

RESUMO

CEZARIO, A.F. Análise da participação do núcleo pré-mamilar dorsal no comportamento de avaliação de risco e na mobilização dos sistemas neurais envolvidos nas respostas de defesa inata induzida pela exposição predatória. 2005. 81 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Com o objetivo de avaliar o papel do núcleo pré-mamilar dorsal (PMd) na mobilização dos sistemas neurais envolvidos com o processamento de respostas defensivas em situações de ameaça predatória, analisamos o padrão de distribuição de células imunorreativas ao Fos em estruturas destes sistemas em ratos portadores de lesões citotóxicas bilaterais do PMd, durante o confronto com o gato. Após a cirurgia, cada animal (N=7) foi individualizado em uma caixa-moradia (25x25x25 cm) com tampo e porta, ligada a um corredor com um metro de extensão com acesso a outra caixa (caixa 2), com as mesmas dimensões da caixa-moradia. Durante 10 dias os animais passaram por um período de adaptação a este aparato, sendo que todos os dias no início do período de escuro a porta da caixa-moradia foi aberta permitindo que os animais explorassem o corredor e se deslocassem até a caixa 2 para obterem a ração ali depositada. No 11^o dia um gato foi colocado na caixa 2 imediatamente antes da abertura da porta da caixa moradia. Os animais foram filmados para posterior análise comportamental. Os animais portadores de lesão citotóxica bilateral do PMd, durante a exposição ao gato, apresentaram uma redução das respostas de *freezing* ($65 \pm 7,5$ vs $553 \pm 7,8$; $p < 0,05$) e *flight* ($5 \pm 0,78$ vs $10 \pm 0,6$; $p < 0,05$) e aumento das respostas de avaliação de risco, tais como *crouch-sniff* ($306 \pm 29,4$ vs $10 \pm 4,5$; $p < 0,05$), *stretch attend* ($110 \pm 10,0$ vs 0 ± 0 ; $p < 0,05$) e *stretch approach* ($13 \pm 1,4$ vs $5 \pm 1,0$; $p < 0,05$). Além disso, a lesão bilateral do PMd diminui a quantidade de células imunorreativas ao Fos na matéria cinzenta periaquedutal (PAG), embora o padrão de distribuição da marcação à proteína Fos nesta região tenha sido semelhante ao apresentado pelos animais controles (N=7). Adicionalmente, a diminuição das células imunorreativas na parte ventral do núcleo anteromedial do tálamo nos animais com lesão no PMd parece indicar o comprometimento de sistemas diretamente envolvidos com o processamento de resposta atencionais. Por outro lado, a lesão do PMd parece não afetar os mecanismos amigdalianos de detecção do predador, uma vez que não houve alteração na marcação ao Fos em áreas da amígdala que se projetam para o hipotálamo medial. Não foram observadas diferenças entre os animais com o PMd lesado e os animais controles na marcação do Fos em regiões do septo e hipocampo.

Para avaliarmos como o PMd influencia a emissão de respostas defensivas emitidas em contextos potencialmente hostis nos quais o predador foi previamente encontrado, submetemos um grupo de animais (N=6) à inativação farmacológica bilateral do PMd por muscimol no dia seguinte à exposição ao predador e avaliamos o comportamento e o padrão de marcação por Fos na PAG desses animais. Os animais com o PMd inativado apresentaram uma diminuição de repostas de *crouch-sniff* (60 ± 27 vs 338 ± 38 e 384 ± 15 ; $p < 0,05$), *stretch attend* (6 ± 2 vs 47 ± 10 e 32 ± 10 ; $p < 0,05$), *stretch approach* (7 ± 2 vs 21 ± 5 e 19 ± 4 ; $p < 0,05$) e *freezing* (0 ± 0 vs 19 ± 5 e 20 ± 4 ; $p < 0,05$), enquanto que as respostas exploratórias, como o *locomotion* (333 ± 38

vs 66 ± 13 e 64 ± 14 ; $p < 0,05$) e o *up-right position* (68 ± 8 vs 41 ± 3 e 36 ± 1 ; $p < 0,05$), foram aumentadas. Adicionalmente, a inativação farmacológica do PMd diminuiu consideravelmente a marcação em alguns setores da PAG, particularmente a coluna dorsolateral. Assim, além de mediar as respostas incondicionadas emitidas diante do predador, a PAG, e particularmente a sua coluna dorsolateral, está relacionada com a emissão de respostas contextualmente condicionadas a ambientes hostis.

Estes dados, em conjunto com os obtidos da literatura, permitem delinear em parte os sistemas neurais envolvidos na organização das respostas aprendidas e inatas induzidas pela exposição ao predador natural de roedores e sugere que o PMd exerça uma ação modulatória nesses comportamentos, que são efetivamente coordenados pela PAG.

Palavras-chaves: núcleo pré-mamilar dorsal, comportamento defensivo, avaliação de risco, hipotálamo, predador, muscimol

ABSTRACT

CEZARIO, A.F. How the dorsal premammillary nucleus influences the risk assessment behavior and the mobilization of neural networks organizing innate predator-induced defensive responses. 2005. 81 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Given the growing evidence on the importance of the dorsal premammillary nucleus (PMd) in the context of predator-related defensive behavior, we have presently examined how the PMd influences the mobilization of the networks organizing these defensive responses, during cat exposure tests, by analyzing the pattern of Fos expression in the defensive hypothalamic system of animals bearing bilateral PMd lesions. After the surgery, each animal (N=7) was first isolated in the a 25X25x25cm home cage connected to a 25X25X25cm food compartment by a hallway 12.5cm wide and 100cm long, with 25cm high wall. During the first 10 days, the animals were habituated to the experimental apparatus on the following schedule: at the onset of the dark phase, the home cage door was opened and the animals were let to explore the rest of the apparatus and get food stored in the food compartment. On 11th day, as the home cage door was opened, the animals were exposed to a cat that was held in the food compartment during 10 min. The ethological analyzes comprised spatiotemporal and behavioral measurements. During cat exposure, PMd-lesioned animals presented a drastic reduction in *freezing* ($65 \pm 7,5$ vs $553 \pm 7,8$; $p < 0,05$) and *flight* ($5 \pm 0,78$ vs $10 \pm 0,6$; $p < 0,05$) responses and increased of risk assessment behaviors, such as *crouch-sniff* ($306 \pm 29,4$ vs $10 \pm 4,5$; $p < 0,05$), *stretch attend* ($110 \pm 10,0$ vs 0 ± 0 ; $p < 0,05$) and *stretch approach* ($13 \pm 1,4$ vs $5 \pm 1,0$; $p < 0,05$). Furthermore, compared to the non-lesioned animals in the cat exposure situation (N=7), a similar pattern of c-Fos expression, but with less intense labeling, was found in the periaqueductal gray matter (PAG) of PMd-lesioned rats in the same condition. Moreover, the reduction of Fos-stained cells of ventral anteromedial thalamic nucleus in PMd-lesioned animals suggests an

impairment of eye and head movements associated with attentional mechanisms. On the other hand, PMd lesions does not appear to interfere with the mobilization of amygdalar-hypothalamic path involved in detecting the predator's presence. No differences were found in the hippocampus and septal areas.

In order to analyze the role of PMd in the expression of reactions which are not an immediate response to the predator's presence, but occur at high levels in situations with potential predatory threat, we also analyze how bilateral blockade of PMd with muscimol influences the behaviors and pattern of distribution of c-Fos expression in the PAG in animals exposed to an environment previously visited by a predator (N=6). PMd pharmacological blockade with muscimol drastically reduces risk assessment responses, such as *crouch-sniff* (60 ± 27 vs 338 ± 38 and 384 ± 15 ; $p<0,05$), *stretch attend* (6 ± 2 vs 47 ± 10 and 32 ± 10 ; $p<0,05$), *stretch approach* (7 ± 2 vs 21 ± 5 and 19 ± 4 ; $p<0,05$) and *freezing* (0 ± 0 vs 19 ± 5 and 20 ± 4 ; $p<0,05$) responses and increased exploratory behavior, such as *locomotion* (333 ± 38 vs 66 ± 13 and 64 ± 14 ; $p<0,05$) and *up-right position* (68 ± 8 vs 41 ± 3 and 36 ± 1 ; $p<0,05$). Furthermore, compared to the control animals, PMd pharmacological blockade in the hostile environment situation induced a reduction of Fos-stained cells in the PAG, particularly the dorsolateral column. Thus, the PAG is thought to play an important role not only in expression of unconditioned defensive responses but also in contextually conditioned defensive reactions.

The present data enable us to delineate some neural systems involved in organizing of predatory-induced responses and suggests that the PMd play a modulatory action in predator-induced defensive reactions, which are effectively coordinated by the PAG.

Keywords: dorsal premammillary nucleus, defensive behavior, risk assessment, hypothalamus, predator, muscimol.