Daniel Giura da Silva

Extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos é prejudicada por danos no tálamo anteroventral, em ratos

Extrapolation of serial stimulus patterns is disrupted following selective damage to the anteroventral thalamus in rats

São Paulo

2017

Daniel Giura da Silva

Extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos é prejudicada por danos no tálamo anteroventral, em ratos

Extrapolation of serial stimulus patterns is disrupted following selective damage to the anteroventral thalamus in rats

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, para a obtenção de Título de Mestre em Ciências, na Área de Fisiologia Geral.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Fernando Xavier

São Paulo

2017

Ficha Catalográfica

Silva, Daniel Giura da

Extrapolação a partir de padrões
seriais de estímulos é prejudicada por
danos no tálamo anteroventral, em ratos.

66 Páginas.

Dissertação (Mestrado) - Instituto
de Biociências da Universidade de São
Paulo. Departamento de Fisiologia.

1. Circuito Gerador de Previsões 2.
Tálamo Anteroventral 3. Sistema Septo-
Hipocampal 4. Comportamento
Antecipatório I. Universidade de São
Paulo. Instituto de Biociências.
Departamento de Fisiologia.

Comissão Julgadora

Prof.(a) Dr.(a)

Prof.(a) Dr.(a)

Prof.(a) Dr.(a)

Prof. Dr. Gilberto Fernando Xavier (orientador)

À minha mãe, Emma, por me ensinar as
lições mais valiosas;

Às minhas tias, Rosana e Angela, pelo
apoio incondicional e inquestionável;

Sem elas nada seria possível.

Agradecimentos

Ao Prof. Gilberto, acima de tudo, por sua paciência e confiança que demonstrou durante todo esse processo, serei sempre grato.

À minha família, agradeço por incondicionalmente me incentivarem a buscar os meus sonhos e nunca sequer terem cogitado não me apoiar nessa trilha, nem sempre fácil.

Durante esses anos fui privilegiado, e tomo isso como um aprendizado para a vida, pela ajuda, sugestões e conselhos que me foram dados com toda sinceridade e boa vontade por essas pessoas, que muitas vezes, pararam seus afazeres e se dispuseram a me ouvir e trabalhar comigo para me auxiliar a superar um obstáculo. Por isso serei eternamente grato aos amigos de laboratório, que ainda estão lá ou que já passaram por ele, Aline, Mateus, Lívia, Elisa, Leopoldo, Cyrus, Manoel, Victor, Amyres, Carol, Priscila e Bárbara.

Pelas mesmas razões estendo esse sentimento aos amigos e colegas de departamento, Marcelo, Débora, Pedro, Fernando e Honji. E também à Prof. Denise Fantoni e Geni Cristina Fonseca (FMVZ/USP).

Ainda ao Leopoldo e ao Amyres, agradeço pelas horas que passamos filosofando sobre a vida, o universo e tudo mais, querendo ou não elas ajudaram a moldar um pouco de quem eu sou hoje.

À Alicia pelas horas imprescindíveis que ela separou para assistir minhas apresentações. À Natália, obrigado por sempre se preocupar em como andavam meus experimentos. E Lais, pelo profissionalismo que ajudou a enriquecer esse trabalho e tudo que foi exigido como pagamento foi nossa amizade, muito obrigado.

Aos meus amigos Diego, Natália, Priscila e Karina, obrigado por cada momento que passamos juntos, mas principalmente por se preocuparem e se alegrarem por cada superação nessa etapa da minha vida como se fosse com vocês.

Não consigo pensar em uma semana que não passei aprendendo algo novo com o Victor, Paula e Maka, vocês tornaram todas as dificuldades pelas quais passei mais simples. Mas especialmente ao Fábio, nunca vou conseguir demonstrar o quanto respeito, sou grato ou poderei devolver todas as lições e companheirismo que você me ensinou, gomabseubnida.

À CAPES pela bolsa de estudos que me foi concedida.

Índice

Lista de abreviaturas e símbolos.....	7
Lista de figuras	9
Resumo	10
Abstract.....	11
1. Introdução.....	12
1.1. Padrões Seriais de Estímulos	16
1.2. Aprendizado sobre Padrões Seriais.....	17
1.3. Extrapolação a Partir de Padrões Seriais de Estímulos.....	18
1.4. Bases neurais da previsão	22
1.1. Exemplos do Funcionamento do Sistema Gerador de Previsões no desempenho de Tarefas Comportamentais	27
2. Objetivo.....	29
3. Material e Métodos.....	29
3.1. Sujeitos.....	29
3.2. Cirurgia	30
3.3. Pista reta usada no teste comportamental	32
3.4. Procedimento Comportamental	33
3.4.1. Pré-exposição.....	33
3.4.2. Treinamento e Teste	33
3.4.3. Campo Aberto	35
3.5. Histologia.....	35
3.6. Análise dos Resultados	36
4. Resultados	37
4.1. Histológicos	37
4.2. Resultados Comportamentais no Teste de Extrapolação	40
4.3. Campo Aberto.....	43
5. Discussão.....	46
6. Conclusões	56
7. Referências Bibliográficas	57

Lista de abreviaturas e símbolos

- AD:** núcleo talâmico anterodorsal
- AM:** núcleo talâmico anteromedial
- ANOVA:** análise de variância
- ATN:** núcleos talâmicos anteriores
- AVT:** núcleo talâmico anteroventral
- °C:** grau(s) Celsius
- C.P.G.:** circuito gerador de previsões
- C:** controle
- CC:** córtex cingulado
- CE:** córtex entorrinal
- CEUA:** Comissão de Ética no Uso de Animais
- cm:** centímetro(s)
- CPF:** córtex pré-frontal
- CS:** estímulo condicionado
- F.H.:** formação hipocampal
- h:** hora (s)
- HDC:** head direction cells
- Kg:** quilograma(s)
- L:** lesado
- M:** fortemente monotônico
- m:** fracamente monotônico
- M:** molar
- MC:** monotônico controle operado
- mg:** miligrama(s)
- min:** minuto (s)

mL: mililitro (s)

ML: monotônico lesado

mm: milímetro(s)

n°: número

NM: não-monotônico

NMC: não-monotônico controle operado

NMDA: ácido N-metil-D-aspartico

NML: não-monotônico lesado

pH: potencial hidrogeniônico

PSC: pós-subículo

SSH: sistema septo-hipocampal

US: estímulo não condicionado

μL: microlitro

μm: micrometro

Lista de figuras

Figura 1. Esquema representando o funcionamento básico do sistema septo-hipocampal, que integra o Gerador de Previsões (modificado de Gray, 1982).....	23
Figura 2. Esquema representativo das alças que formam o sistema septo-hipocampal e o circuito de Papez (Papez, 1937). A área septal medial se projeta para toda a formação hipocampal (Gray, 1982). C.P.G – Circuito Gerador de Previsões; F.H. – Formação Hipocampal; CPF – Córtex Pré-frontal.	24
Figura 3. Representação esquemática do corredor linear usado no experimento.....	33
Figura 4. Representação esquemática do Campo Aberto. Número em vermelho representa o ponto de largada.	36
Figura 5. Fotomicrografia (A) mostrando uma porção do tálamo anteroventral dos animais do grupo controle. (AVT) Tálamo anteroventral; (AD) Tálamo anterodorsal. Fotomicrografia (B) mostrando uma porção do tálamo anteroventral dos animais do grupo lesado. (*) Representa a cicatriz neural do tálamo anteroventral.....	38
Figura 6. Representação esquemática mostrando a máxima (em verde) e a mínima (em vermelho) lesão causada pela infusão tópica de NMDA na região correspondente ao AVT. Esse esquema representa a extensão do dano nos animais dos grupos lesados (ML e NML).	39
Figura 7. Médias (+ E. P. M.) do tempo de corrida (em milissegundos) dos animais controles e lesados expostos aos padrões monotônico e não-monotônico na sessão de teste em função das tentativas.	40
Figura 8. Média (+ E. P. M.) da distância total percorrida pelos animais dos grupos MC, NMC, ML e NML no Teste de Campo Aberto. (*) Diferença significativa entre os grupos, $p < 0,05$	44
Figura 9. (A) Média (+ E.P.M.) do tempo em que os animais dos grupos MC, NMC, ML e NML permaneceram nas áreas designadas como periferia ou centro do campo aberto. (B) Média (+ E.P.M.) da distância na qual os animais dos grupos MC, NMC, ML e NML se deslocaram na periferia ou no centro do campo aberto.	45

Resumo

De acordo com Gray (1982) o sistema nervoso monitora o ambiente e o comportamento continuamente, sendo capaz de inibir o comportamento em curso quando se depara com novidades ou com discrepâncias entre expectativas geradas com base em memórias de regularidades passadas e a informação sensorial presente, de modo a explorar a fonte de novidade ou discrepância e, assim, obter informações que possibilitem gerar previsões melhores no futuro. O sistema septo-hipocampal compararia estímulos presentes com informações antecipadas (ou previstas). Tal sistema envolve um comparador, o subículo, que receberia informações do presente através de aferências neocorticais, via córtex entorrinal, e informações “previstas” geradas em um “circuito gerador de previsões”. Gray (1982) propôs que esse circuito gerador de previsões inclui o subículo, os corpos mamilares, o tálamo anteroventral, o córtex cingulado e, novamente, o subículo. Destas estruturas, o tálamo anteroventral encontra-se em posição privilegiada, do ponto de vista hodológico e experimental, para investigar este postulado circuito gerador de previsões. O objetivo do presente trabalho foi investigar o efeito da lesão seletiva no tálamo anteroventral, pela aplicação tópica de ácido N-metil-D-aspartico (NMDA), sobre a habilidade de ratos extrapolar a partir de padrões seriais de estímulos. Tampão fosfato foi aplicado em sujeitos controle. Ratos da linhagem Wistar, machos, foram treinados a correr em uma pista reta para receberem reforço ao seu final. Em cada sessão (uma sessão por dia), os animais correram 4 tentativas sucessivas, recebendo quantidades diferentes de sementes de girassol em cada tentativa. No padrão monotônico decrescente os sujeitos receberam 14, 7, 3 e 1 sementes de girassol, enquanto os sujeitos expostos ao padrão não-monotônico receberam 14, 3, 7 e 1 sementes de girassol. Os animais foram treinados ao longo de 31 sessões. No 32º dia do experimento, uma quinta tentativa, nunca antes experienciada pelos animais, foi adicionada à sessão. Como esperado, os tempos de corrida na quinta tentativa dos animais controle expostos ao padrão monotônico decrescente foram substancialmente maiores se comparados aos animais controle expostos ao padrão não-monotônico, indicando a ocorrência de extrapolação. Em contraste, os sujeitos lesados expostos ao padrão monotônico não exibiram esse aumento de latência na quinta corrida, indicando que esses animais não extrapolarão. Em conclusão, os resultados indicam que extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos é prejudicada pela lesão seletiva do tálamo anteroventral.

Palavras-chave: Comportamento Antecipatório; Sistema Septo-hipocampal; Circuito Gerador de Previsões.

Abstract

According to Gray (1982) the brain continuously monitors environment and behavior, being capable of inhibiting ongoing behaviors when facing novelty or detecting discrepancies involving predictions generated from memories of past regularities and the actual sensorial information, in order to explore the source of novelty and/or discrepancy, and thus to gather information for generating better predictions in the future. The septo-hippocampal system compares anticipated and present information. The comparator would be the subiculum. This brain structure would receive present information from neocortical afferents, via the entorhinal cortex, and expected information from a "generator of predictions system" including the subiculum, mammillary bodies, anteroventral thalamus, cingulate cortex and, again, the subiculum. The anteroventral thalamus is in a privileged position, both hodologically and experimentally, to allow investigation of this postulated generator of predictions system. This study investigated the effect of selective damage to the anteroventral thalamus, by topical application of N-Methyl-D-Aspartic acid (NMDA), on the ability of rats to extrapolate relying on serial stimulus patterns. Control subjects were injected with phosphate buffer. Male Wistar rats were trained to run through a straight alleyway to get rewarded. In each session (one session per day) the animal run four successive trials, one immediately after the other, receiving different amounts of sunflower seeds in each trial. While subjects exposed to the monotonic decremental schedule received 14, 7, 3, 1 sunflower seeds along trials, subjects exposed to the non-monotonic schedule received 14, 3, 7, 1 sunflower seeds. Subjects were trained along 31 sessions. Then, on the 32nd testing session, a fifth trial never experienced before by all subjects was included immediately after the fourth trial. As expected, running times on the fifth trial for Control subjects exposed to the monotonic schedule were significantly longer as compared to the corresponding scores of Control subjects exposed to the non-monotonic schedule, thus indicating the occurrence of extrapolation. In contrast, lesioned subjects exposed to the monotonic schedule did not exhibit this increase in running times on the fifth trial thus indicating that these subjects did not extrapolate. In conclusion, results indicate that extrapolation relying on serial stimulus patterns is disrupted following selective damage to the anteroventral thalamus.

Keywords: Anticipatory Behavior; Septo-hippocampal System; Generator of Predictions System.

1. Introdução

Antecipação é a capacidade de gerar previsões com base em registros de experiências passadas arquivadas na memória. Essa capacidade permite gerar comportamentos modulados por eventos penderes, se constituindo em uma das funções fundamentais do comportamento intencional (Campos *et al.*, 1997). Trata-se, portanto, de um mecanismo extremamente importante, fruto da evolução do sistema nervoso, que permitiu orientar a atenção para aspectos relevantes do ambiente (Helene & Xavier, 2003), e interpretar e reagir de forma mais rápida e refinada a eventos ambientais, aumentando as chances de sobrevivência.

Já no início do século passado, Pavlov (1927) descrevia o comportamento antecipatório nos seus estudos sobre condicionamento. O cerne desse condicionamento, também denominado condicionamento clássico, é o pareamento de dois estímulos. Dessa forma, um estímulo condicionado (CS), como uma luz ou um toque, é apresentado anteriormente a um estímulo não condicionado (US), como um alimento, repetidas vezes. Ao longo do treinamento o animal passará a responder ao CS como se estivesse antecipando a apresentação do US. É possível então explicar esse condicionamento dizendo que o pareamento repetido tornou o CS um sinal antecipatório para o US.

Não surpreende que desde então a literatura científica venha propondo e registrando comportamentos antecipatórios em diversos grupos de animais. Por exemplo, cães de caça não precisam ter contato contínuo com sua presa para descobrir sua posição futura, eles são capazes de antecipar onde ela estará através de informações adquiridas da última vez em que estiveram em contato com ela, seja baseado na velocidade dela ou na direção em que ela seguia (Sjölander, 1995). Ou seja, o autor

propõe que esses animais podem criar uma representação do estado futuro da presa de acordo com registros sobre seu estado passado.

Também, *Aphelocoma californica*, uma ave do grupo Passeriforme, parece capaz de planejar para o futuro independente de seu estado motivacional presente (Raby *et al.*, 2007). Esses autores expuseram esses pássaros a dois compartimentos diferentes em manhãs alternadas, por seis dias. Em um compartimento os animais recebiam alimento pela manhã (A) e no outro não (C). Ainda, durante a tarde, esses animais tinham acesso a um terceiro compartimento (B), ligado livremente aos outros dois, no qual eles recebiam ração suficiente para se alimentar até o anoitecer, quando então eram privados de todo alimento e confinados nos compartimentos A ou C. Findo esse treino, inesperadamente e à noite, no compartimento B, os animais receberam ração suficiente para consumir e também estocar para o dia seguinte. Foi visto que os pássaros estocaram parte da ração no compartimento em que não recebiam alimento pela manhã (C), sugerindo que anteciparam, com base na experiência que obtiveram no treino, qual compartimento e as condições em que seriam apresentados na manhã seguinte.

Ainda, Mulcahy e Call (2006), em um experimento envolvendo orangotangos e bonobos, demonstraram que esses animais mantêm ferramentas prevendo sua utilidade futura. No primeiro estágio do experimento, esses autores ensinaram os primatas a utilizarem uma ferramenta adequada para obter uma recompensa, e.g. alimento, num aparelho. A seguir, no segundo estágio, foram disponibilizadas duas ferramentas adequadas e seis ferramentas inadequadas para o mesmo aparelho, porém, durante essa exposição, o acesso a este aparelho estava bloqueado. Cinco minutos depois, terceiro estágio, os animais foram levados a uma sala de espera de onde podiam assistir o examinador retirando as ferramentas da sala de testes. Uma hora depois, quarto estágio, os animais retornavam à sala de testes, mas agora com acesso ao aparelho. Entretanto,

devido à remoção das ferramentas da sala, os animais não tinham como obter alimento do aparelho. Em sessões similares subsequentes facultou-se aos animais escolher uma das ferramentas disponíveis na sala de testes no segundo estágio, mantê-la durante o terceiro estágio quando permaneciam na sala de espera e trazê-la consigo durante o quarto estágio. Os resultados mostraram que orangotangos e bonobos selecionam, transportam e mantêm ferramentas apropriadas para sua utilização futura. Adicionalmente, em uma das sessões, o período de espera no quarto estágio foi estendido de uma para quatorze horas. Observou-se que mesmo quando o intervalo de tempo entre o terceiro e quarto estágios é aumentado, os animais permanecem com as ferramentas, permitindo, assim, descartar a possibilidade de que o desempenho tenha sido decorrente de condicionamento operante. A partir destas observações, os autores defendem a capacidade desses animais planejarem para o futuro.

Além disso, diversos estudos avaliaram a capacidade de roedores de antecipar eventos (e.g., Flaherty & Checke, 1982; Onishi & Xavier, 2011). Em situações de contraste de incentivo, por exemplo, grupos independentes de ratos recebem (1) uma solução de sacarina a 0,15% (primeiro bebedouro) seguida, minutos depois, de uma solução de sacarose a 30% (segundo bebedouro) (Grupo 0,15-30) ou (2) uma solução de sacarina a 0,15% (primeiro bebedouro) seguida de uma solução de sacarina a 0,15% (segundo bebedouro) (Grupo 0,15-0,15). Esse procedimento é repetido para ambos os grupos ao longo de vários dias de treino. Portanto, os dois grupos recebem a mesma solução, sacarina a 0,15% no primeiro bebedouro, mas soluções distintas no segundo bebedouro. A preferência dos animais pela sacarose a 30% é evidente, refletindo-se num maior consumo dessa solução. Interessantemente, apesar da primeira solução, sacarina a 0,15%, ser idêntica para os grupos, seu consumo ao longo de sucessivos dias de treino passa a ser diferente entre esses grupos. Isto é, enquanto nos animais do Grupo 0,15-30

o consumo de sacarina no primeiro bebedouro tende a diminuir ao longo dos dias de treino, nos animais do Grupo 0,15-0,15 o consumo de sacarina no primeiro bebedouro tende a aumentar. Em outras palavras, a pendência da oferta de uma solução preferida, a sacarose a 30%, leva os animais a consumirem menos sacarina, como se estivessem reservando espaço estomacal para o consumo da solução preferida. Esse comportamento foi denominado contraste antecipatório de incentivo.

Porém, surgiram interpretações alternativas para o fenômeno. Por exemplo, que a diminuição do consumo de sacarina no grupo 0,15-30 não se dá por antecipação, mas porque os animais se recordam da última solução recebida no dia anterior (sacarose 30%) e baseados nisso comparam com a primeira solução recebida no momento (sacarina 0,15%) e por isso diminuem o consumo. Para testar essa possibilidade, Flaherty e Rowan (1985) treinaram ratos oferecendo pares de soluções (e.g., 0,15% de sacarina e 30% de sacarose) que se alternavam a cada dia, por diversos dias sucessivos. Portanto, cada animal recebia o par 0,15-0,15 em um dia e 0,15-30 no outro. Cada par era relacionado com diferentes estímulos sinais, que serviam como dicas. O consumo de sacarina diminuiu somente quando o estímulo sinal indicava que a segunda solução seria de sacarose 30%. Os autores apontam esses resultados como mais uma evidência de que o contraste é baseado na antecipação do estímulo pendente, sacarose 30%, e não em uma comparação com a última solução consumida no dia anterior.

Juntamente com resultados de outros estudos (ver Flaherty *et al.*, 1996) esses comportamentos levaram à conclusão de que ratos antecipam a futura ocorrência de um evento exibindo comportamentos condizentes com essa antecipação (Flaherty & Checke, 1982; Flaherty & Rowan, 1985; Onishi & Xavier, 2011).

Xavier e colegas (1991), também mostraram que ratos treinados a correr em uma pista reta para receber reforço ao seu final, reagem ao local de apresentação de um estímulo quando novidades são introduzidas na forma de apresentação de novos estímulos. Mais interessante, esses autores mostraram também que os animais reagem à ausência de um estímulo previamente apresentado, direcionando atividade exploratória para o local em que o estímulo havia sido apresentado, como se a presença do estímulo naquele local fosse esperada, com base no registro sobre experiências passadas, gerando atividade exploratória quando essa expectativa não se confirma.

É interessante observar que esses comportamentos, ditos antecipatórios, envolvendo roedores podem corresponder apenas a uma espécie de “reconstrução” do ambiente baseada em memória, i.e., uma simples evocação de memória, uma vez que o animal havia sido exposto à mesma situação repetidas vezes. Assim, seu caráter efetivamente antecipatório poderia ser questionado.

1.1. Padrões Seriais de Estímulos

Segundo Bolles (1978), embora seja fácil associar eventos próximos, indicando que a contiguidade temporal entre eventos é importante, ela não é o único fator determinante para que eventos de uma sequência sejam relacionados. Outros fatores possuem papel importante nessa tarefa, tais como relevância, natureza, atenção ou similaridade, que também auxiliam na caracterização de um evento como contexto e ocasionalmente podem até suplantar o poder da contiguidade no tempo.

Com padrões seriais de estímulos, relacionar estímulos parece mais simples, uma vez que os eventos são da mesma natureza e são apresentados no mesmo contexto.

1.2. Aprendizado sobre Padrões Seriais

De acordo com Hulse e Dorsky (1977), aprender como organizar eventos numa ordem serial própria é um processo psicológico importante. O indivíduo que está aprendendo deve se lembrar não somente dos eventos específicos do passado para gerar um comportamento preciso, mas também de algumas relações entre esses eventos. Além do mais, tais eventos devem possuir uma contiguidade temporal, de modo a se definir uma sequência.

Um conjunto de estímulos ordenados serialmente pode, em vista de sua sequência, ser descrito de forma mais simples e compreensível incluindo apenas alguns elementos das relações da sequência, sem a necessidade de descrever a sequência completa. Essas poucas relações já proporcionam o entendimento do todo, tornando sua descrição mais compacta. Ou esse conjunto também pode ser tal que não admite uma descrição mais simplificada, sendo que apenas a exposição da sequência propriamente dita se faz possível. Por exemplo, a sequência 23232323 possui uma estrutura bem definida, que pode ser facilmente descrita e codificada pela regra “2 e 3 alternam-se 4 vezes”. Porém, há sequências que não possibilitam gerar uma descrição simples que representa o todo, como é o caso do padrão 22323322. Nesse exemplo a melhor forma de descrevê-lo seria na enumeração sequencial dos seus elementos individualmente.

Em estudos envolvendo aprendizagem sobre padrões seriais em humanos, verifica-se que indivíduos são capazes de abstrair a estrutura de um padrão a partir de uma sequência de estímulos e de codificar uma representação dessa estrutura (Restle & Burnside, 1972; Rowan *et al.*, 2001). Dessa forma, a representação codificada pode ser utilizada para reconhecer a sequência e também para estender o padrão serial.

Hulse (1978) propôs que modelos sobre a aprendizagem de padrões seriais em humanos podem ser aplicados para o entendimento do aprendizado de padrões seriais em ratos. Portanto, ratos também seriam capazes de induzir e codificar regras estruturais em um padrão serial (Fountain, 1990; Rowan *et al.*, 2001; Kundey & Fountain, 2011). Regras mais simples seriam codificadas mais facilmente, porém regras mais complexas seriam mais dificilmente representadas pelo organismo, tornando seu aprendizado mais complicado (Hulse & Dorsky, 1977, 1979; Fountain *et al.*, 1983; Wallace & Fountain, 2002).

1.3. Extrapolação a Partir de Padrões Seriais de Estímulos

Estudos envolvendo aprendizagem sobre padrões seriais mostram que ratos são sensíveis às regras estruturais sobre o funcionamento do ambiente, o que os tornam capazes de identificar sequências lógicas de eventos. Por exemplo, quando submetidos a séries fixas e repetidas de reforços, de quantidades distintas, eles são capazes de responder apropriadamente, seja correndo mais rápido nas corridas com maiores reforços na série ou mais devagar nas menos reforçadas (Hulse & Campbell, 1975; Hulse & Dorsky, 1977; Hulse, 1978; Hulse & Dorsky, 1979; Capaldi & Molina, 1979; Capaldi *et al.*, 1980; Fountain & Hulse, 1981; Fountain *et al.*, 1983; Capaldi & Verry, 1981; Capaldi *et al.*, 1982; Wallace & Fountain, 2002).

A literatura científica propõe interpretações distintas para esses resultados.

Por exemplo, Capaldi e Molina (1979), consideram padrão serial como uma forma de aprendizado de discriminação nos animais. Isto é, a quantidade de reforço de uma série formaria uma memória distinta que serviria de dica para o reforço que viria a seguir e assim sucessivamente. Dessa maneira, dependendo do reforço recebido pelo animal em um momento prévio, uma memória inibitória ou excitatória seria gerada,

estimulando o rato a correr mais rápido ou devagar na próxima tentativa, acontecendo o que os autores chamam de “discriminação de elementos”. A diferença de aprendizado entre um padrão com séries mais parecidas ou com séries formadas por elementos mais distintos entre si se daria porque quanto mais similares são os reforços entre si, mais difícil seria o aprendizado (Capaldi & Molina, 1979).

Porém, Fountain e Hulse (1981) descreveram resultados que permitem questionar essa interpretação. Esses autores treinaram grupos independentes de ratos a correr por uma pista reta para receber quantidades variáveis de alimento a cada tentativa, com quatro tentativas por dia. No grupo “fortemente monotônico” (M – note que é maiúsculo) a quantidade de alimento recebida em cada uma das tentativas foi 14, 7, 3 e 1, respectivamente. Portanto, há um padrão recorrente envolvendo “menor” quantidade de alimento em cada uma das transições (14-7, 7-3 e 3-1) entre tentativas. No grupo “fracamente monotônico” (m – note que é minúsculo) a quantidade de alimento em cada uma das tentativas foi 14, 5, 5 e 1, respectivamente. Portanto, há duas transições decrescentes (14-5 e 5-1) e uma transição sem alteração (5-5) na quantidade de alimento recebido. Por fim, no grupo “não-monotônico” (NM) a quantidade de alimento em cada uma das tentativas foi 14, 3, 7 e 1, respectivamente. Portanto, existem duas transições decrescentes (14-3 e 7-1) e uma transição ascendente (3-7). Ao final da fase de treino, uma quinta corrida foi adicionada imediatamente após a quarta tentativa. Note, entre parênteses, que a quantidade total de alimento recebida pelos animais de todos os grupos é exatamente a mesma, portanto, sua motivação antes da quinta tentativa seria a mesma. Ademais, também as quantidades de alimento recebidas na primeira e quarta tentativas são idênticas, permitindo excluir a possibilidade de que os resultados na quinta tentativa tivessem relação com a quantidade de alimento recebida

na última tentativa. Assim, diferenças no desempenho dos animais dos diferentes grupos terão relação com o padrão serial a que foram expostos.

Como esperado, os tempos de corrida na quinta tentativa diferiram substancialmente entre esses grupos. Isto é, nos animais expostos ao padrão “M” os tempos de corrida foram maiores não apenas em relação ao mesmo escore dos demais grupos, mas também em relação aos seus próprios escores nas tentativas precedentes, indicando a expectativa de que o reforço seria “menor do que 1”. Nos animais do grupo “m” os resultados foram similares, porém de menor magnitude. Em contraste, também como esperado, os escores dos animais “NM” na quinta tentativa foram menores em relação aos demais grupos e não diferiram em relação aos seus próprios escores nas tentativas precedentes. Fountain e Hulse (1981) propuseram que esses dados sustentam a ideia de extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos. Segundo esses autores, enquanto os animais expostos ao padrão “M” extrapolaram com base numa regra simples, “menor que”, os animais expostos aos padrões “m” e “NM” não extrapolaram, pois, tiveram dificuldades para decifrar as regras envolvidas em seus respectivos padrões seriais, porque elas envolvem mais elementos.

Alternativamente a essa interpretação de Fountain e Hulse (1981), entendemos que os animais de todos os grupos extrapolaram; porém, o conteúdo das extrapolações nesses animais seria distinto em função do padrão serial a que cada qual foi exposto. Enquanto o padrão serial do grupo “M” leva a extrapolação de que a quantidade de alimento na quinta tentativa seria “menor do que 1”, nos animais do grupo “m” ele leva a extrapolação de que a quantidade seria “menor do que 1” ou “igual a 1”, ao passo que no grupo “NM” ele leva a extrapolação de que seria “maior do que 1”. Em outras palavras, nos animais do grupo “M” a expectativa gerada na quinta tentativa seria de pendência de uma menor quantidade de alimento, razão pela qual seus tempos de

corrida seriam longos. Diferentemente, nos animais do grupo “m” a expectativa seria de pendência de igual ou menor quantidade de alimento, resultando em tempos de corrida menores em relação ao grupo “M” e maiores em relação ao grupo “NM”. Já nos animais do grupo “NM” a expectativa seria de uma maior quantidade de alimento, levando a tempos de corrida menores em relação aos grupos “M” e “m” (Saito, 1995).

Assim, a interpretação de Capaldi não é capaz de explicar esse conjunto de resultados. Segundo sua visão, em uma série reforçada com 14-7-3-1 elementos, a recompensa da primeira corrida (14 pelotas de alimento) seria lembrada na segunda corrida (7 pelotas), se tornando, portanto, um sinal para antecipar o reforço de 7 pelotas em tentativas vindouras e assim sucessivamente (Capaldi *et al.*, 1980). Entretanto, no experimento realizado por Fountain e Hulse (1981), os animais eram treinados a realizar uma série de 4 corridas seguidas, a saber 14-7-3-1. O teste era feito em uma única sessão, adicionando-se uma quinta corrida, portanto eles não seriam capazes de realizar qualquer associação entre a corrida anterior e a quinta corrida (a quantidade de 1 pelota não pode servir de dica na quinta corrida), inédita. Sendo assim, segundo a teoria de Capaldi, os animais não deveriam conseguir antecipar o conteúdo na quinta corrida, o que não foi demonstrado, visto que, por exemplo, o grupo fortemente monotônico antecipa o evento da quinta tentativa correndo mais lentamente.

Independente da interpretação adotada, o interessante é que a quinta corrida é uma novidade para todos os grupos. Dessa forma, não é possível alegar que a diminuição da velocidade na corrida dos animais do grupo fortemente monotônico decorra da novidade gerada pela quinta corrida, inédita para todos os grupos. Sendo assim, restando como hipótese explanatória mais parcimoniosa a noção de que o aumento no tempo de corrida reflete uma extrapolação com base no padrão serial a que os animais foram expostos.

Em vista disso, a pergunta seguinte a ser feita é qual seria o substrato neural responsável por gerar essas previsões?

1.4. Bases neurais da previsão

Gray (1982) propôs que o Sistema Septo-Hipocampal (SSH) (Figura 1) compara continuamente estímulos sensoriais presentes (correntes) com eventos esperados (previstos). Para isso, haveria um gerador de previsões que, tendo acesso a informações sobre regularidades passadas e sobre o “estado corrente do mundo”, além de planos de ação (programas ou planos motores) e sua relação com possíveis mudanças ambientais, gera o conteúdo da próxima previsão.

Em outras palavras, a previsão dependeria em conjunto (1) do estado presente do mundo, (2) das regularidades passadas armazenadas na memória, (3) da intenção de movimentos e (4) das relações entre as ações desempenhadas e as consequências ambientais resultantes.

Se a informação sensorial for congruente com a informação prevista, o curso do comportamento segue normalmente. Ao contrário, se a informação sensorial for incongruente em relação à informação prevista, o animal interrompe o comportamento em curso e investiga o ambiente como forma de coletar mais informações, identificar a origem da discrepância e, assim, gerar previsões mais abrangentes posteriormente. Em outras palavras, se ocorrer um erro, ausência de estímulo previsto, como o reforço, por exemplo, ou diante de uma novidade, o animal interrompe o comportamento em curso e investiga a origem da discrepância como forma de obter informações e assim gerar expectativas mais atualizadas e precisas sobre aquele ambiente.

A informação sensorial que alimenta o sistema comparador deveria então ser selecionada em função da previsão gerada, o que implicaria na atuação conjunta do gerador de previsões e do comparador. A seleção deveria ser feita no momento apropriado, pois o comparador necessitaria dispor de elementos a serem comparados (corrente e previsto) simultaneamente. Isso implicaria que o sistema disponha de uma forma para quantificar o tempo e ordenar serialmente os eventos previstos e presentes.

Segundo essa proposta (Gray, 1982) o SSH, juntamente com o Circuito de Papez (Papez, 1937) (Figura 2) seriam os responsáveis pela geração de previsões e pela comparação entre estas previsões e os eventos presentes. Seriam também responsáveis pela seleção de informações sensoriais apropriadas para a formulação da previsão. O circuito gerador de previsões, propriamente dito, envolveria o subículo, corpos

mamílares, tálamo anteroventral (AVT), córtex cingulado (CC) e, novamente, o subículo, constituindo o que Gray (1982) denominou “alça longa”. Ainda, haveria uma “alça curta” envolvendo o subículo, AVT, se fechando novamente no subículo. O subículo funcionaria como o comparador.

Figura 2. Esquema representativo das alças que formam o sistema septo-hipocampal e o circuito de Papez (Papez, 1937). A área septal medial se projeta para toda a formação hipocampal (Gray, 1982). C.P.G – Circuito Gerador de Previsões; F.H. – Formação Hipocampal; CPF – Córtex Pré-frontal.

Aggleton e Brown (1999) apresentaram um modelo envolvendo conexões entre a formação hipocampal, corpos mamilares, fórnix e os núcleos talâmicos anteriores, denominado “sistema hipocampal estendido”, em que é possível associar o papel do hipocampo na coleta de informações armazenadas para detecção de disparidades e previsão associativa. Isto é, uma adaptação da proposta de Gray (1982).

O SSH não exerceria controle sobre o comportamento quando as expectativas sobre o ambiente fossem confirmadas (exceto em caso de punição), mas assumiria o controle da situação quando expectativas não fossem confirmadas. Sendo responsável pela verificação sobre se a entrada atual de informações ou um passo motor particular é congruente com a entrada de informações, o SSH transmitiria o resultado dessa verificação ao núcleo accumbens através de projeções vindas do subículo. Portanto, o subículo poderia exercer controle direto sobre o comportamento em curso através do accumbens (Gray, 1991), inibindo todo o programa motor em curso, caso houvesse uma discrepância, resultando numa alteração comportamental para analisar a origem da diferença. De acordo com Gray (1982), o ritmo theta hipocampal, gerado no CA1 e giro denteado e modulado na área septal medial, quantificaria a operação do comparador no tempo.

As informações sensoriais sobre o “estado atual do mundo” entrariam no SSH pelo córtex entorrinal (CE), através da via perfurante. Esta informação, provavelmente, estaria sob o controle do próprio SSH, ou seja, ele enviaria informações para o CE, através do subículo, selecionando quais tipos de informações deveriam ser enviadas. A partir do CE, essas informações poderiam seguir diferentes caminhos: (1) para o giro denteado pela via perfurante e depois para o CA3, pelas fibras musgosas, chegando posteriormente ao CA1 através das colaterais de Schaffer, ou entrando em outra alça, envolvendo o sistema reticuloseptal, (2) para o CA3, sem passar pelo giro denteado, por

projeções perfurantes diretas do CE, seguindo um dos caminhos já citados, ou (3) diretamente para o CA1, por projeções perfurantes diretas do CE, sem passar pelo giro denteado ou pelo CA3.

Vinogradova (1975) propôs que o giro denteado atuaria como um “misturador de informações”, enquanto o CA3 seria um tipo de “gatilho” que avaliaria a qualidade relativa da novidade. Através dessa alça, poderia haver um processo de habituação à informação, quando não houvesse mais novidade. Caso contrário, no CA1, haveria uma categorização da informação vinda do CA3 como importante ou não. Uma vez categorizada, a informação poderia ser enviada para o subículo, para que, com acesso a outras informações, fosse realizada a comparação.

O subículo receberia, além das informações do campo CA1, que podem ter percorrido quaisquer dos caminhos descritos acima, projeções diretas do CE e projeções do AVT (Van Groen & Wiss, 1990a; 1992) e CC (Irle & Markowitsch, 1982). Através do CA1, chegariam informações correspondentes a regularidades passadas, podendo, assim, comparar informações atuais com aquelas já armazenadas. Além de enviar informações para o subículo, o CA1 também se projeta diretamente para os corpos mamilares e AVT, informando o circuito gerador de previsões sobre o “estado do mundo”. O AVT e o CC também recebem projeções do lobo temporal, constituindo pontos de acesso as regularidades armazenadas, necessárias para a geração de previsões (Gray, 1982). Adicionalmente, o AVT receberia informações de regiões septais através dos corpos mamilares via trato mamilo-talâmico (Seki & Zyo, 1984; Van Groen & Wiss, 1990b, 1990c, Wrigth *et al.*, 2010) e do CC, além de se projetar de volta para o CC, realizando a ligação entre o hipocampo e as áreas associativas do neocórtex (Vinogradova, 1975).

As informações sobre planos motores necessárias para a geração da previsão viriam do córtex pré-frontal, que (1) se liga diretamente ao circuito gerador de previsões através de projeções para o CC ou através da área septal lateral, que tem conexões com os corpos mamilares, e (2) projeta-se para o subículo através de projeções do córtex pré-frontal para o CE (Figura 2). O sistema caudado, através de suas conexões com os córtices motor e sensorial, codificaria o conteúdo específico de cada passo do programa motor. Já o accumbens operaria em conjunto com o caudado permitindo mudanças repentinas entre passos de um programa motor. Tanto o estabelecimento da sequência de passos que formam um programa motor, quanto o desenrolar ordenado do programa, seriam guiados pela projeção do núcleo accumbens para a amígdala, que transmitiria informações a respeito de associações dica-reforço. Além de participarem da programação motora, o caudado e o accumbens desempenhariam importantes papéis na organização de respostas comportamentais à novidade, e no controle das interações entre tais respostas e a programação motora. Esta função estaria sob o controle de informações vindas do subículo para o núcleo accumbens (Gray, 1991).

1.1. Exemplos do Funcionamento do Sistema Gerador de Previsões no desempenho de Tarefas Comportamentais

Como descrito acima, Xavier e colegas (1991) mostraram que ratos reagem ao local de apresentação de um estímulo quando este se encontra ausente, gerando comportamento tipicamente exploratório direcionado a este local.

Tais observações vão ao encontro da teoria de Gray sobre o SSH (1982). Conforme os animais se aproximam do local em que o estímulo havia sido apresentado anteriormente (regularidade passada armazenada), o circuito gerador de previsões informa ao comparador sobre sua provável presença naquele local. Todavia, o estímulo

se encontra ausente, diferindo do esperado. O comparador é então estimulado a agir sobre os sistemas controladores do movimento, de modo a inibir a ação em curso e iniciar uma ação exploratória no local, para detectar a discrepância e atualizar as informações armazenadas.

Seria também possível interpretar que a atividade exploratória não foi gerada em decorrência da atividade do circuito gerador de previsões. Os animais poderiam ter apenas comparado um registro da informação previamente armazenada na memória, envolvendo a presença de um estímulo naquele local, e seu estado atual, no qual o estímulo está ausente. Essa discrepância, por si só, bastaria para eles direcionarem suas superfícies sensoriais para o local da ausência e iniciar atividade exploratória, sem necessariamente a atuação de um postulado circuito gerador de previsões.

Outras tarefas comportamentais são mais determinantes em relação a necessidade de se assumir a existência de um sistema gerador de previsões, para interpretar, parcimoniosamente, os resultados. Por exemplo, no teste de extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos (Fountain e Hulse, 1981), o animal reage a uma extrapolação nunca experimentada anteriormente, cujo conteúdo depende de memórias sobre regularidades passadas, mas que é, em si mesma, nova. Em outras palavras, o animal relaciona os conteúdos sobre quantidades de alimento recebidas nas quatro tentativas reforçadas de modo a gerar uma previsão completamente nova numa quinta tentativa nunca experimentada anteriormente. E mais, sendo uma situação nunca antes experienciada não é possível alegar que houve apenas uma comparação entre a quinta corrida do presente com aquela armazenada na memória.

Por outro lado, o AVT se encontra em posição estratégica, do ponto de vista hodológico e experimental, para investigar o envolvimento desse circuito na geração de

previsões. Como vimos anteriormente, essa estrutura fazia parte do circuito gerador de previsões, tanto na alça curta como na alça longa. Ele também está numa posição-chave, distante de outras estruturas envolvidas em processamento cognitivo. Assim, é possível induzir danos nesta estrutura nervosa sem atingir outras regiões nervosas que estariam também envolvidas nesses processos cognitivos.

2. Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a hipótese de que o AVT estaria envolvido em um sistema gerador de previsões. Para isso animais lesados no AVT e respectivos controles operados foram submetidos ao teste de extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos, como descrito por Fountain e Hulse (1981). Se o AVT está envolvido na geração de previsões, então animais com lesões nesta estrutura nervosa deverão exibir prejuízo na sua capacidade de extrapolar a partir de padrões seriais, não aumentando sua latência na quinta tentativa, diferindo assim dos animais controles.

3. Material e Métodos

3.1. Sujeitos

Foram utilizados 32 ratos Wistar machos, com 3 meses de idade, originários do biotério do Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Eles foram mantidos em caixas de polipropileno padrão (3 animais por caixa) em um ciclo de 12h luz – 12h escuro (luzes acesas as 06h00min), os experimentos foram conduzidos durante o período de luz e a temperatura mantida a $23^{\circ}\text{C} \pm 3$.

Dez dias antes de começar as sessões de treinamento, os animais passaram a ser submetidos a um esquema de privação alimentar, que permaneceu até o fim do experimento. A privação alimentar se deu pela retirada do alimento (ração Nuvilab®) por vinte e duas horas por dia, de forma que os ratos tiveram livre acesso a ele apenas duas horas por dia. O peso dos animais foi monitorado para garantir que os ratos permanecessem com pelo menos 85% do peso observado em animais de mesma idade com acesso *ad libitum* ao alimento.

Os animais foram aleatoriamente organizados em 4 grupos, com 8 ratos no grupo monotônico controle operado (MC), 8 ratos no grupo não-monotônico controle operado (NMC), 8 ratos no grupo monotônico lesado (ML) e 8 ratos no grupo não-monotônico lesado (NML). Todos os procedimentos e cuidados respeitaram as diretrizes do Laboratório de Neurociências e Comportamento do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, que segue as normas e padrões nacionais e internacionais de ética no uso de animais em pesquisa. O protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (processo nº 2014.1.646.41.0).

3.2. Cirurgia

Os animais do grupo lesado (L) foram anestesiados com uma combinação de Cetamina, Xilazina e Acepran, 100mg/kg, 10mg/kg e 100mg/kg respectivamente, então submetidos à cirurgia estereotáxica. Após a fixação do animal no aparelho estereotáxico, foi efetuada uma incisão longitudinal da pele sobre o crânio, na linha média da cabeça, de aproximadamente 2 cm, com a finalidade de expor parcialmente os ossos frontais, parietais e interparietal. As bordas da pele excisada foram rebatidas e o

periósteo retirado, expondo as linhas de sutura dos ossos do crânio. A barra do incisivo foi ajustada para ficar 3.3 mm abaixo da linha interaural.

Utilizando-se uma broca odontológica, foram feitas aberturas nos ossos do crânio dos animais, de tamanho suficiente para proceder à aplicação da neurotoxina nas regiões desejadas. As aberturas foram feitas desgastando-se o osso pela periferia do orifício, até que a camada óssea estivesse bastante fina e translúcida. Então, com uma pinça e um escareador, foi retirada a lâmina óssea restante, com a finalidade de proteger a dura mater de eventuais lesões. Em seguida, foram tomadas medidas dos pontos zero das coordenadas antero-posterior e médio-lateral, a partir do bregma. O ponto zero da coordenada dorso-ventral foi dado pela posição da dura mater, que pode ser diferente para cada ponto. As coordenadas estereotáxicas para a produção de lesões seguem a orientação de Paxinos e Watson (1986), sendo as seguintes: -1.9 mm antero-posterior, +/- 1.7 mm médio-lateral e 5.6 mm dorso-ventral.

Ácido N-Metil-D-Aspártico (NMDA) na concentração de 17 mg/mL dissolvido em tampão fosfato-salina (pH 7,4 e 0,2 M) foi injetado nas coordenadas acima utilizando as técnicas de injeções tópicas de diminutas quantidades de neurotoxina (0.14 µL em cada ponto). A droga foi injetada através de uma micropipeta de vidro estirado com 30-50 µm de diâmetro externo, colada a uma seringa Hamilton de 5 µL, a fim de minimizar danos a estruturas vizinhas. Uma vez posicionada na região a ser lesada, esperou-se 2 minutos até a injeção da neurotoxina para que, durante esse período, houvesse uma acomodação do tecido circundante. Após a injeção esperou-se mais 2 minutos para que a agulha fosse retirada, a fim de permitir a difusão da toxina no local e evitar seu refluxo no trajeto da agulha. A superfície da dura mater foi frequentemente lavada e mantida úmida com salina para minimizar os danos no córtex. Posteriormente as bordas da pele foram suturadas.

Animais controle operados (C) foram submetidos ao mesmo tratamento, porém, receberam injeções de solução tampão fosfato-salina, ao invés da neurotoxina.

Após a cirurgia, os animais passaram por um período de uma semana de recuperação, no qual água e alimento foram disponibilizados *ad libitum*.

3.3. Pista reta usada no teste comportamental

O aparelho (Figura 3) é constituído de um corredor linear, construído em acrílico branco e formado por duas caixas quadradas, medindo 30 x 30 x 7 cm, conectadas entre si por meio de uma pista reta que mede 100 x 11 x 7 cm. Entre a pista e cada uma das caixas existe uma parede com 30 cm de altura com portas do tipo guilhotina, medindo 12 x 8 cm. As portas podem ser controladas a distância, por meio de um fio de náilon, pelo experimentador.

Em cada uma das caixas, a 25 cm de distância das portas, próximo à parede oposta à da porta, há uma depressão no assoalho medindo 4 cm de diâmetro e 1 cm de profundidade, na qual sementes de girassol são colocadas como reforço. O conteúdo não é visível a partir do corredor, sendo necessário entrar na caixa para vê-lo.

Onze fotocélulas dispostas em uma das paredes laterais do corredor, a 5 cm de altura do assoalho, estão alinhadas com emissores de luz infravermelha posicionados na parede oposta do corredor. Sempre que o animal interrompe o feixe de luz, ao deslocar-se pelo corredor, a fotocélula correspondente ao local no qual o animal se encontra é estimulada pela interrupção do feixe de infravermelho. Estas fotocélulas, por sua vez, estão conectadas, por meio de uma interface, a um microprocessador que monitora a interrupção da estimulação, registrando, em tempo real, com precisão de milésimos de segundos, o tempo de permanência do animal no corredor.

3.4. Procedimento Comportamental

3.4.1. Pré-exposição

Passado o período de recuperação, os animais foram colocados individualmente no corredor, com as portas abertas, de modo que pudessem andar livremente por todo o aparelho durante 5 minutos. Terminado esse período, os ratos foram retirados do aparelho e recolocados em suas gaiolas. Cada animal foi submetido a esse procedimento por três dias sucessivos.

3.4.2. Treinamento e Teste

Os ratos foram então treinados a correr pelo corredor para receberem reforço (sementes de girassol). Em cada dia de treino os animais foram submetidos a uma sessão constituída de 4 tentativas sucessivas, sem intervalo de tempo entre elas.

Cada corrida consistiu em colocar o animal na “caixa de partida” (caixa localizada à esquerda do experimentador) com as portas de comunicação com o corredor fechadas. Após alguns segundos as portas foram abertas e o animal pôde deslocar-se livremente pelo corredor até encontrar o reforço, oferecido na “caixa alvo” (caixa situada na extremidade oposta da pista, à direita do experimentador). O tempo transcorrido desde a abertura da porta da caixa de partida, até a entrada do animal (com as quatro patas) na caixa alvo (latência) foi registrado a cada tentativa para posterior análise. Ao final de cada tentativa, o animal foi mantido na caixa alvo até consumir todas as sementes e, em seguida, recolocado na caixa de partida dando início à tentativa seguinte. Esse procedimento foi repetido até serem completadas as 4 tentativas do dia. Ao final das 4 tentativas os ratos foram recolocados em suas gaiolas.

A quantidade de sementes de girassol varia de acordo com a tentativa e o grupo, formando dois padrões seriais distintos (padrões de reforço). No padrão Monotônico (M) os animais receberam 14, **7**, **3** e 1 sementes de girassol, respectivamente, na primeira, segunda, terceira e quarta tentativas. Diferentemente, no padrão Não-Monotônico (NM) os animais receberam 14, **3**, **7** e 1 sementes, respectivamente. Sendo assim, a única diferença entre os padrões monotônico e não-monotônico é a inversão das tentativas em que houve oferta de 3 e 7 sementes, nas segunda e terceira tentativas, diferenciando os padrões.

Os animais foram expostos a esse treinamento ao longo de 31 dias sucessivos.

No 32º dia foi realizado o teste, que consiste na introdução de uma quinta tentativa similar às anteriores, realizada imediatamente após a quarta tentativa.

3.4.3. Campo Aberto

Após o treinamento e teste envolvendo o padrão serial de estímulos foi realizada uma sessão de teste de campo aberto, para analisar a atividade locomotora dos animais controle ou lesados. O teste foi realizado em uma arena circular, medindo 110 cm de diâmetro, envolta por paredes altas, de 50 cm de altura, de forma que os animais não pudessem escapar (Figura 4). O assoalho foi marcado com pequenos “quadrados”, formando 16 setores, para permitir a quantificação da atividade locomotora dos animais. Para a análise de visitas ao centro e à periferia do campo aberto, foi estipulado que os quadrantes 6, 7, 10 e 11 corresponderiam ao centro, e os demais, contíguos à parede da arena, corresponderiam à periferia. Cada animal foi inserido na arena a partir do quadrante 14 (ponto de largada) com a cabeça virada para a parede e nela permaneceram por 10 minutos desde a liberação. Após esse período os animais foram retirados da arena e transferidos de volta para suas gaiolas.

3.5. Histologia

Ao final dos testes comportamentais, os animais foram anestesiados profundamente com Pentobarbital 100 mg/kg, misturado com Lidocaína 10 mg/mL. Os encéfalos foram removidos das caixas cranianas e congelados. Secções frontais de 30 µm de espessura foram tomadas a intervalos de 150 µm, ao nível do AVT. As secções foram coradas com violeta de cresil. As lâminas foram analisadas sem conhecimento do desempenho comportamental dos animais.

Figura 4. Representação esquemática do Campo Aberto. Número em vermelho representa o ponto de largada.

3.6. Análise dos Resultados

Os tempos de latência em cada tentativa da tarefa de extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos foram analisados por meio de um teste de Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, tendo Padrão de reforço (Monotônico e Não-Monotônico) e Cirurgia (Lesão no AVT e Controle) como fatores entre-sujeitos e Tentativas como fator intra-sujeitos, tomando-se os cuidados pertinentes para que os pressupostos desse tipo de estatística fossem atendidos.

No campo aberto, para a análise das visitas dos animais ao centro ou a periferia, foi realizado um teste de Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, tendo Padrão de reforço e Cirurgia como fatores entre-sujeitos e Área (centro e periferia) como fator intra-sujeitos.

Testes de Tukey foram realizados *a posteriori*, quando pertinente.

Diferenças foram consideradas significantes quando o P-valores foram menores que 0,05. Considerou-se também a possibilidade da existência de P-valores marginalmente significantes, quando maiores que 0,05 e menores que 0,1.

4. Resultados

Dois animais foram descartados por terem adoecido durante o período dos experimentos; 1 animal do grupo MC e 1 animal do grupo ML. Outros dois animais foram excluídos da análise final por não terem aprendido a tarefa de correr pelo labirinto linear; 1 animal do grupo MC e 1 animal do grupo NMC.

4.1. Histológicos

A Figura 5A mostra uma fotomicrografia da região do AVT de um animal controle, sem lesões aparentes. A análise histológica mostrou que os animais dos grupos lesados apresentaram perda celular no AVT (Figura 5B). Também se observou que alguns animais lesados tiveram perda celular no núcleo talâmico anterodorsal (AD). A Figura 6 representa a mínima e a máxima lesão causada pela microinfusão de NMDA durante o processo cirúrgico, dessa forma apresentando aproximadamente a área atingida nos animais que foram incluídos na análise estatística. Sugerindo que a quantidade de neurotoxina aplicada foi capaz de atingir toda extensão do AVT.

A

B

Figura 5. Fotomicrografia (A) mostrando uma porção do tálamo anteroventral dos animais do grupo controle. (AVT) Tálamo anteroventral; (AD) Tálamo anterodorsal. Fotomicrografia (B) mostrando uma porção do tálamo anteroventral dos animais do grupo lesado. (*) Representa a cicatriz neural do tálamo anteroventral.

Figura 6. Representação esquemática mostrando a máxima (em verde) e a mínima (em vermelho) lesão causada pela infusão tópica de NMDA na região correspondente ao AVT. Esse esquema representa a extensão do dano nos animais dos grupos lesados (ML e NML).

4.2. Resultados Comportamentais no Teste de Extrapolação

Figura 7 mostra os tempos de latência dos grupos controle e lesados em função das tentativas no dia do teste.

A ANOVA incluindo apenas as quatro tentativas iniciais da sessão de teste de cada grupo, revelou efeito significativo em relação ao fator Tentativa ($F(3,72) = 3,16$; $P = 0,0338$) e ausência de efeito significativo em relação aos fatores Cirurgia ($F(1,24) = 0$; $P = 0,9487$) e Padrão de reforço ($F(1,24) = 0,70$; $P = 0,4100$). Além disso, a ANOVA revelou efeito significativo na interação envolvendo Padrão de reforço x Tentativa ($F(3,72) = 4,39$; $P = 0,0085$) e ausência de efeito significativo nas interações envolvendo

Cirurgia x Padrão de reforço ($F(1,24) = 1,83$; $P = 0,1890$), Cirurgia x Tentativa ($F(3,72) = 1,40$; $P = 0,2530$), e Tentativa x Cirurgia x Padrão de reforço ($F(3,72) = 0,89$; $P = 0,4464$).

Análises *post hoc* mostraram que não houve diferenças significantes entre os grupos controle (MC e NMC) e lesados (ML e NML) em quaisquer dessas quatro primeiras tentativas da sessão teste. Em contrapartida, como esperado, houve diferença entre os grupos M e NM na quarta tentativa ($P < 0.05$). Esses resultados mostram que os animais expostos tanto ao padrão monotônico quanto ao não-monotônico aprenderam suas respectivas tarefas, independente de pertencerem ao grupo controle ou lesado. Ademais os resultados mostram que a latência na quarta tentativa nos grupos M aumenta enquanto se mantém relativamente constante nos grupos NM.

A ANOVA incluindo os dados da quinta tentativa revelou efeito significativo nos fatores principais Cirurgia ($F(1,24) = 5,51$; $P = 0,0275$), Padrão de reforço ($F(1,24) = 8,57$; $P = 0,0074$) e Tentativa ($F(4,96) = 16,32$; $P < 0,0001$). Revelou ainda efeito significativo envolvendo as interações Cirurgia x Padrão de reforço ($F(1,24) = 8,48$; $P = 0,0076$), Cirurgia x Tentativa ($F(4,96) = 8,09$; $P < 0,0001$) e Padrão de reforço x Tentativa ($F(4,96) = 9,20$; $P < 0,0001$). Por fim, a ANOVA revelou efeito significativo na interação envolvendo os três fatores principais, Tentativa x Cirurgia x Padrão de reforço ($F(4,96) = 6,83$; $P < 0,0001$).

De fato, a Figura 7 mostra que enquanto os animais MC, do grupo controle e expostos ao padrão monotônico, exibem o esperado aumento nos tempos de latência ao longo das tentativas, inclusive com aumento substancial desse escore na quinta tentativa, os animais NMC, controle e expostos ao padrão não-monotônico de reforço,

exibem comportamento muito distinto, com tempos de latência baixos e que seguem um padrão assintótico.

Diferentemente, os animais do grupo ML, lesados e expostos ao padrão monotônico de reforço, não apresentam qualquer aumento de latência na quinta tentativa, mesmo tendo ficado demonstrado, nos resultados envolvendo as 4 primeiras tentativas, que tinham aprendido sobre o padrão de reforço a que foram submetidos. Deduz-se que as lesões realizadas no AVT prejudicaram a extrapolação com base no padrão serial monotônico ao qual foram expostos, não prejudicando o resgate de informações previamente experimentadas.

Análises *post hoc* adicionais mostraram que houve diferença significativa entre os escores dos quatro grupos na quinta tentativa da sessão de teste ($F(3,24) = 8,31$; $P = 0,0006$). De fato, os animais controle exibiram tempos de corrida compatíveis com os padrões de reforço a que foram expostos. Isto é, os animais expostos ao padrão monotônico, cuja extrapolação seria, em princípio, que a quinta tentativa geraria uma quantidade de reforço menor do que um, exibiram substancial aumento da latência refletindo sua baixa motivação para correr pela pista, provavelmente em decorrência da quantidade de reforço antecipada/extrapolada com base no padrão serial precedente. Diferentemente, os animais expostos ao padrão não-monotônico de reforço, cuja extrapolação seria, em princípio, que a quinta tentativa geraria uma quantidade de reforço maior do que um, exibiram latências pequenas, uma vez que anteciparam/extrapolaram que a quantidade de alimento disponível na quinta tentativa seria maior do que a da recebida na quarta tentativa da sessão teste. Já os animais lesados expostos ao padrão monotônico (ML) parecem ter perdido a capacidade de extrapolar na quinta tentativa, não apresentando a mesma diferença na latência nessa tentativa (Figura 7).

Uma vez que os animais do grupo ML apresentaram menores tempos de latência ao longo do treinamento e também na quinta tentativa da sessão de teste, foi realizado, com todos os grupos, o teste de campo aberto para avaliar se esses animais exibiram algum tipo de hiperatividade induzido pela lesão.

4.3. Campo Aberto

Figura 8 apresenta a distância percorrida pelos animais dos grupos MC, NMC, ML e NML ao longo da sessão do Teste de Campo Aberto.

A ANOVA revelou uma diferença entre os grupos em relação a distância percorrida no campo aberto ($F(3, 24) = 4,6401$; $P = 0,01$). Porém, como pode ser visto na Figura 8, o grupo ML não exibiu diferença significativa em relação aos grupos MC ($P = 0,23$) e NMC ($P = 0,24$), demonstrando que esses animais não exibiram hiperatividade em relação aos respectivos grupos controle. Na verdade, os resultados parecem apontar na direção oposta, i.e., os animais lesados exibiram uma hipoatividade, o que favorece adicionalmente a interpretação de que os resultados obtidos na tarefa de extrapolação a partir de padrões seriais não decorrem de hiperatividade nesses animais.

Ainda, o grupo NML, no qual os animais também foram lesados durante a cirurgia, se mostrou menos ativo no campo aberto do que os grupos MC ($P = 0,02$) e NMC ($P = 0,02$), não apresentando diferença significativa com o grupo ML ($P = 0,7$).

Em vista desses resultados, parece pouco plausível explicar a ausência de extrapolação com base em uma suposta alteração da atividade locomotora dos animais decorrente da lesão induzida no processo cirúrgico.

Figura 9A apresenta o tempo que os animais dos grupos controle e lesados permaneceram nas áreas definidas como periferia e centro do campo aberto e a Figura

9B mostra o quanto esses animais se deslocaram na periferia ou no centro do campo aberto.

Através desse teste também foi analisado se a lesão causada pela cirurgia afetou a tigmotaxia dos animais lesados, o que poderia sugerir que esses ratos se tornaram menos cautelosos que os dos grupos controle em lidar com eventos inéditos, podendo afetar os resultados vistos na quinta corrida da sessão teste.

Em relação ao tempo, ANOVA não revelou efeito significativo nos fatores Cirurgia ($F(1,24) = 1,4$; $P = 0,252$) ou Padrão de reforço ($F(1,24) = 1,4$; $P = 0,25$). A análise também não revelou efeitos significantes em qualquer das interações: Cirurgia x Padrão de reforço ($F(1,24) = 1,4$; $P = 0,250$), Área x Cirurgia ($F(1,24) = 0,1$; $P = 0,772$), Área x Padrão de reforço ($F(1,24) = 0,8$; $P = 0,381$) ou Área x Cirurgia x Padrão de reforço ($F(1,24) = 2,2$; $P = 0,147$). Ou seja, como pode ser visto na Figura 9, tanto os ratos dos grupos controle quanto os dos grupos lesados permaneceram tempos semelhantes no centro ou na periferia do campo aberto.

Figura 8. Média (+ E. P. M.) da distância total percorrida pelos animais dos grupos MC, NMC, ML e NML no Teste de Campo Aberto. (*) Diferença significativa entre os grupos, $p < 0,05$.

Quanto ao deslocamento, a análise não revelou efeito significativo envolvendo o fator Padrão de reforço ($F(1,24) = 0,659$; $P = 0,424$), mas revelou efeito significativo em relação ao fator Cirurgia ($F(1,24) = 12,38$; $P = 0,001$). Ademais, a ANOVA revelou ausência de efeito significativo na interação Cirurgia x Padrão de reforço ($F(1,24) = 0,426$; $P = 0,52$) ou Área x Padrão de reforço ($F(1,24) = 0,24$; $P = 0,628$), mas revelou efeito significativo na interação Área x Cirurgia ($F(1,24) = 7,13$; $P = 0,013$). Por fim a ANOVA não revelou efeito significativo na interação entre os três fatores Área x Cirurgia x Padrão de reforço ($F(1,24) = 0,039$; $P = 0,844$).

Análise *post hoc* do deslocamento mostra ainda que não há diferença significativa no deslocamento dos animais lesados no centro em relação aos animais controle ($P = 0,402$). Porém, os animais controle se deslocam mais na periferia do que os animais lesados ($P < 0,05$). Tais dados se assemelham aos resultados obtidos na análise de hiperatividade (Figura 8), em que os animais do grupo NML são mais hipoativos, deste modo, se deslocam menos no campo aberto.

Portanto, os dados aqui apresentados indicam que a diferença dos resultados obtidos na fase de teste, na pista reta, não pode ser explicada por uma menor cautela dos animais lesados em explorarem um evento inédito, devido, novamente, a algum fator imposto pelo processo cirúrgico.

5. Discussão

Os resultados do presente conjunto de experimentos mostram que os animais controle expostos ao padrão monotônico de reforço (grupo MC) extrapolaram com base no padrão serial de estímulos, exibindo o esperado aumento no tempo de latência na quinta tentativa da sessão de testes. Em contraste, os animais do grupo monotônico lesado (grupo ML) não apresentaram esse aumento de latência na quinta tentativa, indicando que lesões no AVT prejudicam a extrapolação, o que sugere o envolvimento dessa estrutura nervosa na geração de previsões com base em memórias de regularidades passadas.

Em outras palavras, dado que os animais do grupo MC foram apresentados a um padrão monotônico decrescente de quantidade de sementes de girassol ao longo das tentativas anteriores, esse aumento significativo da latência na quinta tentativa é congruente com a interpretação de que esses animais anteciparam que a quantidade de sementes a ser recebida seria menor que um. Diferentemente, os animais do grupo não-monotônico controle, expostos a um padrão de reforço ora decrescente (14 – 3 e 7 – 1) ora crescente (3 – 7), também parecem ter extrapolado na quinta corrida; porém, o conteúdo dessa extrapolação seria distinto, pois indicativo de que a quantidade de reforço deveria aumentar. Parece, pois, plausível que sua latência na quinta tentativa seja similar às observadas nas tentativas 1 a 4. Isto é, levando em conta que de acordo com o padrão no qual foram treinados, sempre que diminuía o número de sementes na

caixa-alvo (3 após 14 sementes, por exemplo), elas voltavam a aumentar na tentativa seguinte (7 após 3 sementes, por exemplo), é natural, desta maneira, inferir uma certa constância, como a vista nos resultados, das corridas desse grupo e que tal constância fosse repetida na quinta tentativa, que era nova.

Uma hipótese usualmente levantada para explicar o aumento de latência na quinta tentativa é que há uma novidade promovida pela adição dessa tentativa nos testes. Porém, tanto os animais expostos ao padrão monotônico como não-monotônico, dos grupos controle e lesados, foram sujeitos a essa novidade, sendo que, apenas os animais do grupo MC exibiram o aumento. Esse resultado permite descartar essa interpretação.

Outra hipótese geralmente aventada para explicar os resultados é que as diferenças comportamentais vistas no teste estão atribuídas à motivação em face das diferenças na quantidade de sementes recebidas. Entretanto, note que na última tentativa a quantidade total de reforço recebido pelos animais de todos os grupos era exatamente a mesma, i.e., 25 sementes.

Da mesma forma, a quantidade de sementes que os animais de todos os grupos recebem nas tentativas 1 e 4 não difere, consistindo de 14 e 1 sementes de girassol respectivamente. Sendo assim, elas não podem ser consideradas como fatores motivacionais para o comportamento dos animais na quinta tentativa, de modo que essa possibilidade também pode ser descartada.

Sendo assim, esses resultados confirmam e estendem as observações de Fountain e Hulse (1981) e corroboram a ideia central do modelo de aprendizado por padrões seriais, que preconiza que organismos codificam uma representação de regras formais

para entenderem um padrão e, desta forma, podem usar essa representação para realizarem previsões sobre novos elementos integrados (Restle & Brown, 1970).

Tais resultados em ratos são semelhantes aos dos testes realizados em humanos, nos quais foi visto que a previsão gerada pelos voluntários sobre próxima jogada de um atleta é influenciada pelo seu padrão de jogadas anteriores (Gray, 2002; Loffing *et al.*, 2015). Por exemplo, voluntários expostos a um padrão de quatro séries seguidas de jogadas semelhantes de um jogador de vôlei tendem a gerar a expectativa de que a quinta jogada corresponderá com o padrão anterior, ou seja, que o atleta irá realizar uma ação semelhante com as precedentes (Loffing *et al.*, 2015). Assim, a antecipação é um processo caracterizado pela comparação da informação atual (por exemplo, o movimento de um atleta) e conhecimento prévio ou expectativas (por exemplo, o resultado de eventos anteriores, a saber, o padrão) (Körding, 2007). Contudo é necessário ressaltar que o padrão identificado (originado das habilidades, fraquezas ou preferências de ações de um jogador) é altamente relevante no momento que um voluntário gera uma previsão. Muitas vezes ele se antepõe em detrimento das pistas de movimentos atuais do mesmo, de forma que quanto mais cedo a antecipação é gerada, os padrões identificados ganham maior importância que os movimentos atuais do atleta (Loffing *et al.*, 2015).

Por outro lado, ao serem analisados os animais lesados, os resultados chamam a atenção inicialmente quando são observadas as quatro primeiras tentativas da sessão teste. Como mostrado acima, não são observadas diferenças significantes entre os animais controle e lesados, porém há diferença entre os grupos monotônico e não-monotônico, mostrando que ambos os grupos foram capazes de identificar as quantidades de reforço recebidas em cada tentativa, independente de terem ou não lesão no AVT. Esses resultados apoiam a interpretação de que o prejuízo na extrapolação dos

animais lesados na quinta tentativa decorre de uma dificuldade em antecipar o evento inédito e não de dificuldades para aprender ou reter na memória os padrões de reforço a que foram expostos. Em outras palavras, os resultados permitem descartar a hipótese de que as diferenças observadas na extrapolação dos animais lesados decorram de prejuízo na aprendizagem do padrão a que foram expostos.

Dessa forma, tendo em vista que o grupo ML aprendeu sobre seu respectivo padrão de reforço, i.e., que as quantidades de sementes diminuía a cada tentativa, e mesmo assim não exibiu aumento de latência na quinta tentativa, como ocorreu para o grupo MC, pode-se concluir que a lesão no AVT interferiu na capacidade dos animais em extrapolar a partir do padrão serial ao qual foram expostos.

Esses resultados corroboram com a teoria de Gray (1982) sobre o papel do sistema septo-hipocampal, segundo a qual as alças longa (subículo – corpos mamilares – AVT – CC – subículo) e curta (subículo – AVT e subículo) formariam o circuito gerador de previsões. Como mencionado acima, a estrutura selecionada para induzir a lesão foi o AVT, que participa de ambas as alças. Dessa forma, os resultados do presente trabalho apoiam a hipótese da participação do AVT na geração de previsões, onde (1) tanto os animais controle quanto os lesados foram capazes de formar as regras aplicáveis aos respectivos padrões de reforço a que foram expostos, guardando as informações referentes às diferentes quantidades de reforço recebidas. Entretanto, (2) os animais lesados no AVT não conseguiram formar uma previsão, não aumentando a latência na quinta corrida.

Posteriormente, foi observado que os animais do grupo ML apresentaram menor tempo de corrida nas quatro primeiras tentativas em relação aos demais grupos, tanto na sessão teste como anteriormente nas sessões de treino. Dessa forma, poderia ser

proposta a hipótese de que o menor tempo de latência na quinta tentativa do grupo monotônico lesado talvez estivesse associada a uma possível hiperatividade dos animais, induzida pela lesão. Os resultados apresentados no teste de campo aberto permitem descartar essa hipótese, pois a atividade dos animais do grupo ML não difere significativamente em relação a exibida pelos animais controle (MC e NMC). Mais interessante, os animais do grupo NML se mostraram hipoativos em relação aos grupos controle, permitindo rejeitar a concepção de que o procedimento cirúrgico teria gerado hiperatividade nesses ratos, e que isso poderia ter contribuído para os resultados da quinta tentativa da sessão de teste de extrapolação.

Através do teste de campo aberto ainda foi possível analisar a tigmotaxia dos animais, ou seja, a tendência dos roedores em permanecerem em áreas periféricas, perto de superfícies verticais (Valle, 1970). Dessa forma, pudemos avaliar se alguma etapa do processo cirúrgico afetou essa tendência, sugerindo que os animais lesados seriam menos cautelosos em visitar o centro do campo aberto em relação aos animais controle; em caso positivo, isso poderia levar à hipótese de que os animais lesados seriam menos cautelosos em relação a sua exposição em situações novas, como ocorre quando são expostos a uma quinta corrida.

Como pode ser visto na Figura 9, tanto os animais controle como os animais lesados permaneceram tempos semelhantes no centro e na periferia do campo aberto, sugerindo que os animais lesados são tão cautelosos quanto os animais do grupo controle. Adicionalmente, chama a atenção o fato de que tanto os animais controle quanto os lesados tenham se deslocado igualmente no centro do campo aberto, ao passo que a diferença em relação ao deslocamento só é vista na periferia. Considerando que esta diferença se justifica no fato dos grupos controle se mostraram mais ativos do que os lesados (ver resultados de hiperatividade na Figura 8), não é possível afirmar que os

animais lesados tenham corrido mais rapidamente porque são hiperativos. Assim, tais resultados são mais uma evidência de que os resultados da quinta corrida da sessão de teste ocorreram pelo prejuízo dos animais lesados em realizarem previsão com base em regularidades passadas.

Estudos recentes mostram que neurônios da formação hipocampal se projetam para os núcleos talâmicos anteriores (ATN). Tais projeções advêm do subículo (Dumont *et al.*, 2005; Aggleton & Christiansen, 2015), se dirigindo em grande parte para o AVT, um dos núcleos componente do ATN, juntamente com o núcleo talâmico anterodorsal (AD) e o núcleo talâmico anteromedial (AM) (Wright *et al.*, 2010). Por exemplo, Dillingham e colegas (2015) mostraram, por meio da injeção de marcadores retrógrados (Fast Blue e DiamidinoYellow), que o AVT recebe projeções oriundas do subículo não só por meio do fórnix, mas também por vias a parte dessa última estrutura (Dillingham *et al.*, 2015; Wright *et al.*, 2013; Van Groen & Wyss, 1990a,b). Interessantemente, tais projeções também foram descritas em macacos do gênero *Macaca* e em ratos, semelhantemente às projeções indiretas do subículo que se dirigem ao AVT através dos corpos mamilares e trato mamilo-talâmico (Ishizuka, 2001; Aggleton *et al.*, 2005; Vann *et al.*, 2007; Saunders *et al.*, 2005; Christiansen *et al.*, 2016). Por sua vez, Shibata e Honda (2015), através da injeção de marcadores tanto anterógrados (amina dextrana biotinelada) como retrógrados (subunidade B da toxina cólera) em coelhos, demonstraram projeções advindas do AVT para a parte mais profunda da camada de células piramidais no subículo, evidenciando conexões recíprocas de ambas as estruturas. Projeções do AVT para o subículo também foram observadas por Van Groen e Wyss (1995) em ratos. A literatura científica mostra ainda que os ATN possuem conexões com áreas corticais frontais e o córtex cingulado, muitas delas também

recíprocas, todas em contato com o AVT (Shibata & Naito, 2005), concretizando a composição do sistema septo-hipocampal e do circuito gerador de previsões.

Porém, o papel dessas conexões no comportamento antecipatório, ainda vem sendo investigado. Diferentes estudos apontam que as conexões entre formação hipocampal e ATN fazem parte de uma rede interligada para sustentar o aprendizado comportamental e funções da memória, como a memória espacial em roedores e memória episódica em seres humanos (Byatt & Dalrymple-Alford, 1996; Vann & Aggleton, 2004; Jankowski *et al.*, 2013; Dummont *et al.*, 2015; Dillingham *et al.*, 2015).

Nesse sentido, Aggleton e Nelson (2015), utilizando tarefas de memória operacional no labirinto em T, mostram que ratos com o ATN lesado exibem prejuízo nas tarefas de aprendizado espacial, não prejudicando apenas o aprendizado aloentríco, mas também outros processos espaciais, tais como, aprendizado de direção, integração por caminhos e discriminação de comprimento relativo. Entretanto, dados mostram que tarefas de aprendizado egocêntrico, nos quais os animais são recompensados sempre por virarem em uma direção constante, não são afetadas por lesões no ATN (Aggleton *et al.*, 1996; Warburton *et al.*, 1999; Van Groen *et al.*, 2002; Wolff *et al.*, 2006). Outro conjunto de evidências sugere que o AD forneceria informação da direção, o AM seria importante para informação temporal e o AVT ajudaria a codificar informações sobre o local (Aggleton *et al.*, 2010). Sendo assim, a perda de um ou mais desses núcleos afetaria o comportamento animal de diversas formas. Ademais, um segundo problema causado pela perda do ATN é o rompimento de atividade neural em regiões ligadas a ele, como o hipocampo (Aggleton & Nelson, 2015).

É interessante, porém, que os resultados do estudo aqui apresentado tenham corroborado a proposta de Gray (1982), porque estendem o papel das estruturas que compõe o circuito gerador de previsões para além da participação em tarefas de memória espacial, mostradas por Aggleton e demais autores (Aggleton & Brown, 1999, Jankowski *et al.*, 2013). Isso permite sugerir a participação do hipocampo e de suas conexões na geração de previsão, atuando em auxiliar a construir uma representação do futuro utilizando experiências passadas (Eichenbaum & Fortin, 2009; Lisman & Redish, 2009; Bubic *et al.*, 2010), como também em demais tarefas comportamentais não relacionados às espaciais.

Por exemplo, Shibata e Honda (2015) descreveram evidências de que o AVT é crucial para a discriminação entre um estímulo externo que prevê um evento negativo e outro que não causará danos. Da mesma forma, Gabriel (1993) estudou os mecanismos neurais subjacentes ao aprendizado discriminativo em coelhos, que foram treinados a evitar choque elétrico nas patas identificando tons que prediziam se haveria choque elétrico ou não. Este autor observou que há mudanças na atividade neuronal talâmica anterior durante o curso da aprendizagem comportamental, onde o AVT mostra um aumento na atividade neuronal induzida pelo treinamento durante os estágios mais avançados da aquisição comportamental. O autor concluiu que o AVT, em tarefas de discriminação, parece atuar fornecendo informações críticas relacionadas a novidades do estímulo para a área subicular (Gabriel, 1993), o que auxiliaria o animal a aprender que um tom está relacionado a um evento potencialmente prejudicial, i.e., o choque, e, portanto, prevê-lo. Isto é semelhante à proposta de que o AVT, em roedores, atua como uma “alça de retorno”, levando informações de volta para a formação hipocampal (Aggleton *et al.*, 2010; Xiao & Barbas, 2002).

Ainda, as evidências apontando que as estruturas envolvidas tanto em funções da memória espacial como na geração de previsão são muito semelhantes e reforçam a concepção de que relações espaciais entre eventos são importantes para o comportamento antecipatório, fornecendo informação adicional que facilitará a geração desse comportamento (Bar, 2004; Fenske *et al.*, 2006).

Enfim, a circuitaria estudada no presente estudo tem sido relacionada com a memória espacial em ratos e episódica em humanos, porém os resultados aqui apresentados mostram que o papel dela vai além, atuando na comparação do estado presente do ambiente com eventos previstos com base em memórias sobre regularidades passadas. Esta pode, em caso de disparidade, agir no comportamento do animal (Gray, 1982; Honey *et al.*, 1998), gerando comportamento exploratório, para obter mais informações que contribuam para o processamento de eventos futuros.

Além do mais, a descoberta de que as chamadas “head direction cells” (HDC) estão presentes tanto no AD quanto no AVT (Tsanov *et al.*, 2011; Clark & Taube, 2012), trouxe elementos adicionais para discutir o circuito gerador de previsões. Tais neurônios foram descobertos primeiramente no pós-subículo (PSC) (Taube *et al.*, 1990). Desde então, têm sido descritos em outras regiões nervosas, incluindo os corpos mamilares (Stackman & Taube, 1998) e córtex límbico (Chen *et al.*, 1994), além de outras áreas do próprio ATN, como já mencionado. Essas células disparam potenciais de ação apenas quando a cabeça do rato está apontando para uma direção dentro de um ângulo específico do plano horizontal (Taube *et al.*, 1990; Basset *et al.*, 2005). Sua atividade é também influenciada pela direção da cabeça em relação ao ambiente estático a sua volta e não pela posição da cabeça do rato em relação ao seu corpo ou em relação a sua posição no ambiente. Todas as HDC têm sua própria direção preferida de disparo,

de modo que, em conjunto, toda a população de células oferece ao animal um sentido de direção continuo da cabeça durante a navegação espacial (Taube, 1998).

O curioso em relação às HDC, entretanto, advém dos resultados que mostram que aquelas presentes nos ATN possuem atividade antecipatória. Ou seja, o disparo dessas células é mais bem relacionado com a direção futura que a cabeça do rato apontará, e não para onde ela está apontando no presente ou esteve no passado (Blair & Sharp, 1995). Sendo assim, células dos ATN mudam sua atividade de disparo de acordo com o movimento angular da cabeça do rato, para a esquerda quando o animal está virando em sentido horário e para a direita em sentido anti-horário, antecipando com uma média de 17 ms a direção que a cabeça apontará (Blair *et al.*, 1997; Basset *et al.*, 2005). Em contrapartida, as células presentes no PSC não apresentam a mesma propriedade antecipatória das células do ATN, mantendo a mesma direção de disparo preferida. Esse tipo de resultado levou à proposta de que o PSC e as células do ATN formam um circuito tálamo-cortical, em que a previsão da posição futura da cabeça gerada no ATN talvez se projete para o PSC, proporcionando a essa última estrutura informações futuras para quando ele tiver que atualizar a sua representação do estado presente das HDC. Por outro lado, para gerar suas previsões, as células do ATN utilizariam informações advindas do PSC, que junto com o movimento angular do rato, serviria para gerar uma antecipação (Blair & Sharp, 1995).

Assim o tálamo anteroventral parece fazer parte de um conjunto de estruturas, os núcleos talâmicos anteriores, envolvidos em atividade antecipatória. Isso leva a inferir que as estruturas que compõem o circuito gerador de previsões realmente possuem por finalidade comparar dados correntes (presentes) com armazenados na memória de forma a preparar o animal para eventos futuros.

6. Conclusões

Os resultados do presente estudo mostram que ratos extrapolam a partir de padrões seriais de estímulos, exibindo comportamentos compatíveis com a noção de que esses animais antecipam eventos ambientais nunca antes experienciados, com base em regularidades identificadas em registros passados mantidos na memória. Ademais, os dados sugerem que o conteúdo da previsão é compatível com a regularidade a que o animal foi exposto anteriormente.

Ainda, os resultados mostram que lesões no AVT prejudicam a extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos. Esses resultados fortalecem a proposta de Gray (1982) de que essa estrutura participa das alças curta e longa de um postulado Circuito Gerador de Previsões.

Além disso, os resultados mostram que tanto os animais controle quanto os lesados foram capazes de aprender os padrões nos quais foram treinados. Porém, os animais do grupo monotônico lesado apresentaram um prejuízo em extrapolar a partir do padrão aprendido, diferentemente dos animais controle que extrapolaram.

7. Referências Bibliográficas

- AGGLETON, J. P.; BROWN, M. W. Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. **Behavioral and brain sciences**, v. 22, p. 425-489, 1999.
- AGGLETON, J. P.; CHRISTIANSEN, K. The subiculum: the heart of the extended hippocampal system. **Progress in Brain Research**, v. 219, p. 65-82, 2015.
- AGGLETON, J. P.; HUNT, P. R.; NAGLE, S.; NEAVE, N. The effects of selective lesions within the anterior thalamic nuclei on spatial memory in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 81, p. 189-198, 1996.
- AGGLETON, J. P.; NELSON, A. J. D. Why do lesions in the rodent anterior thalamic nuclei cause such severe spatial deficits? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 54, p. 131–144, 2015.
- AGGLETON, J. P.; O'MARA, S. M.; VANN, S. D.; WRIGHT, N. F.; TSANOV, M.; ERICHSEN, J. T. Hippocampal-anterior thalamic pathways for memory: uncovering a network of direct and indirect actions. **European Journal of Neuroscience**, v. 31, p. 2292-2307, 2010.
- AGGLETON, J. P.; VANN, S. D.; SAUNDERS, R. C. Projections from the hippocampal region to the mammillary bodies in macaque monkeys. **European Journal of Neuroscience**, v. 22, p. 2519–2530, 2005.
- BAR, M. Visual objects in context. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, p. 617-629, 2004.
- BASSET, J. P.; ZUGARO, M. I. B.; MUIR, G. M.; GOLOB, E. J.; MULLER, R. U.; TAUBE, J. S. Passive Movements of the Head Do Not Abolish Anticipatory Firing Properties of Head Direction Cells. **Journal of Neurophysiology**, v. 93, p. 1304-1316, 2005.

- BLAIR, H. T.; LIPSCOMB, B. W.; SHARP, P. E. Anticipatory Time Intervals of Head-Direction Cells in the Anterior Thalamus of the Rat: Implications for Path Integration in the Head-Direction Circuit. **Journal of Neurophysiology**, v. 78, p. 145–159, 1997.
- BLAIR, H. T.; SHARP, P. E. Anticipatory head direction signals in anterior thalamus: evidence for a thalamocortical circuit that integrates angular head motion to compute head direction. **Journal of Neuroscience**, v. 15, p. 6260–6270, 1995.
- BOLLES, R. C. The role of stimulus learning in defensive behavior. **Cognitive processes in animal behavior**. Eds. S. H. Hulse, H. Fowler, & W. K. Honig. Hillsdale, New Jersey, Lawrence Erlbaum Associates, Inc., Publishers, 89-107, 1978.
- BUBIC, A.; VON CRAMON, D. Y.; SCHUBOTZ, R. I. Prediction, cognition and the brain. **Frontiers in human neuroscience**, v. 4:25, 2010.
- BYATT, G.; DALRYMPLE-ALFORD, J. C. Both anteromedial and anteroventral thalamic lesions impair radial-maze learning in rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 110, n. 6, p. 1335-1348, 1996.
- CAMPOS, A.; SANTOS, A. M. G.; XAVIER, G. F. A consciência como fruto da evolução e do funcionamento do sistema nervoso. **Psicologia USP**, v. 8, n. 2, p. 181-226, 1997.
- CAPALDI, E. J.; MOLINA, P. Element discriminability as a determinant of serial-pattern learning. **Animal Learning & Behavior**, v. 7, p. 318-322, 1979.
- CAPALDI, E. J.; VERRY, D. R.; DAVIDSON, T. L. Memory, serial anticipation pattern learning, and transfer in rats. **Animal Learning & Behavior**, v. 8, p. 575-585, 1980.

- CAPALDI, E. J.; VERRY, D. R. Serial order anticipation learning in rats: memory for multiple hedonic events and their order. **Animal Learning & Behavior**, v. 9, p. 441-453, 1981.
- CAPALDI, E. J.; NAWROCKI, T. M.; VERRY, D. R. Difficult serial anticipation learning in rats: rule-encoding vs. memory. **Animal Learning & Behavior**, v. 10, p. 167-170, 1982.
- CHEN, L. L.; LIN, L. H.; GRENN, E. J.; BARNES, C. A.; MCNAUGHTON, B. L. Head direction cells in the rat posterior cortex. **Experimental Brain Research**, v. 101, p. 8-23, 1994.
- CHRISTIANSEN, K.; DILLINGHAM, C. M.; WRIGHT, N. F.; SAUNDERS, R. C.; VANN, S. D.; AGGLETON, J. P. Complementary subicular pathways to the anterior thalamic nuclei and mammillary bodies in the rat and macaque monkey brain. **European journal of neuroscience**, v. 43, p. 1044-1061, 2016.
- CLARK, B. J.; TAUBE, J. S. Vestibular and attractor network basis of the head direction cell signal in subcortical circuits. **Frontiers in Neural Circuits**, v. 6:7, 2012.
- DILLINGHAM, C. M.; ERICHSEN, J. T.; O'MARA, S. M.; AGGLETON, J. P.; VANN, S. D. Fornical and Nonfornical Projections From the Rat Hippocampal Formation to the Anterior Thalamic Nuclei. **Hippocampus**, v. 25, p. 977-992, 2015.
- DUMONT, J. R.; AMIN, E.; WRIGHT, N. F. DILLINGHAM, C. M.; AGGLETON, J. P. The impact of fornix lesions in rats on spatial learning tasks sensitive to anterior thalamic and hippocampal damage. **Behavioural Brain Research**, v. 278, p. 360–374, 2015.

- EICHENBAUM, H.; FORTIN, N. J. The neurobiology of memory based predictions. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, p. 1183-1191, 2009.
- FENSKE, M. J.; AMINOFF, E.; GRONAU, N.; BAR, M. Top-down facilitation of visual object recognition: object-based and context-based contributions. **Progress in Brain Research**, v. 155, p. 3-21, 2006.
- FLAHERTY, C. F.; CHECKE, S. Anticipation of incentive gain. **Animal Learning & Behavior**, v. 10, p. 177-182, 1982.
- FLAHERTY, C. F.; ROWAN, G. A. Anticipatory contrast: within-subjects analysis. **Animal Learning & Behavior**, v. 13, p. 2-5, 1985.
- FLAHERTY, C. F.; COPPOTELLI, C.; POTAKI, J. Effect of Chlordiazepoxide on the Response to Repeated Reductions in Sucrose Concentration in Free-Fed Rats. **Physiology & Behavior**, v. 60, p. 1291-1298, 1996.
- FOUNTAIN, S. B.; HULSE, S. H. Extrapolation of serial stimulus pattern by rats. **Animal learning & Behavior**, v. 9, p. 381-384, 1981.
- FOUNTAIN, S. B.; EVENSEN, J. C.; HULSE S. H. Formal structure and pattern length in serial pattern learning by rats. **Animal Learning & Behavior**, v. 11, n. 2, p. 186-192, 1983.
- FOUNTAIN, S. B. Rule abstraction, item memory, and chunking in rat serial-pattern tracking. **Journal of experimental psychology: animal behavior processes**. v. 16, p. 96-105, 1990.
- GABRIEL, M. Discriminative avoidance learning: a model system. In: Vogt BA, Gabriel M, editors. **Neurobiology of cingulate cortex and limbic thalamus**, Boston: Birkhäuser, p. 478–523, 1993.

- GRAY, J. A. **The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system.** New York, Oxford University Press, 1982. 548 p.
- GRAY, J. A.; FELDON, J.; RAWLINS, J. N. P.; HEMSLEY, D. R.; SMITH, A. D. The neuropsychology of schizophrenia. **Behavioral and Brain Sciences**, v. 14, p. 1-84, 1991.
- GRAY, R. Behavior of college baseball players in a virtual batting task. **Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance**, v. 28, n. 5, p. 1131–1148, 2002.
- HELENE, A. F.; XAVIER, G. F. Building attention from memory. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 25, p. 12-20, 2003.
- HONEY, R. C.; WATT, A.; GOOD, M. Hippocampal lesions disrupt na associative-mismatch process. **Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 2226–2230, 1998.
- HULSE, S. H.; CAMPBELL, C. E. “Thinking ahead” in rat discrimination learning. **Animal Learning & Behavior**, v. 3, p. 305-311, 1975.
- HULSE S. H.; DORSKY, N. P. Structural complexity as a determinant of serial learning. **Learning and Motivation**, v. 8, p. 488-506, 1977.
- HULSE, S. H. Cognitive structure and serial pattern learning by animals. In S. H. HULSE, H. FOWLER; W. K. HONIG (Eds.), **Cognitive processes in animal behavior.** Hillsdale, N.J: Erlbaum, 1978.
- HULSE S. H.; DORSKY, N. P. Serial pattern learning by rats: transfer of a formally defined stimulus relationship and significance of nonreinforcement. **Animal Learning & Behavior**, v. 7, p. 211-220, 1979.
- IRLE, E.; MARKOWITSCH, H. J. Connections of the hippocampal formation, mamillary bodies, anterior thalamus and cingulate cortex. **Experimental Brain Research**, v. 47, p. 79-94, 1982.

- ISHIZUKA, N. Laminar organization of the pyramidal cell layer of the subiculum in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 435, p. 89-110, 2001.
- JANKOWSKI, M. M.; RONNQVIST, K. C.; TSANOV, M.; VANN, S. D.; WRIGHT, N. F.; ERICHSEN, J. T.; AGGLETON, J. P.; O'MARA, S. M. The anterior thalamus provides a subcortical circuit supporting memory and spatial navigation. **Frontier in systems neuroscience**, v. 7:45, 2013.
- KÖRDING, K. P. Decision theory: What “should” the nervous system do? **Science**, v. 318, p. 606–610, 2007.
- KUNDEY, S. M. A.; FOUNTAIN, S. B. Irrelevant relations and the active search for pattern structure in rat serial pattern learning. **Animal Cognition**, v. 14, p. 359-368, 2011.
- LISMAN, J.; REDISH, A. D. Prediction, sequences and the hippocampus. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 364, p. 1193-1201, 2009.
- LOFFING, F.; STERN, R.; HAGEMANN, N. Pattern-induced expectation bias in visual anticipation of action outcomes. **Acta Psychologica**, v. 161, p. 45-53, 2015.
- MULCAHY, N. J.; CALL, J. Apes Save Tools for Future Use. **Science**, v. 312, p. 1038-1040, 2006.
- ONISHI, B. K. A.; XAVIER, G. F. Negative anticipatory contrast: Does it involve anticipation of an impending reward? **Behavioural Processes**, v. 86, p. 263-271, 2011.
- PAPEZ, J. W. A proposed mechanism of emotion. **Archives of Neurological Psychiatry**, v. 38, p. 725-743, 1937.
- PAVLOV, I. P. **Conditioned Reflexes**. London, Oxford University Press, 1927.

- PAXINOS, G.; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**, 2. ed. London, Academic Press Ltd., 1986.
- RABY, C. R.; ALEXIS, D. M.; DICKINSON, A.; CLAYTON, N. S. Planning for the Future by Western Scrub-jays. **Nature**, v. 445, p. 919-921, 2007.
- RESTLE, F.; BROWN, E. R. Serial pattern learning. **Journal of Experimental Psychology**, v. 83, p. 120-125, 1970.
- RESTLE, F.; BURNSIDE, B. L. Tracking of serial patterns. **Journal of Experimental Psychology**, v. 95, p. 299-307, 1972.
- ROWAN, J. D. *et al.* A multiple species approach to sequential learning: Are you a man or a mouse? **Behavior Research Methods, Instruments, & Computers**, v. 33, n. 3, p. 435-43, 2001.
- SAITO, M. I. P. **Extrapolação a partir de padrões seriais de estímulos e memória em ratos lesados nos núcleos talâmicos anteriores**. São Paulo, 1995. 111p./Tese (mestre) – Universidade Federal de São Paulo.
- SAUNDERS, R. C.; MISHKIN, M.; AGGLETON, J. P. Projections from the entorhinal cortex, perirhinal cortex, presubiculum, and parasubiculum to the medial thalamus in macaque monkeys: Identifying different pathways using disconnection techniques. **Experimental Brain Research**, v. 167, p. 1-16, 2005.
- SEKI, M.; ZYO, K. Anterior thalamic afferents from the mammillary body and the limbic cortex in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 229, p. 242-256, 1984.
- SHIBATA, H.; NAITO, J. Organization of anterior cingulate and frontal cortical projections to the anterior and latero dorsal thalamic nuclei in the rat. **Brain Research**, v. 1059, p. 93-103, 2005.

- SHIBATA, H.; HONDA, Y. Thalamocortical projections of the anteroventral thalamic nucleus in the rabbit. **Journal of comparative neurology**, v. 523, p. 726-741, 2015.
- SJÖLANDER, S. Some cognitive breakthroughs in the evolution of cognition and consciousness, and their impact on the biology of language. **Evolution and Cognition**, v. 1, p. 3-11, 1995.
- STACKMAN, R. W.; TAUBE, J. S. Firing properties of rat lateral mammillary single units: head direction, head pitch, and angular head velocity. **Journal of Neuroscience**, v. 18, p. 9020–9037, 1998.
- TAUBE, J. S. Head direction cells and the neurophysiological basis for a sense of direction. **Progress in Neurobiology**, v. 55, p. 225-256, 1998.
- TAUBE, J. S.; MULLER, R. U.; RANCK, J. B. Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. **Journal of Neuroscience**, v. 10, p. 420-435, 1990.
- TSANOV, M.; *et al.* Theta-modulated head direction cells in the rat anterior thalamus. **Journal of Neuroscience**, v. 31, p. 9489–9502, 2011.
- VALLE, F. P. Effects of strain, sex, and illumination on open-field behavior of rats. **American Journal of Psychology**, v. 83, p. 103-111, 1970.
- VAN GROEN, T.; KADISH, I.; WYSS, J. M. Role of the anterodorsal and anteroventral nuclei of the thalamus in spatial memory in the rat. **Behavioural Brain Research**, v. 132, p. 19-28, 2002.
- VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. The connections of presubiculum and parasubiculum in the rat. **Brain Research**, v. 518, p. 227-243, 1990a.

- VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. The postsubicular cortex in the rat: characterization of the fourth region of the subicular cortex and its connections. **Brain Research**, v. 529, p. 165-177, 1990b.
- VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. Connections of the retrosplenial granular a cortex in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 300, p. 593-606, 1990c.
- VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. Projections from the anterodorsal and anteroventral nucleus of the thalamus to the retrosplenial and hippocampal cortices. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v. 18, p. 324, 1992.
- VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. Projections from the anterodorsal and anteroventral nucleus of the thalamus to the limbic cortex in the rat. **Journal of comparative neurology**, v. 358, p. 584-604, 1995.
- VANN, S. D.; AGGLETON, J. P. The mammillary bodies: two memory system in one? **Nature Reviews**, v. 5, p. 35-44, 2004.
- VANN, S. D.; SAUNDERS, R. C.; AGGLETON, J. P. Distinct, parallel pathways link the medial mammillary bodies to the anterior thalamus in macaque monkeys. **The European Journal of Neuroscience**, v. 26, p. 1575–1586, 2007.
- VINOGRADOVA, O. S. Functional organization of the limbic system in the process of registration of information: facts and hypoothesis. **Hippocampus**. Eds. R. L. Isaacson & K. H. Pribram. London, Plenum Press, v. 2, p. 3-69, 1975.
- WALLACE, D. G.; FOUNTAIN, S. B. What is learned in sequential learning? An associative modelo of reward magnitude serial-pattern learning. **Journal of experimental psychology: animal behavior processes**, v. 28, p. 43-63, 2002.
- WARBURTON, E. C.; MORGNA, A.; BAIRD, A. L.; MUIR, J. L.; AGGLETON, J. P. Does pretraining spare the spatial deficit associated with anterior thalamic damage in rats? **Behavioral Neuroscience**, v. 113, p. 956–967, 1999.

- WOLFF, M.; GIBB, S. J.; DALRYMPLE-ALFORD, J. C. Beyond spatial memory: the anterior thalamus and memory for the temporal order of a sequence of odor cues. **The Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 11, p. 2907-2913, 2006.
- WRIGHT, N. F.; ERICHSEN, J. T.; VANN, S. D.; O'MARA, S. M.; AGGLETON, J. P. Parallel but separate inputs from limbic cortices to the mammillary bodies and anterior thalamic nuclei in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 518, n. 12, p. 2334-2354, 2010.
- WRIGHT, N. F.; VANN, S. D.; ERICHSEN, J. T.; O'MARA, S. M.; AGGLETON, J. P. Segregation of parallel inputs to the anteromedial and anteroventral thalamic nuclei of the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 521, n. 13, 2966-2986, 2013.
- XAVIER, G. F.; SAITO, M. I. P.; STEIN, C. Habituation of exploratory activity to new stimuli, to absence of a previously presented stimulus and to new contexts, in rats. **The Quarterly Journal of Experimental Psychology**, v. 43b, p. 157-175, 1991.
- XIAO, D.; BARBAS, H. Pathways for emotions and memory. I. Input and output zones linking the anterior thalamic nuclei with prefrontal cortices in the rhesus monkey. **Thalamus & Related Systems**, v. 2, p. 21-32, 2002.