

Análise crítica dos sistemas neurais envolvidos nas respostas de medo inato

Critical analysis of the neural systems organizing innate fear responses

Newton Sabino Canteras

Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

Resumo O nosso entendimento das bases neurofisiológicas da reação emocional do medo baseia-se em grande parte nos estudos que envolvem respostas condicionadas a estímulos fisicamente aversivos, como, por exemplo, o choque elétrico nas patas. Enquanto este paradigma parece ser útil para avaliarmos os sistemas neurais envolvidos na resposta do, assim chamado, medo condicionado (que tipicamente tem se limitado à observação da resposta de congelamento), este paradigma parece ter sérias limitações para investigarmos as bases neurais das respostas de medo em circunstâncias naturais. Trabalhos recentes utilizando técnicas de lesões neurais bem como de mapeamento funcional em animais expostos a predadores naturais, ou somente ao odor destes predadores, revelam uma série de estruturas neurais como responsáveis pelas respostas de medo inato, bastante distintas daquelas previamente implicadas nas respostas de condicionamento aversivo. Como revisto no presente trabalho, entre estas estruturas temos distritos diferenciados da zona medial do hipotálamo; setores específicos da amígdala e do sistema septo-hipocampal, envolvidos, respectivamente no processamento de pistas relacionadas à presença do predador e na análise contextual do ambiente; e setores da matéria cinzenta periaquedutal, já classicamente envolvidos na expressão de respostas de defesa. Estas informações podem ser potencialmente importantes para a análise e terapêutica de psicopatologias relacionadas aos distúrbios da reação emocional de medo.

Descritores Medo. Ansiedade. Comportamento de Defesa. Medo Condicionado. Amígdala. Hipotálamo. Matéria Cinzenta Periaquedutal.

Abstract *Unconditioned emotional responses elicited by exposure to a predator have served as the prototypical exemplar for analyses of the behavioral biology of fear-related emotionality. However, the primary research model for the study of fear has involved shock-based cue and context conditioning. While these shock-based models have provided a good understanding of neural systems regulating specific conditioned fear-related behaviors (typically freezing), it is not known if the neural systems underlying an array of defensive responses to innate, unconditioned, painless threat stimuli, and conditioning to these stimuli, are the same as those involved in foot shock and its conditioning sequelae. Recent work involving lesions and c-Fos activation in conjunction with predator or predator odor exposure suggest specific neural systems for response to these, potentially different from the systems outlined in Pavlovian fear conditioning studies. As outlined in the present review, these systems include the medial hypothalamic defensive circuit; specific amygdalar and septo-hippocampal territories, involved in processing, respectively, cues related to the predator presence and environmental contextual analysis; and the periaqueductal gray, known to be critically involved in the expression of predator-induced responses. This information may be potentially important in analysis of defense-related psychopathologies and in the design of therapeutic interventions for them.*

Keywords *Fear. Anxiety. Defensive Behavior. Fear Conditioning. Amygdala. Hypothalamus. Periaqueductal Gray Matter.*

Introdução

A pesquisa dos mecanismos neurais envolvidos na elaboração das emoções tem crescido nas últimas décadas. Este fato se deve em grande parte à definição de sistemas neurais e eventos moleculares relacionados às repostas de medo condicionado obtidas a partir de condicionamento Pavloviano clássico, no qual um estímulo fisicamente aversivo (como, por exemplo, choque elétrico nas patas) é pareado a um estímulo neutro (como, por exemplo, um estímulo visual ou auditivo) ou a um contexto específico (como, por exemplo, o local onde o animal recebeu o choque elétrico). Em seguida, a apresentação isolada do estímulo neutro ou do contexto, previamente pareado ao estímulo aversivo, irá provocar uma reação comportamental muito característica de congelamento motor, bem como alterações vegetativas diversas, no conjunto consideradas como sendo a resposta de medo condicionado.¹ Tem sido aceito por diversos pesquisadores que este paradigma usando o condicionamento Pavloviano clássico seria muito conveniente para explorarmos o substrato neural do medo que ocorre em situações naturais, como a exposição a predadores.

Diversos estudos demonstraram que o núcleo central da amígdala tem um papel chave para organizar as respostas de medo condicionado aos estímulos fisicamente aversivos. Lesões deste sítio neural abolem tanto as respostas somatomotoras (congelamento) como vegetativas relacionadas à resposta condicionada.¹ Contudo, este núcleo amigdaliano parece não estar envolvido na organização das respostas comportamentais em situações naturais que evocam medo inato, como durante a exposição a um predador natural, quando as lesões do núcleo central da amígdala parecem não influenciar as respostas comportamentais de fuga e de congelamento motor (B. De Oca, comunicação pessoal).

Na verdade, os estudos que usam o condicionamento Pavloviano clássico têm diversas limitações para explorar o entendimento dos sistemas neurais ligados à expressão emocional do medo. A maior limitação é que estes estudos lidam com o condicionamento a uma resposta aversiva, que não provoca necessariamente medo, tal como o choque elétrico nas patas. Desta forma, fica claro que a análise dos sistemas neurais envolvidos em um condicionamento emocional aversivo usando um estímulo doloroso como não condicionado deve ser ampliada com o entendimento dos sistemas neurais envolvidos na organização das repostas emocionais de medo inato (medo incondicionado).

Medo inato – Paradigma de exposição ao predador natural

Estudos do casal Blanchard descrevem em detalhes os padrões defensivos dos ratos selvagens e de laboratório em resposta aos predadores e aos odores dos predadores, provendo uma análise detalhada dos comportamentos de defesa inata e das situações em que eles ocorrem.²⁻⁹

A resposta de defesa natural (incondicionada) dos roedores consiste das seguintes reações: escape, congelamento motor, ameaça defensiva, ataque defensivo e avaliação de risco. Sem dúvida, uma série de outras reações defensivas ainda precisam ser descritas e estudadas. É importante salientarmos que estes

comportamentos são expressos de forma semelhante em todas as espécies de mamíferos.¹⁰ O fato de serem incondicionados implica que cada uma destas respostas pode ser eliciada em ratos selvagens ou de laboratório sem experiência prévia.

Particularmente em roedores, a exposição de ratos ao gato produz congelamento motor pronunciado, comportamentos de esquiva e elementos de avaliação de risco, tais como orientação ao predador, compatíveis com a esquiva e o congelamento motor.^{2,3} A resposta ao gato também inclui fenômenos adicionais como analgesia¹¹ e alterações plásticas hipocâmpais.¹² Quando o gato é removido do ambiente, observa-se uma intensa reação de avaliação de risco bem como, em menor grau, respostas de congelamento motor e esquiva.⁵ As repostas à exposição ao gato são muito resistentes à habituação, e apresentam um alto grau de condicionamento contextual no local onde ocorreu a exposição.¹³

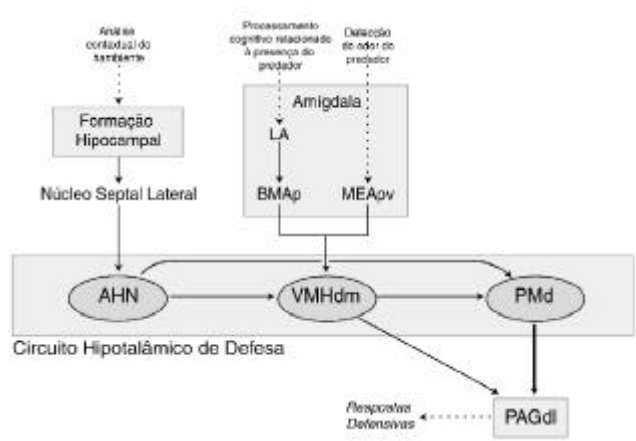
Identificação dos sistemas neurais envolvidos na resposta de medo inato (incondicionado)

Estudos de nosso laboratório nos quais examinamos o padrão de expressão da proteína Fos (um marcador de atividade neuronal) na amígdala, hipotálamo e matéria cinzenta periaquedutal em ratos expostos ao gato revelam dados bastante consistentes para a elucidação do correlato neural das respostas de defesa inata induzidas por um predador natural.¹⁴⁻¹⁸

Amígdala

A amígdala foi um dos primeiros sítios neurais no qual lesões resultaram numa diminuição de resposta de defesa de ratos em resposta ao predador.³ Experimentos de nosso laboratório revelaram nos ratos expostos ao gato um aumento significativo da expressão de Fos na região posteroventral do núcleo medial da amígdala (MEApv), na região posterior do núcleo basomedial da amígdala (BMAp) e na região caudal do núcleo lateral da amígdala (LA). Segundo Dielenberg e colaboradores,¹⁹ o MEApv é particularmente responsivo ao odor do gato, sugerindo que esta região amigdaliana está envolvida no processamento de pistas feromoniais do odor do predador. Por outro lado, tanto o BMAp como o LA não parecem ser mobilizados em resposta ao odor do predador.¹⁹ Acreditamos que estas duas últimas estruturas amigdalianas estão provavelmente envolvidas na integração de outras informações relevantes para a percepção do predador. Em suporte a esta hipótese temos inicialmente que o BMAp é intensamente aferentado pelo LA, e que este conjunto de estruturas, por sua vez, integra informações dos córtices insular, prefrontal e temporal,²⁰ potencialmente ligadas ao processamento cognitivo isocortical relativo à presença do predador.

Achados preliminares de nosso laboratório também indicam que a exposição ao gato induz aumento na expressão de Fos na parte lateral do núcleo central da amígdala (CEAl). Todavia, diversos estudos têm mostrado que este sítio amigdaliano também pode ser mobilizado em outras situações estressantes, tais como: choque nas patas, estresse de restrição, nado forçado e jejum prolongado.^{21,22} (N.S. Canteras, observação pessoal). Como mencionamos acima, neste ponto é



AHN – núcleo hipotalâmico anterior;
 BMAp – núcleo basomedial da amígdala, parte posterior;
 LA – núcleo lateral da amígdala;
 MEApv – núcleo medial da amígdala, parte postero-ventral;
 PAGdl – matéria cinzenta periaquedutal, coluna dorsolateral;
 PMd – núcleo pré-mamilar dorsal;
 VMHdm – núcleo ventromedial, parte dorsomedial.

Figura - Esquema dos sistemas neurais envolvidos nas respostas de medo inato evocadas pela presença de um predador natural.

importante lembrarmos que, apesar do CEA estar criticamente envolvido na expressão das respostas de medo condicionado,¹ lesões restritas a este sítio neural parecem não reduzir a resposta de defesa durante a exposição ao predador (B. De Ocça, comunicação pessoal).

Hipotálamo

A exposição ao gato mobiliza um grupo de estruturas da zona medial do hipotálamo tais como: o núcleo anterior (AHN), a parte dorsomedial do núcleo ventromedial (VMHdm) e o núcleo pré-mamilar dorsal (PMd), os quais compõem o circuito hipotalâmico de defesa.^{14,15,17} Interessantemente, ratos expostos ao contexto onde os animais encontraram previamente um predador também apresentam um claro aumento na expressão da proteína Fos (só que menos intenso do que o observado em resposta a exposição ao predador) no AHN e no PMd, mas não na VMHdm (N.S. Canteras, observação pessoal). O AHN está criticamente envolvido na integração de informações do sistema septo-hipocampal.^{15,17} Os distritos septais que aferentam o AHN são inervados pela região intermediária do campo hipocampal CA1 e do subículum,²³ os quais são particularmente aferentados por grupos amigdalianos responsivos à presença do predador, tais como os núcleos lateral e basomedial.²⁴ Assim, é razoável pensarmos que uma via entre o sistema septo-hipocampal e o AHN possa estar envolvida na modulação tanto da resposta incondicionada como condicionada contextual ligada à presença do predador. De fato, lesões hipocâmpais têm pouco efeito na reação comportamental ao choque elétrico, reduzem o congelamento motor e aumentam as respostas de avaliação de risco durante a presença do predador,³ de forma semelhante ao encontrado para lesões do PMd. Este outro componente do circuito de

defesa hipotalâmico recebe densas projeções dos outros elementos deste sistema e ocupa uma posição estratégica para acionar a matéria cinzenta periaquedutal.^{14,25} Os fatos sugerem que as lesões do AHN, e do PMd também, possam ter um impacto tanto na reação incondicionada como na condicionada contextual em resposta ao predador.

O VMHdm, por sua vez, aumenta a expressão de Fos, particularmente em resposta à presença do predador, mas não em resposta ao contexto previamente associado ao predador. Em consonância com estes achados, temos que o VMHdm integra preferencialmente informações de sítios amigdalianos que respondem à presença do predador, tais como o MEApv e o BMAp.¹⁵ É importante destacarmos que o VMHdm também pode ser mobilizado em resposta à apresentação isolada do odor do gato.¹⁹ Esses achados sugerem que a lesão do VMHdm pode interferir no comportamento observado em resposta à exposição do gato e nos testes de apresentação do odor do gato, mas devem ter um impacto bem menor nas respostas de condicionamento contextual.

Matéria Cinzenta Periaquedutal (PAG)

Estudos clássicos de Hunsperger²⁶ mostraram que a lesão na PAG resulta num animal muito passivo que parece não apresentar reação defensiva quando confrontado com um predador. Em resposta ao encontro com o predador, temos a mobilização de locais específicos da PAG, tais como as colunas dorsolateral, dorsomedial e ventrolateral.^{16,18} A coluna dorsolateral da PAG está particularmente envolvida na integração de respostas ao estresse de origem psicológica,²⁷ enquanto que a coluna ventrolateral da PAG integra respostas condicionadas a estímulos aversivos,²⁸ bem como respostas comportamentais que ocorrem na fase recuperativa de uma situação estressante.²⁷

Conclusões

Nossos achados, em conjunto com dados da literatura, nos possibilitam delinear um esboço dos sistemas neurais envolvidos na organização das respostas de defesa inata induzidas pela presença de um predador. O esquema destes sistemas está mostrado na Figura.

Durante a exposição ao gato, sistemas amigdalianos específicos estão envolvidos na detecção da presença do predador, e irão mobilizar preferencialmente o VMHdm, entre as estruturas do circuito de defesa hipotalâmico. Concomitantemente, a formação hipocampal também pode ser modulada por estas estruturas amigdalianas – estando envolvido na associação entre a ameaça do predador e o ambiente onde o animal encontrou este estímulo. Notamos ainda que o sistema septo-hipocampal, através de projeções para o AHN, também pode modular o circuito de defesa hipotalâmico. Este último, por sua vez, integrando tanto informações amigdalianas como hipocâmpais, está numa posição que permite regular a PAG, a qual está criticamente envolvida na expressão das respostas de defesa evocadas pelo predador.

Referências

1. LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:155-84.
2. Blanchard RJ, Blanchard DC. Defensive reactions in the albino rat. *Learn Motivation* 1971;21:351-62.
3. Blanchard RJ, Blanchard DC. Effects of hippocampal lesions on the rat's reaction to a cat. *J Comp Physiol Psychol* 1972;78:77-82.
4. Blanchard DC, Blanchard RJ. Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. *J Comp Physiol Psychol* 1972;81:281-90.
5. Blanchard RJ, Blanchard DC, Hori K. Ethoexperimental approaches to the study of defensive behavior. In: Blanchard RJ, Brain PF, Blanchard DC, Parmigiani S, eds. *Ethoexperimental approaches to the study of behavior*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1989. p. 114-36.
6. Blanchard RJ, Blanchard DC, Rodgers RJ, Weiss SM. The characterization and modelling of antipredator defensive behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1990;14:463-72.
7. Blanchard DC, Blanchard RJ, Lee EMC, Williams G. Taming in the wild Norway rat following lesions in the basal ganglia. *Physiol Behav* 1981;27:995-1000.
8. Blanchard DC, Blanchard RJ, Rodgers RJ. Risk assessment and animal models of anxiety. In: Olivier B, Mos J, Slangen JL, eds. *Animals Models in Psychopharmacology*. Basel: Birkhauser Verlag AG; 1991. p. 117-34.
9. Blanchard DC. Stimulus and environmental control of defensive behaviors. In: Bouton M, Fanselow M, eds. *The functional behaviorism of Robert C. Bolles; Learning, motivation and cognition*. Washington (DC): American Psychological Association; 1997. p. 283-305.
10. Blanchard RJ, Yang M, Li C-I, Garvacio A, Blanchard DC. Cue and context conditioning of defensive behaviors to cat odor stimuli. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;26:587-95.
11. Fox RJ, Sorenson CA. Bilateral lesions of the amygdala attenuate analgesia induced by diverse environmental challenges. *Brain Res* 1994;648:215-21.
12. Mesches MH, Fleshner M, Heman KL, Rose GM, Diamond DM. Exposing rats to a predator blocks primed burst potentiation in the hippocampus in vitro. *J Neurosci* 1999;19(RC18):1-5.
13. Blanchard RJ, Nikulina JN, Sakai RR, McKittrick C, McEwen BS, Blanchard DC. Behavioral and endocrine change following chronic predatory stress. *Physiol Behav* 1998;63:561-9.
14. Canteras NS, Chiavegatto S, Ribeiro do Valle LE, Swanson LW. Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. *Brain Res Bull* 1997;44:297-305.
15. Canteras NS, Ribeiro-Barbosa ER, Comoli E. Tracing from the dorsal premammillary nucleus prosencephalic systems involved in the organization of innate fear response. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;25:661-8.
16. Canteras NS, Goto M. Fos-like immunoreactivity in the periaqueductal gray of rats exposed to a natural predator. *NeuroReport* 1999;10:413-8.
17. Canteras NS. The medial hypothalamic defensive system: hodological organization and functional implications. *Pharmacol Biochem Behav* 2002;71:481-91.
18. Comoli E, Ribeiro-Barbosa ER, Canteras NS. Predatory hunting and exposure to a live predator induce opposite patterns of Fos immunoreactivity in the PAG. *Behav Brain Res* 2003;138:17-28.
19. Dielenberg RA, Hunt GE, McGregor IS. "When a rat smells a cat": the distribution of c-fos expression in rat brain following exposure to a predator odor. *Neuroscience* 2001;104:1085-97.
20. Swanson LW, Petrovich GD. What is the amygdala? *Trends Neurosci* 1998;21:323-31.
21. Pezzone MA, Lee WS, Hoffman GE, Rabin BS. Induction of c-Fos immunoreactivity in the rat forebrain by conditioned and unconditioned aversive stimuli. *Brain Res* 1992;597:41-50.
22. Chen X, Herbert J. Regional changes in c-Fos expression in the basal forebrain and brainstem during adaptation to repeated stress. Correlations with cardiovascular, hypothermic and endocrine responses. *Neuroscience* 1995;64:675-85.
23. Risold PY, Swanson LW. Connections of the rat lateral septal complex. *Brain Res Rev* 1997;24:115-95.
24. Petrovich GD, Canteras NS, Swanson LW. Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior system. *Brain Res Rev* 2001;38:247-89.
25. Blanchard DC, Li C-I, Hubbard D, Markham C, Yang M, Takahashi LK, Blanchard RJ. Dorsal premammillary nucleus differentially modulates defensive behaviors induced by different threat stimuli. *Neurosci Lett* 2003;345:145-8.
26. Hunsperger RW. Affektreaktionen auf elektrische Reizung im Hirnstamm der Katze. *Helv Physiol Pharmacol Acta* 1956;14:70-92.
27. Keay KA, Bandler R. Parallel circuits mediating distinct emotional coping reactions to different types of stress. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;25:669-78.
28. Vianna DML, Landeira-Fernandez J, Brandão ML. Dorsolateral and ventral regions of the periaqueductal gray matter are involved in distinct types of fear. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;25:711-9.

Correspondência: Newton Sabino Canteras

Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo

Av. Prof. Lineu Prestes, 1524 - 05508-900 São Paulo, SP, Brasil

Email: newton@fisio.icb.usp.br