RICARDO GABRIEL OLIVEIRA MAIA

**Análise eletrofisiológica multi-unitária da matéria
cinzenta periaquedutal dorsal e camadas
intermediárias e profundas do colículo superior de
ratos durante ameaça predatória**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientador: Prof. Dr. Newton Sabino Canteras

Versão Original

São Paulo

2018

RESUMO

MAIA, R. G. O. **Análise eletrofisiológica multi-unitária da matéria cinzenta periaquedutal dorsal e camadas intermediárias e profundas do colículo superior de ratos durante ameaça predatória.** 2018. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A circuitaria neuro-anatômica envolvida com a organização de respostas de medo inclui muitos sítios subcorticais diferentes, dois dos quais são a região dorsal da matéria cinzenta periaquedutal (dPAG) e as camadas intermediárias e profundas do colículo superior (i/dISC). Este estudo investigou como as células destas duas regiões mudam de atividade em um rato que foi colocado diante de seu predador, o gato, comparado com outras situações onde o risco menor. 11 ratos wistar machos passaram por cirurgia para implantação de um microdriver contendo 8 tetrodos, que detectou 39 células na dPAG de 7 ratos e 44 células nas i/dISC de 4 ratos. A atividade das células foi registrada em uma condição de base e em quatro condições experimentais distintas: o rato confinado, o rato diante de uma novidade, diante de um predador e diante do contexto predatório. Os dados coletados foram analisados por scripts de MATLAB e cada célula foi classificada para sua responsividade às condições experimentais, à mudança do comportamento do rato, à velocidade e à posição do rato no aparato. Na dPAG as células se mostraram mais responsivas a condição do gato do que as demais condições experimentais, tanto em número de células como em aumento de atividade celular. Uma quantidade menor de células mostrou-se responsiva a mudanças de comportamento, particularmente os comportamentos de defesa. Nas i/dISC as células também se mostraram mais responsivas para o gato, seguido do contexto, em ambos os casos com diminuição de atividade celular, que foi mais intensa no gato. Uma quantidade menor de células pareceu responder de forma similar para as diferentes mudanças comportamentais. Interpretamos esses dados propondo que a dPAG possui uma função sinalizadora de medo, fortemente ativada durante o gato, e que as i/dISC são inibidas diante do gato a fim de evitar a captação de estímulos irrelevantes para lidar com a situação de risco.

Palavras-chave: Neurobiologia. Eletrofisiologia. Matéria Cinzenta Periaquedutal. Colículo Superior. Medo.

ABSTRACT

MAIA, R. G. O. **Multi-unitary electrophysiological analysis of the dorsal periaqueductal gray and the intermediate and deep layers of the superior colliculus of rats during predatory threat.** 2018. 98 p. Dissertation (Master thesis in Morphofunctional Sciences) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The neuroanatomical circuitry involved with the organization of fear responses includes a great number of subcortical sites, two of which are the dorsal periaqueductal gray (dPAG) and the intermediate and deep layers of the superior colliculus (i/dISC). This study investigated how the cellular activity in these regions changed in a rat that was exposed to one of its predators, a cat, when compared with lower risk situations. 11 male wistar rats underwent surgery to implant a microdriver containing 8 tetrodes, which detected 39 cells in the dPAG of 7 rats and 44 cells in the i/dISC of 4 rats. Cell activity was registered in a basal condition and then again in for experimental conditions: the rat confined in a smaller space, the rat facing a novel stimulus, the rat facing a cat and the rat facing the predatory context. Collected data was analyzed using MATLAB and each cell was classified according to its responsivity to the experimental conditions, to the rats' switches in behavior, to the rats' speed and position in the experimental apparatus. In the dPAG, cells were shown to be more responsive to the cat condition over the other conditions, both in terms of number of responsive cells and intensity of increase in firing activity. A smaller number of cells were responsive to behavior switching, being especially sensitive to the initiation of defensive behaviors. In the i/dISC, cells were more responsive to the cat, followed by the predatory context, in both cases with a general reduction of cellular activity that was more intensive for the cat. A smaller number of cells was responsive in similar ways for behavior switching across experimental conditions. We interpret this data by proposing that the dPAG acts signaling a state of fear, particularly during a high risk situation, and the i/dISC are inhibited during riskier situations so as to block irrelevant environmental stimuli.

Keywords: Neurobiology. Electrophysiology. Periaqueductal Gray. Superior Colliculus. Fear.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Predação, defesa e medo

O surgimento de seres vivos que matam outros seres vivos a fim de satisfazer necessidades nutricionais (i.e., predadores) é, provavelmente, um dos eventos mais importantes da história da vida na terra. Teorias que buscam explicar a ocorrência de grandes transições na árvore da vida (procarioto para eucarioto, unicelular para multicelular, assexuados para sexuados, tecidos moles para tecidos duros) todas contam com a introdução de predadores como um fator explicativo decisivo (BENGTON, 2002). Predadores possuem um grande impacto a nível ecossistêmico, aumentando a diversidade de espécies em um ambiente após sua introdução (HUNTLEY; KOWALEWSKI, 2007; SALEEM et al., 2012), e também um grande impacto a nível evolutivo, gerando forte pressão seletiva para adaptação de suas presas (DAWKINS; KREBS, 1979).

Em se tratando do aspecto evolutivo da predação, centenas de milhares de anos de interações predador-presa resultaram em uma variedade infindável de adaptações anti-predatórias, que vão desde o uso de coloração críptica para evitar detecção (COURNOYER; COHEN, 2011) até a emissão de fluidos corporais para evitar captura (ZINTZEN et al., 2011). O bom uso e aplicação dessas defesas anti-predatórias, no entanto, deve ser modulado por decisões comportamentais (LIMA; DILL, 1990). A presa deve tanto ser capaz de (i) avaliar quais seus riscos atuais de predação de momento a momento, como também (ii) decidir qual a melhor rota de ação a ser tomada após a detecção ou contato com um predador. O conjunto de respostas selecionadas evolutivamente para realizar (i) e (ii) são chamadas de **comportamentos de defesa**, que são padrões de ação estereotípicos acionados quando o organismo se encontra diante de um predador ou algum outro tipo de ameaça (BLANCHARD; BLANCHARD, 2008).

Sabe-se que os comportamentos de defesa são sensíveis a diferentes características de uma dada ameaça, incluindo a ameaça predatória. Estudos com vertebrados indicam que alguns animais são capazes de distinguir entre tipos de predadores (ave de rapina, mamífero carnívoro, cobra), sua localização (vindo de uma árvore ou do chão), e a sua proximidade (distante, próximo, muito próximo) (MANSER; SEYFARTH; CHENEY, 2002; CÄSAR et al., 2013). Essas e outras informações

devem ser tomadas em conjunto para que a presa organize a resposta comportamental – por exemplo, camundongos que reconhecem uma ameaça aérea podem fugir, se a ameaça parece estar caindo sobre eles, ou permanecer completamente imóveis, se a ameaça parece apenas estar passando por cima deles (DE FRANCESCHI et al., 2016). De fato, tamanha é a importância evolutiva de reconhecer e reagir a predadores que um estado emocional particular está associado a essa situação de insegurança. Tal estado emocional é conhecido simplesmente como **medo** (BOISSY, 1995).

O medo, como estado emocional, pode ser identificado em animais não-humanos pelo conjunto de respostas comportamentais e fisiológicas que ele invoca, incluindo aqui os comportamentos de defesa (GROSS; CANTERAS, 2012). Desse modo, é possível estudar a formação do medo em suas etapas pela exposição de animais-modelo ao seu predador natural. Este é o tipo de trabalho que nosso laboratório realiza, com enfoque na descrição neuroanatômica do fenômeno – isto é, nosso interesse é compreender o papel de diversos sítios cerebrais na organização das respostas associadas ao medo, desde a identificação da ameaça predatória até a produção dos comportamentos de defesa adequados.

De modo a entender onde o presente trabalho se encaixa nesse contexto de estudo é interessante, primeiro, revisar o que já sabemos sobre a circuitaria neuroanatômica envolvida com a organização desse estado emocional e as respostas relacionadas. A menos que especificado o contrário, as descrições apresentadas a seguir serão produtos principalmente de trabalhos que envolvem ratos e camundongos como modelos de estudo.

1.2 Circuito do medo

Para que os comportamentos de defesa sejam organizados, é fundamental que a ameaça seja detectada. No caso da ameaça predatória, esse processo começa a partir de sítios neuroanatômicos responsáveis pela interpretação de pistas ambientais, principalmente pistas visuais e olfativas, prosseguindo para sítios de processamento e integração dessas informações, até atingir áreas que organizem respostas comportamentais (GROSS; CANTERAS, 2012; SILVA; GROSS; GRAFF, 2016). Ficará claro na descrição a seguir que, após o processamento inicial dos sinais sensoriais, danos em qualquer região subsequente envolvida neste circuito parecem

abolir ou diminuir as repostas de defesa a nível comportamental e fisiológico, indicando que a preservação desses sítios neurais é condição necessária para a geração destas respostas em condições naturais. A **Figura 1** contém uma organização esquemática do circuito de defesa, que será descrito de maneira mais detalhada a seguir.

As pistas olfativas são moléculas químicas liberadas pelo predador que a presa é capaz de identificar devido a sua memória genética evolutivamente determinada, de modo que mesmo animais nunca expostos a predadores reagem aversivamente a essas moléculas (FUSTER, 1997; DIELENBERG; HUNT; MCGREGOR, 2001). As pistas olfativas são detectadas principalmente pelo epitélio olfativo principal (MOE) e pelo órgão vomeronasal (VNO), um epitélio especializado quimiossensível de vertebrados terrestres (PAPES; LOGAN; STOWERS, 2010; CHOI et al., 2016). O VNO lança projeções para o bulbo olfativo acessório (AOB), enquanto o MOE se projeta para o bulbo olfativo principal (MOB), e cada uma dessas regiões, individualmente, já é suficiente para produzir respostas aversivas ao odor de um predador (MASINI et al., 2010). Finalmente, parte das projeções do AOB e do MOB convergem para processamento em um dos principais sítios cerebrais envolvidos na geração de medo, a **amígdala**, mais especificamente, a amígdala medial (MeA) no caso do AOB, e a amígdala cortical (CoA) no caso do MOB (SCALIA; WINANS, 1975; KANG; BAUM; CHERRY, 2009). Como a MeA recebe projeções da CoA (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995), é possível dizer que a integração das pistas olfativas do predador é feita principalmente na MeA.

Pistas visuais, por sua vez, são características particulares do estímulo visual que possam indicar uma ameaça predatória, como a forma do estímulo, a presença ou ausência de movimento e a direção em que o estímulo se move (BARRET, 2015). Em termos do processamento neural dessas pistas visuais de alto valor adaptativo, ainda não está claro se existe um caminho preferencial para a transmissão dessa informação ou múltiplos caminhos paralelos. Wei et al. (2015) descreveram um trajeto subcortical em que os sinais captados pela retina são transmitidos para o colículo superior (SC), daí para o núcleo lateral posterior do tálamo (LP) e, finalmente, para a amígdala lateral (LA). Em contrapartida, Pessoa e Adolphs (2010) enfatizam o papel do córtex no processamento dessas pistas visuais, em particular do córtex visual, propondo um modelo que envolve alças neuroanatômicas formadas entre o tálamo e o córtex, e que inclui a amígdala como um dos sítios finais de recebimento dos sinais

processados. Independente do modelo adotado, o papel da amígdala como um sítio de convergência das informações visuais afetivas é bem delineado.

Após a detecção das diferentes pistas ambientais pelos órgãos e circuitos perceptivos, a organização da resposta de medo continua na amígdala. Este sítio cerebral é, na verdade, composto por uma combinação de diferentes núcleos celulares presentes no córtex e no corpo estriado – como as já citadas MeA, CoA e LA – cada um com diferentes conexões e características anatômicas (SWANSON; PETROVICH, 1998). O papel da amígdala na formação das respostas do medo é conhecido já há algum tempo, tendo iniciado com estudos pioneiros da remoção do lobo temporal em macacos rhesus. Os macacos perdiam as respostas de medo inato e exploravam todo o ambiente ao seu redor avidamente, incluindo até mesmo a língua de uma cobra sibilante (KLÜVER; BUCY, 1939). Estudos posteriores demonstraram mais claramente o papel da amígdala na produção do medo: ratos com lesões na amígdala medial (MeA), lateral (LA) ou região posterior da amígdala basomedial (pBMA) manifestam significativamente menos vezes seus comportamentos de defesa quando colocados diante de um predador (MARTINEZ et al., 2011); lesões na amígdala central (CeA) impedem a expressão de medo a uma pista previamente associada a um estímulo doloroso (ZIMMERMAN et al., 2007); e a paciente S.M. (uma mulher com lesão amigdalár bilateral), quando comparada a controles, demonstrou quase completa ausência de respostas de medo durante uma visita a uma casa de espanto, durante exposição direta a aranhas e cobras, e ao assistir dez filmes de terror diferentes (FEINSTEIN et al., 2011).

Mais recentemente, a literatura científica vem apreciando o fato de que diferentes núcleos amigdalares coordenam a geração de medo a diferentes tipos de ameaça. Lesões na CeA não inibem respostas a um predador ou a um ambiente associado com a presença de um predador, apesar de inibirem respostas a pistas associadas com estímulos dolorosos (MARTINEZ et al., 2011). Em um nível anatômico ainda mais refinado, diferentes regiões da MeA parecem lidar com diferentes tipos de ameaça. A região posterior ventral da MeA (pvMeA) está envolvida com o circuito de medo ao predador, enquanto a região posterior dorsal (pdMeA) está envolvida com o circuito de medo a ameaças coespecíficas (GROSS; CANTERAS, 2012). Esta última diferenciação se torna mais clara no próximo sítio anatômico envolvido no circuito do medo – e o próximo a ser discutido aqui – o hipotálamo.

Os diferentes núcleos da amígdala que receberam sinais dos órgãos sensoriais continuam a organizar a resposta de medo projetando-se para o hipotálamo. Foram identificados dois circuitos distintos dentro do hipotálamo que lidam cada um com a organização de respostas de medo para um tipo de ameaça: o circuito de resposta a coespecíficos, que recebe projeções da pdMeA e não será discutido nesse trabalho; e o circuito de resposta a predadores, que consiste na região dorsomedial do núcleo hipotalâmico ventromedial (dmVMH), o núcleo hipotalâmico anterior (AHN) e o núcleo pré-mamilar dorsal (PMd) (CEZARIO et al., 2008). Neste circuito, é o dmVMH quem recebe a maior parte das projeções vindas dos diferentes núcleos da amígdala, incluindo informações de caráter olfativo transmitidos pela pvMEA e informações de caráter visual supostamente transmitidas pela pBMA (CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995; PETROVICH; RISOLD; SWANSON, 1996).

Apesar do dmVMH ser o alvo principal dos sinais vindos da amígdala, os outros dois núcleos hipotalâmicos mencionados – AHN e PMd – mostraram-se também importantes para a geração de medo ao predador. O AHN recebe projeções do dmVMH e envia projeções para o PMd, de modo que estes núcleos estão todos altamente conectados (RISOLD; CANTERAS; SWANSON, 1994; GROSS; CANTERAS, 2012; WANG; CHEN; LIN, 2015). Cada um destes núcleos se mostrou envolvido com a organização das respostas de medo, de forma coletiva e individual: todos os três núcleos apresentaram maior expressão de uma proteína marcadora de atividade neuronal (c-fos) logo após exposição ao predador (CEZARIO et al., 2008); estimulação optogenética do trato dmVMH-AHN, assim como estimulação somente do AHN, leva a manifestação de comportamentos defensivos (WANG; CHEN; LIN, 2015); e lesões no PMd levam a perda da apresentação de comportamentos defensivos e aumento de comportamentos exploratórios (CANTERAS et al., 1997; CEZARIO et al., 2008).

Finalmente, os diferentes núcleos do circuito hipotalâmico de medo ao predador convergem em um sítio do tronco encefálico, a região dorsal da **matéria cinzenta periaquedutal** (dPAG). O dmVMH, o AHN e o PMd todos enviam projeções diretas para a dPAG, já indicando a grande importância deste sítio para a manifestação de comportamentos defensivos e geração do medo (CANTERAS; SWANSON, 1992; CANTERAS et al., 1997; WANG; CHEN; LIN, 2015). De fato, o estudo da dPAG é o objetivo principal do presente trabalho, e a importância deste sítio no estudo neuroanatômico funcional do medo será discutido em detalhes na seção a seguir.

Figura 1 – Representação esquemática do circuito neuroanatômico de medo para predadores

AHN: núcleo anterior do hipotálamo; AOB: bulbo olfativo acessório; CoA: amígdala cortical; dmVMH: região dorsomedial do núcleo ventromedial do hipotálamo; dPAG: região dorsal da matéria cinzenta periaquedutal; LA: amígdala lateral; LP: núcleo lateral posterior do tálamo; MeA: amígdala medial; MOB: bulbo olfativo principal; MOE: epitélio olfativo principal; pBMA: região posterior do núcleo basomedial da amígdala; PMd: núcleo pré-mamilar dorsal; pvMeA: região posterior ventral do núcleo medial da amígdala; SC: colículo superior; VNO: órgão vomeronasal. Fonte: o autor (2018).

1.3 A matéria cinzenta periaquedutal (PAG)

A matéria cinzenta periaquedutal é formada por um conjunto de neurônios que circundam o aqueduto cerebral a nível do mesencéfalo, formando uma importante interface funcional entre o prosencéfalo e regiões inferiores do tronco cerebral. De fato, a PAG recebe conexões de múltiplas regiões do prosencéfalo (i.e., o córtex pré-frontal medial e o anterior cingulado, o núcleo central da amígdala e diversos núcleos

hipotalâmicos) e envia projeções para diversos núcleos do tronco cerebral (i.e., o *locus coeruleus* e as regiões rostral e caudal da medula ventrolateral). Além dessas conexões, a PAG também envia projeções de volta para regiões do prosencéfalo, incluindo a amígdala, e recebe conexões do tronco cerebral (BENARROCH, 2012; WATSON; KIRKCALDIE; PAXINOS, 2010).

O papel da PAG na organização de respostas do medo começou a ficar claro a partir de estudos de traçamento, de estimulação elétrica e de lesão eletrolítica na região. Por exemplo, Liebman, Mayer e Liebeskind (1970) demonstraram que ratos com lesões completas na PAG praticamente não suprimiam o comportamento exploratório logo após o recebimento de um choque nas patas, em contraste com controles que ficavam completamente parados. No que tange ao medo a estímulos mais naturais, Blanchard, Williams e Lee (1981) demonstraram que ratos selvagens com lesões na PAG praticamente perdiam todas as respostas defensivas a estímulos que deveriam ser considerados ameaçadores – como um humano ou coespecífico aproximando-se do animal, ou contato tátil nas costas ou vibrissas. Acrescentando a essas evidências de estudos com animais, humanos que receberam estimulação elétrica nessa região manifestaram uma clara reação de medo acompanhada pela descrição de que “algo horrível estava para acontecer”, ou que “alguém os estava perseguindo” (AMANO et al., 1982).

Como foi discutido na seção anterior, os diferentes núcleos da amígdala e do hipotálamo parecem ser necessários para a construção da resposta de medo, dado que danos nesses núcleos inibem comportamentos defensivos (CANTERAS et al., 1997; MARTINEZ et al., 2011). Entretanto, estudos vem demonstrando já há algum tempo que a ação desses núcleos amigdalares e hipotalâmicos na geração de medo é, provavelmente, resultado de suas projeções para a PAG. Por exemplo, um estudo com gatos demonstrou que estimulação elétrica da PAG enquanto o hipotálamo estava lesionado era o suficiente para evocar respostas de medo, enquanto o reverso não era o caso (SKULTETY, 1963). Outro estudo com ratos que tiveram o telencéfalo removido (o que incluiu grande porção da amígdala) mostrou que estimulação química da PAG também era o suficiente para evocar respostas de medo (TOMAZ et al., 1987). Ou seja, enquanto danos na PAG inibem respostas defensivas, estimulações da PAG são o suficiente para produzir tais respostas mesmo que os outros núcleos do circuito do medo (amígdala e hipotálamo) estejam danificados. Esse conjunto de estudos indica que a PAG é um sítio neuroanatômico **necessário e suficiente** para a geração

do estado de medo. No entanto, acredita-se que pelo menos parte do efeito da PAG na geração de respostas de defesa dependa de projeções ascendentes. Isto foi mostrado no estudo realizado por Kim et al. (2013) em que danos na amígdala basolateral impedem a formação de respostas de medo geradas por estimulação da PAG em ratos forrageando.

Adicionalmente, no começo da década de 90, a PAG começou a ser reconhecida como uma estrutura não homogênea, organizada longitudinalmente em quatro colunas: dorsomedial (dmPAG), dorsolateral (dlPAG), lateral (lPAG) e ventrolateral (vlPAG) (CARRIVE, 1993; BANDLER; SHIPLEY, 1994), como demonstrado na **Figura 2**. É importante ressaltar que essa descoberta foi feita não só com base em diferenças anatômicas e histoquímicas, mas também diferenças funcionais. Por exemplo, estimulações na lPAG produziam respostas de fuga, enquanto estimulações na vlPAG produziam respostas de congelamento motor (BANDLER; SHIPLEY, 1994). A partir dessas observações, novos estudos indicaram que as diferentes colunas da PAG estariam associadas com respostas a diferentes tipos de ameaça – expor ratos ao odor de um predador ou ao próprio predador ativa marcadamente células da região dorsal da PAG (dPAG), que incluiu tanto dlPAG como dmPAG (CEZARIO et al., 2008; SUKIKARA et al., 2010), enquanto que lesões nesta mesma região inibem respostas de medo induzidas pelo predador (RUFINO, 2015). De maneira similar, lesões na região ventral da PAG inibem respostas de medo a um contexto previamente associado com uma experiência dolorosa, como choque nas patas (VIANNA et al., 2001a). Em função desses e de outros resultados, Gross e Canteras (2012) propuseram que a dPAG estaria associada com medo a predadores e coespecíficos, enquanto a região ventrolateral estaria associada a medo de estímulos dolorosos, ressaltando que o medo em animais não-humanos é observado através da apresentação dos comportamentos de defesa.

A dPAG é o foco deste trabalho justamente por seu papel como importante centro de resposta do medo ao predador, recebendo projeções dos diversos núcleos hipotalâmicos previamente citados (o AHN, dmVMH e PMd). Uma importante questão que emergiu com os estudos da dPAG é se, devido a sua posição anatômica estratégica no tronco cerebral, este sítio neuroanatômico coordenava diretamente a formação dos comportamentos defensivos. Cezario et al. (2008) verificaram histologicamente que (i) ratos expostos a um ambiente onde encontraram um predador apresentavam maior atividade celular na dPAG e expressavam o

comportamento defensivo de **avaliação de risco**, e (ii) ratos em contato com o predador apresentavam atividade celular na dPAG ainda maior que em (i), e isso estava associado com o comportamento defensivo de **congelamento**. Bittencourt et al. (2004), por sua vez, associaram diferentes níveis de ativação elétrica da dPAG com a apresentação de uma hierarquia de respostas de medo, descritas da menor ativação para a maior: protrusão dos globos oculares, congelamento motor e, finalmente, comportamentos de fuga.

Figura 2 – Representação esquemática de cortes coronais mostrando diferentes níveis da PAG

A coordenada antero-posterior (AP) está indicada a partir do bregma (β). Verde: dmPAG; vermelho: dlPAG; azul: IPAG. AQ: aqueduto cerebral; DR: núcleo dorsal da raphe; EW: núcleo Edinger-Westphal; dm/dl/l/vl PAG: matéria cinzenta periaquedutal dorsomedial, dorsolateral, lateral, ventrolateral, respectivamente. Modificado de Swanson (2004).

Devido a esses e outros resultados da literatura, este projeto buscou investigar se havia uma correlação direta entre mudança de atividade celular e apresentação de comportamento de defesa apresentado na região dorsal da PAG. Para isso utilizamos a técnica de **registro extracelular multi-unitário**, que permite verificar a atividade celular simultânea de múltiplos neurônios em uma dada região, em tempo real, enquanto o animal atua livremente (BUZSÁKI, 2004). Quando o animal sendo registrado é colocado diante de um novo estímulo ou produz algum comportamento, esta técnica permite observar correlações entre a apresentação desse estímulo ou comportamento com a atividade celular de grupos de neurônios.

No começo da obtenção de registros da dPAG, foram também registradas algumas células das camadas intermediárias e profundas do colículo superior (i/dISC) devido à proximidade anatômica entre estes sítios. A fim de aproveitar os dados obtidos nesses registros, decidimos criar um grupo de coleta também dessa região, além do grupo da dPAG. Com isso podemos comparar a atividade celular de duas áreas distintas do tronco cerebral diante de um paradigma de medo ao predador. Sendo assim, vale revisar brevemente o que se sabe na literatura sobre o colículo superior, e como ele pode estar envolvido com o circuito de medo ao predador.

1.4 O colículo superior (SC)

O colículo superior situa-se na região dorsal do mesencéfalo dos mamíferos, posicionado logo acima da PAG. Ele é composto de camadas laminares que podem ser subdivididas de maneira mais ampla em uma região superficial, intermediária e profunda com base em suas características celulares (MAY, 2006). Um aspecto importante do SC é a aparente divisão funcional entre suas camadas: a camada superficial (slSC) recebe projeções diretas da retina e do córtex visual, estando primariamente envolvida com a detecção de estímulos visuais; já as camadas intermediárias e profundas (i/dISC) recebem projeções de diversas áreas, integrando múltiplas informações sensoriais, incluindo informações visuais, auditivas e somestésicas. Dentre as funções das i/dISC, em particular, podemos citar movimentos de orientação a um estímulo visual e produção de comportamentos de defesa (DEAN; REDGRAVE; WESTBY, 1989; SPARKS; HARTWICH-YOUNG, 1989).

Descobertas mais recentes enfatizam o papel das i/dISC como organizadoras das respostas de medo, como por exemplo o estudo de Bittencourt et al. (2005), em que as i/dISC são estimuladas eletricamente levando a apresentação de comportamentos defensivos associados à fuga. De fato, na descrição do circuito do medo feita neste trabalho, o SC apareceu como um dos elementos que envia pistas visuais para a LA através de um núcleo talâmico, como proposto por Wei et al. (2015). Wei enfatiza que esse envio é feito a partir das i/dISC, que presumivelmente receberam os sinais visuais da slSC a partir da retina (DOUBELL et al., 2003).

Notavelmente, Redgrave e Dean (1991) comentam que danos na PAG removem respostas de fuga induzidas por estimulação química do SC, e eles propõem que a PAG organizaria os comportamentos de defesa a partir de informações relacionadas a distância predatória transmitidas pelo SC. Esta ideia é desenvolvida por Fanselow (1994), que propõe que animais que reconhecem um predador distante respondem com a estratégia de congelamento motor, mas alteram essa estratégia para fuga ou luta após uma mudança no grau de proximidade em relação ao predador. Diferentes células do SC poderiam sinalizar esses diferentes graus de proximidade para a PAG.

Além da aferência vinda da camada superficial, as i/dISC recebem projeções diretas do dmVMH e do PMd e enviam projeções diretas para a dPAG (CANTERAS; SWANSON, 1992; CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1994). Isto indica que, além

do papel das i/dISC no processamento das informações visuais da ameaça predatória, estas camadas também processam as informações do circuito hipotalâmico responsivo ao predador. Dado todas essas informações acerca das i/dISC no circuito do medo, é razoável esperar uma correlação entre a atividade elétrica destas camadas e a presença da ameaça predatória.

5 CONCLUSÃO

A matéria cinzenta periaquedutal dorsal (dPAG) aumenta fortemente de atividade durante a exposição ao predador, sendo esta atividade medida pelo número de células recrutadas e pela variação nas suas frequências de disparo. Este aumento de atividade é interpretado neste trabalho como sinalização da presença da ameaça predatória. Ela também aumenta de intensidade diante de outros estímulos, como confinamento do animal, apresentação a uma novidade ou apresentação ao contexto predatório. Essa variação também é interpretada como sinalização de ameaça, embora em nível menor. Além disso, uma porção menor das células da dPAG estão correlacionadas com mudança de comportamento no animal. Esta mudança é interpretada como um papel na organização da resposta motora, especialmente das respostas motoras de defesa.

As camadas intermediárias e profundas do colículo superior (i/dISC) contam com um grupo de células que diminui consideravelmente de atividade diante do predador, e diminuem um pouco menos de atividade durante o contexto predatório. Essa diminuição é interpretada como uma inibição das i/dISC afim de reduzir a captação de pistas ambientais irrelevantes para lidar com a situação de risco em questão. Enquanto as i/dISC possuem correlação com a mudança comportamental do animal, esta correlação não parece vinculada especificamente com a organização de comportamentos de defesa.

REFERÊNCIAS¹

AMANO, K.; TANIKAWA, T.; KAWAMURA, H.; ISEKI, H.; NOTANI, M.; KAWABATAKE, H.; SHIWAKU, T.; SUDA, T.; DEMURA, H.; KITAMURA, K. Endorphins and pain relief: further observations on electrical stimulation of the lateral part of the periaqueductal gray matter during rostral mesencephalic reticulotomy for pain relief. **Applied Neurophysiology**, v. 45, n. 1-2, p. 123-135, 1982.

ARCHBOLD, G. E.; BOUTON, M. E.; NADER, K. Evidence for the persistence of contextual fear memories following immediate extinction. **The European Journal of Neuroscience**, v. 31, n. 7, p. 1303-1311, 2010.

BANDLER, R.; SHIPLEY, M. T. Columnar organization in the midbrain periaqueductal gray: modules for emotional expression? **Trends in Neurosciences**, v. 17, n. 9, p. 379-389, 1994.

BARRETT, H. C. Adaptations to predators and prey. In: BUSS, D. M. (Ed.). **The handbook of evolutionary psychology**. 2nd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2015. cap. 9, p-246-263.

BELY, A. E.; NYBERG, K. G. Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 25, n. 3, p. 161-170, 2010.

BENARROCH, E. Periaqueductal gray: an interface for behavioral control. **Neurology**, v. 78, n. 3, p. 210-217, 2012.

BENGTON, S. Origins and early evolution of predation. In: KOWALEWSKI, M.; KELLEY, P. H. (Eds.). **The Fossil Record of Predation**. Pittsburgh: The Paleontological Society, 2002. p. 289-317.

BITTENCOURT, A. S.; CAROBREZ, A. P.; ZAMPROGNO, L. P.; TUFIK, S.; SCHENBERG, L. C. Organization of single components of defensive behaviors within distinct columns of periaqueductal gray matter of the rat: role of N-methyl-d-aspartic acid glutamate receptors. **Neuroscience**, v. 125, n. 1, p. 71-89, 2004.

BITTENCOURT, A. S.; NAKAMURA-PALACIOS, E. M.; MAUAD, H.; TUFIK, S.; SCHENBERG, L. C. Organization of electrically and chemically evoked defensive behaviors within the deeper collicular layers as compared to the periaqueductal gray matter of the rat. **Neuroscience**, v. 133, n. 4, p. 873-892, 2005.

BLANCHARD, D. C.; BLANCHARD, R. J. Defensive behaviors, fear and anxiety. In: GRIEBEL, G.; NUTT, D. J. (Eds.). **Handbook of anxiety and fear**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2008. cap. 2.4, p.63-79.

---

¹ De acordo com ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: Referências: Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24 p.

BLANCHARD, D. C.; WILLIAMS, G.; LEE, E. M. C.; Blanchard, R. J. Taming of wild *Rattus norvegicus* by lesions of the mesencephalic central gray. **Physiological Psychology**, v. 9, n. 2, p. 157-163, 1981.

BOISSY, A. Fear and fearfulness in animals. **Quarterly Review of Biology**, v. 70, n. 2, p. 165-191, 1995.

BUZSÁKI, G. Large-scale recording of neuronal ensembles. **Nature Neuroscience**, v. 7, n. 2, p. 446-451, 2004.

CANTERAS, N. S.; CHIAVEGATTO, S.; RIBEIRO DO VALLE, L. E.; SWANSON, L. W. Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. **Brain Research Bulletin**, v. 44, n. 3, p. 297-305, 1997.

CANTERAS, N. S.; SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W. Organization of projections from the medial nucleus of the amygdala: a PHAL study in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 360, n. 2, p. 213-245, 1995.

CANTERAS, N. S.; SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W. Organization of projections from the ventromedial nucleus of the hypothalamus: a Phaseolus vulgaris–leucoagglutinin study in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 348, n. 1, p. 41-79, 1994.

CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. The dorsal premammillary nucleus: an unusual component of the mammillary body. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 89, n. 21, p. 10089-10093, 1992.

CARRIVE, P. The periaqueductal gray and defensive behavior: functional representation and neuronal organization. **Behavioural Brain Research**, v. 58, n. 1-2, p. 27-47, 1993.

CĂSAR, C.; ZUBERBÜHLER, K.; YOUNG, R. J.; BYRNE, R. W. Titi monkey call sequences vary with predator location and type. **Biology Letters**, v. 9, n. 9, p. 20130535, 2013.

CEZARIO, A. F.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; BALDO, M. V.; CANTERAS, N. S. Hypothalamic sites responding to predator threats — the role of the dorsal premammillary nucleus in unconditioned and conditioned antipredatory defensive behavior. **European Journal of Neuroscience**, v. 28, p. 1003-1015, 2008.

CHOI J. M.; KIM, S. S.; CHOI, C. I.; CHA, H. L.; OH, H. H.; GHIL, S.; LEE, Y. D.; BIRNBAUMER, L.; SUH-KIM, H. Development of the main olfactory system and main olfactory epithelium-dependent male mating behavior are altered in *G_o*-deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 39, p. 10974-10979, 2016.

COMOLI, E.; DAS NEVES FAVARO, P.; VAUTRELLE, N.; LERICHE, M.; OVERTON, P. G.; REDGRAVE, P. Segregated anatomical input to subregions of the rodent superior colliculus associated with approach and defense. **Frontiers in Neuroanatomy**, v. 6, n. 9, p. 1-19, 2012.

COURNOYER, B. L.; COHEN, J. H. Cryptic coloration as a predator avoidance strategy in seagrass arrow shrimp colormorphs. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 402, n. 1-2, p. 27-34, 2011.

CURZON, P.; RUSTAY, N. R.; BROWNMANN, K.E.; Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents. In: BUCAFFUSCO, J. J. (Ed.). **Methods of Behavior Analysis in Neuroscience**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2009. cap. 2.

DAWKINS, R.; KREBS, J. R. Arms races between and within species. **Proceedings of the Royal Society of London**, v. 205, n. 1161, p. 489-511, 1979. Series B, Biological Sciences.

DE FRANCESCHI, G.; VIVATTANASARN, T.; SALEEM, A. B.; SOLOMON, S. G. Vision Guides Selection of Freeze or Flight Defense Strategies in Mice. **Current Biology**, v. 26, n. 16, p. 2150-2154, 2016.

DEAN, P.; REDGRAVE, P.; WESTBY, G. W. M. Event or emergency? Two response systems in the mammalian superior colliculus. **Trends in Neuroscience**, v. 12, n. 4, p. 137-147, 1989.

DENG, H.; XIAO, X.; WANG, Z. Periaqueductal gray neuronal activities underlie different aspects of defensive behaviors. **The Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 29, p. 7580-7588, 2016.

DESJARDIN, J. T.; HOLMES, A. L.; FORCELLI, P. A.; COLE, C. E.; GALE, J. T.; WELLMAN, L. L.; GALE, K.; MALKOVA, L. Defense-like behaviors evoked by pharmacological disinhibition of the superior colliculus in the primate. **The Journal of Neuroscience**, v. 33, n. 1, p.150-155, 2013.

DIELENBERG, R. A.; HUNT, G. E.; MCGREGOR, I. S. "When a rat smells a cat": the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. **Neuroscience**, v. 104, n. 4, p. 1085-1097, 2001.

DOUBELL, T. P.; SKALIORA, I.; BARON, J.; KING, A. J. Functional connectivity between the superficial and deeper layers of the superior colliculus: an anatomical substrate for sensorimotor integration. **The Journal of Neuroscience**, v. 23, n. 16, p. 6596-6607, 2003.

EVANS, D. A.; STEMPEL, A. V.; VALE, R.; RUEHLE, S.; LEFLER, Y.; BRANCO, T. A synaptic threshold mechanism for computing escape decisions. **Nature**, v. 558, p. 590-594, 2018.

EVANS, J. D. **Straightforward Statistics for the Behavioral Sciences**. Pacific Grove: Brooks-Cole Publishing, 1996.

FANSELOW, M. S. Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. **Psychonomic Bulletin & Review**, v. 1, n. 4, p. 429-438, 1994.

FEINSTEIN, J. S.; ADOLPHS, R.; DAMASIO, A.; TRANEL, D. The human amygdala and the induction and experience of fear. **Current Biology**, v. 21, n. 1, 34-38, 2011.

FOGAÇA, M. V.; LISBOA, S. F.; AGUIAR, D. C.; MOREIRA, F. A.; GOMES, F. V.; CASAROTTO, P. C.; GUIMARÃES, F. S. Fine-tuning of defensive behaviors in the dorsal periaqueductal gray by atypical neurotransmitters. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 4, p. 357-365, 2012.

FURIGO I. C.; DE OLIVEIRA, W. F.; DE OLIVEIRA, A. R.; COMOLI, E.; BALDO, M. V. C.; MOTA-ORTIZ S. R.; CANTERAS, N. S. The role of superior colliculus in predatory behavior. **Neuroscience**, v. 165, n. 1, p. 1-15, 2010.

FUSTER, J. M. Network memory. **Trends in Neurosciences**, v. 20, n. 10, p. 451-459, 1997a.

GROSS, C. T.; CANTERAS, N. S. The many paths to fear. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 13, n. 9, p. 651-658, 2012.

HUERTA, M. F.; HARTING, J. K. Connectional organization of the superior colliculus. **Trends in Neuroscience**, v. 7, n. 8, p. 286-289, 1984.

HUNTLEY, J. W.; KOWALEWSKI, M. Strong coupling of predation intensity and diversity in the Phanerozoic fossil record. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 38, p. 15006-15010, 2007.

KANG, N.; BAUM, M. J.; CHERRY, J. A. A direct main olfactory bulb projection to the 'vomeronasal' amygdala in female mice selectively responds to volatile pheromones from males. **European Journal of Neuroscience**, v. 29, p. 624-634, 2009.

KIM, E. J.; HOROVITZ, O.; PELLMAN, B. A.; TAN, L. M.; LI, Q.; RICHTER-LEVIN, G.; KIM, J. J. Dorsal periaqueductal gray-amygdala pathway conveys both innate and learned fear responses in rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 36, p. 14795-14800, 2013.

KLÜVER, H.; BUCY, P. C. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys. **Archives of Neurology and Psychiatry**, v. 42, n. 6, p. 979-1000, 1939.

KOUTSIKOU, S.; CROOK, J. J.; EARL, E. V.; LEITH, J. L.; WATSON, T. C.; LUMB, B. M.; APPS, R. Neural substrates underlying fear-evoked freezing: the periaqueductal grey-cerebellar link. **Journal of Physiology**, v. 592, n. 10, p. 2197-2213, 2014.

LIEBMAN, J. M.; MAYER, D. J.; LIEBESKIND, J. C., Mesencephalic central gray lesions and fear-motivated behavior in rats. **Brain Research**, v. 23, n. 3, p. 353-370, 1970.

LIMA, S. L.; DILL, L. M. Behavioural decisions made under the risk of predation. **Canadian Journal of Zoology**, v. 68, n. 4, p. 619-640, 1990.

LOVECRAFT, H. P. Supernatural Horror in Literature. **The Recluse**, n. 1, p. 23-59, 1927.

MAIOR, R. S.; HORI, E.; BARROS, M.; TEIXEIRA, D. S.; TAVARES, M.C.; ONO, T.; NISHIJO, H.; TOMAZ, C. Superior colliculus lesions impair threat responsiveness in infant capuchin monkeys. **Neuroscience Letters**, v. 504, n. 3, p. 257-260, 2011.

MANSEER, M. B.; SEYFARTH, R. M.; CHENEY, D. L. Suricate alarm calls signal predator class and urgency. **Trends in Cognitive Sciences**, v. 6, n. 2, p. 55-57, 2002.

MARTINEZ R. C.; CARVALHO-NETTO, E. F.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; BALDO, M. V.; CANTERAS, N. S. Amygdalar roles during exposure to a live predator and to a predator-associated context. **Neuroscience**, v. 172, p. 314-328, 2011.

MASINI, C. V.; GARCIA, R. J.; SASSE, S. K.; NYHUIS, T. J.; DAY, H. E.; CAMPEAU, S. Accessory and main olfactory systems influences on predator odor-induced behavioral and endocrine stress responses in rats. **Behavioural Brain Research**, v. 207, n. 1, p. 70-77, 2010.

MAY, P. J. The mammalian superior colliculus: laminar structure and connections. **Progress in Brain Research**, v. 151, p. 321-378, 2005.

MCKERNAN, M. G.; SHINNICK-GALLAGHER, P. Fear conditioning induces a lasting potentiation of synaptic currents in vitro. **Nature**, v. 390, n. 6660, p. 607-611, 1997.

MISSLIN, R. The defense system of fear: behavior and neurocircuitry. **Clinical Neurophysiology**, v. 33, n. 2, p. 55-66, 2003.

PAPES, F.; LOGAN, D. W.; STOWERS, L. The vomeronasal organ mediates interspecies defensive behaviors through detection of protein pheromone homologs. **Cell**, v. 141, n. 4, p. 692-703, 2010.

PESSOA, L.; ADOLPHS, R. Emotion processing and the amygdala: from a “low road” to “many roads” of evaluating biological significance, **Nature Reviews Neuroscience**, v. 11, n. 11, p. 773-783, 2010.

PETROVICH, G. D.; RISOLD, P. Y.; SWANSON, L. W. Organization of projections from the basomedial nucleus of the amygdala: a PHAL study in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 374, n. 3, p. 387-420, 1996.

REDGRAVE, P. & DEAN, P. Does the PAG learn about emergencies from the superior colliculus? In: DEPAULIS A.; BANDLER, R. (Eds.). **The midbrain periaqueductal gray matter**. New York: Plenum Press, 1991. p. 199-209.

RISOLD, P. Y.; CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. Organization of projections from the anterior hypothalamic nucleus: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 348, n. 1, p. 1-40, 1994.

RUFINO, R. A. **Investigação da substância cinzenta periaquedutal (PAG) na organização das respostas de defesa frente ao predador**. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas, 2016.

SAHIBZADA, N.; DEAN, P.; REDGRAVE, P. Movements resembling orientation or avoidance elicited by electrical stimulation of the superior colliculus in rats. **The Journal of Neuroscience**, v. 6, n. 3, p. 723-733, 1986.

SALEEM, M.; FETZER, I.; DORMANN, C. F.; HARMS, H.; CHATZINOTAS, A. Predator richness increases the effect of prey diversity on prey yield. **Nature Communications**, v. 3, n. 1305, p. 1-7, 2012.

SCALIA, F.; WINANS, S. S. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 161, n. 1, p. 31-55, 1975.

SILVA, B. A.; GROSS, C. T.; GRAFF, J. The neural circuits of innate fear: detection, integration, action, and memorization. **Learn & Memory**, v. 23, n. 10, p. 544-555, 2016.

SKULTETY, F. M. Stimulation of periaqueductal gray and hypothalamus. **Archives of Neurology**, v. 9, p. 608-620, 1963.

SPARKS, D. L.; HARTWICH-YOUNG, R. The deep layers of the superior colliculus. In: WURTZ, R. H.; GOLDBERG, M. E. (Eds.). **The neurobiology of saccadic eye movements**. Amsterdam: Elsevier, 1989. p 213-255.

SUKIKARA, M. H.; MOTA-ORTIZ, S. R.; BALDO, M. V.; FELICIO, L. F.; CANTERAS, N. S. The periaqueductal gray and its potential role in maternal behavior inhibition in response to predatory threats. **Behavioural Brain Research**, v. 209, n. 2, p. 226-233, 2010.

SWANSON, L. W. **Brain Maps: Structure of the Rat Brain**. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier, 2004.

SWANSON, L. W.; PETROVICH, G. D. What is the amygdala? **Trends in Neuroscience**, v. 21, n. 8, p. 323-331, 1998.

TAYLOR, P. J.; GOODING, P.; WOOD, A. M.; TARRIER, N. The role of defeat and entrapment in depression, anxiety, and suicide. **Psychological Bulletin**, v. 137, n. 3, p. 391-420, 2011.

TOMAZ, C.; BRANDÃO, M.; BAGRI, A.; CARRIVE, P.; SCHMITT, P. Flight behavior induced by microinjection of GABA antagonists into periventricular structures in decerebrate rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 30, n. 2, p. 337-342, 1988.

TOVOTE, P.; ESPOSITO, M. S.; BOTTA, P.; CHAUDUN, F.; FADOK, J. P.; MARKOVIC, M.; WOLFF, S. B. E.; RAMAKRISHNAN, C.; FENNO, L.; DEISSEROTH, K.; HERRY, C.; ARBER, S.; LÜTHI, A. Midbrain circuits for defensive behavior. **Nature**, v. 534, n. 7606, p. 206-212, 2016.

VARGAS, L. C.; MARQUES, T. A.; SCHENBERG, L. C. Micturition and defensive behaviors are controlled by distinct neural networks within the dorsal periaqueductal

gray and deep gray layer of the superior colliculus of the rat. **Neuroscience Letters**, v. 280, n. 1, p. 45-48, 2000.

VIANNA, D. M.; GRAEFF, F. G.; BRANDÃO, M. L.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J. Defensive freezing evoked by electrical stimulation of the periaqueductal gray: comparison between dorsolateral and ventrolateral regions. **Neuroreport**, v. 12, n. 18, p. 4109-4112, 2001a.

VIANNA, D. M.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; BRANDÃO, M. L. Dorsolateral and ventral regions of the periaqueductal gray matter are involved in distinct types of fear. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 25, n. 7-8, p. 711-719, 2001b.

WANG, L.; CHEN, I. Z.; LIN, D. Collateral pathways from the ventromedial hypothalamus mediate defensive behaviors. **Neuron**, v. 85, n. 6, p. 1344-1358, 2015.

WANG, M. E.; FRAIZE, N. P.; YIN, L.; YUAN, R. K.; PETSAGOURAKIS, D.; WANN, E. G.; MUZZIO, I. A. Differential roles of the dorsal and ventral hippocampus in predator odor contextual fear conditioning. **Hippocampus**, v. 23, n. 6, p. 451-456, 2013.

WATSON, C.; KIRKCALDIE, M.; PAXINOS, G. **The Brain: An Introduction to Functional Neuroanatomy**. London: Academic Press, 2010.

WATSON, T. C.; CERMINARA, N. L.; LUMB, B. M.; APPS, R. Neural correlates of fear in the periaqueductal gray. **The Journal of Neuroscience**, v. 36, n. 50, p. 12707-12719, 2016.

WEI, P.; LIU, N.; ZHANG, Z.; LIU, X.; TANG, Y.; HE, X.; WU, B.; ZHOU, Z.; LIU, Y.; LI, J.; ZHANG, Y.; ZHOU, X.; XU, L.; CHEN, L.; BI, G.; HU X.; XU, F.; WANG, L. Processing of visually evoked innate fear by a non-canonical thalamic pathway. **Nature Communications**, v. 6, n. 6756, p. 1-12, 2015.

WIENER, S. I.; PAUL, C. A.; EICHENBAUM, H. Spatial and behavioral correlates of hippocampal neuronal activity. **The Journal of Neuroscience**, v. 9, n. 8, p. 2737-2763, 1989.

ZIMMERMAN, J. M.; RABINAK, C. A.; MCLACHLAN, I. G.; MAREN, S. The central nucleus of the amygdala is essential for acquiring and expressing conditional fear after overtraining. **Learning & Memory**, v. 14, n. 9, p. 634-644, 2007.

ZINTZEN, V.; ROBERTS, C. D.; ANDERSON, M. J.; STEWART, A. L.; STRUTHERS, C. D.; HARVEY, E. S. Hagfish predatory behaviour and slime defence mechanism. **Scientific Reports**, v. 1, n. 131, p. 1-6, 2011.