

MIGUEL ANTONIO XAVIER DE LIMA

**Investigação da circuitaria cortical envolvida no
processamento do medo contextual à ameaça predatória**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientador: Prof. Dr. Newton Sabino Canteras

Versão original

São Paulo
2015

RESUMO

LIMA, M. A. X. de. **Investigação da circuitaria cortical envolvida no processamento do medo contextual à ameaça predatória.** 2015. 97 f. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

A parte ventral do núcleo anteromedial do tálamo (AMv) recebe densas projeções do núcleo pré-mamilar dorsal (PMd), o sítio hipotalâmico mais responsivo às ameaças predatórias. Estudos indicam que lesões neuroquímicas no AMv interferem no processamento da memória aversiva predatória sem no entanto influenciar respostas de defesa inatas na exposição direta a um predador. O escopo deste trabalho foi inicialmente determinar se o AMv está envolvido na aquisição e/ou expressão das respostas condicionadas de medo, através da inativação deste núcleo com muscimol em tempos específicos do teste comportamental. Na sequência, nós examinamos quais áreas do córtex cerebral são aferentadas pelo AMv (através de estudo de rastreamento anterógrado com a leucoaglutinina do *Phaseolus vulgaris*; PHA-L) e se essas áreas corticais estão interconectadas entre si (através de rastreamento anterógrado com o amino-dextrano biotinilado; BDA). Investigamos através da expressão de Fos a ativação diferenciada das áreas corticais aferentadas pelo AMv durante a exposição predatória, e finalmente, através de lesões neuroquímicas bilaterais pela infusão de N-metil D-Aspartato (NMDA), se estas áreas corticais aferentadas pelo AMv estão envolvidas no processamento da memória aversiva. No primeiro experimento observamos que a inativação do AMv antes da exposição ao predador causa déficits significativos na resposta de medo contextual (e também diminui drasticamente a expressão de Fos no PMd e na porção dorsolateral da matéria cinzenta periaquedutal, que acompanham as respostas contextuais anti-predatórias). A inativação do núcleo antes da exposição ao contexto predatório não interferiu na expressão das respostas de medo aprendidas. Em conjunto estes dados sugerem que o AMv esteja envolvido na aquisição, e não na expressão, do condicionamento contextual ao predador. As áreas corticais pré-límbica (PL), área cingulada anterior (ACA), área visual anteromedial (VISam) e parte ventral da área retrosplenial (RSPv), que recebem projeções a partir do AMv, se conectam entre si, estabelecendo uma rede cortical, a qual pode influenciar sítios na amígdala e na formação hipocampal críticos para a formação do traço mnemônico. Demonstramos a partir da expressão de Fos que essas áreas estão seletivamente recrutadas durante a exposição ao predador. No último experimento, as lesões bilaterais de cada uma das áreas corticais aferentadas pelo AMv (PL, ACA, VISam e RSPv) resultaram em perdas expressivas das respostas estereotipadas de medo e de avaliação de risco normalmente observadas durante a exposição ao contexto predatório. Nosso estudo sugere que o AMv participa criticamente da aquisição da memória de medo, alimentando uma rede cortical formada pelas áreas PL, ACA, VISam e RSPv, que demonstramos estar envolvida no processamento mnemônico. Os nossos dados fortalecem a hipótese de módulos corticais como as unidades funcionais do córtex cerebral, indicando a sua participação na aquisição da memória de medo a uma ameaça que represente um risco de morte.

Palavras-chave: Comportamentos de defesa. Medo. Memória. Circuito tálamo-cortical. Córtex cerebral.

ABSTRACT

LIMA, M. A. X. de. **Study of the cortical circuitry underlying contextual fear processing to predatory threat**. 2015. 97 p. Thesis (Ph. D. in Morphofunctional Sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

The dorsal premmamillary nucleus (PMd) is the most responsive hypothalamic site to predatory threats and sends massive projections the ventral part of the anteromedial thalamic nucleus (AMv). Neurochemical lesions placed into AMv disrupt contextual, but not innate, fear responses to predatory threats. In the present investigation, we first determined whether the AMv is involved in the acquisition and/or retrieval of the conditioned responses by inactivating the nucleus with muscimol in specific times of the behavioral test. We have also revisited the cortical projections from AMv using the leucoagglutinin of *Phaseolus vulgaris* (PHA-L), and investigated how these cortical areas are related (using the biotinylated amin dextran; BDA). Next, we determined with Fos expression if the cortical areas targeted by the AMv are recruited during predator exposure, and by using bilateral neurochemical lesions (infusion of N-methyl D-aspartate; NMDA), we investigated if these cortical areas are involved in the fear memory processing. In the first assay, the inactivation of AMv prior to the predator exposure (acquisition window), but not prior to the predator-related context (retrieval window), practically abolished the contextual fear responses and down regulated the expression of Fos in PMd and dorsolateral part of periaqueductal gray, which are recruited during retrieval of fear memory to predator threats. Cortical areas receiving projection from AMv, i.e., prelimbic (PL), anterior cingulate area (ACA), anteromedial visual area (VISam) and the ventral part of retrosplenial area (RSPv), establish a clear cortical network and send projections to amygdalar nuclei and hippocampal formation involved in fear memory processing. We detected that during the predator exposure these set of cortical areas presented a differential Fos expression when compared to adjacent areas, suggesting a selective activation of this cortical network during the acquisition of fear memory. In our last assay, bilateral neurochemical lesions in these different cortical areas target by AMv (i.e, PL, ACA, VISam and RSPv) led to severe impairment of learned, but not innate fear responses, where bilateral lesions in each one of these cortical targets yielded severe fear contextual memory impairment differing significantly from the control group with lesions into the secondary somatomotor area (MOs). By using hodological and functional approaches, our study suggests that AMv is a critical thalamic site for the acquisition of fear memory, and that the integrity of the AMv's cortical field of projection (i.e, PL, ACA, VISam and RSPv) is required for the processing of the mnemonic processes here addressed. Our data corroborate current ideas on functional cortical modules, and help to elucidate how they are involved in the acquisition of fear memories related to life threatening situations.

Keywords: Defensive behavior. Fear. Memory. Thalamo-cortical circuit. Cerebral cortex.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Breve histórico do estudo das vias neurais do medo a partir do condicionamento clássico

As espécies animais têm evoluído através de sua sobrevivência em um ambiente repleto de pressões seletivas. Uma das formas de assegurar sua própria existência é a capacidade do animal de se defender de forma inata e aprendida a ameaças predatórias.

Segundo Verburg, Perna e Griez (2001) um método experimental é um procedimento desenhado para falsear uma predição que foi construída por meio de inferências de fenômenos observados na natureza. Dentro dos laboratórios, os neurocientistas têm estudado as vias neurais relacionadas ao aprendizado e memória de medo através do modelo de condicionamento clássico Pavloviano, no qual é explorada a associação entre um estímulo incondicionado (EI; um choque nas patas do rato, por exemplo) com um estímulo condicionado (EC; um som ou um determinado ambiente, por exemplo). O EI leva o rato a expressar respostas de defesa (como o *freezing*, comportamento no qual o animal entra em estado de congelamento motor e apresenta apenas movimentos relacionados com a respiração), enquanto o EC, se apresentado sozinho e sem ser pareado temporalmente com o EI, não surte efeito comportamental parecido. Após algumas sessões de pareamento temporal entre os estímulos (tocar o som e ao final descarregar um choque nas patas), o rato passa a expressar respostas de defesa somente com a apresentação do EC (KATZ; LAMPRECHT, 2014; PHILLIPS; LEDOUX, 1992).

Neste paradigma, núcleos amigdalares como o núcleo lateral (LA) e o complexo basolateral desempenham um papel chave no processo de aprendizado associativo (do EI e EC) e na expressão dos comportamentos de defesa, uma vez que se projetam para o núcleo central da amígdala (CEA), e este para o setor ventrolateral da matéria cinzenta periaquedutal (PAGvl), no tronco encefálico (LEDOUX, 2000). O hipocampo por sua vez, também desempenha um papel crítico tanto no aprendizado quanto na expressão das respostas de defesa contextuais (HUNSAKER; KESNER, 2008). No entanto, muitas áreas corticais como a área cingulada anterior (ACA), retrosplenial (RSP) e área pós-rinal (POR), influenciam as vias de aprendizado dependentes da amígdala e do hipocampo (BISSIÈRE et al., 2008; BURWELL et al., 2004; KEENE; BUCCI, 2008b).

A típica resposta de *freezing* no paradigma de condicionamento clássico depende da integridade do CEA (MAREN, 2001), que, como já mencionado, se projeta para a PAGvl. Esta região no tronco encefálico é crítica para a expressão das respostas de medo

condicionado, incluindo *freezing*, vocalização e analgesia condicionada (VIANNA et al., 2001).

As respostas de defesa acima relatadas são observadas em situações que ameaçam a integridade física ou a vida do animal. Encontros agonísticos como, por exemplo, ficar frente-a-frente com um predador e interações violentas com animais da mesma espécie (MOTTA et al., 2009) também levam a comportamentos de defesa semelhantes aos observados nos estudos de condicionamento clássico do medo. As respostas estereotipadas de defesa (como o *freezing*) observadas em roedores frente a estímulos ameaçadores diferentes, levou por muito tempo a uma visão reducionista dos circuitos neurais que processam esses estímulos (BOLLES, 1970; FANSELOW, 1994), sempre no entorno do núcleo CEA e suas áreas de conexões. No entanto, considerando a hipótese alternativa de que circuitos neurais diferentes podem ser mobilizados de acordo com o tipo de estímulo apresentado (e não de que comportamentos semelhantes são desencadeados sempre pelas mesmas áreas do cérebro), novos dados começaram pouco a pouco surgir nesse cenário e serão apresentados na sequência (GROSS; CANTERAS, 2012; MOTTA et al., 2009; SILVA et al., 2013).

1.2 A exposição a um predador como modelo experimental para o estudo do estresse pós-traumático: vias neurais do medo inato e contextual

A exposição ao predador representa um evento perigoso e extremamente ameaçador para a vida do animal, e induz respostas defensivas inatas (que são assim definidas por serem respostas comportamentais expressas frente a uma situação de perigo na qual o animal não tenha experienciado previamente, como por exemplo, o caso de um rato de laboratório frente a um gato). Essa exposição produz efeitos residuais e funciona como um bom modelo para reproduzir determinados aspectos do estresse pós-traumático (PTSD, do inglês, *post-traumatic stress disorder*) observado em humanos. Em sua recente revisão de literatura sobre a validação dos modelos animais de PTSD, Goswami et al. (2013) descrevem que pacientes com PTSD exibem memórias traumáticas persistentes (pesadelos, pensamentos intrusivos), hipervigilância, hiperexcitação, medo desregulado (generalização e extinção deficiente) assim como disfunção hipocampal. A exposição ao predador parece reproduzir a hiperexcitação e ansiedade crônica, gera déficits de processamento hipocampal e minimiza a extinção de medo, ou seja, simula em animais um quadro de PTSD em humanos. Além disso, a exposição ao predador também parece induzir mudanças compatíveis com uma hiperatividade amigdalár observada em pacientes de PTSD, como aumento na expressão de sinaptofisina na amígdala

(CAMPOS et al., 2013) e potenciação de longo prazo da transmissão neural excitatória na amígdala basolateral (ADAMEC et al., 2012).

A exposição de um rato ao odor ou a presença real de um gato evoca intensas respostas defensivas, tais como o *freezing* e o *flight* (fuga), e elementos comportamentais de avaliação de risco (BLANCHARD; BLANCHARD; HORI, 1989; DIELENBERG; HUNT; MCGREGOR, 2001; RIBEIRO-BARBOSA et al., 2005). Ainda, a reexposição do rato em um local em que ele encontrou previamente um predador evoca intensas respostas comportamentais estereotipadas de avaliação de risco como o *crouch sniff* e *stretch attend*, e reduz drasticamente comportamentos exploratórios como o *locomotion* e *up right position* (CARVALHO-NETTO et al., 2010; CEZARIO et al., 2008; MARTINEZ et al., 2011; RIBEIRO-BARBOSA et al., 2005).

A presença do gato mobiliza sítios distintos da amígdala e hipotálamo (para revisão, ver GROSS; CANTERAS, 2012). Na amígdala, duas vias informam ao rato a presença de perigo: o núcleo medial (MEA) e a parte posterior do núcleo basomedial (BMAp). O primeiro está relacionado ao odor do predador, uma vez que recebe informações diretamente do bulbo olfatório acessório (CANTERAS, 2002; DIELENBERG; HUNT; MCGREGOR, 2001), enquanto o segundo está relacionado com a detecção do predador por meio de áreas associativas visuais e auditivas (além de receber também informação do MEA, e portanto é um provável integrador das pistas relacionadas do predador; CANTERAS, 2002). Além dos dados anatômicos, dados funcionais mostram que lesões citotóxicas no MEA, mas não no CEA (como no caso do condicionamento clássico de choque nas patas), provocam uma redução significativa nas respostas de defesa inatas frente a um gato ou ao seu odor (LI; MAGLINAO; TAKAHASHI, 2004; MARTINEZ et al., 2011).

Tanto o MEA quanto o BMAp projetam-se para a parte dorsomedial do núcleo ventromedial do hipotálamo (VMHdm; CANTERAS; SIMERLY; SWANSON, 1995; PETROVICH; RISOLD; SWANSON, 1996). Esse núcleo, juntamente com o núcleo hipotalâmico anterior (AHN) e o núcleo pré-mamilar dorsal (PMD), compõem o circuito hipotalâmico defensivo medial (CANTERAS, 2002; MARTINEZ et al., 2008). Esses três núcleos apresentam um aumento significativo na expressão da proteína Fos (marcador de ativação neuronal) quando o rato é exposto a um predador ou a um contexto predatório (local em que encontrou o predador; CANTERAS et al., 1997; CEZARIO et al., 2008).

Como mencionado logo acima, o VMHdm é a porta de entrada das informações relacionadas ao predador para o circuito hipotalâmico defensivo medial. Neste circuito, o PMD é o sítio hipotalâmico mais responsivo a ameaça predatória real e contextual

(CANTERAS et al., 1997; CEZARIO et al., 2008). De fato, lesões centradas no PMD reduzem significativamente as respostas defensivas, seja a um predador ou ao seu odor (BLANCHARD et al., 2003; CANTERAS et al., 1997; CEZARIO et al., 2008). Adicionalmente, foi mostrado que as respostas de defesa relacionadas ao contexto aversivo (lugar previamente associado ao predador) são abolidas após a inativação farmacológica do PMD (CANTERAS et al., 2008; CEZARIO et al., 2008; DO MONTE et al., 2008).

Dados anatômicos e funcionais têm mostrado que estruturas que são alvos de projeção do PMD, descendentes ou ascendentes, podem influenciar aspectos específicos do processamento inato ou cognitivo das respostas de defesa. A parte dorsolateral da matéria cinzenta periaquedutal (PAGdl), por exemplo, recebe projeções do PMD (CANTERAS; SWANSON, 1992) e desempenha um papel fundamental na expressão das respostas de defesa inatas, bem como nas respostas de defesa condicionadas (ambiente associado a uma ameaça predatória; CEZARIO et al., 2008). Recentemente, Carvalho-Netto et al. (2010) demonstraram que a parte ventral do núcleo anteromedial do tálamo (AMv), um dos principais alvos de projeção do PMD (CANTERAS; SWANSON, 1992), está envolvido de forma crítica no processamento de memória emocional relacionada ao contexto predatório (lugar previamente associado ao gato), mas não ao medo incondicionado (exposição ao gato). Resumidamente, os autores constataram que lesões combinadas no AMv e no núcleo reuniens (RE), outro sítio de projeção do PMD, foram capazes de reduzir respostas defensivas relacionadas ao medo contextual. Resultados significativos também foram obtidos com lesão individual unilateral do AMv, mas não com lesão individual no RE.

A literatura mostra que o AM envia projeções para diversas regiões corticais, tais como áreas do córtex pré-frontal medial (CPFm), área retrosplenial (RSP), entorrinal (ENT), perirrinal (PERI), assim como para o subiculum ventral (SUBv) e pré-subiculum (PRE; RISOLD; SWANSON, 1995; SHIBATA, 1993a, b; VAN GROEN; KADISH; WYSS, 1999). Dados indicam que lesões eletrolíticas ou neurotóxicas na área RSP comprometem o processamento do medo contextual relacionado ao choque nas patas (condicionamento clássico; KEENE; BUCCI, 2008a, b). Muitos estudos mostram ensaios funcionais relacionados ao condicionamento clássico em várias áreas corticais (que serão discutidos posteriormente). No entanto, como já explicitado, há circuitos neurais distintos (principalmente na amígdala, hipotálamo e matéria cinzenta periaquedutal) que são mobilizados mediante diferentes situações de perigo (GROSS; CANTERAS, 2012; MOTTA et al., 2009), e quase nada ou nenhum dado relacionado ao paradigma do medo predatório em áreas do córtex cerebral consta na literatura.

6 CONCLUSÕES

O núcleo talâmico AMv está criticamente envolvido na aquisição, mas não na expressão dos comportamentos de defesa contextuais. A partir do AMv, áreas corticais específicas (ACA, PL, VISam e RSP) recebem, integram e enviam informações para áreas relacionadas ao processamento cognitivo de aprendizado e memória emocional, como a amígdala e hipocampo. Os dados obtidos através da análise da expressão de Fos e lesões neuroquímicas dessas áreas corticais sugerem que este circuito está criticamente envolvido no processamento da memória emocional aversiva, uma vez que observamos perdas comportamentais significativas de respostas inerentes à exposição do animal a um ambiente hostil.

REFERÊNCIAS*

ABEL, T.; LATTAL, K. M. Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 11, p. 180-187, 2001.

ADAMEC, R.; TOTH, M.; HALLER, J.; HALASZ, J.; BLUNDELL, J. A. comparison of activation patterns of cells in selected prefrontal cortical and amygdala areas of rats which are more or less anxious in response to predator exposure or submersion stress. **Physiology and Behavior**, v. 105, p. 628–638, 2012.

BARRIENTOS, R. M.; O'REILLY, R. C.; RUDY, J. W. Memory for context is impaired by injecting anisomycin into dorsal hippocampus following context exploration. **Behavioral Brain Research**, v. 134, n. 1–2, p. 299–306, 2002.

BAST, T.; ZHANG, W. N.; FELDON, J. Dorsal hippocampus and classical fear conditioning to tone and context in rats: effects of local NMDA-receptor blockade and stimulation. **Hippocampus**, v. 13, n. 6, p. 657–75, 2003.

BISSIÈRE, S.; PLACHTA, N.; HOYER, D.; MCALLISTER, K. H.; OLPE, H. R.; GRACE, A. A.; CRYAN, J. F. The rostral anterior cingulate cortex modulates the efficiency of amygdala-dependent fear learning. **Biological Psychiatry**, v. 63, p. 821–831, 2008.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C.; HORI, K. Ethoexperimental approaches to the study of defensive behavior. In: BLANCHARD, R. J., BRAIN, P. F., BLANCHARD, D. C., Parmigiani, S. (Ed.), **Ethoexperimental Approaches to the Study of Behavior**. Academic Publishers, Dordrecht, Kluwer, 1989. p. 114–136.

BLAIR, H. T.; SCHAFE, G. E.; BAUER, E. P.; RODRIGUES, S. M.; LEDOUX, J. E. Synaptic plasticity in the lateral amygdala: A cellular hypothesis of fear conditioning. **Learning and Memory**, v. 8, p. 229–242, 2001.

BLANCHARD, D. C.; LI, C. I.; HUBBARD, D.; MARKHAM, C. M.; YANG, M.; TAKAHASHI, L. K. Dorsal premammillary nucleus differentially modulates defensive behaviors induced by different threat stimuli in rats. **Neuroscience Letters**, v. 345, p. 145–148, 2003.

BLUM, S.; HEBERT, A. E.; DASH, P. K. A role for the prefrontal cortex in recall of recent and remote memories. **Neuroreport**, v. 17, p. 341–344, 2006.

***De acordo com:**

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BOLLES, R. C. Species-specific defense reactions and avoidance learning. **Psychological Review**, v. 77, p. 32–48, 1970.

BOTA, M.; SPORNS, O.; SWANSON, L. W. Architecture of the cerebral cortical association connectome underlying cognition. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 112, p. 2093-2101, 2015.

BUCCI, D. J.; PHILLIPS, R. G.; AND BURWELL, R. D. Contributions of postrhinal and perirhinal cortex to contextual information processing. **Behavioral Neuroscience**, v. 114, p. 882–894, 2000.

BURWELL, R. D.; SADDORIS, M. P.; BUCCI, D. J.; WIIG, K. A. Corticohippocampal contributions to spatial and contextual learning. **Journal of Neuroscience**, v. 24, p. 3826–3836, 2004.

CAMPOS, A. C.; FERREIRA, F. R.; DA SILVA JR., W. A.; GUIMARÃES, F. S. Predator threat stress promotes long lasting anxiety-like behaviors and modulates synaptophysin and CB1 receptors expression in brain areas associated with PTSD symptoms. **Neuroscience Letters**, v. 533, p. 34–38, 2013.

CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. The dorsal preammillary nucleus: An unusual component of the mammillary body. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 89, p. 10089-10093, 1992.

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. **Journal of Comparative Neurology**, v. 360, p. 213–245, 1995.

CANTERAS, N. S.; CHIAVEGATTO, S.; 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, p. 297–305, 1997.

CANTERAS, N. S. The medial hypothalamic defensive system: Hodological organization and functional implications. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 71, p. 481–491, 2002.

CANTERAS, N. S.; KROON, J. A. V.; DO-MONTE, F. H. M.; PAVESI, E.; CAROBREZ, A. P. Sensing danger through the olfactory system: The role of the hypothalamicdorsal preammillary nucleus. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 32, p. 1228–1235, 2008.

CARVALHO-NETTO, E. F.; MARTINEZ, R. C. R.; BALDO, M. V. C.; CANTERAS, N. S. Evidence for the thalamic targets of the medial hypothalamic defensive system mediating

emotional memory to predatory threats. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 93, p. 479–486, 2010.

CASTRO-ALAMANCOS, M. A.; CONNORS, B. W. Thalamocortical synapses. **Progress in Neurobiology**, v. 51, p. 581–606, 1997.

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

CLASCÁ, F.; RUBIO-GARRIDO, P.; JABAUDON, D. Unveiling the diversity of thalamocortical neuron subtypes. **European Journal of Neuroscience**, v. 35, p. 1524–1532, 2012.

COMOLI, E.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; CANTERAS, N. S. Predatory hunting and exposure to a live predator induce opposite patterns of Fos immunoreactivity in the PAG. **Behavioural Brain Research**, v. 138, p. 17–28, 2003.

DAVIS, M.; WHALEN, P. J. The amygdala: vigilance and emotion. **Molecular Psychiatry**, v. 6, p. 13–34; 2001.

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, p. 1085–1097, 2001.

DING, S. L. Comparative anatomy of the prosubiculum, subiculum, presubiculum, postsubiculum, and parasubiculum in human, monkey, and rodent. **Journal of Comparative Neurology**, v. 521, p. 4145–4162, 2013.

DO MONTE, F. H.; CANTERAS, N. S.; FERNANDES, D.; ASSREUY, J.; CAROBREZ, A. P. New perspectives on b-adrenergic mediation of innate and learned fear responses to predator odor. **Journal of Neuroscience**, v. 28, p. 13296–13302. 2008.

EINARSSON, E. O.; NADER, K. Involvement of the anterior cingulate cortex in formation, consolidation, and reconsolidation of recent and remote contextual fear memory. **Learning and Memory**, v. 19, p. 449–452, 2012.

EUSTON, D. R.; GRUBER, A. J.; MCNAUGHTON, B. L. The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. **Neuron**, v. 76, p. 1057–1070, 2012.

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

FRANKLAND, P. W.; BONTEMPI, B.; TALTON, L. E.; KACZMAREK, L.; SILVA, A. J. The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. **Science**, v. 304, p. 881-883, 2004.

GILMARTIN, M. R.; HELMSTETTER, F. J. Trace and contextual fear conditioning require neural activity and NMDA receptor-dependent transmission in the medial prefrontal cortex. **Learning and Memory**, v. 17, p. 289–296, 2010.

GILMARTIN, M. R.; BALDERSTON, N. L.; HELMSTETTER, F. J. Prefrontal cortical regulation of fear learning. **Trends in Neurosciences**, v. 37, n. 8, p. 455-464, 2014.

GOSWAMI, S.; RODRÍGUEZ-SIERRA, O.; CASCARDI, M.; PARÉ, D. Animal models of post-traumatic stress disorder: face validity. **Frontiers in Neuroscience**, v. 7, n. 89, p. 1-14, 2013.

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

GUILLERY, R. W. Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. **Journal of Anatomy**, v. 187, n. 3, p. 583–592, 1995.

HEIDBREDER, C. A.; GROENEWEGEN, H. J. The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, v. 27, p. 555–579, 2003.

HOLAHAN, M. R.; ROUTTENBERG, A. Post-translational synaptic protein modification as substrate for long-lasting, remote memory: an initial test. **Hippocampus**, v. 17, p. 93–97, 2007.

HOOVER, W. B.; VERTES, R. P. Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. **Brain, Structure and Function**, v. 212, p. 149–179, 2007.

HUNSAKER, M. R.; KESNER, R. P. Dissociations across the dorsal-ventral axis of CA3 and CA1 for encoding and retrieval of contextual and auditory-cued fear. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 89, n. 1, p. 61–9, 2008.

JOHANSEN, J. P.; HAMANAKA, H.; MONFILS, M. H.; BEHNIA, R.; DEISSEROTH, K.; BLAIR, H. T.; LEDOUX, J. E. Optical activation of lateral amygdala pyramidal cells instructs associative fear learning. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 107, p. 12692–12697, 2010.

KATZ, I. K.; LAMPRECHT, R. Fear conditioning leads to alteration in specific genes expression in cortical and thalamic neurons that project to the lateral amygdala. **Journal of Neurochemistry**. doi: 10.1111/jnc.12983, 2014.

KEENE, C. S.; BUCCI, D. J. Contributions of the retrosplenial and posterior parietal cortices to cue-specific and contextual fear conditioning. **Behavioral Neuroscience**, v. 122, p. 89–97, 2008a.

KEENE, C. S.; BUCCI, D. J. Neurotoxic lesions of retrosplenial cortex disrupt signaled and unsignaled contextual fear conditioning. **Behavioral Neuroscience**, v. 122, p. 1070–1077, 2008b.

KIM, J. J.; FANSELOW, M. S. Modality-specific retrograde amnesia of fear. **Science**, v. 256, p. 675–676, 1992.

LARKUM, M. E.; SENN, W.; LÜSCHER, H. R. Top-down dendritic input increases the gain of layer 5 pyramidal neurons. **Cerebral Cortex**, v. 14, p. 1059–1070, 2004.

LEDOUX, J. E. Emotion circuits in the brain. **The Annual Review of Neuroscience**, v. 23, p. 155–184, 2000.

LEDOUX, J. The emotional brain, fear, and the amygdala. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 23, p. 727–738, 2003.

LI, C. I.; MAGLINAO, T. L.; TAKAHASHI, L. K. Medial amygdala modulation of predator odor-induced unconditioned fear in the rat. **Behavioral Neuroscience**, v. 118, p. 324–332, 2004.

MARCHAND, A.; FAUGÈRE, A.; COUTUREAU, E.; WOLFF, M. A role for anterior thalamic nuclei in contextual fear memory. **Brain, Structure and Function**, v. 219, p. 1575–86, 2013.

MAREN, S. Neurobiology of Pavlovian fear conditioning. **The Annual Review of Neuroscience**, v. 24, p. 897–931, 2001.

MAREN, S.; QUIRK, G. J. Neuronal signalling of fear memory. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, p. 844–852, 2004.

MAREN, S.; HOLT, W. G. Hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats: muscimol infusions into the ventral, but not dorsal, hippocampus impair the acquisition of conditional freezing to an auditory conditional stimulus. **Behavioral Neuroscience**, v. 118, n. 1, p. 97–110, 2004.

MARTINEZ, R. C.; CARVALHO-NETTO, E. F.; AMARAL, V. C.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; CANTERAS, N. S. Investigation of the hypothalamic defensive system in the mouse. **Behavioural Brain Research**, v. 192, p. 185–190, 2008.

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.

MEYER, H. S.; WIMMER, V. C.; HEMBERGER, M.; BRUNO, R. M.; DE KOCK, C. P.; FRICK, A.; SAKMANN, B.; HELMSTAEDTER, M. Cell type-specific thalamic innervation in a column of rat vibrissal cortex. **Cerebral Cortex**, v. 20, p. 2287–2303, 2010.

MORGAN, M. A.; ROMANSKI, L. M.; LEDOUX, J. E. Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. **Neuroscience Letters**, v. 163, p. 109–113, 1993.

MORGAN, M. A.; LEDOUX, J. E. Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. **Behavioral Neuroscience**, v. 109, p. 681–688, 1995.

MOTTA, S. C.; GOTO, M.; GOUVEIA, F. V.; BALDO, M. V.; CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. Dissecting the brain's fear system reveals the hypothalamus is critical for responding in subordinate conspecific intruders. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 106, p. 4870–4875, 2009.

PENTKOWSKI, N. S.; BLANCHARD, D. C.; LEVER, C.; LITVIN, Y.; BLANCHARD, R. J. Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. **European Journal of Neuroscience**, v. 23, p. 2185–2196, 2006.

PETREANU, L.; MAO, T.; STERNSON, S. M.; SVOBODA, K. The subcellular organization of neocortical excitatory connections. **Nature**, 457, p. 1142–1145, 2009.

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. **Journal of Comparative Neurology**, v. 374, p. 387–420, 1996.

PETROVICH, G. D.; CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. **Brain Research Reviews**, v. 38, p. 247–289, 2001.

PHILLIPS, R. G.; LEDOUX, J. E. Differential contribution of amygdala and hippocampus to cued and contextual fear conditioning. **Behavioral Neuroscience**, v. 106, p. 274–285, 1992.

QUINN, J. J.; MA, Q. D.; TINSLEY, M. R.; KOCH, C.; FANSELOW, M. S. Inverse temporal contributions of the dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex to the expression of long-term fear memories. **Learning and Memory**, v. 15, p. 368–372, 2008.

RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; CANTERAS, N. S.; CEZARIO, A. F.; BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. An alternative experimental procedure for studying predator-related defensive responses. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 29, p. 1255–1263, 2005.

RISOLD, P. Y.; SWANSON, L. W. Evidence for a hypothalamicocortical circuit mediating pheromonal influences on eyes and head movements. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 99, p. 3898–3902, 1995.

ROBINSON, S.; POORMAN, C. E.; MARDER, T. J.; BUCCI, D. J. Identification of functional circuitry between retrosplenial and postrhinal cortices during fear conditioning. **The Journal of Neuroscience**, v. 32, p. 12076–12086, 2012.

ROGAN, M. T.; WEISSKOPF, M. G.; HUANG, Y. Y.; KANDEL, E. R.; LEDOUX, J. E. Long term potentiation in the amygdala: Implications for memory formation. **Neuronal Mechanisms of Memory Formation**, (Ed.) Holscher C. Cambridge Univ Press, Cambridge, UK, 2000. p. 58–76.

ROGERS, J., HUNSAKER, M. R.; KESNER RP. Effects of ventral and dorsal CA1 subregional lesions on trace fear conditioning. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 86, p. 72-81, 2006.

RUDY, J. W.; BARRIENTOS, R. M.; O'REILLY, R. C. Hippocampal formation supports conditioning to memory of a context. **Behavioral Neuroscience**, v. 116, n. 4, p. 530–8, 2002.

RUDY, J. W.; MATUS-AMAT, P. The ventral hippocampus supports a memory representation of context and contextual fear conditioning: implications for a unitary function of the hippocampus. **Behavioral Neuroscience**, v. 119, n. 1, p. 154–63, 2005.

SILVA, B. A.; MATTUCCI, C.; KRZYWKOWSKI, P.; MURANA, E.; ILLARIONOVA, A.; GRINEVICH, V.; CANTERAS, N. S.; RAGOZZINO, D.; GROSS, C. T. Independent hypothalamic circuits for social and predator fear. **Nature Neuroscience**, v. 16, p. 1731 – 1733, 2013.

SHERMAN, S. M. The Function of Metabotropic Glutamate Receptors in Thalamus and Cortex. **The Neuroscientist**, v. 20, n. 2, p. 136-49, 2013.

SHI, C-J.; CASSELL, M. D. Perirhinal cortex projections to the amygdaloid complex and hippocampal formation in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 406, p. 299–328, 1999.

SHIBATA, H. Efferent projections from the anterior thalamic nuclei to the cingulate cortex in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 330, p. 533–542, 1993a.

SHIBATA, H. Direct projections from the anterior thalamic nuclei to the retrohippocampal region in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 337, p. 431–445, 1993b.

SHIBATA, H.; KONDOA, S.; NAITO, J. Organization of retrosplenial cortical projections to the anterior cingulate, motor, and prefrontal cortices in the rat. **Neuroscience Research**, v. 49, p. 1–11, 2004.

SPRATLING, M. W. Cortical region interactions and the functional role of apical dendrites. **Behavioral and Cognitive Neuroscience**, v. 1, p. 219–228, 2002.

SWANSON, L. W. **Brain maps: Structure of the rat brain**. Amsterdam: (Ed.) Elsevier, 2004.

SWANSON, L. W.; KÖHLER, C.; BJÖRKLUND, A. The limbic region. I: the septohippocampal system. In: Hökfelt T, Björklund A, Swanson LW (eds) *Handbook of chemical neuroanatomy*, v. 5. Integrated Systems, **Elsevier**, Amsterdam, p. 125–277, 1987.

VAN GROEN, T.; KADISH, I.; WYSS, J. M. Efferent connections of the anteromedial nucleus of the thalamus of the rat. **Brain Research Review**, v. 30, p. 1–26, 1999.

VAN GROEN, T.; WYSS, J. M. Connections of the Retrosplenial Granular b Cortex in the Rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 463, p. 249–263, 2003.

VERBURG, K.; PERNA, G.; GRIEZ, E. A case study of the 35% CO₂ challenge. In: Griez, E.J.L. (Ed.). **Anxiety disorders: an introduction to clinical management and research**. Wiley, Chichester, NY, 2001. p. 22.

VIANNA, D. M.; GRAEFF, F. G.; LANDEIRA-FERNANDEZ, J.; BRANDÃO, M. L. Lesion of the ventral periaqueductal gray reduces conditioned fear but does not change freezing induced by stimulation of the dorsal periaqueductal gray. **Learning and Memory**, v. 8, p. 164–169, 2001.

VIAENE, A. P.; PETROF, I.; SHERMAN, S. M. Properties of the thalamic projection from the posterior medial nucleus to primary and secondary somatosensory cortices in the mouse. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 108, p.18156–18161, 2011.

VIDAL-GONZALEZ, I; VIDAL-GONZALEZ, B.; RAUCH, S. L.; QUIRK, G. J. Microstimulation reveals opposing influences of prelimbic and infralimbic cortex on the expression of conditioned fear. **Learning and Memory**, v. 13, p. 728–733, 2006.

VISSER, L.; BAARS, A. M.; LAVRIJSEN, M.; VAN DER WEERD, C. M.; VAN DEN BOS, R. Decision-making performance is related to levels of anxiety and differential recruitment of frontostriatal areas in male rats. **Neuroscience**, v. 184, p. 97–106, 2011.

YOON, T.; OTTO, T. Differential contributions of dorsal vs.ventral hippocampus to auditory trace fear conditioning. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 87, p. 464-475, 2007.

ZHANG, W. N.; BAST, T.; FELDON, J. The ventral hippocampus and fear conditioning in rats: different anterograde amnesias of fear after infusion of N-methyl-D-aspartate or its noncompetitive antagonist MK-801 into the ventral hippocampus. **Behavioral Brain Research**, v. 126(1–2), p. 159–74, 2001.

ZHAO, M. G.; TOYODA, H.; LEE, Y. S.; WU, L. J.; KO, S. W.; ZHANG, X. H.; JIA, Y.; SHUM, F.; XU, H.; LI, B. M.; KAANG, B. K.; ZHUO, M. Roles of NMDA NR2B subtype receptor in prefrontal long-term potentiation and contextual fear memory. **Neuron**, v. 47, p. 859–872, 2005.