

CIBELE CARLA GUIMARÃES DE SOUZA

“O papel do núcleo pré-mamilar ventral na organização do comportamento agressivo maternal”

Dissertação apresentada ao Departamento de Anatomia 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

**São Paulo
2011**

RESUMO

Souza CGS. O papel do núcleo pré-mamilar ventral na organização comportamento agressivo maternal. [dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

A agressão maternal tem como função preservar a vida da prole (Archer, 1988). O desenvolvimento desse comportamento depende vastamente do reconhecimento do adversário como uma ameaça potencial e esse reconhecimento envolve a detecção de pistas feromonais (Halpern e Martinez-Marco, 2003). O núcleo pré-mamilar ventral (PMv) é um dos principais alvos do núcleo medial da amígdala, que representa o setor amigdalár crítico para o processamento de pistas feromonais (Canteras et al., 1992). Desta forma, postulamos que possivelmente o PMv seja sensível às pistas feromonais do macho intruso, servindo como uma possível interface para os sistemas neurais envolvidos na agressão maternal. Neste sentido, inicialmente avaliamos o padrão de ativação do PMv, bem como alguns de seus alvos de projeção, durante o comportamento maternal e durante a agressão maternal. Notamos que tanto o PMv como a maioria de seus alvos principais (tais como, o núcleo posterior da amígdala, a parte posterodorsal do núcleo medial da amígdala, a área hipotalâmica lateral tuberal e a parte ventrolateral do núcleo ventromedial) apresentam um aumento significativo na expressão da proteína Fos durante a agressão maternal. Em seguida, avaliamos o papel do PMv na organização neural do comportamento de agressão maternal, em ratas lactantes portadoras de lesões citotóxicas com NMDA do PMv. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as fêmeas lactantes com lesão no PMv não apresentam qualquer alteração nos parâmetros comportamentais relacionados ao comportamento maternal, mas apresentam uma significativa diminuição no comportamento agressivo maternal. Observamos ainda, que a lesão citotóxica do PMv resultou numa drástica diminuição da expressão da proteína Fos em alguns sítios de projeção do PMv que se apresentavam mobilizados durante a agressão maternal (tais como a parte ventrolateral do hipotálamo ventromedial, a área hipotalâmica lateral tuberal e o núcleo pré-óptico medial), sugerindo a participação destes sítios neurais como críticos na expressão do comportamento de agressão maternal.

Palavras-chave: Agressão Maternal. Núcleo pré-mamilar ventral. Comportamento maternal.

ABSTRACT

Souza CGS. Role of the ventral preamillary nucleus in the maternal aggressive behavior. [Masters thesis (Morphofunctional sciences)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2011.

Maternal aggression is critical to preserve the litters from male intruders (Archer, 1988) and the pheromonal cues from the males are important to drive such responses (Halpern e Martinez-Marco, 2003). The ventral preamillary nucleus (PMv) is one of the main targets of the medial amygdalar nucleus, and is critically involved in processing pheromonal information (Canteras et al., 1992). In this regard, in the present study, we investigated whether the PMv would work as a putative interface between the pheromonal processing of the male intruder and the neural sites potentially involved in the expression of maternal aggression. First, we analyzed the pattern of Fos expression in dams expressing aggressive maternal behavior, and found a significant increase in Fos levels in the PMv, as well as, in most of its main targets, such as the posterior amygdalar nucleus, the posterodorsal part of the medial amygdalar nucleus, the tuberal nucleus of the lateral hypothalamic area, and the ventrolateral part of the ventromedial nucleus. Next, we examined how NMDA lesions bilaterally placed in the PMv would interfere in maternal aggression, and found that dams bearing those lesions presented a significant reduction in the expression of aggressive behavior, but showed no alterations on the maternal behavior responses. Moreover, we were able to see that PMv lesions resulted in significant drop in Fos expression in selected PMv targets, namely the tuberal nucleus of the lateral hypothalamic area and the ventrolateral part of the ventromedial nucleus, likely to be critically involved in the expression of the maternal aggression. Overall, the present results support the idea that the PMv is seemingly a key site in the network controlling maternal aggression; on one hand, the nucleus is likely to processes pheromonal cues from the intruder male, and, on the other, it conveys this information to sites critically related to the expression of maternal aggression.

Key-words: Maternal Aggression. Ventral Preamillary Nucleus. Maternal Behavior.

1 INTRODUÇÃO



O comportamento maternal, uma das categorias do comportamento parental exibido pelas fêmeas, consiste em cuidar de outro indivíduo neonato e imaturo da mesma espécie, até que este atinja uma maturidade capaz de garantir a sua própria sobrevivência. À medida que o filhote se desenvolve e se torna independente, a expressão do comportamento maternal das fêmeas diminui, até se tornar ausente (Numan, 1994). Assim, está bem estabelecido que os parâmetros característicos do comportamento maternal são mais intensos na primeira semana pós-parto do que nas semanas seguintes (Slamberová et al., 2001). Em roedores, os cuidados podem se referir diretamente aos filhotes como o agrupamento, limpeza e aleitamento ou indiretamente, como a construção do ninho e agressão maternal (Numan, 1994).

A agressão é parte do repertório natural das respostas comportamentais que os animais utilizam para lidar em seu ambiente (Huntingford, 1989). A função defensiva do comportamento agressivo pode contribuir para a remoção de um perigo imediato, onde o animal corre risco de lesões físicas (Archer, 1988).

A proteção feroz da prole é um comportamento com grande significância adaptativa, uma vez que é expresso por inúmeras espécies, desde peixes (Crawford e Balon, 1996) até humanos (Ledesma et al., 1988). Em roedores o infanticídio por co-específicos não parentais é bastante comum (Agrell et al., 1998). Na agressão maternal a fêmea irá atacar os machos intrusos que se aproximarem de sua prole a fim de preservar a vida de seus filhotes, sendo então um comportamento que tem como objetivo proteger a ninhada, não sendo uma agressão competitiva, como a agressão territorial onde o animal visa adquirir recursos (Archer, 1988).

Dados de literatura mostram que o comportamento agressivo vem sendo amplamente relatado, sendo a maioria dos dados experimentais obtidos em roedores (Numan, 1994). Dessa forma, as informações acerca dos mecanismos de controle da agressão maternal e de outros comportamentos maternos são melhores compreendidos em ratos (Mann et al., 1984; Stern e McDonald, 1989).

Em ratas lactantes, a forma e a topografia do ataque a um intruso diferem à apresentada por machos dominantes em seu território (Blanchard et al., 1984; Flannelly e Flannelly, 1987; Haney et al., 1989; Mos et al., 1989; Blanchard e Blanchard, 1990). As fêmeas utilizam o ataque lateral sucedido de manter-se sobre o intruso, enquanto esse intruso expõe o ventre deitado sobre seu dorso. Ao contrário do observado em machos dominantes, uma alta percentagem das mordidas das fêmeas direcionada a cabeça e para a região do focinho do intruso. Também na

agressão maternal as fêmeas apresentam o comportamento de investigação do focinho e das orelhas do macho com o nariz e a boca (grooming agressivo) e pular sobre o intruso (jump-attack), que não é visto em machos dominantes contra intrusos (Leyhausen, 1973; Blanchard e Blanchard, 1981, 1988, 1989; Lonstein e Stern, 1997). Além disso, as fêmeas podem mostrar um tipo de agressão territorial em direção a outras fêmeas, mas esta é muito menos feroz do que a demonstrada na agressão maternal frente a um macho intruso (Parmigiani et al., 1988).

Muitos são os fatores que modulam o comportamento agressivo maternal em fêmeas lactantes. Existem mudanças na fisiologia da fêmea durante a lactação que exercem grande impacto sobre esse comportamento, tais como, a ampla flutuação hormonal das ratas durante o pré e o pós-parto e as mudanças neuroquímicas que esses hormônios produzem; as pistas, principalmente táteis e olfatórias, provenientes dos neonatos, os sinais olfatórios oriundos dos machos intrusos e as pistas ambientais em que os animais estão situados (Gammie e Lonstein, 2005), como a luminosidade e a habituação do animal ao ambiente.

Poucos são os trabalhos da literatura acerca do circuito neural envolvido no comportamento agressivo maternal. Estudos envolvendo lesões eletrolíticas do tálamo mediodorsal ou do córtex insular pré-frontal diminuíram a agressão maternal (Ferreira et al., 1987), uma vez que embora não tenham produzido anosmia, prejudicaram a habilidade de fazer discriminações olfatórias, ou seja, o reconhecimento pela fêmea lactante do animal intruso como uma ameaça, informação fundamental para a expressão do comportamento agressivo (Lonstein e Gammie, 2002). Lesões citotóxicas ou eletrolíticas realizadas após o parto, do núcleo peripeduncular do mesencéfalo lateral também diminuíram o comportamento agressivo maternal, uma vez que este sítio neural se projeta para regiões do hipotálamo, para estruturas límbicas e para o mesencéfalo, que são necessários para o comportamento de agressão maternal (Factor et al., 1993; Hansen e Ferreira, 1986; Lonstein e Gammie, 2002).

Adicionalmente, lesões eletrolíticas da área ventrolateral caudal da matéria cinzenta periaquedutal, pré e pós-parto, diminuíram a latência de ratas lactantes para iniciarem o ataque aos intrusos e duplicaram o número de ataques, indicando que este sítio neural poderia estar tonicamente inibindo a agressão maternal (Lonstein e Stern, 1997). Lesões eletrolíticas da parte ventral do hipotálamo ventromedial, por sua vez, reduziram drasticamente as respostas agressivas

maternais, indicando um papel crítico desta região na expressão deste comportamento (Hansen, 1989). Por fim, lesões eletrolíticas extensas da região septal inibiram tanto as respostas agressivas, como o cuidado da prole (Flannelly et al., 1986).

De particular relevância na organização do comportamento maternal, a área pré-óptica medial, não foi avaliada na agressão maternal propriamente dita. Ratas não lactantes com lesão eletrolítica nesta área têm seus níveis de agressão diminuídos, enquanto fêmeas lactantes com lesão eletrolítica, apresentam o comportamento maternal prejudicado, dificultando a análise do comportamento agressivo (Gammie e Lonstein, 2005).

Como mencionado anteriormente, o reconhecimento do intruso como uma ameaça, parece ser um elemento fundamental para o desencadeamento do comportamento agressivo maternal. Dessa forma, cabe ressaltar que toda interação social que gera uma postura agressiva, depende do reconhecimento do adversário como uma ameaça potencial, um competidor sexual ou um intruso em seu território (Halpern e Martinez-Marcos, 2003). Para tanto, esse reconhecimento depende da detecção de pistas olfatórias percebidas pela via olfatória principal e/ou pelo sistema vomeronasal (Halpern e Martinez-Marcos, 2003).

A informação feromonal chega ao bulbo olfatório acessório à partir de uma projeção direta proveniente do órgão vomeronasal (Halpern e Martinez-Marcos, 2003) e é transmitida em grande parte para o núcleo medial da amígdala (Scalia e Winans, 1975). Através das projeções do núcleo medial da amígdala para estruturas que integram o circuito reprodutivo da zona medial do hipotálamo, como o núcleo pré-óptico medial, o núcleo ventromedial e o núcleo pré-mamilar ventral (PMv), a informação feromonal pode modular a organização dos comportamentos sexuais parentais e de interação social (Swanson, 2000).

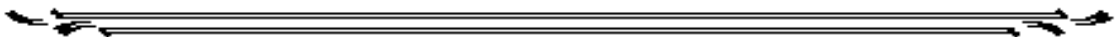
No contexto da organização das respostas de interação social, como a agressão maternal, cabe ressaltar que o PMv é um importante sítio neural para a integração de informações feromonais, além de ser altamente sensível a hormônios sexuais (Canteras et al., 1992).

Segundo Canteras et al. (1992), o PMv projeta-se densamente para regiões relacionadas ao circuito sexualmente dimórfico como, a parte ventrolateral do núcleo ventromedial hipotalâmico e para regiões adjacentes do hipotálamo lateral, para o núcleo pré-óptico medial, para o núcleo periventricular anteroventral do

hipotálamo, para o núcleo principal da estria terminal, para a parte ventral do núcleo septal lateral, para região póstero-dorsal do medial da amígdala e para o núcleo posterior da amígdala.

Desta forma, postulamos que o PMv, potencialmente sensível as pistas feromonais do macho intruso, poderia servir como uma possível interface entre a detecção feromonal e os sistemas envolvidos na expressão e no controle da agressão maternal.

3 CONCLUSÃO



Os resultados referentes ao padrão de ativação do PMv, bem como de seus principais alvos de projeção, durante a expressão do comportamento agressivo maternal, aliados as alterações comportamentais decorrentes da lesão neuroquímica por NMDA, apontam para um importante papel deste sítio neural na modulação da agressão maternal, possivelmente através da integração das pistas feromonais provenientes do intruso. Além disso, a diminuição da ativação da parte ventrolateral do núcleo ventromedial hipotalâmico e da área hipotalâmica lateral tuberal em ratas lactantes com lesão bilateral por NMDA do PMv e não de outros alvos de projeção, sugere que o papel do PMv sobre a resposta agressiva maternal possa ser mediado através destes dois sítios neurais, que seriam os elementos hipotalâmicos críticos para a expressão do comportamento de agressão maternal.

REFERÊNCIAS



REFERÊNCIAS*

Agrell J, Wolff JO, Ylonen H. Counter-strategies to infanticide in mammals: Costs and consequences. *Oikos*. 1998;83(3):507-17.

Archer J. *The behavioural biology of Aggression*. Preston: Cambridge University Press; 1988.

Aron C. Mechanisms of control of the reproductive function by olfactory stimuli in female mammals. *Physiol Rev*. 1979;59(2):229-84.

Bergvall AH, Vega JM, Dahlof LG, Hansen S. Peripheral anosmia attenuates female-enhanced aggression in male rats. *Physiol Behav*. 1991;50(1):33-40.

Blanchard RJ, Blanchard DC. The organization and modeling of animal aggression. In: Brain PF, Benton O, editors. *The Biology of Aggression*, Alphen an den Rijn. The Netherlands: Sijthoff & Noordhoff; 1981. p. 529-61.

Blanchard DC, Blanchard RJ. Ethoexperimental approaches to the biology of emotion. *Annual Review of Psychology*. 1988;39:43-68.

Blanchard RJ, Blanchard DC. Anti-predator defensive behaviors in visible burrow system. *Journal of Comparative Psychology*. 1989;103(1):70-82.

Blanchard D C, Fukunaga-Stinson C, Takahashi LK, Flannelly KJ, Blanchard RJ. Dominance and aggression in social groups of male and female rats. *Behavioural Processes*. 1984;9:31-48.

Blanchard DC, Blanchard RJ, Torn P, Rodgers RJ. Diazepam changes risk assessment in an anxiety/defense test battery. *Psychopharmacology*. 1990; 101(4):511-18.

Canteras NS, Simerly RB, Swanson LW. Projections of the Ventral Premammillary Nucleus. *The Journal of Comp. Neurol*. 1992;324(2):195-212.

Cooke BM, Woolley CS. Sexually dimorphic synaptic organization of the medial amygdala. *Journal of Neuroscience*. 2005; 25(46):10759-67.

*De acordo com: International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2007 May 22].

Crawford S, Balon EK. Cause and effect of parental care in fishes: An epigenetic perspective. In: Rosenblatt J, Snowdon CT, editors. Parental care: Evolution, mechanisms, and adaptive significance. New York: Academic Press; 1996. Vol. 25, p. 53-108.

Factor EM, Mayer AD, Rosenblatt JS. Peripeduncular nucleus lesions in the rat: Effects on maternal aggression, lactation, and maternal behavior during pre- and postpartum periods. Behavioral Neuroscience. 1993;107(1):166-85.

Fahrbach SE, Pfaff DW. Effects of preoptic area implants of dilute estradiol on the maternal behavior of ovariectomized, nulliparous rats. Horm Behav. 1986; 20(3):354-63.

Ferguson JN, Aldag JM, Insel TR, Young LJ. Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. Journal of Neuroscience. 2001;21(20) 8278-85.

Ferreira A, Dahlof LG, Hansen S. Olfactory mechanisms in the control of maternal aggression, appetite, and fearfulness: Effects of lesions to olfactory receptors, mediodorsal thalamic nucleus, and insular prefrontal cortex. Behavioral Neuroscience. 1987;101(5):709-717.

Flannelly KJ, Flannelly L. Time course of postpartum aggression in rats (*Rattus norvegicus*). Journal of Comparative Psychology. 1987;101(4):101-3.

Flannelly KJ, Kemble ED, Blanchard DC, Blanchard RJ. Effects of septal-forebrain lesions on maternal aggression and maternal care. Behavioral and Neural Biology, 1986;45(1):17-30

Gammie SC. Current models and future directions for understanding the neural circuitries of maternal behaviors in rodents. Behav Cogn Neurosci Rev. 2005;4(2):119-35.

Gammie SC, Lonstein JS. Maternal aggression. In: Randy N, editor. Biology of aggression. Oxford: Oxford University Press; 2006. p. 250-74.

Gray P, Brooks PJ. Effect of lesion location within the medial preoptic-anterior hypothalamic continuum on maternal and male sexual behaviors in female rats. Behavioral Neuroscience. 1984;98(4):703-11.

Haller J, Millar S, Kruk MR. Mineralocorticoid receptor blockade inhibits aggressive behaviour in male rats. *Stress*. 1998;2(3):201-7.

Halpern M, Martinez-Marcos A. Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Prog Neurobiol*. 2003;70(3):245-318.

Haney M, DeBold JF, Miczek KA. Maternal aggression in mice and rats toward male and female conspecifics. *Aggressive Behavior*. 1989;15(3):443-53.

Hansen S, Ferreira A. Food intake, aggression, and fear behavior in the mother rats: control by neural systems concerned with milk ejection and maternal behavior. *Behavioral Neuroscience*. 1986;100(1):64-70.

Hansen S. Medial Hypothalamic involvement in maternal aggression of rats. *Behavioral Neuroscience*. 1989;103(5):1035-46.

Harris VS, Sachs BD. Copulatory behavior in male rats following amygdaloid lesions. *Brain Res*. 1975; 86(3):514-18.

Hasen NS, Gammie SC. Differential fos activation in virgin and lactating mice in response to an intruder. *Physiol. Behav*. 2005;84(5):681–95.

Hill JW, Elmquist JK, Elias CF. Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *Physiol Endocrinol Metab*. 2008;294(5):827-32.

Huntingford FA. Animals fight, but do not make war. In: Groebel J, Hinde RA, editors. *Aggression and War- Their biological and social bases*. Cambridge: Cambridge University Press; 1989. Vol. 1, p. 25-34.

Itoh K, Konishi A, Nomura S, Mizuno N, Nakamura Y, Suguimoto T. Application of coupled oxidation reaction to electron microscopic demonstration of the horseradish peroxidase: cobalt-glucose oxidase method. *Brain Research*. 1979;175(2):341-6.

Jacobson CD, Terkel J, Gorski RA., Sawyer CH. Effects of small medial preoptic area lesions on maternal behavior: Retrieving and nest building in the rat. *Brain Res*. 1980;194(2):471-8.

Kolonie JM, Stern JM. Maternal aggression: Disruption by perioral anesthesia in lactating Long Evans rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*. 1990; 104(4):352-60.

Ledesma J, de Luis JM, Montejo AL, Llorca G, Perez-Urdaniz A. Maternal aggression in human beings. *New Trends in Experimental and Clinical Psychiatry*. 1988;49(2): 223-8.

Leyhausen P. On the functions of the relative hierarchy of moods. In: Lorenz K, Leyhausen P, editors. *Motivation of Human and Animal Behavior: An Ethological View*. New York: Van Nostrand; 1973. p.144-247.

Lonstein JS, Gammie SC. Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. *Neurosci. and Behav, Reviews*. 2002;26(8):869-88.

Lonstein JS, Stern JM. Role of the midbrain periaqueductal gray in maternal nurturance and aggression: c- Fos and electrolytic lesion studies in lactating rats. *Journal of Neuroscience*. 1997;17(9):3364-78.

Mann MA, Konen C, Svare B. The role of progesterone in pregnancy-induced aggression in mice. *Harm Behav*. 1984;18(2):140-60.

Mos J, Olivier B, van Oorschot R, van Aken H, Zethof T. Experimental and ethological aspects of maternal aggression in rats: five years of observations. In: Blanchard RJ, Brain PF, Blanchard DC, Parmigian S, editors. *Ethoexperimental Approaches to the Study of Behavior*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1989. Vol. 26, p. 385-98.

Newman SW. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann NY Acad Sci*. 1999;877:242-57.

Numan M, Rosenblatt JS, Komisaruk BR. Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J Comp Physiol*. 1977;91(1):146-64.

Numan M. Maternal Behavior. In: Knobil E, Neill JD. *The Physiology of Reproduction*, New York: Raven Press; 1994. Vol. 1, p. 221-300.

Parmigian S, Brain PF, Mainardi D, Brunoni V. Different patterns of biting attack employed by lactating female mice (*Mus domesticus*) in encounters with male and female conspecific intruders. *Journal Comparative Psychology*. 1988;102(3):287-93.

Roberts WW, Nage J. First-order projections activated by stimulation of hypothalamic sites eliciting attack and flight in rats. *Behavioral Neuroscience*. 1996;110(3):509-27.

Roeling TA, Veening JG, Kruk MR, PetersJP, Vermelis ME, Nieuwenhuys R. Efferent connections of the hypothalamic “aggression area” in the rat. *Neuroscience*. 1994;59(4):1001-24.

Scalia F, Winans SS. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. *J Comp Neurol*. 1975;161(1):31-55.

Sheehan T, Paul M, Amaral E, Numan MJ, Numan M. Evidence that the medial amygdala projects to the anterior/ventromedial hypothalamic nuclei to inhibit maternal behavior in rats. *Neuroscience*. 2001;106(2):341-56.

Slamberová R, Szilágyi B, Vathy I. Repeated morphine administration during pregnancy attenuates maternal behavior. *Psychoneuroendocrinology*. 2001;26(6):565-76.

Stack EC, Numan M. The temporal course of expression of c-fos and Fos B within the medial preoptic area and other brain regions of postpartum female rats during prolonged mother-young interactions. *Behavioral Neuroscience*. 2000;114(3):609-22.

Stern JM, McDonald C. Ovarian hormone-induced short-latency maternal behavior in ovariectomized virgin Long-Evans rats. *Horm Behav*. 1989;23(2):157-72.

Swanson LW. Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior. *Brain Res*. 2000;886:113-64.

Van den Berg MJ, Ter Horst, Koolhaas JM. The nucleus preammillaris ventralis (PMv) and aggressive behavior in the rat. *Aggress. Behav*. 1983;9(2):41-7.

Wagner KC, Morrell JI. Levels of estrogen receptor immunoreactivity are altered in behaviorally-relevant brain regions in female rats during pregnancy. *Molecular Brain Research*. 1996;42(2):328–36.