

**Caracterização das Funções Comportamentais do Núcleo Pré-mamilarDorsal do Hipotálamo. Dissertação de Mestrado. Alessandro Fazolo Cezário, Luiz Carlos Schenberg (orientador).**

**Resumo em português.** Estudos com marcadores imuno-histoquímicos mostraram que o núcleo pré-mamilar dorsal (PMd), juntamente com o núcleo anterior do hipotálamo e a porção dorsomedial do núcleo ventromedial do hipotálamo, compõem um circuito diferenciado envolvido na eliciação de comportamentos defensivos. Essas áreas recebem conexões do núcleo medial da amígdala, hipocampo e núcleo septal lateral, responsáveis pela transmissão de estímulos olfatórios, armazenamento do conteúdo episódico referente à situação de risco e por comportamentos exploratórios, e projetam-se maciçamente para a coluna dorsolateral da matéria cinzenta periaquedutal. Por sua vez, estudos utilizando a exposição direta de ratos ao gato mostraram que respostas defensivas, tais como a reação de congelamento, corridas e saltos, são drasticamente reduzidas por lesões bilaterais do PMd feitas com ácido ibotênico, mostrando a importância desse núcleo na expressão de respostas defensivas inatas. Embora as evidências anteriores sugiram a participação do PMd nos comportamentos defensivos, não está claro qual o papel dessa estrutura na ativação de diferentes respostas. Assim, o presente trabalho objetivou caracterizar os padrões comportamentais resultantes da ativação do PMd com base na análise dos limiares das respostas presentes no repertório comportamental do rato, utilizando métodos de regressão logística das frequências acumuladas associado ao teste de razão de verossimilhanças. Ratos Wistar,

adultos, implantados com quimitrodos no PMd, foram colocados numa arena de 60 cm de diâmetro e altura e estimulados por meio de conectores giratórios para estimulação elétrica e química que permitiam a livre movimentação dos animais. Duas sessões de estimulação eram realizadas em dias consecutivos: 1) pulsos senoidais de intensidade variável (0-70  $\mu$ A, 60 Hz, N=22) e 2) microinfusão de NMDA (10 mM, 0.5 nmol/min, N=21). Os registros comportamentais eram feitos de forma binária. As curvas intensidade resposta foram ajustadas pelo modelo logístico. Respostas defensivas e exploratórias foram obtidas com ambos os estímulos, indicando a presença de neurônios responsáveis por estas respostas e receptores NMDA no PMd. No entanto, o salto somente foi eliciado com limiares elevados e respostas de galope não ocorreram com nenhum dos estímulos utilizados, assim como reações agressivas ou de interação social. Por outro lado, as respostas exploratórias obtiveram baixos limiares. Esses resultados confirmam as evidências neuroanatômicas e os estudos de lesão do PMd e sugere que este núcleo participe de reações defensivas inatas, eliciadas em contextos de risco moderado e que são mediadas por estímulos visuais e olfatórios espécie-específicos. Entretanto, o PMd não parece estar envolvido na deflagração de respostas, tais como o galope, emitidas frente a ameaças explícitas. Além disto, o PMd parece ser um núcleo modulador das respostas apresentadas frente a um ataque predatório. Essas reações são efetivamente coordenadas pela coluna dorsolateral da matéria cinzenta periaquedutal, a principal área de projeção de PMd. Portanto, nossos resultados indicam que o PMd seja uma estrutura crucial em comportamentos de avaliação de risco produzidos tanto pela experiência prévia com predadores em um determinado ambiente, quanto por indícios

ambientais que anunciem a proximidade de perigo. Por fim, devido à especificidade do NMDA, a caracterização completa das funções comportamentais do PMd requer estudos com outros agentes neuroativos.

**English Summary.** Experiments with immunoreactivity's methods showed that dorsal premammillary nucleus (PMd), the anterior hypothalamic nucleus and the dorsomedial part of the ventromedial hypothalamic nucleus, compose a differentiated circuit involved in the elicitation of defensive behaviors. These areas receive connections of the medial amygdalar nucleus, hippocampus and the lateral septal nucleus that are involved in the transmission of olfactory incentives, episodic memory-related information and exploratory behaviors, and they are projected massively to the dorsolateral column of the periaqueductal gray matter. On the other hand, studies using rats exposed to a cat showed that defensive responses, such as the freezing behavior, running and jumping are drastically reduced for bilateral ibotenic acid lesions of the PMd evidencing the importance of this nucleus in the expression of innate defensive behaviors. Although the previous evidences suggest the participation of PMd in the defensive behaviors, the role carried out by this structure in the activation of different behaviors is unclear. Thus, the present work aimed to characterize the behavioral patterns evoked by the stimulation of the PMd based in the analysis of the thresholds curves of the different responses of the rat behavioral repertoire by using the logistic fitting of the accumulated response frequency and likelihood-ratio coincidence tests. Adult Wistar male rats, implanted with chemitrodes in the PMd, were placed in a 60 cm diameter and height plexiglass open-field and stimulated by means of electrical and chemical

swivel devices, which allowed the free movement of the rats. Two stimulation trials were carried out in consecutive days: 1) sine-wave pulses varying the intensity (0-70  $\mu$ A in steps of 5  $\mu$ A, 60 Hz, 20s, n=22) and 2) microinjection of NMDA (10 mM, 0.5 nmol/min, N=21). Behaviors were recorded in a binary way. Intensity-response curves were fitted by the logistic model. Defensive and exploratory responses were elicited with both stimuli indicating the presence of defensive and exploratory related neurons and NMDA receptors in the PMd. However, jumping obtained high thresholds and galloping was not elicited with none of the used stimuli as well as aggressive and agonistic behaviors. On the other hand, exploratory reactions were elicited with low thresholds. These results confirm the neuroanatomic evidences and the lesion experiments and suggest that the PMd participates in innate defensive reactions to a distant threat, which are elicited by visual and olfactory specie-specific stimuli. However, this nucleus doesn't seem to be involved with the responses to an explicit threat such as the galloping. Besides, the PMd seems to be a modulatory nucleus of the defensive reactions to a predatory attack, which are effectively coordinated by the dorsolateral column of the periaqueductal gray matter the main area reached by the PMd outputs. Therefore, our results indicate that PMd are involved in risk assessment behaviors produced by the previous experience with predators in a specific environment and by cues that announce the proximity of danger. Finally, we suggested the accomplishment of other excitatory amino acid studies in order to provide a further understanding for some data obtained with NMDA microinjection in the present work.