

Simone Cristina Motta

Análise de sistemas hipotalâmicos
envolvidos na organização da defesa
intraespecífica

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. Titular Newton Sabino Canteras

São Paulo
2010

RESUMO

MOTTA, S. C. **Análise de sistemas hipotalâmicos envolvidos na organização da defesa intraespecífica.** 2010. 76 f. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

O estudo da base neural do comportamento defensivo tem seguido uma visão de um circuito neural unitário baseada na similaridade topográfica da expressão dos comportamentos defensivos gerados a partir de diferentes modelos experimentais. Neste circuito unitário, a amígdala central teria papel fundamental. No entanto, a identificação de um circuito hipotalâmico de defesa mobilizado em situações de ameaças predatórias colocou em dúvida a existência de um único circuito. Ameaças advindas de um co-específico dominante, ou ameaça intraespecífica, também eliciam comportamentos defensivos robustos e pouco se sabe a respeito dos sítios neurais mobilizados durante sua expressão. Com isso, foi objetivo desse trabalho avaliar a participação hipotalâmica na organização da defesa intraespecífica. Identificando seus pontos nodais e de comunicação com outros sistemas já conhecidos, como sua relação com a matéria cinzenta periaquedutal, sabidamente envolvida na organização de comportamentos defensivos. Para isso, utilizamos técnicas de mapeamento funcional, de rastreamento de vias neurais e de lesão neurotóxica em animais expostos a um co-específico dominante. Observamos, nesses animais intrusos, aumento da proteína Fos no circuito hipotalâmico reprodutor e em apenas um núcleo do sistema hipotalâmico de defesa previamente postulado, o núcleo pré-mamilar dorsal. Ao analisar a ativação deste núcleo, notamos um padrão distinto de ativação daquele descrito previamente para as ameaças predatórias, estando a porção dorsomedial do núcleo (PMDdm) mobilizada no intruso. A lesão citotóxica do núcleo pré-mamilar dorsal reduziu drasticamente o comportamento defensivo de intrusos. Quanto às projeções aferentes do PMDdm, observamos que este recebe projeções de sítios distintos do hipotálamo lateral mobilizados durante o encontro agonístico. Além disso, constatamos que o padrão de ativação da matéria cinzenta periaquedutal é compatível com o padrão de projeção eferente dessa porção do núcleo pré-mamilar dorsal mobilizada durante a defesa intraespecífica, diferente do padrão de projeção observado para a porção ventrolateral do núcleo ativada na defesa antipredatória. Assim, nossos dados indicam que o núcleo pré-mamilar dorsal é crucial para a expressão do comportamento defensivo intraespecífico, sendo que sítios distintos do hipotálamo lateral fazem a interface entre o circuito hipotalâmico reprodutor que veicula informações de pistas do co-específico e o PMDdm. Além disso, a ativação da matéria cinzenta periaquedutal, observada durante a defesa intra-específica, está de acordo com as projeções eferentes dessa porção do núcleo pré-mamilar dorsal. Com isso, concluímos que diferentes circuitos neurais medeiam o comportamento defensivo a diferentes ameaças e o hipotálamo tem papel crucial em respostas de medo etologicamente relevantes.

Palavras-chave: Comportamento de defesa. Paradigma residente-intruso. Hipotálamo. Núcleo pré-mamilar dorsal. Comportamentos motivados. Medo.

ABSTRACT

MOTTA, S. C. **Analyses of hypothalamic systems involved in the organization of intra-specific defense.** 2010. 76 p. Ph. D. thesis (Morphofunctional Sciences) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

It has been suggested that all perceived environmental threat trigger the same set of innately determined defensive response – from natural predators to electric foot shocks in laboratory protocols. This seemingly limited response repertoire suggested the plausible hypothesis of an unitary neural network mediating all kinds of fear responses, with the central nucleus playing a critical role in linking fear processing and defensive responses. This view has been challenged by studies showing that distinct kinds of fear responses, such as fear conditioning to electric foot shock and exposure to a live predator, are mediated by somewhat distinct neural networks. In the present study, combining the use of behavioral, neuronal immediate early gene activation, lesion, and neuroanatomical experiments, we investigated the neural circuits involved in the expression of defensive behavioral responses in a subordinate co-specific. Accordingly, we have found that during an agonistic encounter, intruders up-regulate Fos expression in elements of the reproductive hypothalamic circuit (i.e., the medial preoptic area, the ventrolateral part of the ventromedial nucleus, the tuberal nucleus and the ventral premammillary nucleus) and in the dorsomedial part of the dorsal premammillary nucleus (PMDdm). We have further shown that NMDA lesions in the PMD practically abolish passive defense responses (i.e., on the back postures and freezing); and combining retrograde tracing with and the identification of Fos expression in the hypothalamus, we were able to determine that specific regions of perifornical hypothalamic area should serve as the interface between the sexual dimorphic system and the PMdm, in subordinate intruders exposed to dominant co-specific. Our findings have also revealed that the pattern of Fos expression in the periaqueductal gray (PAG) in the intruder overlaps the pattern of projection from the PMDdm to the PAG, thus suggesting the PAG as a putative locus to integrate the intra-specific defensive responses. Overall, the present results help to delineate the neural circuits underlying the defensive responses to a dominant co-specific, and strengthen the role of the hypothalamus in the organization of fear responses to ethologically relevant threats.

Keywords: Defensive behavior. Resident-intruder paradigm. Hypothalamus. Dorsal premammillary nucleus. Goal-oriented behaviors.

1 INTRODUÇÃO

Um fato crucial para manter os animais vivos na vida selvagem é a capacidade de expressar reações defensivas inatas eficazes quando encontram ameaças que lhes ponham em risco a sua sobrevivência (BOLLES, 1970). Nessas situações, os animais não têm chance de aprendizado para emitir as respostas adequadas e, portanto, são necessárias reações prontamente disponíveis em seu repertório (BOLLES, 1970).

Na cadeia evolutiva, foram selecionadas etologicamente respostas de medo a duas situações de ameaça: a presença de um predador e de um co-específico (FANSELOW e PONNUSAMY, 2007). É senso comum acreditar que os encéfalos de espécies predadas devem ser organizados, de forma inata, a reconhecer predadores naturais e esse reconhecimento deve desencadear respostas defensivas (HIRSH e BOLLES, 1980). Segundo Bolles (1970), os animais desenvolveram um conjunto básico e geneticamente pré-programado de comportamentos e respostas fisiológicas para garantir a sobrevivência dos indivíduos e da espécie como um todo. A defesa efetiva contra ameaças do ambiente é uma função essencial para a sobrevivência do indivíduo. Segundo a teoria das reações defensivas espécie-específica desenvolvida por Bolles (1970), os mesmos comportamentos defensivos inatos, como *freezing* e fuga, são emitidos por qualquer ameaça ambiental percebida, seja esta predadores naturais ou qualquer outro estímulo aversivo, como por exemplo, um choque elétrico nas patas (BOLLES, 1970). Considerando esse repertório de respostas aparentemente limitado, Bolles (1970) postulou que existiria um circuito neural básico para processar qualquer tipo de ameaça. Estudos utilizando o paradigma de medo condicionado, onde após pareamentos de um estímulo aversivo (no caso, choque elétrico nas patas) com um estímulo neutro (como por exemplo, um flash de luz ou um som), o animal passa a responder com respostas de medo (*freezing*) ao estímulo neutro, mostraram que o núcleo central da amígdala teria um papel central no circuito que organiza as respostas defensivas (FANSELOW, 1994).

É amplamente sabido que os sistemas hipotalâmicos integram um grande número de comportamentos críticos para a sobrevivência de um indivíduo ou da espécie (SWANSON, 1987), e que ocupa uma posição central integrando respostas defensivas (SWANSON, 2000; CANTERAS, 2002). Na zona medial do hipotálamo, definiu-se um circuito composto pelo núcleo anterior do hipotálamo, a porção dorsomedial do núcleo ventromedial do hipotálamo e o núcleo pré-mamilar dorsal, que seria crítico para o processamento da ameaça predatória (CANTERAS, 2002), e que aparentemente não parece influenciar o *freezing* condicionado que ocorre após um estímulo aversivo (BLANCHARD et al., 2001). Neste circuito, então chamado circuito hipotalâmico de defesa (CANTERAS, 2002), o núcleo pré-mamilar dorsal (PMD) é o elemento mais responsivo à ameaça predatória, seja ela incondicionada ou

contextual (CEZÁRIO et al., 2008), e lesões químicas deste sítio neural são particularmente eficientes em reduzir os comportamentos de defesa (CANTERAS et al., 1997; MARKHAN et al., 2004, CEZARIO et al., 2008) .

Como ilustrado na Figura 1 (CEZÁRIO et al., 2008) no circuito hipotalâmico de defesa, o núcleo hipotalâmico anterior está envolvido na integração de informações do sistema septo-hipocampal veiculadas pela parte rostral do núcleo septal lateral (RISOLD e SWANSON, 1997). Além disso, sítios hipocampais recebem aferências de distritos amigdalianos responsivos a presença do predador, em particular do núcleo lateral e núcleo basomedial da amígdala (PETROVICH et al., 2001). A parte dorsomedial do núcleo ventromedial do hipotálamo, por sua vez, integra informações amigdalianas oriundas particularmente da parte póstero-ventral do núcleo medial e da parte posterior do núcleo basomedial. Experimentos, examinando o padrão de expressão da proteína Fos, mostraram que durante a exposição ao gato, sistemas amigdalianos específicos estão envolvidos na detecção da presença do predador. Ratos expostos ao gato apresentam um aumento significativo na expressão de Fos na porção posteroventral do núcleo medial da amígdala (MEApv), na parte posterior do núcleo basomedial (BMAp) e em regiões caudais do núcleo lateral (LA) (CANTERAS et al., 2001). Dielenberg et al. (2001) demonstraram em ratos que a exposição ao odor de gato leva a uma grande e seletiva ativação do MEApv, sugerindo que esta região particular da "amígdala vomeronasal" está envolvida no processamento do odor do predador. Corroborando esses resultados, trabalhos com lesões envolvendo o núcleo medial da amígdala mostraram que animais com lesões centradas neste núcleo têm uma redução na expressão de comportamentos defensivos (como o *freezing* motor e a esquiva) quando expostos ao odor de gato. (LI et al., 2004). A integração amigdaliana de outras pistas relativas ao predador, que não o seu odor, é aparentemente processada por um circuito envolvendo as porções caudais do LA e o BMAp, que são maciçamente conectados. As regiões caudais do LA, e em menor grau o BMAp, integram informações de áreas corticais associativas visuais e auditivas (MCDONALD, 1998; SHI e CASSEL, 1999) e, dessa forma, estão em posição de responder a um amplo espectro de informações sensoriais relativas ao predador que não somente ao odor.

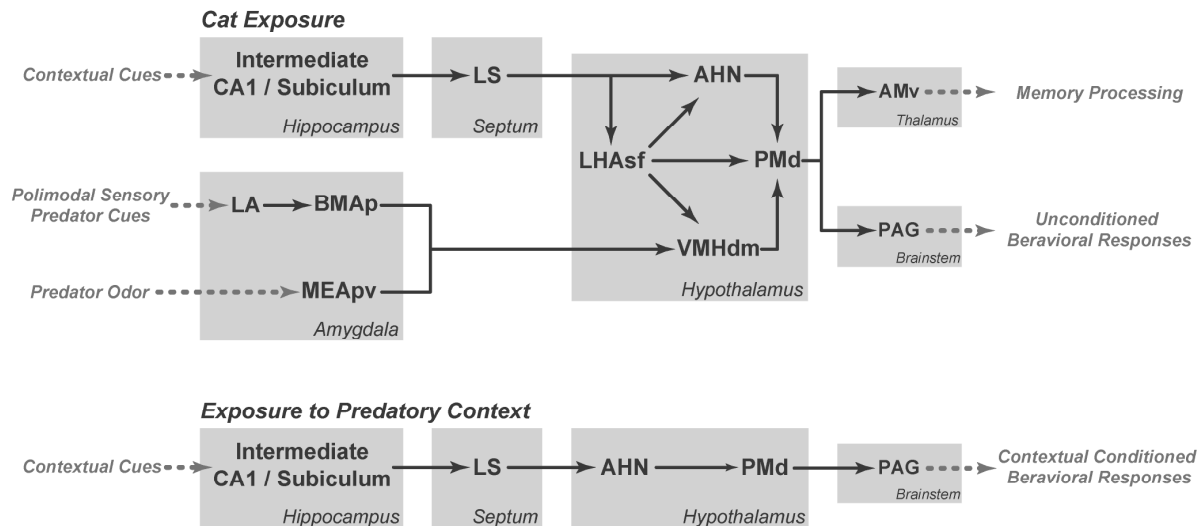


Figura 1 – Diagramas mostrando os sistemas neurais envolvidos no processamento das ameaças predatórias incondicionadas e condicionadas contextuais. Abreviaturas: AHN – núcleo hipotalâmico anterior; AMv – núcleo ântero-medial do tálamo, parte ventral; BMAp – núcleo basomedial da amígdala, parte posterior; CA1/Subiculum – campo hipocampal CA1 e subicular; LA – núcleo lateral da amígdala; LHAsf – área hipotalâmica lateral, parte subfornicial; LS – área septal; MEdpv – núcleo medial da amígdala, parte póstero-ventral; PAG – matéria cinzenta periaquedutal; PMd – núcleo pré-mamilar dorsal; VMHdm – núcleo ventromedial do hipotálamo, parte dorsomedial.
 Fonte: Cezário et al. (2008).

O núcleo pré-mamilar dorsal (PMD) ocupa uma posição estratégica no circuito hipotalâmico de defesa, de um lado integra as informações dos outros elementos hipotalâmicos que fazem parte desse circuito, recebendo projeções densas e bilaterais destes sítios, o que lhe confere o papel de amplificador de sinais, sendo extremamente sensível à ameaça predatória (CEZÁRIO et al., 2008). O PMD também integra informações de diversos sítios telencefálicos, como os córtices infra-límbico e pré-límbico, núcleo septal lateral e núcleos interfascicular e transversal do núcleo intersticial da estria terminal (COMOLI et al., 2000). Por outro lado, o PMD projeta-se densamente para a matéria cinzenta periaquedutal e para parte ventral do núcleo ântero-medial do tálamo, além de prover projeções substanciais para o núcleo hipotalâmico anterior (CANTERAS e SWANSON, 1992). Assim, o papel funcional do PMD nas respostas antipredatórias parece depender de seus principais alvos de projeção, sendo a parte ventral do núcleo ântero-medial do tálamo envolvida no processamento mnemônico das respostas antipredatórias (CARVALHO-NETTO et al., 2010), e a matéria cinzenta periaquedutal, envolvida na expressão das respostas de defesa antipredatória inata e contextual (CEZÁRIO et al., 2008).

Canteras e Goto (1999) estudaram o padrão de ativação da matéria cinzenta periaquedutal (PAG) durante o comportamento de defesa inter-específico. Assim, com a

exposição de ratos a um gato, esses pesquisadores observaram padrão de ativação dorsal na PAG, mobilizando as colunas dorsomedial e dorsolateral durante o comportamento de defesa antipredatória.

Entretanto, a ameaça predatória não é a única situação na qual o animal expressa comportamentos de defesa. Ameaças intraespecíficas, isto é, advindas de co-específicos, que representam outra classe de ameaça que desencadeia respostas de defesas inatas, ainda não têm sua base neural definida.

Uma conhecida situação de ameaça intraespecífica é a situação do intruso no paradigma residente-intruso (MICZEK, 1979). Esse modelo experimental é baseado na territorialidade inata dos animais sendo vastamente utilizado em estudos devido ao conhecimento dos padrões comportamentais e à facilidade de distinção desses padrões nos animais envolvidos. Dessa forma, ratos dominantes, residentes de uma colônia bem estabelecida, expressam comportamentos de ameaça e ataque quando confrontados a um intruso (BLANCHARD e BLANCHARD, 1977; BLANCHARD et al., 1977). Topograficamente, nesse encontro agonístico, o animal dominante expressa uma sequência de comportamentos introdutórios, tais como se aproximar e cheirar o intruso; seguidos de ataques frequentes, com embates que objetivam morder o intruso; e, posteriormente, um período no qual esses ataques se tornam mais escassos, sendo que movimentos do intruso ainda podem desencadeá-los (BLANCHARD e BLANCHARD, 1977).

Dessa forma, observando residentes e intrusos, Blanchard et al. (1977) sugeriram que os padrões comportamentais observados podem ser vistos como estratégias básicas distintas, a saber, ofensivas e defensivas. Consideram-se comportamentos defensivos: evitação (*boxing* e postura *upright*, com as patas dianteiras sem contato com o chão), fuga, manter-se sobre as costas (*on-the-back*) e congelamento (*freezing*) (BLANCHARD et al., 1977). Enquanto o macho dominante ataca lateralmente, o intruso também se move ao invés de simplesmente manter uma postura estática, quando o dominante empurra e se lança bruscamente ao redor do intruso, este tende a orientar seu corpo em direção a seguir o movimento do agressor, nas posturas de evitar ou tentar fugir desse ataque. Sempre que o intruso for bem sucedido em manter uma orientação frontal ao dominante, esse não morde. Mordidas ocorrem apenas quando o movimento do agressor for muito repentino ou rápido para ser seguido pelo intruso. Após a interrupção dos ataques, o intruso está quase sempre sem movimentos, em *freezing* ou *on-the-back* (BLANCHARD et al., 1977). Com isso, podemos identificar, no intruso, posturas defensivas ativas, expressas durante o ataque do residente, e posturas defensivas

passivas, emitidas pelo intruso em decorrência dos ataques anteriores, mas quando não está sendo atacado no momento.

Apesar de muitos estudos focarem no circuito envolvido na organização da defesa inter-específica, pouco se sabe a respeito das similaridades ou diferenças desta em relação à defesa intraespecífica. Embora topograficamente os comportamentos parecerem similares nestas situações, o encéfalo deve reconhecer as peculiaridades, com a finalidade de responder corretamente a cada uma delas.

5 CONCLUSÕES

Nossos dados indicam que o hipotálamo tem um papel crítico nas repostas de defesa tanto ao predador quanto ao co-específico dominante, e que as reações de medo evocadas por essas diferentes categorias de ameaças naturais são processadas por caminhos neurais distintos. No presente trabalho, caracterizamos o circuito neural básico envolvido na organização das repostas de defesa frente à ameaça social.

Na Figura 13, apresentamos um diagrama esquematizando nossos achados do circuito envolvido nos comportamentos de defesa às ameaças sociais. Identificamos inicialmente os sítios hipotalâmicos mobilizados nos intrusos quando expostos ao dominante co-específico. Notamos particularmente a mobilização de estruturas que compõem o circuito reprodutivo da zona medial do hipotálamo, composto pela área pré-óptica medial, parte ventrolateral do núcleo ventromedial, núcleo tuberal e núcleo prémamilar dorsal. Este circuito está basicamente envolvido na integração de pistas sociais, oriundas fundamentalmente de pistas feromonais veiculadas a esse circuito pelo núcleo medial da amígdala. Conforme relatado na literatura (KOLLACK-WALKER e NEWMAN, 1995; KOLLACK-WALKER et al., 1997; KOLLACK-WALKER et al., 1999) e achados não publicados de nosso grupo, durante a interação social agonística, notamos que as partes anterodorsal e pósterodorsal do núcleo medial da amígdala estavam particularmente ativadas. Observamos também nos animais intrusos, um aumento do número de células Fos imunorreativas na região subfornicial a níveis intermediários da área hipotalâmica anterior, bem como no PMD.

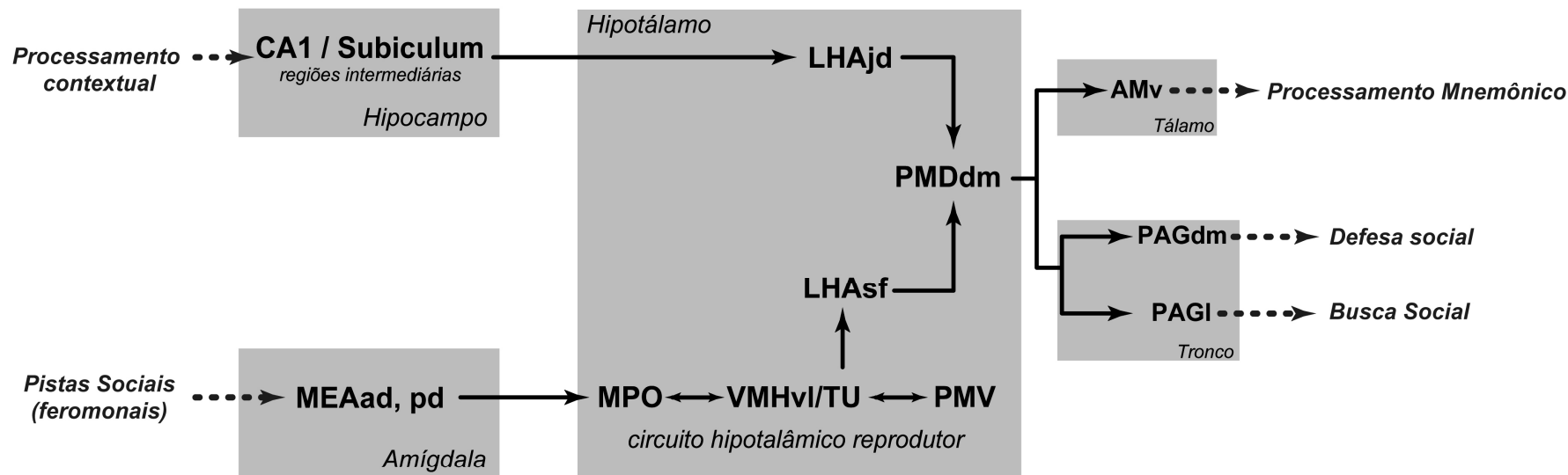


Figura 13– Diagrama mostrando os sistemas neurais envolvidos no processamento de ameaças intraespecíficas incondicionadas. Abreviaturas: AMv – núcleo ântero-medial do tálamo, parte ventral; CA1/Subiculum – campo hipocampal CA1 e subicular; LHAjd, sf – área hipotalâmica lateral, parte justadorsomedial e subfornicial; MEAad, pd – núcleo medial da amígdala, parte ântero-dorsal e pósterodorsal; MPO – área pré-optica medial; PAGdm, l – matéria cinzenta periaquedutal, coluna dorsomedial e lateral; PMDdm – núcleo pré-mamilar dorsal, porção dorsomedial; PMv – núcleo pré-mamilar ventral, VMHvl – núcleo ventromedial do hipotálamo, parte ventrolateral; TU – núcleo tuberal.

Na sequência, comparamos o padrão de ativação no PMD de animais expostos ao predador com os intrusos expostos ao dominante co-específico, e notamos que porções distintas do núcleo respondem a esses diferentes tipos de ameaça; sendo que, durante o embate social, a porção dorsomedial do núcleo é a que estava particularmente mobilizada. Nossos experimentos de lesão do PMD mostraram que esse sítio neural é fundamental para a expressão da resposta de defesa, e considerando o padrão de conexões deste núcleo, sugerimos a matéria cinzenta periaquedutal como a região chave para a organização das respostas de defesa social. Não tínhamos, todavia, definido, como os elementos do circuito hipotalâmico reprodutor, responsável pelo processamento das pistas sociais do dominante, poderiam se comunicar com a parte dorsomedial do PMD. Assim, nos experimentos de dupla marcação, pudemos identificar que essa comunicação se dá por intermédio da região subfornicial do hipotálamo anterior, englobando as porções laterais dos níveis intermediários do núcleo hipotalâmico anterior e hipotálamo lateral adjacente, que está mobilizada durante o embate social, recebe projeções de elementos do circuito hipotalâmico reprodutivo (em particular do núcleo tuberal) e, por sua vez, se projeta para a porção dorsomedial do PMD. Notamos também que a parte dorsomedial do PMD recebe projeções da região justadorsomedial do hipotálamo lateral, que também se encontra mobilizada durante o embate social. Essa região é densamente aferentada por projeções diretas da parte intermediária do Subiculum e CA1 (HAHN e SWANSON, 2010), e deve estar envolvida na integração das pistas contextuais e, possivelmente, nas respostas de medo contextual que ocorrem após as derrotas sociais.

Na PAG notamos no embate social uma ativação das colunas dorsomedial, lateral e ventrolateral. O papel de cada uma destas colunas durante o embate social ainda necessita ser melhor esclarecido, contudo observações da literatura aliadas a dados ainda não publicados de nosso laboratório sugerem que a parte dorsomedial da PAG esteja envolvida nas respostas de defesa social, e, possivelmente, a parte lateral da PAG estaria envolvida em mecanismos de aproximação social.

Também, é importante salientar que além da PAG, a parte dorsomedial do PMD também se projeta densamente para a parte ventral do núcleo anteroventral do tálamo. A semelhança do que foi descrito recentemente para a defesa antipredatória (CARVALHO-NETTO et al., 2010), sugerimos que esta via poderia também estar envolvida no processamento mnemônico para emissão das respostas de defesa por ocasião da exposição ao contexto onde ocorreu a derrota social.

Concluindo, a visão prevalente da organização do sistema central de medo emergiu de paradigmas que usaram o choque elétrico como um estímulo condicionador, com base na hipótese de que animais exibem respostas defensivas essencialmente unitárias a todo e qualquer tipo de ameaça (BOLLES, 1970). Assim, foi sugerido que um circuito ou sistema neural fundamental mediará todos os tipos de medo (FANSELOW, 1994). Um elemento importante deste circuito unitário e prevalente é ocupado pelo núcleo central da amígdala, ao qual é atribuído o papel de processamento de pistas de ameaças naturais, como predadores e co-específicos, e de transmitir informações relevantes para a PAG. Entretanto, este modelo de sistema neural relativamente bem desenvolvido para respostas genéricas de medo não se aplica a respostas a medo inato eliciadas por ameaças etologicamente relevantes. Assim, lesões no núcleo central amígdala têm no máximo efeitos marginais em respostas defensivas ao predador (DE OCA e FANSELOW, 2004) ou ao odor do predador (LI et al., 2004). Além disso, infecções latentes de *Toxoplasma* com a entrada do parasita no encéfalo do roedor levam à perda de respostas defensivas inatas ao odor de gato e não tem efeito em respostas de medo a um estímulo condicionado previamente pareado com o choque (VYAS et al., 2007). Neste trabalho, atribuímos o papel de processamento de pistas de ameaças naturais ao hipotálamo e, somado a trabalhos da literatura (MOTTA et al., 2010), verificamos sua participação em respostas defensivas a ameaças etologicamente relevantes, como um predador ou um co-específico dominante.

Em suma, nossos resultados fortemente suportam a hipótese de que respostas de medo naturais são comparáveis a outros tipos de comportamentos motivados, uma vez que essas respostas são compostas por elementos comportamentais, autonômicos e neuroendócrinos, complexos e integrados, além de apresentarem fortes componentes motivacionais. Assim, assemelham-se a outros comportamentos motivados como de ingestão e reprodução, organizados fundamentalmente pelo hipotálamo. Com isso, nossos dados suportam a visão de que o hipotálamo tem um papel essencial integrando respostas defensivas a ameaças vitais naturais, colocam a parte dorsomedial do núcleo pré-mamilar dorsal como essencial para a completa expressão da defesa intraespecífica e indicam que diferentes circuitos neurais medeiam o processamento hipotalâmico e respostas comportamentais a classes diferentes de ameaças naturais.

REFERÊNCIAS

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

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C. Aggressive behavior in the rat. **Behav. Biol.**, v. 21, n. 2, p. 197-224, 1977.

BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C.; TAKAHASHI, T.; KELLEY, M. Attack and defensive behaviours in the albino rat. **Anim. Behav.**, v. 25, n. 3, p. 622-634, 1977.

BLANCHARD, D. C.; LI, C. I.; HUBBARD, D.; MARKHAM, C. M.; YANG, M.; TAKAHASHI, L. K.; BLANCHARD, R. J. Dorsal premammillary nucleus differentially modulates defensive behaviours induced by different threat. **Neurosci. Biobehav.**, v. 345, n. 3, p. 145-148, 2003.

BLANCHARD, D. C.; CANTERAS, N. S.; MARKHAM, C. M.; PENTKOWSKI, N. S.; BLANCHARD, R. J. Lesions of structures showing FOS expression to cat presentation: effects on responsivity to a cat, cat odor, and nonpredator threat. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 29, n. 8, p. 1243-1253, 2005.

BOLHUIS, J. J.; FITZGERALD, R. E.; KIJK, D. J.; KOOLHAAS, J. M. The corticomedial amygdala and learning in an agonistic situation in the rat. **Physiol. Behav.**, v. 32, n. 4, p. 575-579, 1984.

BOLLES, R. C. Species-specific defense reactions and avoidance learning. **Psychol. Rev.**, v. 77, n. 1, p. 32-48, 1970.

CANTERAS, N. S. The medial hypothalamic defensive system: hodological organization and functional implications. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 71, n. 3, p. 481-491, 2002.

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 Res. Bull.**, v. 44, n. 3, p. 297-305, 1997.

CANTERAS, N. S.; GOTO, M. Fos-like immunoreactivity in the periaqueductal gray of rats exposed to a natural predator. **Neuroreport**, v.10, n.2, p. 413-418, 1999.

CANTERAS, N. S.; RIBEIRO-BARBOSA, E. R.; COMOLI, E. Tracing from the dorsal premammillary nucleus prosencephalic systems involved in the organization of innate fear responses. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, v. 25, n. 7-8, p. 661-668, 2001.

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. **J. Comp. Neurol.**, v. 348, n. 1, p. 41-79, 1994.

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. **J. Comp. Neurol.**, v. 360, n. 2, p. 213-245, 1995.

CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. The dorsal premammillary nucleus: an unusual component of the mammillary body. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 89, n. 21, p. 10089-10093, 1992.

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

CARRIVE, P.; LEUNG, P.; HARRIS, J.; PAXINOS, G. Conditioned fear to context is associated with increased Fos expression in the caudal ventrolateral region of the midbrain periaqueductal gray. **Neuroscience**, v. 78, n. 1, p. 165-177, 1997.

CARVALHO-NETTO, E. F.; MARTINEZ, R. C.; BALDO, M. V.; CANTERAS, N. S. Evidence for the thalamic targets of the medial hypothalamic defensive system mediating emotional memory to predatory threats. **Neurobiol. Learn. Mem.**, v. 93, n. 4, p. 479-86, 2010.

CEZÁRIO, 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. **Eur. J. Neurosci.**, v. 28, n. 5, p. 1003-1015, 2008.

COMOLI, E.; RIBEIRO-BARBOSA, E.R.; CANTERAS, N.S. Afferent connections of the dorsal premammillary nucleus. **J. Comp. Neurol.**, v. 423, n. 1, p. 83-98, 2000.

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. **Behav. Brain Res.**, v. 138, n. 1, p. 17-28, 2003.

DE OCA, B. M.; FANSELOW, M. S. Amygdala and periaqueductal gray lesions partially attenuate unconditional defensive responses in rats exposed to a cat. **Integr. Physiol. Behav. Sci.**, v. 39, p. 318-333, 2004.

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.

FANSELOW, M. S. Neural organization of the defensive behavior system responsible for fear. **Psychon. Bull. Rev.**, v. 1, p. 429-438, 1994.

FANSELOW, M. S.; PONNUSAMY, R. The use of conditioning tasks to model fear and anxiety. In: BLANCHARD, R. J.; BLANCHARD, D. C.; GRIEBEL, G.; NUTT, D. (Eds.). **Handbook of Anxiety and Fear**. Amsterdam: Elsevier, 2008. p. 29-48.

FIGUEIREDO, H. F.; BODIE, B. L.; TAUCHI, M.; DOLGAS, C. M.; HERMAN, J. P. Stress integration after acute and chronic predator stress: differential activation of central stress circuitry and sensitization of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. **Endocrinology**, v. 144, n. 12, p. 5249-5258, 2003.

GOTO, M.; CANTERAS, N. S.; BURNS, G.; SWANSON, L. W. Projections from the subfornical region of the lateral hypothalamic area. **J. Comp. Neurol.**, v. 493, n. 3, p. 412-438, 2005.

HAHN, J. D.; SWANSON, L. W. Distinct patterns of neuronal inputs and outputs of the juxtaparaventricular and suprafornical regions of the lateral hypothalamic area in the male rat. **Brain Res. Rev.**, v. 64, n. 1, p. 14-103, 2010.

HIRSH, S. M. E BOLLES, R. C. On the ability of prey to recognize predators. **Zeitschrift für Tierpsychologie**, v. 54, p. 71-84, 1980.

HSU, S. M.; RAINE, L. Protein A, avidin and biotin in immunohistochemistry. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 29, n. 11, p. 1349-1353, 1981.

ITOH, K.; KONISHI, A.; NOMURA, S.; MIZUNO, N.; NAKAMURA, Y.; SUGIMOTO, T. Application of coupled oxidation reaction to electron microscopic demonstration of the horseradish peroxidase: cobalt-glucose oxidase method. **Brain Res.**, v. 175, n. 2, p. 341-346, 1979.

KELSEY, J. E.; HOERMAN, W. A.; KIMBALL, L. D.; RADACK, L. S.; CARTER, M. V. Arcuate nucleus lesions reduce opioid stress-induced analgesia (SIA) and enhance non-opioid SIA in rats. **Brain Res.**, v. 382, n. 2, p. 278-290, 1986.

KOLLACK-WALKER, S.; DON, C.; WATSON, S. J.; AKIL, H. Differential expression of c-fos mRNA within neurocircuits of male hamsters exposed to acute or chronic defeat. **J. Neuroendocrinol.**, v. 11, n. 7, p. 547-559, 1999.

KOLLACK-WALKER, S.; NEWMAN, S. W. Mating and agonistic behavior produce different patterns of fos immunolabeling in the male Syrian hamster brain. **Neuroscience**, v. 66, n. 3, p. 721-736, 1995.

KOLLACK-WALKER, S.; WATSON, S. J.; AKIL, H. Social stress in hamsters: defeat activates specific neurocircuit within the brain. **J. Neurosci.**, v. 17, n. 22, p. 8842-8855, 1997.

LI, C. I.; MAGLINAO, T. L.; TAKAHASHI, L. K. Medial amygdala modulation of predator odor induced unconditioned fear in the rat. **Behav. Neurosci.**, v. 118, n. 2, p. 324-332, 2004.

MARKHAM, C. M.; BLANCHARD, D. C.; CANTERAS, N. S.; CUYNO, C. D.; BLANCHARD, R. J. Modulation of predatory odor processing following lesions to the dorsal premammillary nucleus. **Neurosci. Lett.**, v. 372, n. 1-2, p. 22-26, 2004.

MCDONALD, A. J. Cortical pathways to the mammalian amygdala. **Prog. Neurobiol.**, v. 55, n. 3, p. 257-332, 1998.

MCGREGOR, I. S.; HARGREAVES, G. A.; APFELBACH, R.; HUNT, G. E. Neural correlates of cat odor-induced anxiety in rats: region-specific effects of the benzodiazepine midazolam. **J. Neurosci.**, v. 24, n. 17, p. 4134-4144, 2004.

MICZEK, K. A. A new test for aggression in rats without aversive stimulation: differential effects of *d*-amphetamine and cocaine. **Psychopharmacology**, v. 60, n. 3, p. 253-259, 1979.

MOTA-ORTIZ, S. R.; SUKIKARA, M. H.; FELICIO, L. F.; CANTERAS, N. S. Afferent connections to the rostralateral part of the periaqueductal gray: a critical region influencing the motivation drive to hunt and forage. **Neural Plast.**, v. 2009, id. 612698, 2009.

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. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 106, n. 12, p. 4870-4875, 2009.

PETROVICH, G. D.; CANTERAS, N. S.; SWANSON, L. W. Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. **Brain Res. Rev.**, v. 38, n. 1-2, p. 247-289, 2001.

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. **J. Comp. Neurol.**, v. 348, n. 1, p. 1-40, 1994.

RISOLD, P. Y.; SWANSON, L. W. Connections of the rat lateral septal complex. **Brain Res Rev.**, v. 24, n. 2-3, p. 115-195, 1997.

SHI, C. J.; CASSELL, M. D. Perirhinal cortex projections to the amygdaloid complex and hippocampal formation in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 406, n. 3, p. 299-328, 1999.

SUKIKARA, M. H.; MOTA-ORTIZ, S. R.; BALDO, M. V.; FELÍCIO, L. F.; CANTERAS, N. S. A Role for the Periaqueductal Gray in Switching Adaptive Behavioral Responses. **J. Neurosci.**, v. 26, n. 9, p. 2583–2589, 2006.

SWANSON, L. W. The hypothalamus. In: HÖKFELT, T.; BJÖRKLUND, A.; SWANSON, L. W. (eds). **Handbook of chemical neuroanatomy. Integrated systems**, Elsevier, Amsterdam. 1987, v. 5, p. 1-124.

SWANSON, L. W. Cerebral hemisphere regulation of motivated behaviour. **Brain Res.**, v. 886, n. 1-2, p. 113-164, 2000.

SWANSON, L. W. **Brain Maps: Structure of the rat brain. An Atlas with printed and electronic templates for data, models and schematics.** 3rd edition. Amsterdam: Elsevier. 2004.

TINBERGEN, N. **The study of Instinct.** London: Oxford Univ. Press. 1951.

VOCHTELOO, J. D.; KOOLHAAS, J. M. Medial amygdala lesions in male rats reduce aggressive behavior: interference with experience. **Physiol. Behav.**, v. 41, n. 2, p. 99-102, 1987.

VYAS, A.; KIM, S. K.; GIACOMINI, N. BOOTHROYD, J. C.; SAPOLSKY, R. M. Behavioral changes induced by Toxoplasma infection of rodents are highly specific to aversion of cat odors. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 104, n. 15, p. 6442-6447, 2007.