade copulatória de machos. Experimentos futuros determinarão o quanto isso ocorre por inibições locais ou por causa da hodologia que o AMePD apresenta e suas influências em núcleos hipotalâmicos. Em conclusão, microinjeções de GABA, somatostatina e histamina na AMePD geraram resultados mais envolvidos com atividades pré-copulatórias e, em menor parte, na atividade copulatória propriamente dita em ratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AGMO, A.; FERNÁNDEZ, H. Benzodiazepine Receptor Ligands and Sexual Behavior in the Male Rat: The Role of GABAergic Mechanisms. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, 38: 781-788, 1989.

AGMO, A.; CONTRERAS, J. L.; PAREDES, R. Sexual Behavior and Copulatory Thrusting Patterns in Male Rabbits Treated With GABA Transaminase Inhibitors. **Physiology & Behavior**, 49: 73-78, 1990.

AGMO, A.; PAREDES, R. Gabaergic Drugs and Sexual Behaviour in the Male Rat. **European Journal of Pharmacology**, 112: 371-378, 1985

AGMO, A.; PAREDES, R.; FERNANDEZ, H. Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotor activity and motor execution in the male rat. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, 35: 327-334, 1990.

AHLENIUS, S. & LARSSON, K. Failure to antagonize the 8-hydroxy-2-(di-n-propilamino)tetralin-induced facilitation of male rat sexual behavior by the

administration of 5-HT receptor antagonists. **European Journal of Pharmacology**, 99: 279-286, 1984.

ALBERS, H. E.; HENNESSEY, A. C.; WHITMAN, D. C. Vasopressin and the regulation of hamster social behavior. **Annals New York Academy Sciences**, 652: 227-242, 1992.

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**, 27: 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. 1995.

ALLEN, J. P. e ALLEN, C. F. Role of amygdaloid complexes in the stress-induced release of ACTH in the rat. **Neuroendocrinology**, 15: 220-230, 1974.

ALVAREZ, E. O.; RUARTE, M.B. Histaminergic neurons of the central hippocampus and the baso-lateral amygdala of the rat: functional interaction on memory and learning mechanisms. **Behavioural Brain Research**. 128: 81-90, 2002.

ARRANG, J.M.; GARBARG, M.; SCHWARTZ, J.C. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. **Nature**, 302: 832–837, 1983.

ARRANG, J.M.; GULAT, M. C.; DEFONTAINE, N.; SCHWARTZ, J.C. Regulation of histamine release in rat hypothalamus and hippocampus by presynaptic galanin receptors. **Peptides**, 12: 1113–1117, 1991.

ARRANG, J.M., DRUTEL, G., SCHWARTZ, J.C. Characterization of histamine H3 receptors regulating acetylcholine release in rat entorhinal cortex. Br. **The Journal of Pharmacology**. 114: 1518–1522, 1995.

BAUM, M. J. Neuroendocrinology of sexual behavior in the male. In: BECKER, J. B.; BREEDLOVE, S. M.; CREWS, D. **Behavioral Neuroendocrinology**, Massachusetts, Bradford, 97-130, 1992.

BEALER, S.L. Histamine releases norepinephrine in the paraventricular nucleus: anterior hypothalamus of the conscious rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 264: 734–738, 1993.

BEECH, D.J.; BERNHEIM, L.; HILLE, B. Pertussis toxin and voltage dependence distinguish multiple pathways modulating calcium channels of rat sympathetic neurons. **Neuron**, 8: 97–106, 1992.

BELL, G. I.; REISINE, T. Molecular biology of somatostatin receptors. **Trends Neuroscience**, 16: 34–38, 1993.

BEM-ARI, Y.; LE GAL LA SALLE, G.; BARBIN, G.; SCHWARTZ, J.C.; GARBARG, M. Histamine synthesizing afferents within the amygdaloid complex and bed nucleus of the stria terminalis of the rat. **Brain Research**. 138: 285-294, 1977.

BENOIT, R.; LING, N.; BAKHIT, CH.; MORRISON, J. H.; ALFORD, B.; GUILLEMIN, R. Somatostatin-28 (1–12)-like immunoreactivity in the rat. **Endocrinology**, 111: 2149–2151; 1982.

BERTHERAT, J.; BLUET-PAJOT, M. T.; EPELBAUM, J. Neuroendocrine regulation of growth hormone. **European Journal of Endocrinology**, 132: 12–24, 1985.

BEYER, C.; CONTRERAS, G.; MORALI, G.; LARSSON, K. Effects of castration and sex steroid treatment on the motor copulatory pattern in the rat. **Physiology Behavior**, 27: 727-730, 1981.

BIAN, X.; YANAGAWA, Y.; CHEN, W. R.; LUO, M. Cortical-lick functional organization of the pheromone-processing circuits in the medial amygdala. **The Journal of Neurophysiology**, 99: 77-86, 2008.

BIANCHIN, M. M.; DA SILVA, R. C. R.; SCHIMITZ, P. K. P.; MEDINA, J. H.; IZQUIERDO, I. I. Memory of inhibitory avoidance in the rat is regulated by glutamate metabotropic receptors in the hippocampus. **Behavioural Pharmacology**, 5: 356-359, 1994.

BITRAN, D.; MILLER, S. A.; McQUADE, D. B.; LEIPHEIMER, R. E.; SACHS, B. D. Inhibition of sexual reflexes by lumbosacral injection of a GABA-B agonist in the male rat. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, 31: 657-666, 1989.

BITRAN, D. & HULL, E. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, 11: 365-389, 1987.

BLUET-PAJOT, M. T.; EPELBAUM, J.; GOURDJI, D.; HAMMOND, C.; KORDON, C. Hypothalamic and hypophyseal regulation of growth hormone secretion. **Cellular and Molecular Neurobiology**, 18: 101-123, 1998.

BOLHUIS, J. R. The corticomedial amygdala and learning in an agonistic situation in the rat. **Physiology and Behavior**, 32: 575-579, 1984.

BORMANN, J.; FEIGENSPAN, A. GABA_C receptors. **Trends Neuroscience**, 11: 112-116, 1995.

BOUE-GRABOT, E.; ROUDBARAKI, M.; BASCLES, L.; TRAMU, G.; BLOCH, B.; GARRET, M. Expression of GABA receptor ρ subunit in rat brain. **The Journal of Neurochemistry**, 70: 899-907, 1998.

BRAZEAU, P.; VALE, W.; BURGUS, R.; LING, N.; BUTCHER, M.; RIVIER, J.; GUILLEMIN, R. Hypothalamic peptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. **Science**, 179: 77-9, 1973.

BREDER, C. D.; YAMADA Y.; YASUDA, K.; SAPER, C. B.; BELL, I. Differential expression of somatostatin receptor subtypes in brain. **The Journal of Neuroscience**, 12: 3920-34, 1992.

BROWN, R.E., REYMAN, K.G. Histamine H3 receptor-mediated depression of synaptic transmission in the dentate gyrus of the rat in vitro. **The Journal of Physiology of London**, 496: 175–184, 1996.

BROWN, E. R.; STEVENS, D. R.; HAAS, L. H. The physiology of brain histamine. **Progress in Neurobiology**. 63: 637-672, 2001.

BRUNO, J. F., XU Y., SONG, J. BERELOWITZ, M. Molecular cloning and functional expression of a brain-specific somatostatin receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 89: 11151–11155, 1992.

BUGAJSKI, J., JANUSZ, Z. Central histaminergic stimulation of pituitary — adrenocortical response in the rat. **Life Sciences**. 33:1179–1189, 1983.

BUGAJSKI, J., GADEK, A. Central H1- and H2-histaminergic stimulation of pituitary-adrenocortical response under stress in rats. **Neuroendocrinology** 36: 424–430, 1983.

CANGIOLI, I.; BALDI, E.; MANNAIONI, P.F.; BUCHARELLI, C.; BLANDINA, P.; PASSANI, M.B. Activation of histaminergic H3 receptors in the rat basolateral amygdala improves expression of fear memory and enhances acetylcholine release. **European Journal of Neuroscience**. 16: 521- 528, 2002.

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. **Journal Comparative Neurology**, 360: 213-245, 1995.

CANTERAS, N. S.; CHIAVENGATTO, S.; RIBEIRO DO VALLE, L. E.; SWANSON, L. W. Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. **Brain Research Bulletin**, 44: 297-305, 1997.

CARRER, H. F.; WHITMOYER, D. I.; SAWYER, C. H. Effects of hippocampal and amygdaliod stimulation on the firing of preoptic neurons in the proestrus female rats. **Brain Research**, 142: 363-367.

CASTILHOS, J. Efeito da microinjeção de 8-OH-DPAT, agonista dos receptores 5-HT1A, na amígdala medila póstero-dorsal sobre o comportamento sexual de ratos machos. TCC. UNISINOS. São Leopoldo, 2002.

CAVALCANTE, J. C.; SITA, L. V.; MASCARO, M. B.; BITTENCOURT, J. C.; ELIAS, C. F. Distribution of urocortin 3 neurons innervating the ventral premammillary nucleus in the rat brain. **Brain Research**, 1089: 116-125, 2006.

CHERUBINI E, GAIARSA JL, BEN-ARI Y. GABA: an excitatory transmitter in early postnatal life. **Trends Neurosciences**.,12: 515-9, 1991

CHESSLET, M.F.; REISINE, T. Somatostatin regulates dopamine release in rat striatal slices and cat caudal nucleus. **The Journal of Neurosciences**., 3: 232–236,1983.

CHIAVEGATTO, S.; BERNARDI, M.M.; DE SOUZA-SPINOSA, H. Effects of prenatal diphenhydramine administration on sexual behavior in rat. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 22: 729-732, 1989.

CHIKAI, T.; OISHI, R.; SAEKI, K. Microdialysis Study of the Effects of Sedative Drugs on Extracellular Histamine in the Striatum of Freely Moving Rats. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. 266 (3): 1277 – 1281, 1993.

CHU, M.; HUANG, Z.; QU, W.; EGUCHI, N.; YAO, M.; URADE, Y. Extracellular histamine level in the frontal cortex is positively correlated with the amount of wakefulness in rats. **Neuroscience Research**. 49: 417 – 420, 2004.

COOLEN, L.M., PETERS, H.J., VEENING, J.G. Fos immunoreactivity in the rat brain following consummatory elements of sexual behavior: a sex comparison. **Brain Research**, 738: 67–82, 1996.

COOLEN, L. M.; OLIVIER, H.; PETERS, H. J. P. W.; VEENING, J. G. Demonstration of ejaculation-induced neural activity in the male rat brain using 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT. **Physiology and Behavior**, 62: 881-891, 1997.

CURTIS, D. R.; JOHNSTON, A. R. Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system. **Ergeb Physiology**, 69: 97-188, 1974.

DAVIS, M. The role of the amygdala in conditioned fear. In: AGGLETON, J. P. The Amygdala. **New York, Wiley** –Liss., 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**, 11: 2312-2322, 1999.

DE CASTILHOS, J.; MARCUZZO, S.; FORTI, C.D.; FREY, R. M.; STEIN, D. ACHAVAL, M.; RASIA-FILHO, A. Further studies on the rat posterodorsal medial amygdala: Dendritic spine density and effect of 8-OH-DPAT microinjection on male sexual behavior. **Brain Research Bulletin**, 69: 131-139, 2005.

DELANEY, A. J.; SAH, P. Pathway-Specific targeting of GABA_A receptor subtypes to somatic and dendritic synapses in the central amygdala. **Journal of Neurophysiology**, 86: 717-723, 2001.

DELESQUE, N. et al. Sst2 somatostatin receptor expression reverses tumorigenicity of human pancreatic cancer cells. **Cancer Research**, 57: 956–962 ,1997.

DE VRIES, G. J.; BUIJS, R. M.; VAN LEEUWEN, F. W.; CAFEE, A. R.; SWAAB, D. F. The vasopressineergic innervation of the brain in normal and castrated rats. **The Journal of Comparative Neurology**., 233: 236-254, 1985.

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

DINGLELINE, R. & MCBAIN, C. J. Excitatory Amino Acid Transmitters. In: **Basic Neurochemistry**, ed by Siegel, G. J.; Agranoff, B. W.; Albers, R. W.; Molinoff, P. B., Raven Press, New York, 1993.

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

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

DONG, H. W.; PETROVICH, G.; SWANSON, L. W. Topography of projections from amygdala to bed nuclei of the stria terminalis. **Brain Research Review**, 38: 192-246, 2001.

DONOSO, A. O.; BROITMAN, S. T. Effects of a histamine synthesis inhibitor and antihistamines on the sexual behavior of female rats. **Psychopharmacology**. 66: 251-255, 1979.

DOURNAUD, P.; BOUDIN, .; SCHONBRUNN, A.; TANNENBAUM, G.S; BEAUDET, A. ECKERSELL, C. B.; MICEVYCH P. E. Opiate receptor modulate estrogen-induced cholecystokinin and tachykinin but not enkephalin messenger RNA levels in the limbic system and hypothalamus. **Neuroscience**, 80: 473-485, 1997.

DOURNAUD, P.; BOUDIN, H.; SCHONBRUNN, A.; TANNENBAUM, G. S.; BEAUDET, A. Interrelationships between somatostatin sst2A receptors and somatostatin-containing axons in rat brain: vidence for regulation of cell surface receptors by endogenous somatostatin. **Journal of Neuroscience**, 18 (3): 1056-1071, 1998.

EDWARDS, D. Induction of estrus in female mice. Estrogen-progesterone interactions. **Hormones and Behavior**, 1: 299-304, 1970.

EMSON, P. C. Peptides as neurotransmitter candidates in the mammalian CNS. **Progress in Neurobiology**, 13: 61-116, 1979.

ENNA, S. J.; MAGGI, A. Biochemical pharmacology of GABAergic agonists. **Life Sciences**., 24: 1727-1738, 1979.

ENZ, R. GABA(C) receptors: A molecular view. **Biological Chemistry**, 382 (8): 1111-1122, 2001.

EPELBAUM J, ARANCIBIA LT, KORDON C, OTTERSEN OP, BEN-ARI Y. Regional distribution of somatostatin within the amygdaloid complex of the rat brain. **Brain Research**, 174(1):172-4, 1979.

EPELBAUM, J. Somatostatin in the central nervous system: physiological and pathological modifications. **Progress in Neurobiology**, 27: 63–100. 1986.

EVERITT, B. Limbic lobe and olfactory pathways. In: BERRY, M. M.; BANNISTER, L. H.; STANDRING, S.M. **Gray's Anatomy**. London, Churchill Livingstone, 1995.

FEIGENSPAN, A. BORMANN, J. Differential pharmacology of GABA_A and GABA_C receptors on rat retinal bipolar cells. **European Journal of Pharmacology**, 288: 97-104, 1994.

FERNANDEZ-FEWELL GD, MEREDITH M. C-*fos* expression in vomeronasal pathways of mated or pheromone-stimulated male golden hamsters: contributions from vomeronasal sensory input and expression related to mating performance. **Journal of Neuroscience**, 14: 3643–54, 1994.

FERNÁNDEZ-GUASTI, A.; LARSSON, K.; BEYER, C. GABAergic Control of Masculine Sexual Behavior. **Pharmacology Biochemistry & Behavior**, 24: 1065-1070, 1986.

FROIDEVAUX, S., EBERLE, A. N. Somatostatin analogs and radiopeptides in cancer **Therapy. Biopolymers**, 66: 161–183, 2002.

GARCIA, M., FLORAN, B., ARIAS MONTANO, J.A., YOUNG, J.M., ACEVES, J. Histamine H₃ receptor activation selectively inhibits dopamine D₁ receptor-dependent [³H]GABA release from depolarization-stimulated slices of rat substantia nigra pars reticulata. **Neuroscience**, 80: 241–249, 1997.

GÖTHERT, M. Somatostatin selectively inhibits noradrenaline release from hypothalamic neurones. **Nature**, 288: 86–88, 1980.

GOLARD, A.; SIEGELBAUM, S. A. Kinetic basis for the voltage-dependent inhibition of N-type calcium current by somatostatin and norepinephrine in chick sympathetic neurons. **Journal of Neuroscience**, 13: 3884 –3894, 1993.

GOMEZ, D. M.; NEWMAN S. W. Differential projections of the anterior and posterior regions of the medial amygdaloid nucleus in the Syrian hamster. **Journal of Comparative Neurology**, 317: 195-218, 1992.

GRAEFF, F. G.; VIANA, M. B.; TOMAZ, C. The Elevated T-Maze, a new experimental model of anxiety and memory, effect of Diazepam. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 26: 67-70, 1993.

GREENE, R.W., HAAS, H.L. Effects of histamine on dentate gyrus granule cells in vitro. **Neuroscience**, 34: 299–303, 1990.

GUILLAMÓN, A. & SEGOVIA, S. Sex Differences in the Vomeronasal System. **Brain Research Bulletin**, 44: 377-382, 1997.

GUIRADO, S.; REAL, M. A.; DÁVILA, J.C. Immunohistochemically defined áreas in the medial amygdala in the developing and adult mouse. **Brain Research Bulletin**, 75: 214-217, 2008

GULAT MARNAY, C., LAFITTE, A., ARRANG, J.M., SCHWARTZ, J.C., Modulation of histamine release and synthesis in the brain mediated by alpha 2-adrenoceptors. **Journal of Neurochemistry**, 53: 513–518, 1989a.

GULAT MARNAY, C., LAFITTE, A., ARRANG, J.M., SCHWARTZ, J.C., Regulation of histamine release and synthesis in the brain by muscarinic receptors. **Journal of Neurochemistry**, 52: 248–254, 1989b.

GULAT MARNAY, C., LAFITTE, A., ARRANG, J.M., SCHWARTZ, J.C., 1990. Modulation of histamine release in the rat brain by kappa-opioid receptors. **Journal of Neurochemistry**, 55: 47–53.

HARLAN, R. E.; SHIVERS, B. D.; MOSS, R. L.; SHRYNE, J. E.; GORSHY, R. A.. Sexual performance as a function of time of day in male and female rats. **Biology of Reproduction**, 23: 64-71, 1980.

HAAS, H.L. Histamine hyperpolarizes hippocampal neurones in vitro. **Neuroscience Lett.** 22: 75–78, 1981.

HAAS, H.L., KONNERTH, A. Histamine and noradrenaline decrease calcium-activated potassium conductance in hippocampal pyramidal cells. **Nature**, 302: 432–434, 1983.

HAAS, H.L., 1984. Histamine potentiates neuronal excitation by blocking a calcium-dependent potassium conductance. **Agents Actions**, 14: 534–537, 1984.

HAAS, H.L., GREENE, R.W. Effects of histamine on hippocampal pyramidal cells of the rat in vitro. **Experimental Brain Research**, 62: 123–130, 1986.

HAAS, H.L., REINER, P.B., GREENE, R.W. Histaminergic and histaminoceptive neurons: electrophysiological studies in vertebrates. In: Watanabe, T., Wada, H. (Eds.), *Histaminergic Neurons: Morphology and Function*. **CRC Press, Boca Raton, FL**, pp. 196–208, 1991.

HAAS, H.L. Electrophysiology of histamine receptors. In: Schwartz, J.C., Haas, H.L. (Eds.), *The Histamine Receptor*. **Wiley-Liss, New York**, pp. 161–171, 1992.

HATHWAY, G. J.; KENDRICK, K. M.; EMSON, P. C.; HUMPHREY, P. P. A. The neuromodulatory actions of somatostatin in the rat striatum in vivo. **Journal of Neurochemistry**, 70: 1740–1749, 1998.

HATTON, G.I.; YANG, Q.Z. Synaptically released histamine increases dye coupling among vasopressinergic neurons of the supraoptic nucleus: mediation by H1 receptors and cyclic nucleotides. **Journal of Neurochemistry**, 16: 123–129, 1996.

HEEB, M. M.; YAHR, P. *C-fos* immunoreactivity in the sexually dimorphic area of the hypothalamus and related brain regions of male gerbils after exposure to sex-related stimuli or performance of specific sexual behaviors. **Neuroscience**, 72: 1049–71, 1996.

HEEB, M. M.; YAHR, P. Cell-body lesions of the posterodorsal preoptic nucleus or posterodorsal medial amygdala, but not the parvicellular subparafascicular thalamus, disrupt mating in male gerbils. **Physiology & Behavior**, 68: 317–331, 2000.

HERMEL, E.E.S.; FACCIÓNI-HEUSER, M.C.; RASIA-FILHO, A.A.; ACHAVAL, M. Neurônios da amígdala medial póstero-dorsal (AmePD) do rato: uma análise ultra-estrutural. XI Congresso Brasileiro de Biologia Celular, Porto Alegre, julho de 2002.

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. **Learning and Memory**, 4: 262-283, 1997.

HIGUCHI, T.; YAMAZAKI, O.; TAKAZAWA, A.; KATO, N.; WATANABE, N.; MINATOGAWA, Y.; YAMAZAKI, J.; OSHIMA, H.; NAGAKI, S.; IGARASHI, Y.; NOGUCHI, T. Effects of carbamazepine and valproic acid on brain immunoreactive

somatostatin and g-aminobutyric acid in amygdaloid kindled rats. **European Journal of Pharmacology**,125: 169 –175, 1986.

HILL, S.J.; GANELLIN, C.R.; TIMMERMAN, H.; SCHWARTZ, J.C.; SHANKLEY, N.P.; YOUNG, J.M.; SCHUNACK, W.; LEVI, R.; HAAS, H.L. International Union of Pharmacology. XIII. Classification of histamine receptors. **Pharmacology Reviews**, 49: 253–278, 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 Research**, 579: 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 behaviors. **University of Michigan**. Tese de Ph.D.

HOSOKAWA N, CHIBA A. Effects of sexual experience on conspecific odor preference and estrous odor-induced activation of the vomeronasal projection pathway and the nucleus accumbens in male rats. **Brain Research**, 1066: 101–108, 2005.

HOUGH, L.; LEURS, R. HISTAMINE. In: SIEGEL, G. Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects. **American Society for Neurochemistry**, 2006.

HOYER, D.; BELL, G.I.; BERELWITZ, M.; EPELBAUM, J.; FENIUK, W.; HUMPHREY, P.P.A.; O'CARROLL, A.M.; PATEL, Y.C.; SCHONBRUNN, A.; TAYLOR, J.E.; REISINE, T. Classification and nomenclature of somatostatin receptors. **Trends Pharmacology Science**, 16: 86–88, 1995.

HUANG, C.C., HSU, K.S., GEAN, P.W. Isoproterenol potentiates synaptic transmission primarily by enhancing presynaptic calcium influx via P- and/or Q-type calcium channels in the rat amygdala. **Journal of Neuroscience**, 16: 1026–1033, 1996.

HULL, E. M.; DOMINGUEZ, J. M. Getting his act together: Roles of glutamate, nitric, and dopamine in the medial preoptic area. **Brain Research**, 1126: 66-75, 2006.

IKEDA, S.R.; SCHOFIELD, G. G. Somatostatin blocks a calcium current in rat sympathetic ganglion neurones. **Journal of Physiology (Lond)**, 409: 221–240, 1989.

INAGAKI, N.; YAMATODANI, A.; ANDO-YAMAMOTO, M.; TOHYAMA, M.; WATANABE, T.; WADA, H.; Organization of histaminergic fibers in the rat brain. **Journal of Comparative Neurology**, 273: 283–300, 1988.

INAGAKI, N.; TODA, K.; TANIUCHI, I.; PANULA, P.; YAMATODANI, A.; TOHYAMA, M.; WATANABE, T.; WADA, H. An analysis of histaminergic efferents of the tuberomammillary nucleus to the medial preoptic area and inferior colliculus of the rat. **Experimental Brain Research**, 80: 374–380, 1990.

INOUE, I., YANAI, K., KITAMURA, D., TANIUCHI, I., KOBAYASHI, T., NIIMURA, K., WATANABE, T. Impaired locomotor activity and exploratory behavior in mice lacking histamine H1 receptors. . **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 93: 13316–13320, 1996.

ISHIBASHI, H.; AKAIKE, N. Somatostatin modulates high-voltageactivated Ca²⁺ channels in freshly dissociated rat hippocampal neurons. **Journal of Neurophysiology**, 74:1028 –1036, 1995.

ITOH, Y.; OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SAEKI, K. Involvement of Mu receptors in the opioid-induced increase in the turnover of mouse brain histamine. **Journal of Pharmacology Experimental Therapeutic**, 244: 1021–1026, 1988a.

ITOH, Y.; OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SAEKI, K. Characterization of Histamine Release from the Rat Hypothalamus as Measured by In Vivo Microdialysis. **Journal of Neurochemistry**. 56: 769-774, 1991.

IZQUIERDO, I. I. & MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biomechemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. **Neurobiology Learn and Memory**, 68: 285-316, 1997.

JIANG, X.; CHEN, A.; LI, H. Histaminergic modulation of excitatory synaptic transmission in the rat basolateral amygdala. **Neuroscience**. 131: 691-703, 2005.

JOHANSSON, O; HO"KFELT, T.; ELDE R. P. Immunohistochemical distribution of somatostatin-like immunoreactivity in the central nervous system of the adult rat. **Neuroscience**. 13: 265–339, 1984.

KAMEI, C., OKUMURA, Y., TSUJIMOTO, S., TASAKA, K. Role of hypothalamic histamine in stimulating the corticosterone release in rats. **Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie**. 325: 35–50, 1993b.

KJAER, A., KNIGGE, U., BACH, F.W., WARBERG, J. Histamine and stress-induced secretion of ACTH and beta-endorphin: involvement of corticotropin-releasing hormone and vasopressin. **Neuroendocrinology** 56: 419–428, 1992a.

KJAER, A., LARSEN, P.J., KNIGGE, U., MOLLER, M., WARBERG, J. Histamine stimulates c-fos expression in hypothalamic vasopressin-, oxytocin-, and corticotropin-releasing hormone-containing neurons. **Endocrinology**, 134: 482–491, 1994b.

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

KNAPSKA, E.; RADWANSKA, K.; WERKA, T.; KACZMAREK, L. Functional internal complexity of amygdala: focus on gene activity mapping after behavioral training and drugs of abuse. **Physiology Reviews**, 87: 1113–1173, 2007.

KNIGGE, U., WARBERG, J. The role of histamine in the neuroendocrine regulation of pituitary hormone secretion. **Acta Endocrinologica (Copenh.)**, 124: 609–619, 1991.

KNIGGE, U., MATZEN, S., WARBERG, J. Histaminergic stimulation of prolactin secretion mediated via H1- or H2-receptors: dependence on routes of administration. **Neuroendocrinology**, 44: 41–48, 1986.

KNIGGE, U., MATZEN, S., WARBERG, J. Effects of H2-receptor antagonists on prolactin secretion: specificity and mediation of the response. **Acta Endocrinologica (Copenh.)** 115: 461–468, 1987.

KNIGGE, U., BACH, F.W., MATZEN, S., BANG, P., WARBERG, J. Effect of histamine on the secretion of pro-opiomelanocortin derived peptides in rats. **Acta Endocrinologica Copenh.** 119: 312–319, 1988c.

KNIGGE, U., KJAER, A., LARSEN, P.J., JORGENSEN, H., BACH, F.W., MOLLER, M., WARBERG, J. Effect of histamine on gene expression and release of proopiomelanocortin-derived peptides from the anterior and intermediate pituitary lobes in conscious male rats. **Neuroendocrinology**. 62: 319–325, 1995.

KOLLACK–WALKER SS, Newman SW. Mating-induced expression of *c-fos* in the male Syrian hamster brain: role of experience, pheromones, and ejaculation. **Journal of Neurobiology**, 32: 481–501, 1997.

KONDO, Y. Lesions of the medial amygdala produce severe impairment of copulatory behavior in sexually inexperienced male rats. **Physiology and Behavior**, 51: 939-943, 1992.

KONDO, Y. & ARAI, Y. Functional association between the medial amygdala and the medial preoptic area in regulation of mating behavior in the male rat. **Physiology and Behavior**, 57: 69–73, 1995.

KONG, H.; DEPAOLI, A.M.; BREDER, C.D.; YASUDA, K.; BELL, G.I.; REISINE, T. Differential expression of messenger RNAs for somatostatin receptor subtypes SSTR1, SSTR2 and SSTR3 in adult rat brain: analysis by RNA blotting and in situ hybridization histochemistry. **Neuroscience**, 59:175–184, 1994.

KÖHLER, C.; SWANSON, L.; HAGLUND, L.; WU, J.Y. The cytoarchitecture, histochemistry and projections of the tuberomammillary nucleus in the rat. **Neuroscience** 16: 85–110, 1985.

LeDOUX, J. E. Emotion and amygdala. In: AGGLETON, J. P. **The Amygdala**. New York, Wiley-Liss, 1982.

LEHMAN, M. N. & WINANS, S. S. Vomeronasal and olfactory pathways to the amygdala controlling male hamster sexual behavior. Autoradiographic and behavioral analyses. **Brain Research**, 240: 27-41, 1982.

LEIPHEIMER, R. E.; SACHS, B. D. GABAergic Regulation of Penile Reflexes and Copulation in Rats. **Physiology & Behavior**, 42: 351-357, 1988.

LI, X.; SCHWARTZ, P. E.; RISSMON, E. F. Distribution of estrogen receptor- β -like immunoreactivity in rat forebrain. **Neuroendocrinology**, 66: 63-67, 1997.

LOLOVA, I.; DAVIDOFF, M. Changes in GABA – Immunoreactivity and GABA – Transaminase Activity in Rat Amygdaloid Complex in Aging. **Journal of Hirnforschung**, 32: 231-238, 1990.

LU, V. N.; HATTORI, Y.; MORIWAKI, A.; HAYASHI, Y.; HORI, Y. Inhibition of neurons in the rat medial amygdaloid nucleus in vitro by somatostatin. **Journal of Physiology and Pharmacology**, 73: 670-674, 1995.

MADLAFOUSEK, J.; HLINÁK, Z.; BERAM, J. Decline of sexual behavior in castrated male rats: effects of female precopulatory behavior. **Hormones and Behavior**, 7: 245-252, 1976.

MAJCHRZAK M.; BRAILOWSKY S.; WILL B. Chronic infusion of GABA into the nucleus basalis magnocellularis or frontal cortex of rats: a behavioral and histological study. **Experimental Brain Research**, 88 (3): 531-40, 1992.

MARCOS, P.; COVENAS, R.; NARVAEZ, J. A.; AGUIRRE, J. A.; TRAMU, G.; GONZALEZ–BARON, S. Neuropeptides in the Cat Amygdala. **Brain Research Bulletin**, 45(3): 261-268, 1998.

McCLINTOCK, M. & ADLER, N. The role of the female during copulation in wild and domestic Norway rats (*Rattus norvegicus*). **Behavior**, 67: 67-96, 1978.

MCCORMICK, D.A.; WILLIAMSON, A. Modulation of neuronal firing mode in cat and guinea pig LGNd by histamine: possible cellular mechanisms of histaminergic control of arousal. **Journal of Neuroscience**, 11: 3188–3199, 1991b.

MCDONALD, A. J.; PEARSON, J. C. Coexistence of GABA and peptide immunoreactivity in non-pyramidal neurons of the basolateral amygdala. **Neuroscience Letters**, 100: 53–58, 1989.

MCDONALD, A.J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. **Progress in Neurobiology**, 55: 257–332, 1998.

McDONALD, J. W. & JOHNSTON, M. V. Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. **Progress in Neurobiology**, 28: 197-276, 1990.

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**, 1992.

McGREGOR, A.; HERBERT, J. Specific Effects of β – Endorphin Infuse Into The Amygdala on Sexual Behavior in the Male Rat. **Neuroscience**, 46: 165-172, 1992.

MEIS, S; SOSULINA, L; SCHULZ, S; HOLLT, V; PAPE, HC. Mechanisms of somatostatin-evoked responses in neurons of the rat lateral amygdale. **European Journal of Neuroscience**, 21: 755-762, 2005.

MEISEL, R.; SACHS, D. The Physiology of male Sexual Behavior. In: **The Physiology of Reproduction**, ed by E. Knobil and J. D. Neill. Raven Press, New York, 1994.

MERINEY, S. D.; GRAY, D. B.; PILAR, G.R. Somatostatin-induced inhibition of neuronal Ca²⁺ current modulated by cGMP-dependent protein kinase. **Nature**, 369: 336 –339, 1994.

MEYERHOF, F W.; WULFSEN, I.; SCHONROCK, C.; FEHR, S.; RICHTER, D. Molecular cloning of a somatostatin-28 receptor and comparison of its expression pattern with that of a somatostatin-14 receptor in rat brain. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 89: 10267–10271,1992.

MEYERHOF, W. The elucidation of somatostatin receptor functions: a current view. **Reviews of Physiology, Biochemistry & Pharmacology**. 133: 55–108 1998.

MICEVYCH, P.; AKESSON, T.; ELDE, R. Distribution of cholecystokinin-immunoreactive cell bodies in the male and female rat: II. Bed nucleus of the striaterminalis and amygdala. **Journal of Comparative Neurology**, 269: 381-391, 1988.

MOCHIZUKI, T.; YAMATODANI, A.; OKAKURA, K.; TAKEMURA, M.; INAGAKI, N.; WADA, H. In vivo release of neuronal histamine in the hypothalamus of rats measured by microdialysis. **Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology**, 343: 190-195, 1991.

MOLLER, L.N., STIDSEN, C.E., HARTMANN, B. & HOLST, J.J. Somatostatin receptors. **Biochemistry and Biophysical Acta**, 1616: 1–84, 2003.

MOMIYAMA, T. e ZABORSZKY, L. Somatostatin presynaptically inhibits both GABA and glutamate release onto rat basal forebrain cholinergic neurons. **Journal of Neurophysiology**, 96: 686 - 694, 2005.

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 the medial amygdala on maternal behavior in female rats. **Brain Research**, 99: 63-73, 1999.

MUNAKATA, M.; AKAIKE, N. Regulation of K₊ conductance by histamine H1 and H2 receptors in neurones dissociated from rat neostriatum. **Journal of Physiology (Lond)**, 480: 233–245, 1994.

NAKANISHI, S. Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain functions. **Science**, 258: 597-603, 1992.

NEAL, C. R. Jr.; NEWMAN, S. W. Prodynorphin peptide distribution in the forebrain of the Syrian hamster and rat: A comparative study with antisera against dynorphin A, dynorphin B and the C-terminus of the prodynorphin precursor molecule. **Journal of Comparative Neurology**, 288: 353-386.

NEAL, C. R. Jr.; SWANN, J. M.; NEWMAN, S. W. The colocalization of substance P and prodynorphin immunoreactivity in neurons of the medial preoptic area, bed nucleus of the stria terminalis and medial nucleus of the amygdala of the Syrian hamster. **Brain Research**, 496: 1-13, 1989.

NECKEL, H. Efeito da microinjeção de GABA e glutamato no núcleo medial pósterodorsal da amígdala medial sobre o controle da pressão arterial em ratos. **Dissertação de Mestrado: Neurociências**, UFRGS, 2007.

NEWMAN, S. W. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 877: 242-257, 1999.

NITECKA, L.; BEN-ARI, Y. Distribution of GABA-like immunoreactivity in the rat amygaloid complex. **Journal of Comparative Neurology**, 266: 45-55, 1987.

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**, 27: 56-81, 1993.

O'CARROLL A, M.; LOLAIT, S. J.; KONIG, M.; MAHAN, L. C. Molecular cloning and expression of a pituitary somatostatin receptor with preferential affinity for somatostatin-28. **Molecular Pharmacology**, 42: 939-946, 1992.

OISHI, R.; NISHIBORI, M.; SAEKI, K. Regional differences in the turnover of neuronal histamine in the rat brain. **Life Sciences**. 34: 691-699, 1983. OISHI, R.;

ITOH, Y.; SAEKI, K. Inhibition of histamine turnover by 8-OH-DPAT, buspirone and 5-hydroxytryptophan in the mouse and rat brain. **Naunyn Schmiedebergs Archiv Pharmacology**, 345: 495–499, 1992.

OLIAS, G; VIOLLET, C; KUSSEROW, H; EPELBAUM, J; MEYERHOF, W. Regulation and function of somatostatin receptors. **Journal of Neurochemistry**, 89: 1057-1091, 2004.

OLSEN, R. W.; BETZ, H. GABA and glycine. In: SIEGEL, G. Basic Neurochemistry. Molecular, Cellular and Medical Aspects. **American Society for Neurochemistry**, 2006.

ÖSTERLUND, M. Differential distribution and regulation of estrogen receptor-alpha and – beta mRNA within thr female rat brain. **Molecular Brain Research**, 54: 175-180, 1998.

OZAWA, S.; KAMIYA, H.; TSUZUKI, K. Glutamate receptors in the mammalian central nervous system. **Progresss in Neurobiology**, 54: 581-618, 1998.

PANULA, P.; YANG, H.Y.; COSTA, E. Histamine-containing neurons in the rat hypothalamus. . **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 81: 2572–2576, 1984.

PANULA, P.; PIRVOLA, U.; AUVINEN, S.; AIRAKSINEN, M. S. Histamine-immunoreactive nerve fibres in the rat brain. **Neuroscience**, 28: 585–610, 1989.

PANULA, P.; KARLSTEDT, K.; SALLMEN, T. et al. The histaminergic system in the brain: structural characteristics and changes in hibernation. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, 18: 65-74, 2000.

PÁR, G.; SZEKERES-BARTHÓ, J.; BUZÁS, E.; PAP, E.; FALUS, F. impaired reproduction of histamine deficient (histidine-decarboxylase knockout) mice is caused predominantly by a decreased male mating behavior. **American Journal of Reproductive Immunology**, 50: 152-158, 2003.

PARÉ, D.; SMITH, Y. Distribution of GABA Immunoreactivity in the Amygdaloid Complex of the Cat. **Neuroscience**, 57 (4): 1061-1076, 1993.

PAREDES, R. G.; AGMO, A. Stereospecific actions of baclofen on sociosexual behavior, locomotor activity and motor execution. **Psychopharmacology**, 97: 358-364, 1989.

PAREDES, R. G.; AGMO, A. The GABA_B Antagonist CGP 35348 Inhibits the Effects of Baclofen on Sexual Behavior and Motor Coordination. **Brain Research Bulletin**, 36 (5): 495-497, 1995.

PARFITT, D.B., NEWMAN, S.W. Fos-immunoreactivity within the extended amygdala is correlated with the onset of sexual satiety. **Hormone and Behavior**, 34: 17–29, 1998.

PASSANI, M.B.; CANGIOLI, I.; BALDI, E.; BUCHARELLI, C.; MANNAIONI, P.F.; BLANDINA, P. Histamine H3 receptor-mediated impairment of contextual fear conditioning and in-vivo inhibition of cholinergic transmission in the rat basolateral amygdala. **European Journal of Neuroscience**. 14: 1522-1532, 2001.

PATEL, Y. C. Somatostatin and its receptor family. **Frontiers in Neuroendocrinology**, 20: 157–198, 1999.

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

PELLETIER, G., LECLERC, R., DUBE, D., LABRIE, F., PUVIANI, R, ARIMURA, A. AND SCHALLY, A. V. Localization of growth hormone release hormone (somatostatin) in the rat brain. **American Journal of Anatomy**, 142: 397-01, 197.

PEREZ, J. RIGO, M.; KAUPMANN, K.; BRUNS, C.; YASUDA, K.; BEL, G. I.; LUBBERT, H.; HOYER, D. Localization of somatostatin (Sstr) sstr-1, sstr-2 and sstr-3 receptor messenger-RNA in rat-brain by in situ hybridization. **Naunyn-Schmiedeberg Archives of Pharmacology**, 349:145-60, 1994.

PETROVICH, G. D.; CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. **Brain Research Reviews**, 38: 247-289, 2001.

PFAUS, J. G. Neurobiology of sexual behavior. **Current Opinion in Neurobiology**, 9: 751-758, 1999.

PHILIPPU, A., BALD, M., KRAUS, A., DIETL, H. In vivo release by histamine agonists and antagonists of endogenous catecholamines in the cat hypothalamus. **Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology**, 326: 116–123, 1984.

PILLOT, C.; HERON, A.; COCHOIS, V.; TARDIVEL-LACOMBE, J.; LIGNEAU, X.; SCHWARTZ, J.-C.; ARRANG, J.-M. A detailed mapping of the histamine H₃ receptor and its gene transcripts in rat brain. **Neuroscience**, 114: 173-193, 2002.

PILLOT, C.; HERON, A.; COCHOIS, V.; TARDIVEL-LACOMBE, J.; LIGNEAU, X.; SCHWARTZ, J. C.; ARRANG, J. M. A detailed mapping of the histamine H₃ receptor and its gene transcripts in rat brain. **Neuroscience**. 114: 173-193, 2002.

PIN, J. P. & DUVOISIN, R. The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. **Neuropharmacology**, 34: 1-26, 1995.

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

POLSTON, E. K.; SIMERLY, R.B. Neurons in the principal nucleus of the bed nuclei of the stria terminalis provide a sexually dimorphic GABAergic input to the anteroventral periventricular nucleus of the hypothalamus. **Neuroscience**, 123: 793-803, 2004

PRAST, H.; HEISTRACHER, M.; PHILIPPU, A. In vivo modulation of the histamine release in the hypothalamus by adrenoreceptor agonists and antagonists. **Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology**. 344, 183–186, 1991.

PRAST, H.; FISCHER, H.P.; PRAST, M.; PHILIPPU, A. In vivo modulation of histamine release by autoreceptors and muscarinic acetylcholine receptors in the rat anterior hypothalamus. **Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacol.** 350: 599–604, 1994b.

PRICE, J.L. Comparative aspects of amygdala connectivity. **Annals New York Academy Science**, 985: 50–58, 2003.

QUAGLIOTTO, E. Efeito da microinjeção de histamina no núcleo medial pósterodorsal da amígdala medial sobre o controle da pressão arterial em ratos. **Dissertação de Mestrado: Neurociências**, UFRGS, 2006.

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**, 15: 1029-1039, 1995.

QURESHI, G. A.; SÖDERSTEN, P. Sexual activity alters the concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid of male rats. **Neuroscience Letter**, 70: 374-378, 1986.

RADNIKOW, G., MISGELD, U. Dopamine D1 receptors facilitate GABA_A synaptic currents in the rat substantia nigra pars reticulata. **Journal of Neuroscience**, 18: 2009–2016, 1998.

RASIA-FILHO, A. A.; PERES, T. M.; CUBILLA-GUTIERREZ, F. H.; LUCION, A. B. Effect of estradiol implanted in the corticomedial amygdala on the sexual behavior of castrated male rats. **Brazilian Journal of Medical Biology Research**, 24: 1041-1049, 1991.

RASIA-FILHO, A. A.; RAMOS, R. A.; LUCION, A. B. Avaliação temporal da ocorrência de padrões do comportamento sexual de ratos machos. **Anais do XXI Encontro Anual de Ciências Fisiológicas**, Porto Alegre, 1992.

RASIA-FILHO, A. A. Efeito do 8-hidroxi-2 (di-n-propilamino) tetralina, agonista dos receptores 1A da serotonina, sobre o comportamento sexual de ratos machos castrados em diferentes idades. **Dissertação de Mestrado: Fisiologia**, UFRGS, 1994.

RASIA-FILHO, A. A. & LUCION, A. Effects of 8-OH-DPAT on sexual behavior of male rats castrated at different ages. **Hormones and Behavior**, 30: 251-258, 1996.

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**, 48: 173-183, 1999.

RASIA-FILHO, A. A.; LONDERO, R. G.; ACHAVAL, M. Functional activities of the amygdala: an overview. **Journal of Psychiatry and Neuroscience**, 25: 14-23, 2000.

RASIA-FILHO, A. A. ; FABIAN, C. ; RIGOTI, K. ; ACHAVAL, M. . Influence of sex, estrous cycle and motherhood on dendritic spine density in the rat medial amygdala revealed by the Golgi method. **Neuroscience**, v. 126, n. 4, p. 839-847, 2004.

RASIA-FILHO, A. A. ; MARCUZZO, S. ; DALL'OGGIO, A. ; ACHAVAL, M. . Dendritic spines in the posterodorsal medial amygdala after restraint stress and ageing in rats. **Neuroscience Letters**, v. 424, p. 16-21, 2007.

RASIA-FILHO, A. A.; GIOVENARDI, M.; ALMEIDA, R. M. M. Drugs and aggression. *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, v. 3, p. 40-49, 2008.

RAULF, F.; PEREZ, J.; HOYER, D.; BRUNS, C. Differential expression of five somatostatin receptor subtypes, SSTR1-5, in the CNS and peripheral tissue. **Digestion**, 55: 46-53, 1994.

REICHLIN, S. Somatostatin. **The New England Journal of Medicine**. 309: 1495–1501,1983.

REICHLIN, S. Somatostatin (second of two parts). **The New England Journal of Medicine**. 309: 1556–1563 (1983).

REINER, P.B., KAMONDI, A. Mechanisms of antihistamine-induced sedation in the human brain: H1 receptor activation reduces a background leakage potassium current. **Neuroscience**, 59: 579–588, 1994a.

REISINE, T. Somatostatin. **Cellular and Molecular Neurobiology** Vol. 15(6): 597-614, 1995.

ROBERTS, G. W.; WOODHAMS, P. L.; POLAK, J. M.; CROW, T.J. Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: the amygdaloid complex. **Neuroscience**, 7: 99 –131, 1982.

ROBINSON, M. B. & DOWD, L. A. Heterogeneity and functional properties of subtypes of sodium-dependent glutamate transporters in the mammalian central nervous system. **Advanced Pharmacology**, 37: 69-115, 1997.

ROMEAU, G. A.; AKANEYA, Y.; CHIU, L.; ZIFF, E. B. Role of NMDA receptor functional domains in excitatory cell death. **Neuropharmacology**, 39: 2255- 2266, 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**, 65: 1-8, 1996.

SACHS, B. & MEISEL, R. The physiology of male sexual behavior. In: KNOBIL, E.; NEIL, J. (Eds.). **The Physiology of Reproduction**. New York, Raven Press, 1988.

SAH, D.W.Y. Neurotransmitter modulation of calcium current in rat spinal cord neurons. **Journal of Neuroscience**, 10: 136 –141, 1990.

SCHARFMAN, H. E.; SCHWATZKROIN, P. A. Further studies of the effects of somatostatin and related peptides in area CA1 of rabbit hippocampus. **Cellular and Molecular Neurobiology**, 8: 411– 429, 1988.

SCHINDLER, M.; HUMPHREY, P. P.A.; EMSON, P.C. Somatostatin receptors in the central nervous system. **Progress in Neurobiology**, Vol. 50: 9-47, 1996.

SCHLICKER, E., BETZ, R., GOTHERT, M. Histamine H3 receptor-mediated inhibition of serotonin release in the rat brain cortex. **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 337: 588–590, 1988.

SCHLICKER, E., FINK, K., HINTERTHANER, M., GOTHERT, M. Inhibition of noradrenaline release in the rat brain cortex via presynaptic H3 receptors. **Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, 340: 633–638, 1989.

SCHLICKER, E., FINK, K., DETZNER, M., GOTHERT, M. Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H3 receptors. **The Journal Neural Transmission General Section**, 93: 1–10, 1993.

SCHOEPP, D. D. & CONN, P. J. Metabotropic glutamate receptors in brain: function and pathology. **Trends in Pharmacology Science**, 14:13-20, 1993.

SCHOEPP, D. D., JOHNSON, B. G.; SALHOFF, C. R.; WRIGHT, R. A.; GOLDSWORTHY, J. S. A, BAKER, S. R. Second-messenger responses in brain slices to elucidate to novel glutamate receptors. **Journal Neuroscience Methods**, 59: 105-110, 1995.

SCHWARTZ, J.-C., ARRANG, J.-M., GARBARG, M., POLLARD, H., RUAT, M. Histaminergic transmission in the mammalian brain. **Physiology Reviews**. 71: 1–51, 1991.

SCHWEITZER, P.; MADAMBA, S.; CHAMPAGNAT, J.; SIGGINS, G. R. Somatostatin inhibition of hippocampal CA1 pyramidal neurons: mediation by arachidonic acid and its metabolites. **Journal of Neuroscience**, 13: 2033–2049, 1993.

SEEBURG, P. H. The molecular biology of mammalian glutamate receptor channels. **Trends Pharmacology Science**, 16: 359-365, 1993.

SELMER, I; SCHINDLER, M; ALLEN, JP; HUMPHREY, PP; EMSOM, PC. Advances in understanding neuronal somatostatin receptors. **Regulatory Peptides**. 90: 1-18, 2000.

SENARIS, R. M.; HUMPHREY, P.P.A.; EMSOM, P.C. Distribution of somatostatin receptor-1, receptor-2 and receptor-3 messenger-RNA in rat-brain and pituitary. **European Journal of Neuroscience**, 6: 1883-1896, 1994.

SHAIKH, M. B.; STEINBERG, A.; SIEGEL, A. Evidence that substance P is utilized in medial amygdaloid facilitation of defensive range behavior in the cat. **Brain Research**, 265: 283-294, 1993.

SHAPIRO MS, WOLLMUTH LP, HILLE B. Modulation of Ca²⁺ channels by PTX-sensitive G-proteins is blocked by N-ethylmaleimide in rat sympathetic neurons. **Journal of Neuroscience**, 14: 7109 –7116, 1994.

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. **Behavioral Neuroscience**, 114: 337-352, 2000.

SHINDOU, T.; WATANABE, S.; YAMAMOTO, K.; NAKANISHI, H. NMDA receptor-dependent formation of long-term potentiation in the rat medial amygdala neuron in an in vitro slice preparation. **Brain Research Bulletin**, 31: 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. **Journal of Comparative Neurology**, 388: 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**, 14 th Ed. Academic Press, San Diego, CA., 1990.

SILVA, A. Efeito da microinjeção de L - Glutamato, na amígdala medila pósterodorsal sobre o comportamento sexual de ratos machos. **Trabalho de conclusão (UNISINOS)**. São Leopoldo, 2003.

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. **Journal of Comparative Neurology**, 294: 76-95, 1990.

SIMMONS, D. A.; YAHR, P. GABA and glutamate in mating-activated cells in the preoptic area and medial amygdala of male gerbils. **Journal of Comparative Neurology**, 459: 290-300, 2003.

SLODDART-APTER, S. L. & MacDONNELL, M. F. Septal and amygdalar efferents to the hypothalamus which facilitate hypothalamically elicited intraspecific aggression and associated hissing in the cat. Na autoradiographic study. **Brain Research**, 193: 19-32, 1980.

SMOCK, T.; MINERBO, G.; ALBERCK, D.; GOLDBERG, E.; LINDBERG, T.; NAKARI, M.; MARTINES, C.; GARRITANO, J. Activity of peptidergic neurons in the amygdala during sexual behavior in the male rat. **Experimental Brain Research**, 93: 444-450, 1994.

SRIKANT, C.B.; PATE, Y.C. Somatostatin receptors: identification and characterization in rat membranes. . **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 78: 3930-3934, 1981.

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

STROH, T.; KREIENKAMP, H. J.; BEAUDER, A. Immunohistochemical distribution of the somatostatin receptor subtype 5 in the adult rat brain: predominant expression in the basal forebrain. **Journal of Comparative Neurology**, 412: 69-82, 1999.

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 the medial preoptic area of the male golden hamster. **Brain Research**, 590: 18-28, 1992.

SWANSON LW. Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior (1). **Brain Research**, 886: 113–164, 2000.

SWANSON, G. T.; KAMBOJ, S. K., CULL-CANDY, S.G. Single-channel properties of recombinant AMPA receptors depend on RNA editing, splice variation, and subunit composition. **Journal of Neuroscience**, 1: 58-69, 1997.

SWANSON, L . M. & PETROVICH, G. D. What is the amygdala? **Trends in Neuroscience**, 21: 323-331, 1998.

TAKAHASHI, L. K. & GLADSTONE, C. D. Medial amigdaloid lesions and the regulation of sociosexual behavior patterns across the estrous cycle in female golden hamsters. **Behavioral Neuroscience**, 102: 268-275, 1988.

TANAKA S. AND TSUJIMOTO A. Somatostatin facilitates the serotonin release from rat cerebral cortex, hippocampus and hypothalamus slices. **Brain Research**, 208: 219–232, 1981.

TSUJIMOTO, S., KAMEI, C., YOSHIDA, T., TASAKA, K. Changes in plasma adrenocorticotrophic hormone and cortisol levels induced by intracerebroventricular injection of histamine and its related compounds in dogs. **Pharmacology**, 47: 73–83, 1993a.

VALE, W. W.; RIVIER, C.; BROWN, M. Regulatory peptides of the hypothalamus. **Annals Reviews. Physiology.**, 38: 473 527, 1977.

VEENING, J.G., COOLEN, L.M. Neural activation following sexual behavior in the male and female rat brain. **Behavior Brain. Research**, 92: 181–193, 1998.

VEENING, J.G.; COOLEN, L. M.; JONG, T. R.; JOOSTEN, H. W.; BOER, S. F.; KOOLHAAS, J. M.; OLIVIER, B. Do similar neural systems subserve aggressive and

sexual behaviour in male rats? Insights from c-Fos and pharmacological studies. **European Journal of Pharmacology**, 526: 226-239, 2005.

VIANA F.; HILLE, B. Modulation of High Voltage-Activated Calcium Channels by Somatostatin in Acutely Isolated Rat Amygdaloid Neurons. **The Journal of Neuroscience**, 16(19): 6000–6011, 1996.

VIZUETE, M.L., DIMITRIADOU, V., TRAIFFORT, E., GRIFFON, N., HERON, A., SCHWARTZ, J.C. Endogenous histamine induces c-fos expression within paraventricular and supraoptic nuclei. **Neuroreport**, 6: 1041–1044, 1995.

VIZUETE, M.L.; TRAIFFORT, E.; BOUTHENET, M.L.; RUAT, M.; SOUIL, E.; TARDIVEL L. J., SCHWARTZ, J.C. Detailed mapping of the histamine H2 receptor and its gene transcripts in guinea-pig brain. **Neuroscience**, 80: 321–343, 1997.

VOCHTELLO, J. D. & KOOLHAAS, J. M. Medial amygdala lesions in male rats reduce aggressive behavior: interference with experience. **Physiology and Behavior**, 41: 99-102, 1987.

WANG, H.L.; REISINE, T.; DICHTER, M. Somatostatin-14 and somatostatin-28 inhibit calcium currents in rat neocortical neurons. **Neuroscience**, 38: 335–342, 1990.

WATANABE, T.; TAGUCHI, Y.; SHIOSAKA, S.; TANAKA, J.; KUBOTA, H.; TERANO, Y.; TOHYAMA, M.; WADA, H. Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats: a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as a marker. **Brain Research**, 295: 13–25, 1984.

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

WEIGER, T., STEVENS, D.R., WUNDER, L., HAAS, H.L. Histamine H1 receptors in C6 glial cells are coupled to calcium-dependent potassium channels via release of calcium from internal stores. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 355: 559–565, 1997.

WILCOX, J.B.; SEYBOLD, V. S. Localization of neuronal histamine in rat brain. **Neuroscience Letters**, 29: 105-110, 1982.

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

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, 1995.

WOOD, R. L. Thinking about networks in the control of male hamster sexual behavior. **Hormones and Behavior**, 32: 40-45, 1997.

YAMADA, Y.; REISINE, T.; LAW, S. F.; et al. Somatostatin receptors, an expanding gene family: cloning and functional characterization of human SSTR3, a protein coupled to adenylyl cyclase. **Molecular Endocrinology**, 6: 2136–2142, 1992.

ZHENG H., BAILEY A., JIANG M. H. ET AL. G. Somatostatin receptor subtype 2 knockout mice are refractory to growth hormone-negative feedback on arcuate neurons. **Molecular Endocrinology**, 11: 1709–1717, 1997.

