

RAFAEL PLAKOUDI SOUTO MAIOR

**AVALIAÇÃO DA VIA COLÍCULO-PULVINAR NO PROCESSAMENTO DAS
EMOÇÕES E COGNIÇÃO SOCIAL EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS**

Brasília
2011



Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

RAFAEL PLAKOUDI SOUTO MAIOR

**AVALIAÇÃO DA VIA COLÍCULO-PULVINAR NO PROCESSAMENTO DAS
EMOÇÕES E COGNIÇÃO SOCIAL EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

ORIENTADOR: PROF. DR. CARLOS ALBERTO BEZERRA TOMAZ

Brasília
2011

RAFAEL PLAKOUDI SOUTO MAIOR

**AVALIAÇÃO DA VIA COLÍCULO-PULVINAR NO PROCESSAMENTO DAS
EMOÇÕES E COGNIÇÃO SOCIAL EM PRIMATAS NÃO-HUMANOS**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutor em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 05 de Dezembro de 2011

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz (Presidente)
Universidade de Brasília**

**Profa. Dra. Maria Angélica de Souza Silva
Universidade de Dusseldorf**

**Profa. Dra. Márcia Renata Mortari
Universidade de Brasília**

**Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra
Universidade de São Paulo**

**Prof. Dr. Joaquim Brasil Neto
Universidade de Brasília**

**Prof. Dr. Valdir Filgueiras Pessoa
Universidade de Brasília (Suplente)**

**Prof. Dr. Vítor Augusto Motta Moreira
Universidade de Brasília (Suplente)**

AGRADECIMENTOS

Aos familiares e amigos que, por vias diretas e indiretas, impulsionaram-me para realização desta etapa da minha vida acadêmica.

Ao Prof. Dr. Tales Alexandre Aversi-Ferreira e Yandra Cássia Lobato do Prado, pelo inestimável auxílio na aquisição dos animais experimentais.

A Rosângela Rodrigues, Maya Romano, Eduardo de Almeida Gutierrez e Renata Bezerra Duarte Migliolo, pela colaboração na coleta de dados. A Patrícia Grandizoli Saletti, pela incansável dedicação e auxílio na análise dos vídeos. Ao Dr. Carlos Enrique Uribe pela assistência estatística.

A Geinaldo da Silva, Adão Pedro da Silva e Raimundo Oliveira pelo excelente cuidado com os sujeitos experimentais. Ao Prof. Dr. Ricardo Miyasaka de Almeida, pela anestesia e assistência geral nos procedimentos cirúrgicos. A Danilo Simonini Teixeira pela presteza e dedicação em inúmeros aspectos do presente trabalho.

Ao Prof. Dr. Valdir Filgueiras Pessoa que, mesmo não sendo participante direto, influenciou minha conduta pela postura serena e companheirismo inestimável.

Ao Prof. Dr. Etusro Hori, por desempenhar papel fundamental nos procedimentos cirúrgicos e pela nipônica paciência frente aos problemas e limitações encontrados no decorrer dos dois estudos que formam este trabalho.

Ao Prof. Dr. Hisao Nishijo da Universidade de Toyama, Japão, por acreditar no nosso potencial e batalhar pela nossa cooperação e financiamento deste projeto.

A Profa. Dra. Maria Clotilde Henrique Tavares, pelos conselhos e profícuas discussões sobre emprego ético de primatas não-humanos.

A Profa. Dra. Marília Barros, a quem devo, em grande parte, minha formação como pesquisador desde meus primeiros passos na ciência.

Finalmente, ao meu “mestre” e orientador Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz, por sua visão pragmática e decisiva, sobretudo onde me faltavam experiência, calma e disciplina para finalizar as várias fases do meu doutorado. E, principalmente, pelos agora onze anos de paciente orientação acadêmica.

“Há uma única luz da ciência, e faze-la brilhar em qualquer lugar é faze-la brilhar em toda parte.”

Isaac Asimov

RESUMO

Mecanismos de defesa em primatas dependem do reconhecimento rápido de potenciais predadores e pistas sociais de coespecíficos como expressões faciais de emoção. O complexo amigdalóide (AM) é considerado o centro da circuitaria neural responsável pela detecção de ameaça. Apesar de ser essencial no processamento de estímulos emocionais, a AM parece não estar envolvida nas primeiras etapas deste processo. Várias linhas de investigação vêm recentemente indicando que a via colículo-pulvinar pode preencher essa lacuna, especialmente durante a infância. Para avaliar a contribuição de ambas estruturas (colículo superior e pulvinar) no processamento de estímulos relevantes para sobrevivência, o presente trabalho divide-se em dois estudos. No primeiro estudo, a atividade elétrica individual de neurônios do pulvinar foi registrada durante o reconhecimento de faces emocionais em uma tarefa de escolha diferente do modelo. Nesta tarefa, foram utilizadas faces com diferentes expressões emocionais (tristeza, raiva, alegre, surpresa e neutra), além de figuras geométricas simples como controle de estímulo. De um total de 184 neurônios registrados das regiões lateral e medial do pulvinar de dois macacos japoneses (*Macaca fuscata*), 22% respondiam a estímulos visuais. Os resultados indicam que 43,9% destes “neurônios visuais” responderam diferencialmente a expressões emocionais de faces. A latência das respostas neuronais no pulvinar variou largamente: o início de disparos para 16 neurônios (39,0%) ocorreu antes de 100 ms, ao passo que, para 13 neurônios (31,7%), ocorreu depois de 300 ms. Essa distribuição variada de latências sugere que os neurônios do pulvinar intermediam conexões intracorticais assim como uma via subcortical mais rápida para a AM. No segundo estudo, filhotes de macaco-prego (*Cebus spp.*) foram submetidos à lesão neurotóxica bilateral do colículo superior. O comportamento social deles foi avaliado no próprio viveiro (comportamento espontâneo), assim como em dois testes sociais: dominância social e interação com adultos estranhos. Eles também foram testados em um paradigma de conflito ameaça-recompensa em que uma recompensa (comida) foi apresentada junto com um estímulo de ameaça (modelo de serpente de

borracha). Os resultados dos testes comportamentais sugerem que a lesão no colículo superior não altera os níveis de interação social. Entretanto os animais lesados mostraram uma clara desinibição comportamental em relação a serpente. Falta de inibição nesta tarefa foi observada até um ano após o primeiro teste. Esse duradouro déficit de reconhecimento de um predador natural é similar ao aspecto de docilidade da Síndrome de Klüver-Bucy e indica um papel importante do colículo superior no reconhecimento de ameaças. Em conjunto, os resultados dos dois estudos sugerem que a via colículo-pulvinar exerce um papel importante no processamento de estímulos relevantes para a sobrevivência, sejam pistas sociais e/ou estímulos de ameaça.

Palavras-chave: Pulvinar, Colículo Superior, Ameaça, Cognição Social, Primatas não-humanos.

ABSTRACT

Defense mechanisms in primates rely on the fast recognition of potential predators and social cues of conspecifics such as facial expressions of emotions. The neural circuitry responsible for the detection of threat is generally thought to be centered on the amygdala. Although it is a pivotal structure in the processing of emotional stimuli, the amygdala does not seem necessary for the early stages of this process. Converging findings from several lines of investigation have been pointing to the colliculo-pulvinar pathway as a possible candidate to fill in this gap, especially during infancy. To evaluate the contribution of both structures (superior colliculus and pulvinar) to the processing of survival-relevant stimuli, the present work is divided into two studies. In the first study, we recorded single-unit activity of pulvinar neurons in two Japanese monkeys (*Macaca fuscata*) during recognition of emotional faces in a delayed non-match-to-sample (DNMS) task, using human face stimuli with differing emotional expressions (sad, angry, happy, surprised and neutral) and simple geometric pattern control figures. From a total of 184 single neurons sampled from lateral and medial pulvinar, 22% were “visually responsive”. The results thus indicate that 43.9% of the visually responsive pulvinar neurons differentially responded to the emotional expressions of human faces. Response latencies of the pulvinar neurons to these facial stimuli ranged very widely; firing onsets for 16 (39.0%, 16/41) neurons were shorter than 100 ms, while for 13 (31.7%, 13/41) it was greater than 300 ms. This wide distribution of response latencies in pulvinar neurons suggests that pulvinar neurons might mediate intracortical connections as well as the fast subcortical pathway to the amygdala. In the second study, infant capuchin monkeys (*Cebus spp.*) were submitted to bilateral neurotoxic lesion of the superior colliculus. Their social behavior was analyzed in their home cage (spontaneous behavior) as well as in two social tests: social dominance and interaction with strange adults. They were also tested in a threat-reward conflict test where food reward was presented with a threatening stimulus (rubber snake). Results from social behavioral tests suggest that superior colliculus lesion does not affect spontaneous social interaction.

Nevertheless, lesioned monkeys were uninhibited by a snake in a food-reward retrieval task. Lack of inhibition in the task was observed over the course of one year. The long lasting recognition impairment of a natural predator observed here is similar to the tameness aspects of Klüver–Bucy syndrome, indicating an important role of this structure in threat recognition. Taken together, results from both studies indicate that the colliculo-pulvinar pathway plays an important role in the processing of survival-relevant stimuli, either social cues and/or threatening stimuli.

Keywords: Pulvinar, Superior Colliculus, Threat, Social Cognition, Non-human primates

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema do circuito colículo-pulvinar_____	15
Figura 2 – Exemplar de macaco-prego_____	19
Figura 3 – Exemplares de macaco japonês_____	20
Figura 4 – Estímulos visuais e padrão esquemático EDMA_____	29
Figura 5 – Ressonância magnética com localização do pulvinar_____	30
Figura 6 – Representação esquemática do aparato de registro e tarefa_____	31
Figura 7 – Histograma, superposição de ondas e auto-correlogramas (pulvinar)___	33
Figura 8 – Exemplo de ativação neuronal diferencial do pulvinar_____	34
Figura 9 – Exemplo de comparação entre estímulos da atividade pulvinar_____	34
Figura 10 – Distribuição de neurônios segundo latência de resposta_____	35
Figura 11 – Ressonância magnética com hiper-sinal pós-cirúrgico_____	43
Figura 12 – Arena de testes para interação com adulto_____	45
Figura 13 – Modelo de serpente de borracha (confronto com predador)_____	47
Figura 14 – Gráfico: Comportamentos sociais_____	49
Figura 15 – Gráfico: Contato visual_____	50
Figura 16 – Gráfico: Interação com adulto estranho (duração)_____	50
Figura 17 – Gráfico: Interação com adulto estranho (frequência)_____	50
Figura 18 – Gráfico: Interação com adulto estranho (latência)_____	51
Figura 19 – Gráfico: Dominância social (latência)_____	51
Figura 20 – Gráfico: Dominância social (duração)_____	51
Figura 21 – Gráfico: Dominância social (frequência total)_____	52
Figura 22 – Latência até o alvo no teste de confronto com predador_____	52
Figura 23 – Vias visuais de reconhecimento de estímulos_____	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AM	Corpo amigdalóide; amígdala
ANOVA	Análise de variância
CP	Centro de Primatologia
CS	Colículo superior
CETAS	Centro de Triagem de Animais Silvestres
CEUA-IB	Comitê de Ética no uso animal do Instituto de Biologia
CCD	Charge-coupled device
EDMA	Escolha diferente do modelo, com atraso
FAL	Fazenda Água Limpa
FLAIR	Fluid attenuated inversion recovery
GF	Giro fusiforme
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IBO	Ácido ibotênico
JSPS	Japan Society for Promotion of Science
JST	Japan Science and Technology Agency
MAP	Multi-channel Acquisition Processor
NGL	Núcleo geniculado lateral
NIH	National Institute of Health
TTL	Transistor-transistor logic

SUMÁRIO

1	Introdução geral _____	12
1.1	<i>O funcionamento da amígdala no reconhecimento das emoções e de ameaças</i> _____	13
1.2	<i>Via colículo-pulvinar</i> _____	14
1.3	<i>Autismo e distúrbios do desenvolvimento</i> _____	17
1.4	<i>O uso de primatas em pesquisas</i> _____	18
2	Materiais e método (Estudo 1) _____	25
2.1	<i>Sujeitos</i> _____	25
2.2	<i>Cirurgias</i> _____	26
2.3	<i>Procedimentos de registro e aquisição de dados</i> _____	27
2.4	<i>Análise de dados</i> _____	28
3	Resultados (Estudo 1) _____	32
4	Discussão (Estudo 1) _____	36
4.1	<i>Comparação entre reconhecimento facial de primatas humanos e não-humanos</i> _____	36
4.2	<i>Características das respostas de neurônios do pulvinar</i> _____	36
4.3	<i>O papel do núcleo pulvinar</i> _____	38
5	Materiais e método (Estudo 2) _____	39
5.1	<i>Sujeitos</i> _____	39
5.2	<i>Cirurgias</i> _____	40
5.3	<i>Análise Comportamental</i> _____	43
6	Resultados _____	48
7	Discussão _____	53
8	Discussão geral _____	56

9	Conclusão	60
10	Referências	61
	Anexo A – Aprovação do CEUA-IB/UnB	74
	Apêndice A – Planta Baixa e vista lateral do pavilhão	75
	Apêndice B – Construção do Pavilhão	76
	Apêndice C – Obra finalizada	77
	Apêndice D – Artigo publicado na Behavioral Brain Research	78
	Apêndice E – Artigo publicado na Neuroscience Letters	79

1 INTRODUÇÃO GERAL

As relações sociais mantidas em sociedades humanas são em grande parte regidas pela nossa capacidade de interagir com outros membros de nossa espécie. Em outras palavras, a cognição social de cada indivíduo reflete quão bem este se adequa ao seu meio social. Nesse sentido, primatas não-humanos mantêm marcantes similaridades com humanos. Em sua maioria, macacos se organizam em famílias e grupos, e desses dependem para proteção, alimentação e reprodução (1, 2). É da capacidade de se relacionar com seus pares que depende, portanto, a própria sobrevivência do indivíduo.

O desenvolvimento das espécies primatas (assim como todos os mamíferos) é um processo que principia desde a fusão do óvulo com o espermatozoide e continua até a morte do indivíduo. A gestação, infância, adolescência, idade adulta e envelhecimento são as fases naturais do desenvolvimento (3). Apesar de os estudos sobre o desenvolvimento serem mais facilmente executados pós-parto, várias características biológicas e psicológicas já podem ser influenciadas pelo ambiente mesmo durante o desenvolvimento intrauterino (eg. 4). Não obstante, os processos mais críticos para o desenvolvimento cognitivo e emocional ocorrem na infância (5). É nesta fase onde se dão as primeiras interações sociais e afetivas. De uma forma geral, todos os primatas formam grupos e/ou estruturas sociais relativamente estáveis (2). Tais grupos são estabelecidos com estruturas hierárquicas que são mantidas a partir da interação social entre os membros deste grupo. Assim, o estabelecimento dos laços sociais na infância é fundamental para futura inserção do indivíduo no grupo (6).

Após o parto, estruturas neurológicas importantes para o desenvolvimento da emoção e cognição social ainda não estão completamente consolidadas em primatas (7-10). Várias estruturas só adquirem a sua forma e as conexões finais depois de alguns meses de vida. O intervalo necessário para isso varia entre as espécies, mas fica claro que as primeiras experiências, na infância, podem moldar significativamente a formação cognitivo-emocional do indivíduo. Por essa razão, o estudo dos processos desenvolvimentais durante os primeiros anos ou meses de vida pode gerar pistas para o entendimento da habilidade social e emocional na vida

adulta. Desvendar os fatores que influenciam o desenvolvimento da cognição social na infância permite gerar técnicas e intervenções que favoreçam esse desenvolvimento assim como ajuda a tratar desordens ou distúrbios relacionados a ele.

O presente estudo pretende avançar o conhecimento neurofisiológico acerca da inter-relação da cognição social, emoções e mecanismos de defesa. O enfoque será dado aqui a duas estruturas subcorticais tradicionalmente relacionadas com atenção a estímulos visuais, a saber: o colículo superior (CS) e o núcleo pulvinar do tálamo (PUL). Estas mantêm forte conexão com o complexo amigdalóide, ou amígdala (AM; 11), reconhecida como crucial centro de processamento emocional do cérebro. Apesar de não ser alvo dos experimentos inclusos neste estudo, a AM e sua inter-relação com as estruturas de interesse e com os demais elementos dos circuitos de emoção e defesa do cérebro são parte inerente aos resultados aqui visados. Faz-se necessário portanto um preâmbulo discutindo os dados publicados na literatura científica internacional que implicam tanto a AM quanto o CS e PUL na regulação das emoções e cognição social de primatas.

1.1 O FUNCIONAMENTO DA AMÍGDALA NO RECONHECIMENTO DAS EMOÇÕES E DE AMEAÇAS

Está bem estabelecido o papel crucial da AM no processamento das emoções (12-16). A AM foi, ao longo de muitos anos, consistentemente relacionada com a regulação das emoções, sobretudo medo e ansiedade por diversas técnicas: lesão e técnicas de neuroimagem (12, 17-20). Além disso, esta estrutura começou a ser relacionada também no reconhecimento de emoções (21-23). O trabalho de Phelps e colaboradores (23) mostra a atividade da AM frente a estímulos de faces de medo sem haver percepção consciente do estímulo. Sujeitos humanos foram submetidos a uma sessão de ressonância magnética funcional em que eles foram instruídos sobre o aparecimento de um estímulo que levaria a uma situação aversiva (choque elétrico) e outro neutro. A atividade da AM esquerda face ao estímulo de ameaça foi correlacionada com a resposta galvânica da pele antes mesmo da percepção do paciente de que estímulo estava sendo mostrado (o que configura o denominado

blindsight). Isto evidencia uma função da estrutura intimamente ligada ao processamento rápido (inconsciente) de informações socialmente relevantes.

A rápida detecção de estímulos potencialmente perigosos ou de ameaça, como predadores ou faces emocionais, também parece estar centrada na atividade amigdalar (24). Entretanto dados recentes indicam que a atenção a tais estímulos e o processamento imediato dessas informações precedem a ativação amigdalar (25, 26). Face a tais resultados, a AM teria uma papel de modulação do reconhecimento ou detecção deste tipo de estímulo. A AM recebe inúmeras aferências de áreas corticais sensoriais multimodais, além de estabelecer contato com áreas corticais e subcorticais envolvidas na preparação de comportamento motor, regulação autonômica e visceral, e ainda de áreas responsáveis por atividades cognitivas avançadas (6, 27, 28). Não por acaso, a lesão do complexo amigdalar em primatas já foi proposta como modelo não-humano de autismo (para revisão, ver 6). Os achados desse tipo de modelo indicam que o comportamento social de primatas é regulado por um sistema complexo em que a AM, além do córtex órbito-frontal, desempenham um papel fundamental. Dados também apontam para a existência de períodos críticos no desenvolvimento de primatas e que coincidem com a maturação da AM (6). Assim, pode-se dizer que a AM é um importante centro de integração e modulação de informações relevantes à sobrevivência, incluindo estímulos socio-emocionais.

1.2 VIA COLÍCULO-PULVINAR

Dados recentes oriundos de pesquisas envolvendo outras regiões do cérebro começam a apontar para um circuito neural subcortical que transmitiria os estímulos sociais e emocionais para a AM. A Figura 1 ilustra esta rota neural para o processamento destes estímulos que envolve o CS, o núcleo pulvinar do tálamo e a AM. (11, 29-32).

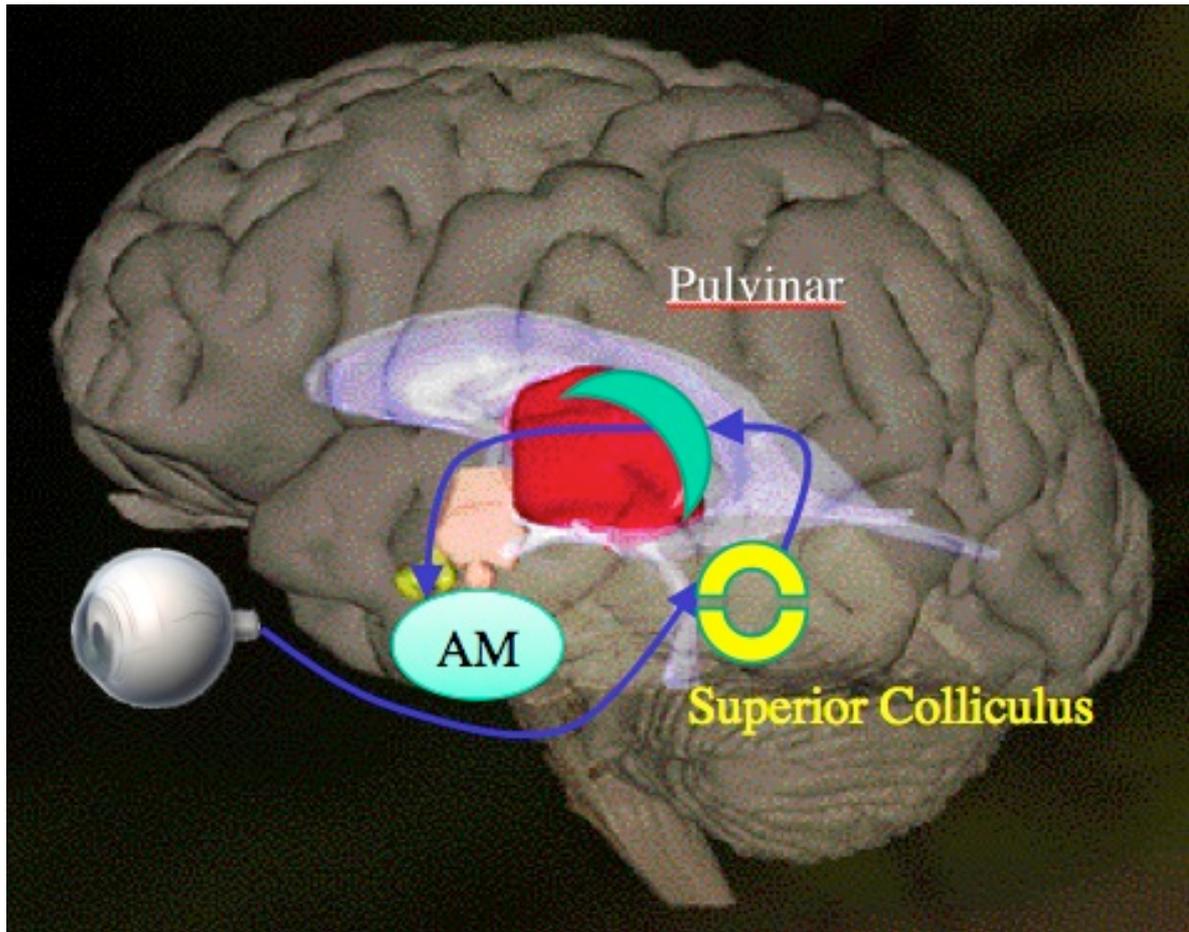


Figura 1. Esquema de conexões da via colículo-pulvinar; eferência da retina projetada para o colículo superior, pulvinar e, por fim, a amígdala.

Fonte: Open University Israel (modificado).

Demonstrou-se que o PUL inferior é o grande alvo das projeções do CS em macacos (31, 33). Demonstrou-se também que a AM recebe uma aferência substancial do PUL medial (11). Entretanto, somente mais recentemente alguns estudos têm relacionado a atividade do CS e PUL na resolução de situações emocionais críticas que requerem uma resposta rápida. Ward et al. (34) sugeriram que a via colículo-pulvinar provê uma rota de informações rápidas e brutas (i.e. não refinadas) para estímulos emocionais. No estudo destes pesquisadores, um paciente com lesão no PUL esquerdo mostrou respostas mais lentas em relação a estímulos visuais de ameaça, ressaltando a importância do PUL no processamento rápido de estímulos emocionais. Nessa mesma linha, a ativação da AM mostrou-se estar diretamente relacionada com a ativação da via colículo-pulvinar durante o processamento inicial de faces emocionais (35, 36). Vuilleumier et al. (37) demonstraram que padrões de baixa frequência desses estímulos sociais (expressões faciais de emoção) preferencialmente ativam a via colículo-pulvinar.

Isso confirma o papel desta via, operando com informações brutas.

Um dado de extrema importância para o estudo do autismo, entretanto, é o fato desta rota neural ter sido relacionada ao processamento e identificação de faces familiares e ao processamento e reconhecimento de faces emocionais (34, 38, 39). Desordens do espectro autístico acarretam drástica deficiência no contato visual social. Isto é comumente evidenciado pela redução do contato visual dos pacientes com outras pessoas e reduzida capacidade de reconhecimento de emoções (40). Esses sintomas podem ser ocasionados por falha ou disfunção desta via colículo-pulvinar.

Uma das funções primárias do CS inicialmente encontradas nos estudos neurocientíficos foi o controle ocular. As camadas intermediárias e profundas do CS estão envolvidas na regulação dos movimentos sacádicos dos olhos e direcionamento visual para estímulos salientes assim como comportamentos defensivos (41-43). Mais recentemente ele vem sendo consistentemente implicado na integração de estímulos audiovisuais (44-46). Gelder e colaboradores (47) encontraram, em estudos de neuroimagem, uma ativação da AM e do CS congruentes com a apresentação de estímulos audiovisuais. A ativação neste estudo também ocorreu antes da percepção consciente do evento pelos participantes. Além disso, o CS também já foi implicado em processos de atenção e saliência de estímulos (48). Em outras palavras, o CS apresenta-se como uma estrutura crítica na integração multissensorial, sobretudo de estímulos de maior valor de sobrevivência, a saber: estímulos de ameaça, de comunicação social e valência afetiva em geral. Como primeira estrutura a receber as informações da retina nesta rota, o CS seria o primeiro estágio de processamento da informação social. Lembramos que o processamento de informações emocionais, sobretudo faces emocionais, são elementos fundamentais da cognição social. Ainda somado ao comprovado papel do CS na integração audiovisual (descrito acima), hipotetizamos que o CS tem um grande peso no desenvolvimento social das emoções.

Recentemente o grupo do laboratório System Emotional Science da Universidade Toyama, Japão, que trabalha em colaboração com o nosso laboratório, tem investigado a atividade eletrofisiológica, tanto da AM quanto do PUL de macacos na cognição e emoções. Nossos resultados demonstram um importante papel da AM no processamento de faces, direção de olhar e orientação da cabeça (49, 50). Conforme mencionado acima, a fixação do olhar no rosto parece depender

da ativação da AM e esta ativação parece ser deficiente no autismo (51). Assim, há indícios eletrofisiológicos substanciais para o envolvimento da via colículo-pulvinar em importantes características do espectro autista. Entretanto, estudos utilizando outras técnicas, como a lesão dos corpos celulares desta região, são fundamentais para determinar o papel do CS na gênese fisiopatológica do autismo.

1.3 AUTISMO E DISTÚRBIOS DO DESENVOLVIMENTO

Entre as desordens do desenvolvimento, o autismo destaca-se como um distúrbio grave que afeta 73 em cada 10.000 crianças no mundo (52). Os sintomas abarcam uma grande gama de comportamentos, incluindo prejuízos na interação social, linguagem, comunicação e cognição (40). Estes costumam persistir por toda a vida do indivíduo. Os primeiros sintomas costumam surgir nos primeiros 3 anos de idade (DSM-IV, 53), destacando-se aspectos emocionais da doença. A etiologia do autismo se mostra fortemente ligada a fatores genéticos, ainda que os mecanismos de hereditariedade sejam muito complexos e estejam sujeitos a influências ambientais (52).

Anomalias na conformação de várias estruturas cerebrais e suas correspondentes alterações comportamentais já foram identificadas em pacientes autistas. Anormalidades motoras foram correlacionadas com problemas de conexão no tronco cerebral, tálamo e núcleos da base (54-56). O tronco cerebral e cerebelo especificamente foram também relacionados com as dificuldades de aprendizagem comuns no distúrbio (56, 57). Vários estudos também apontam para alterações em estruturas do sistema límbico. Na AM e no hipocampo foram encontradas anomalias no tamanho destas estruturas, mas tem havido grandes variações nos resultados. Estas diferenças são possivelmente resultado de diferenças nas técnicas utilizadas por laboratórios distintos (para revisão, ver 58).

Um pouco mais consistentes são as observações de redução de massa e metabolismo encontradas no giro do cíngulo nos cérebros de autistas identificadas em estudos *post-mortem* e em estudos utilizando a técnica de ressonância magnética funcional (59, 60). As dificuldades e prejuízos no processamento de faces por indivíduos autistas têm sido correlacionadas com alterações no funcionamento

do giro fusiforme (61-63). Apesar de um estudo mais recente ter demonstrado uma ativação normal desta estrutura em autistas (64), Dalton e colaboradores (51) demonstraram que menor ativação do giro fusiforme se dá pela diminuição da fixação do olhar. Esta alteração por sua vez estaria associada ao funcionamento da AM. Ainda assim, mesmo sendo uma patologia essencialmente relacionada ao funcionamento cerebral, não foi possível definir inequivocamente um mecanismo e, nem mesmo, um modelo que englobe todos aspectos patofisiológicos do autismo. Não obstante, dados muito recentes apontam para a hipofunção da AM e de uma de suas vias aferentes em autistas adultos submetidos a testes de reconhecimento de faces com emoções (65). A busca para se estabelecer as estruturas neurais subjacentes a este distúrbio é de grande importância para, primeiro, se compreender as bases e interações deste e, segundo, permitir melhores intervenções e tratamento.

É importante notar, contudo, que nem o presente trabalho, nem os trabalhos aqui citados pretendem reduzir todo o espectro sindrômico de um distúrbio tão vasto e global, como o autismo e a Síndrome de Rett, unicamente ao mau funcionamento de uma estrutura ou uma via cerebral. A diversidade de sintomas e de perfis nestas desordens coíbe explicações simplistas como esta (66). Qualquer que seja a etiologia do autismo, por exemplo, é provável que sua caracterização fisiológica inclua uma complexa interação entre estruturas cerebrais, fatores ambientais e etapas do desenvolvimento. Não obstante, a investigação controlada e isolada de possíveis estruturas envolvidas nestes distúrbios continua sendo um passo importante para o entendimento e futura intervenção.

1.4 O USO DE PRIMATAS EM PESQUISAS

No presente trabalho, foram empregados dois gêneros de primatas não-humanos: *Cebus* e *Macaca*. Ambos são formados por macacos de médio porte que apresentam grande capacidade cognitiva e vasto repertório comportamental, assim como delineado abaixo.

O macacos do gênero *Cebus* (macacos-prego; figura 2) tem sido alvo de bastante interesse científico, especialmente nos últimos anos, por ser composto de animais de grande capacidade cognitiva. Recentes observações acerca da utilização de ferramentas em habitat natural e em cativeiro aumentaram significativamente o interesse científico por eles. É interessante notar entretanto que os primeiros relatos de uso de ferramentas por macacos-prego tenham sido feitos já há alguns séculos (para revisão, ver 2). Poucas espécies de primatas, além de humanos, são capazes de utilizar objetos como ferramentas, entre eles: chimpanzés, orangotangos e gorilas. Essa capacidade, portanto pode ser considerada um indicador de grande capacidade cognitiva. Ela é também uma habilidade socialmente transmitida que ocorre via interação social, exigindo um repertório mínimo de aprendizagem. Isso sublinha a importância do desenvolvimento das interações sociais nesse gênero, assim como na espécie humana. Além da utilização de ferramentas, todo o gênero *Cebus* apresenta um complexo repertório comportamental nas relações sociais com interespecíficos e membros de outras espécies. Nesse repertório, também inclui-se uma comunicação social por meio de sons, gestos e, mais importante, expressões faciais (2, 67).



Figura 2. Exemplar de macaco do gênero *Cebus*. Foto de: Roy Fontaine, retirado de <http://pin.primate.wisc.edu/idp/>

O gênero *Macaca* (Figura 3), por sua vez, já é largamente empregado mundo afora, há várias décadas, como sujeito experimental em pesquisas biomédicas. A

espécie de interesse para o presente estudo é a *Macaca fuscata*, conhecido como macaco japonês. Ela guarda a maior similaridade filogenética com o macaco rhesus (*Macaca mulata*) (68), que é provavelmente a mais utilizada em pesquisa entre toda ordem dos primatas. Ambas apresentam, assim como macacos-prego, alto nível cognitivo observado na utilização de ferramentas e na comunicação social por expressões faciais (69-71).



Figura 3. Exemplos de *Macaca fuscata*. Foto de: Alisha Eisert, retirado de <http://pin.primate.wisc.edu/idp/>

Expressões faciais são uma forma eficaz de sinalização de estados emocionais e intenções. Esse tipo de comunicação não-verbal é ubíqua entre macacos de médio porte do Velho e Novo Mundo, grandes primatas e humanos. Em resumo, dados o repertório comportamental, as complexas relações sociais e proximidade filogenética à espécie humana (72), os animais tanto do gênero *Cebus* como *Macaca* são excelentes sujeitos experimentais para o estudo do desenvolvimento da cognição social humana.

O estudo do desenvolvimento da cognição social é fundamental para o entendimento de espécies sociais, como os seres humanos. Ademais o tratamento de várias doenças que afetam o desenvolvimento social pode se beneficiar enormemente dos resultados do presente trabalho. Enfermidades como Síndrome

de Down, Síndrome de Rett e sobretudo Autismo prejudicam o estabelecimento de relações sociais apropriadas entre os pacientes e familiares e amigos. Nesse tipo de experimento, é imperativo o emprego de primatas não-humanos, uma vez que somente as espécies desta ordem (e, em sentido estrito, apenas algumas delas) exibem estrutura neurológica e complexidade comportamental similar aos de seres humanos. Dada a grande proximidade filogenética, o gênero *Cebus* e *Macaca* exibem um largo espectro de comportamentos e de interações sociais que permitem transposição dos resultados e conclusões experimentais para a espécie humana.

O estudo aqui descrito visa, além do próprio avanço do conhecimento na área, o estabelecimento de um modelo animal para distúrbios sociais da infância, sobretudo Autismo e distúrbios relacionados. Modelos animais em primatas como este são fundamentais não só para o avanço no conhecimento das bases neurais dos transtornos mas também para as perspectivas de intervenções e tratamento destes. Resultados obtidos neste estudo poderão ser comparados e transpostos para pacientes humanos. Uma vez estabelecido o modelo, novas investigações serão possíveis para alterar o quadro de deficiência em habilidades sociais via medicamentos, reabilitação e tratamentos em geral. Se considerarmos a taxa de prevalência deste distúrbio (52), estima-se no país uma população em torno de 1.150.000 indivíduos com autismo e outros transtornos que fazem parte do Espectro de Autismo, como a Síndrome de Asperger e a Síndrome de Rett. Desta forma, no médio e longo prazo, o presente estudo pode proporcionar um avanço na qualidade de vida destes pacientes e suas famílias.

O estudo de desordens neuropsicológicas em humanos é limitado severamente por questões éticas, não obstante sua relevância. O estabelecimento de um modelo em primatas não-humanos permite avaliações e intervenções mais diretas, cujos resultados podem ser facilmente transpostos para seres humanos. Infelizmente, tais modelos são raros. A pesquisa científica com primatas não-humanos demanda maior empenho e paciência do que com outros animais e depende de instalações físicas adequadas. Como será mostrado no decorrer do presente trabalho, os dados que implicam a via colículo-pulvinar na cognição social

e em funções que podem estar ligadas a desordens socio-desenvolvimentais são bastante recentes. Há portanto uma larga gama de possibilidades abertas para investigação e avanço nessa área.

Para investigar as duas estruturas da via colículo-pulvinar, o presente trabalho portanto foi dividido em dois estudos. A primeira parte compreende o registro eletrofisiológico da atividade de neurônios individuais no núcleo pulvinar do tálamo de macacos japoneses (*Macaca fuscata*) durante apresentação de faces com expressão de emoções. Esta parte foi realizada no laboratório System Emotional Science da Universidade de Toyama, Japão. Os dados referentes à esta parte foram publicadas na revista Behavioural Brain Research (73; Ver apêndice D). A segunda parte consistiu da avaliação comportamental dos efeitos da lesão bilateral, com ácido ibotênico (IBO), do CS de macacos-prego (*Cebus spp.*) na gênese dos comportamentos sociais e de defesa. Esta parte foi realizada no Centro de Primatologia da Universidade de Brasília (CP-UnB) e parte dos dados já foram publicadas na revista Neuroscience Letters (Ver apêndice E).

Objetivos Gerais:

- Estudo 1: Investigar o papel do núcleo pulvinar do tálamo no processamento de faces com expressões de emoção em macacos japoneses (*Macaca fuscata*) empregando a técnica de registro eletrofisiológico de neurônios individuais;
- Estudo 2: Investigar o papel do CS na ontogênese da cognição social em primatas não-humanos (*Cebus spp.*) empregando a técnica de lesão bilateral excitotóxica.

Objetivos específicos:

- Estudo 1-

- Registrar a atividade eletrofisiológica individual de neurônios do núcleo pulvinar do tálamo durante a apresentação de faces com expressões emocionais por meio de eletrodos;
- Comparar a atividade destes neurônios em relação a estímulos de faces e objetos geométricos (controle);
- Comparar a atividade destes neurônios em função dos tipos de emoção e da identidade das faces apresentadas;
- Avaliar o tempo de reação dos neurônios do núcleo pulvinar em relação ao momento de apresentação dos estímulos.

- Estudo 2 -

- Avaliar e comparar o comportamento social espontâneo do grupo lesão e controle em cativeiro.
- Avaliar e comparar o comportamento dos animais do grupo lesão e controle no confronto com um coespecífico adulto estranho.

- Avaliar e comparar o comportamento dos animais do grupo lesão e controle em situação de disputa por alimento.
- Avaliar e comparar o comportamento dos animais do grupo lesão e controle em situação de confronto com um predador.

2 MATERIAIS E MÉTODOS (ESTUDO 1 - REGISTRO DA ATIVIDADE DE NEURÔNIOS DO NÚCLEO PULVINAR FRENTE À APRESENTAÇÃO DE FACES EMOCIONAIS)

2.1 SUJEITOS

Dois macacos japoneses (*Macaca fuscata*) pesando entre 4.5 e 5.0 kg foram empregados. Eles foram mantidos em viveiros individuais e supridos com ração *ad libitum* específica para esta espécie. Durante o período de treino e coleta de dados, os sujeitos foram privados de água no próprio viveiro e obtinham água, suco ou outros líquidos somente como reforço nos procedimentos experimentais diários. Este estudo foi realizado sob os princípios éticos do NIH Standards for Treatment of Laboratory Animals e do Guia para Uso de animais de laboratório da Universidade de Toyama (2003).

Durante as sessões de registro, o sujeito era mantido em uma cadeira de restrição de acrílico e tinha a cabeça fixada, de forma indolor, a um aparato estereotáxico via um implante cirúrgico (descrito no tópico Cirurgia). O animal foi treinado a executar uma tarefa de escolha diferente do modelo, com atraso (EDMA). Neste paradigma, o animal deveria pressionar um botão preso à cadeira de restrição em resposta à apresentação de figuras em um monitor de computador. Os estímulos empregados consistiam em 6 expressões de emoção (raiva com boca aberta, raiva com boca fechada, sorriso com boca aberta, sorriso com boca fechada, triste, surpresa e neutro) tiradas de 4 diferentes modelos adultos humanos (Fig. 4A). Além destes, foram empregados 4 padrões geométricos simples como controle de estímulos (Fig. 4B).

Para cada tentativa do EDMA, eram utilizados um par de figuras como amostra e alvo e ambas eram selecionadas de um mesmo modelo (mesma identidade). Os animais foram treinados por modelagem durante vários meses até alcançarem o critério de acerto (> 90%) em todas as tentativas por mais de 3 dias consecutivos. Os estímulos utilizados durante o experimento foram os mesmos da fase final de treino. As primeiras etapas de modelagem do treino incluíram somente figuras geométricas simples e, conforme a proficiência na tarefa ia aumentando,

estímulos faciais foram sendo incluídos. As imagens dos modelos M01 e M02, mostradas na Figura 4A, foram extraídas de fotos dos experimentadores de cada sujeito. Estes eram os únicos experimentadores e tratadores dos respectivos sujeitos durante todo o período de treino e coleta de dados. As imagens destes modelos foram definidas como estímulos familiares para os respectivos animais, ao passo que as restantes foram definidas como não-familiares. É importante notar que as figuras de modelos familiares e não-familiares foram apresentadas o mesmo número de vezes durante treino e teste. A única diferença entre elas era a interação direta e diária dos modelos com os animais. Um estudo prévio mostrou que respostas de neurônios amigdalares eram moduladas por esse parâmetro (familiaridade baseada em interação diária; 49).

Os estímulos foram apresentados por um Power Macintosh G3 com um monitor de 19 polegadas. Sinais TTL (event flags) para o início de apresentação de cada estímulo, para pressão do botão e para liberação de reforço, eram enviados para o sistema de registro (abaixo). A sequência de EDMA (Fig. 2C), usando as expressões faciais ou figuras geométricas, consistia dos seguintes passos: após o toque de 1000 ms de uma campainha, uma cruz de fixação branca era apresentada no monitor por 1000 ms e depois seguida de um estímulo amostra apresentado por 500 ms. A amostra (após a cruz de fixação) era apresentada de 1 a 3 vezes (aleatoriamente determinado) e, após a última cruz de fixação, a figura-alvo (diferente da amostra) era apresentada também por 500 ms. A partir da apresentação do alvo, o sujeito teria 2000 ms para apertar o botão acoplado à cadeira de restrição para receber a recompensa (água ou suco) via abertura de uma válvula elétrica. Um intervalo entre tentativas de 500 ms foi inserido após a recompensa. Para as tentativas de controle, figuras geométricas simples (círculo, cruz, quadrado e estrela) foram empregados no mesmo paradigma.

2.2 CIRURGIA

Após terminado o período de treinamento, uma peça de plástico resinoide em formato de “U” foi cirurgicamente acoplada ao crânio do sujeito (74). Essa peça seria utilizada durante a fase de teste para fixar a cabeça do animal durante o registro

com eletrodo. O sujeito foi anestesiado com uma combinação de hidrocloreto de metodomantina (0,5 mg/kg, i.m.) e hidrocloreto de cetamina (0,5 mg/kg, i.m.). A peça em “U” foi acoplada ao crânio com resina acrílica auto-polimerizada e parafusos cirúrgicos de tungstênio atarraxados ao osso craniano. Uma pomada antibactericida (bacitracina–neomicina) foi administrada na região de sutura uma vez ao dia para evitar infecções durante uma semana ou mais, dependendo da necessidade. Uma semana depois da cirurgia, o sujeito recomeçou o treino no EDMA já com a cabeça fixa ao aparato estereotáxico da cadeira de restrição. O critério de acerto foi atingido em 10 dias após o reinício dos testes.

Passado esse período, era feita a craniotomia acima da estrutura alvo (de acordo com um atlas específico para a espécie) (75). Uma barra de tungstênio de 500 µm de diâmetro foi inserida lentamente até a região imediatamente acima do PUL. Ela foi fixada temporariamente com resina acrílica e o sujeito submetido a uma sessão de ressonância magnética. A barra de tungstênio foi utilizada como um marcador de referência nas imagens da ressonância e, a partir dela, as coordenadas do atlas foram corrigidas e/ou calibradas (Fig. 5).

2.3 PROCEDIMENTOS DE REGISTRO E AQUISIÇÃO DE DADOS

Terminada a fase de treino pós-cirúrgica, deu-se início ao registro de neurônios. Durante o registro, o movimento de um olho e raio da pupila foram monitorados com uma razão de amostragem de 30 Hz por um sistema de monitoramento ocular que utilizava um câmera infravermelha do tipo CCD. O monitoramento ocular e de raio da pupila foi posteriormente utilizado para descartar os dados referentes às apresentações em que o animal não estava olhando para o estímulo ou estava com as pálpebras fechadas durante a apresentação dos estímulos. Um microeletrodo de metal com isolamento de EPOXI (0,5-1,5 MOhm a 1000 Hz) era lentamente inserido verticalmente até o núcleo PUL por um manipulador elétrico de acordo com as coordenadas do atlas. A atividade neuronal extracelular foi registrada utilizando um Sistema MAP (Plexon Inc., Dallas TX, USA); normalmente um ou dois neurônios eram isolados na análise dos dados registrados.

2.4 ANÁLISE DE DADOS

Apenas a atividade neuronal observada durante a apresentação das amostras de cada tentativa foi utilizada para análise. Nenhum registro relativo ao estímulo-alvo da tarefa foi incluído, descartando-se assim qualquer atividade neuronal relativa a atividades e estímulos concorrentes, tais como a atividade motora de pressão do botão ou a recompensa da tarefa.

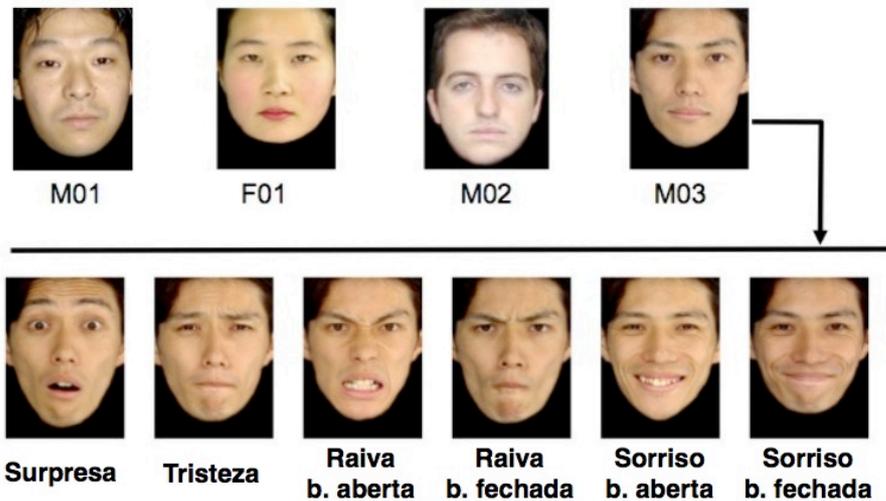
Para quantificar as respostas neuronais a cada estímulo testado, a atividade neuronal (picos/s) foi analisada no intervalo que iniciava 500 ms antes do instante de apresentação do estímulo e 2000 ms após isso. O período de controle da atividade neuronal foi definido como o intervalo de 500 ms imediatamente anterior à apresentação do estímulo. Uma vez que o perfil de disparos variava muito entre os neurônios responsivos e entre os estímulos visuais, foi determinado um 'intervalo de resposta' como o período de 500 ms centrado no pico (ou vale, no caso de neurônios inibitórios) de respostas neuronais para cada estímulo. A razão de disparos no período controle e no intervalo de resposta foram comparados utilizando teste-t. Se um pico de resposta não pudesse ser claramente discernido, a latência de pico ou vale do melhor estímulo para esse neurônio era utilizada para computar significância estatística.

A atividade neuronal também foi comparada entre todos os modelos e estímulos-controle usando análise de variância de uma cauda (one-way ANOVA; $P < 0,05$). Os neurônios que apresentaram diferença estatística na análise de variância foram considerados 'neurônios diferenciais'. Neurônios diferenciais foram divididos em seletivos à identidade, seletivos à emoção e seletivos à familiaridade. Neurônios seletivos a identidade foram definidos assim quando apresentavam respostas significativas a algumas faces de um dado modelo (teste-t; $P < 0,05$) e se estas respostas significativas eram maiores do que as respostas a outros modelos (teste de Fisher's LSD após ANOVA; $P < 0,05$). Neurônios seletivos à emoção foram definidos como os neurônios que demonstravam respostas significativas a uma dada emoção (teste-t; $P < 0,05$) e se estas respostas eram maiores do que às demais emoções (teste de Fisher's LSD após ANOVA; $P < 0,05$). Igualmente neurônios seletivos à familiaridade eram aqueles que demonstravam respostas significativas a figuras do modelo familiar (teste-t; $P < 0,05$) e se estas respostas eram maiores do

que aqueles evocados pelos demais modelos (teste de Fisher's LSD após ANOVA; $P < 0,05$).

A latência da resposta para cada neurônio foi analisada em termos do intervalo entre o início da apresentação do estímulo ($t = 0$ s) e o início do 'disparo diferencial'. O disparo diferencial, por sua vez, foi definido somente para propósito de análise de latência como 2 ou mais barras do histograma (bins) consecutivos diferentes do período de controle por 2 desvios-padrão.

A. Estímulos faciais



B. Figuras geométricas



C. EDMA

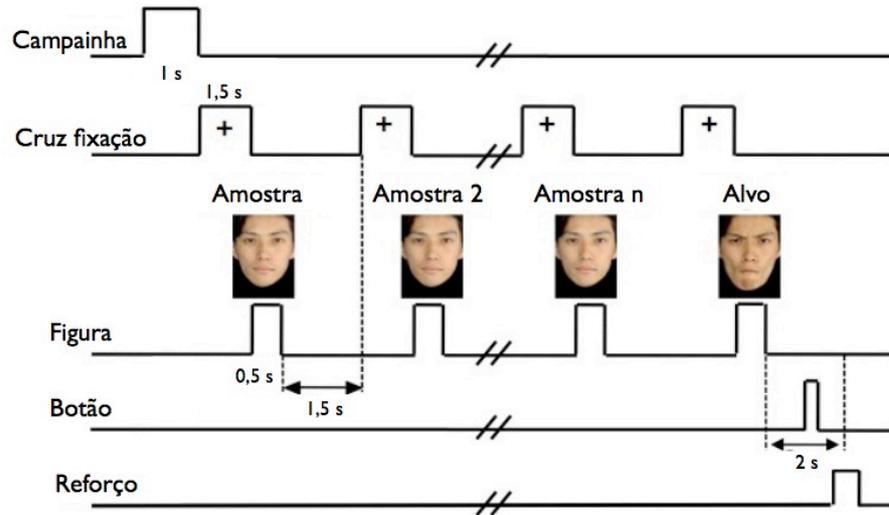


Figura 4. (A) Modelos utilizados como estímulos faciais utilizados no EDMA e as respectivas expressões faciais. (B) Figuras geométricas empregadas como controles de estímulos. (C) Padrão esquemático das tentativas no EDMA.

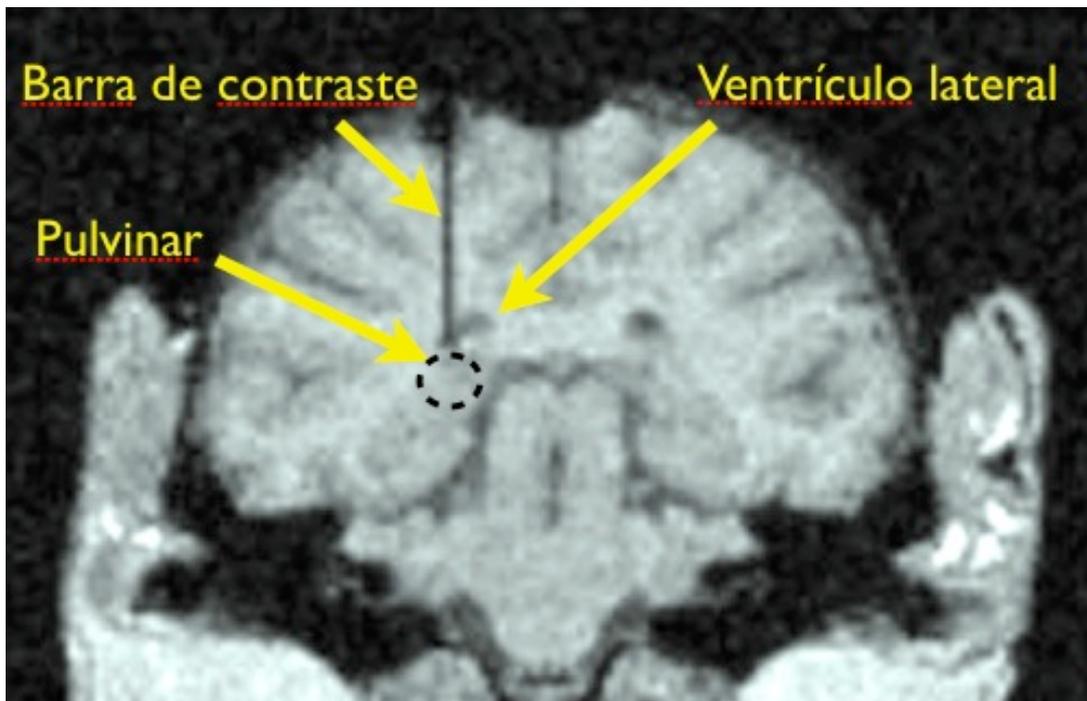


Figura 5. Imagem gerada por ressonância magnética de um dos sujeitos com a barra de tungstênio usada para contraste indicando a posição do núcleo pulvinar.

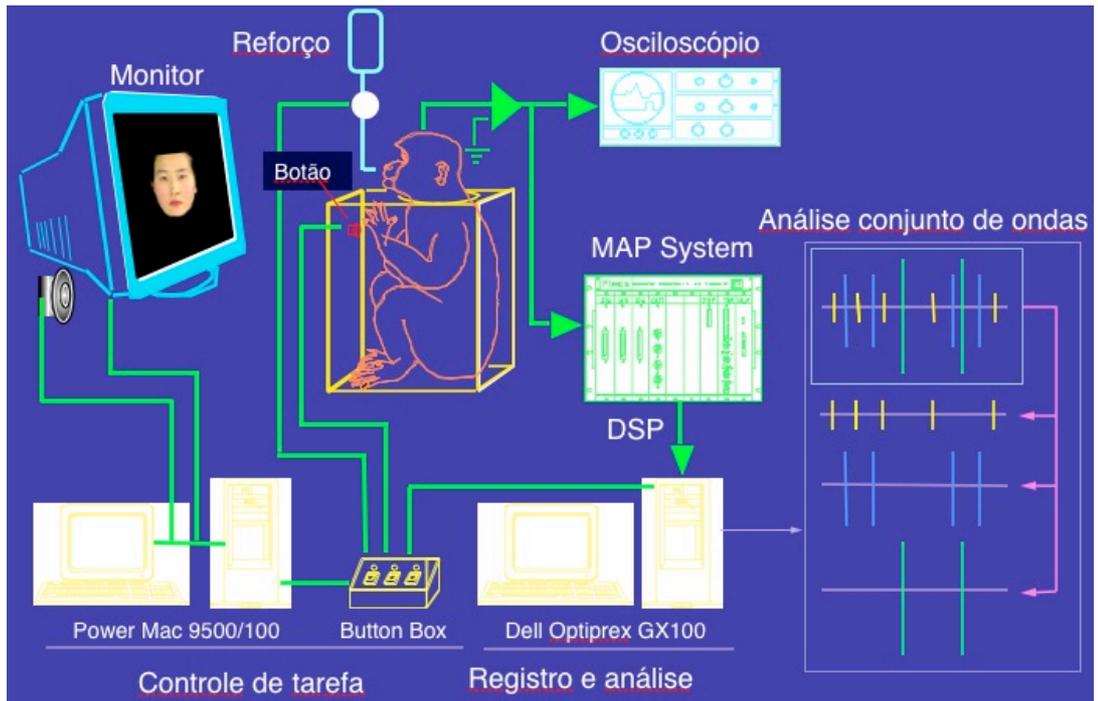


Figura 6. Representação esquemática do sistema de controle de tarefa e registro da atividade neural.

3 RESULTADOS

Um total de 184 neurônios individuais foram amostrados dos núcleos lateral e medial do PUL. Deste total, 41 (22,2%) foram definidos como 'visualmente responsivos', ou seja, responderam a um ou mais estímulos visuais (incluindo faces e uras geométricas). Os padrões de disparo variaram muito nesse grupo, sendo que alguns neurônios dispararam fortemente para uma única expressão facial de um único modelo e, no outro extremo, alguns dispararam indiscriminadamente por toda a seleção de estímulos. Entretanto, entre os neurônios visualmente responsivos, 23 (12,5% do total) responderam indiscriminadamente a todos os estímulos. Outros 18 (9,7%) responderam diferencialmente aos estímulos faciais. Ou seja, todos esses 18 responderam diferencialmente a algumas figuras de faces. No entanto, não houve de fato nenhum neurônio seletivo à identidade, à emoção ou à familiaridade. Em outras palavras, não houve um neurônio que respondeu, por exemplo, a todas as expressões de uma emoção para todos os modelos, somente para alguns. Portanto os neurônios do PUL apresentaram um padrão complexo de respostas a combinação de alguns ou todos esses fatores.

Quinze neurônios não-diferenciais e 11 diferenciais foram registrados do primeiro sujeito; 8 não-diferenciais e 7 diferenciais foram registrados do segundo. A figura 7 mostra 2 exemplos de neurônios diferenciais registrados dos sujeitos. O neurônio A respondeu significativamente à face de surpresa, ao passo que o neurônio B respondeu significativamente à face de raiva. Os dados em Ab, Ac, Bb e Bc indicam que os disparos registrados referem-se a um único neurônio. Em Aa e Bb, a sobreposição dos formatos de onda foi uniforme, não apresentando formatos de onda de neurônios vizinhos. Os autocorrelogramas (Ac e Bc) destes dois neurônios indicam que o período refratário dos neurônios ficou entre 2 e 3 ms, indicando que os picos registrados pertencem a neurônios individuais.

A figura 8 mostra um exemplo de neurônio com seletividade à emoção (o mesmo da figura 7a). Este neurônio demonstrou um rápido aumento na atividade durante o intervalo de resposta para a face de surpresa do modelo M01 em comparação com o período controle ($P < 0,01$). Houve também um aumento mais fraco para a face de raiva com boca aberta ($P < 0,05$). O intervalo de resposta deste

neurônio iniciou em 40 ms. A figura 9 ilustra a alteração de razão de respostas para vários estímulos. A análise de variância (“one-way ANOVA”) indicou uma diferença estatística nas respostas entre os estímulos visuais [$F(31, 267)=1.494, P<0,001$]. Este neurônio em questão respondeu significativamente mais para face de raiva com boca fechada e para a face de surpresa do modelo M01 (t-test, $P<0,01$ e $P<0,05$, respectivamente).

Em relação à latência, de um total de 41 neurônios responsivos, 16 (39%) neurônios apresentaram resposta antes de 100 ms; 4 (9,8%) apresentaram resposta entre 100 ms e 200 ms; 8 (19,5%) entre 200 ms e 300 ms; e 13 (31,7%) após 300 ms (Fig 10). Neurônios diferenciais foram encontrados em todas categorias de latência.

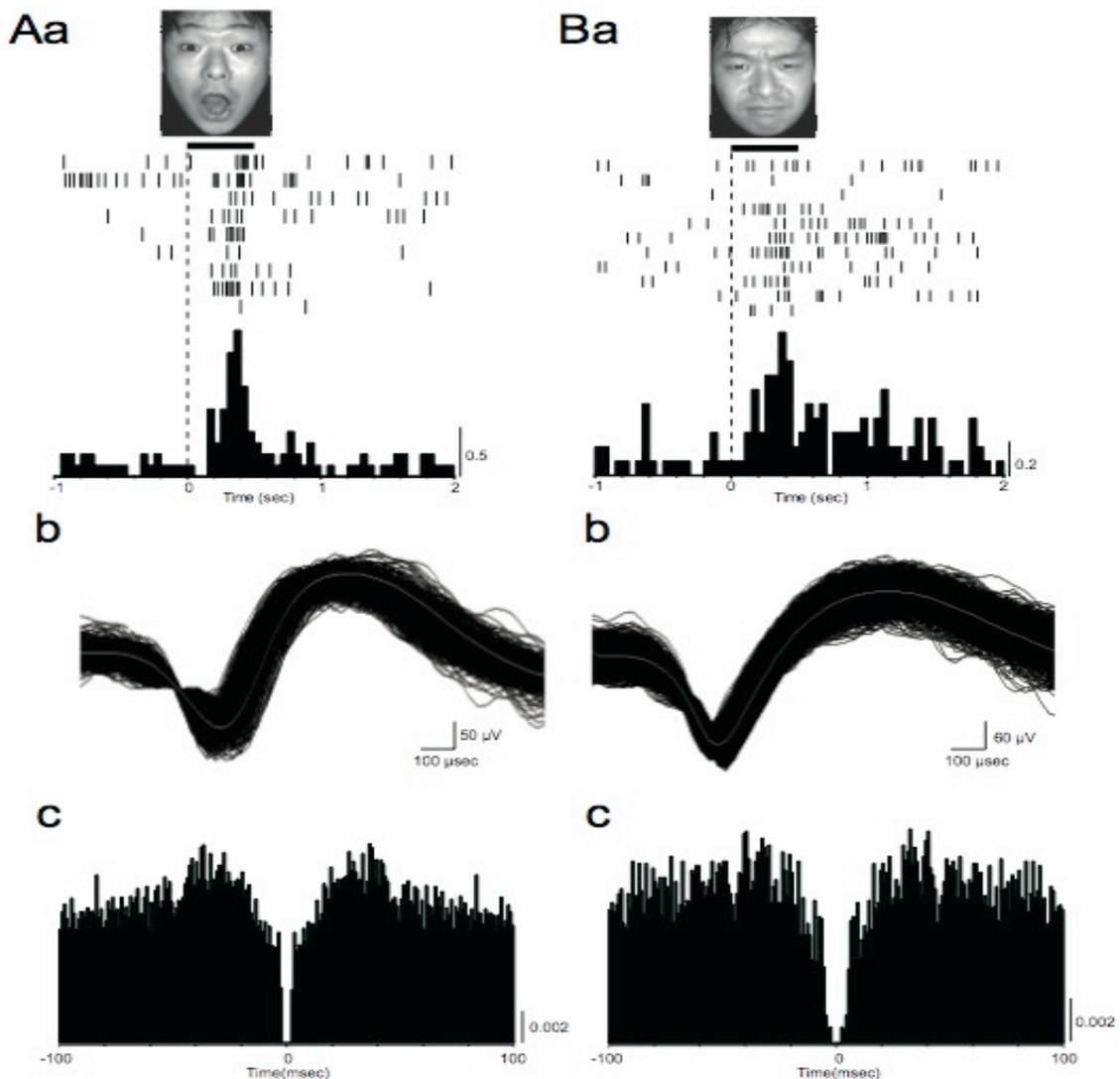


Figura 7. Dois exemplos de neurônios diferenciais no PUL (A e B) dos dois sujeitos. (a) *Rasters* peri-evento e histogramas em resposta a um estímulo (foto). (b) Atividade estável de um único neurônio

verificada por traços de ondas superpostos e (c) auto-correlogramas. Em a e c, largura de cada barra é de 50 ms e 1 ms, respectivamente.

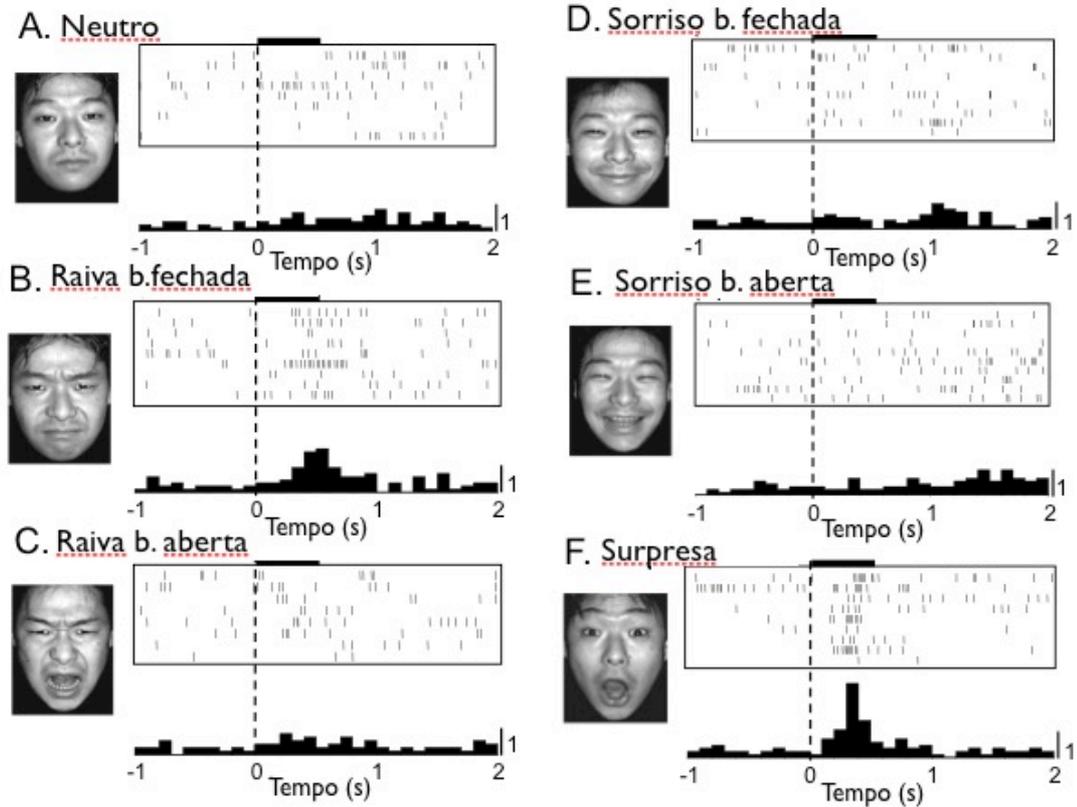


Figura 8. Exemplo de neurônio que respondeu diferencialmente a expressões faciais (o mesmo da figura 7A). Disparos perievento e histogramas da sessão EDMA. A barra no topo de cada gráfico indica a duração da apresentação do estímulo. A atividade do neurônio aumentou em resposta à face 'raiva b. fechada' (teste-t; $P < 0,05$) e 'surpresa' (teste-t; $P < 0,01$).

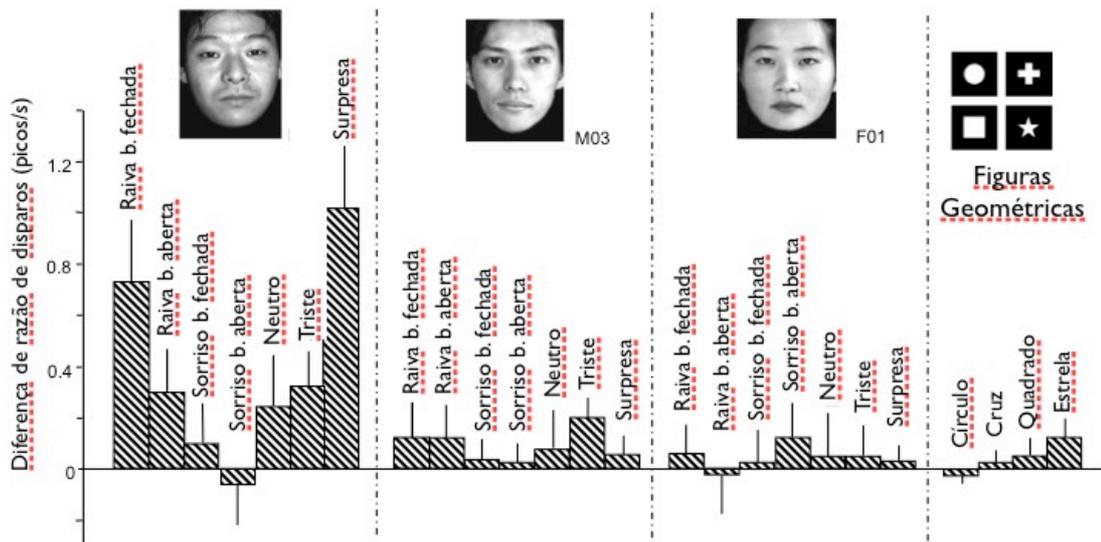


Figura 9. Comparação da atividade neuronal mostrada na fig. 8 em relação aos demais estímulos.

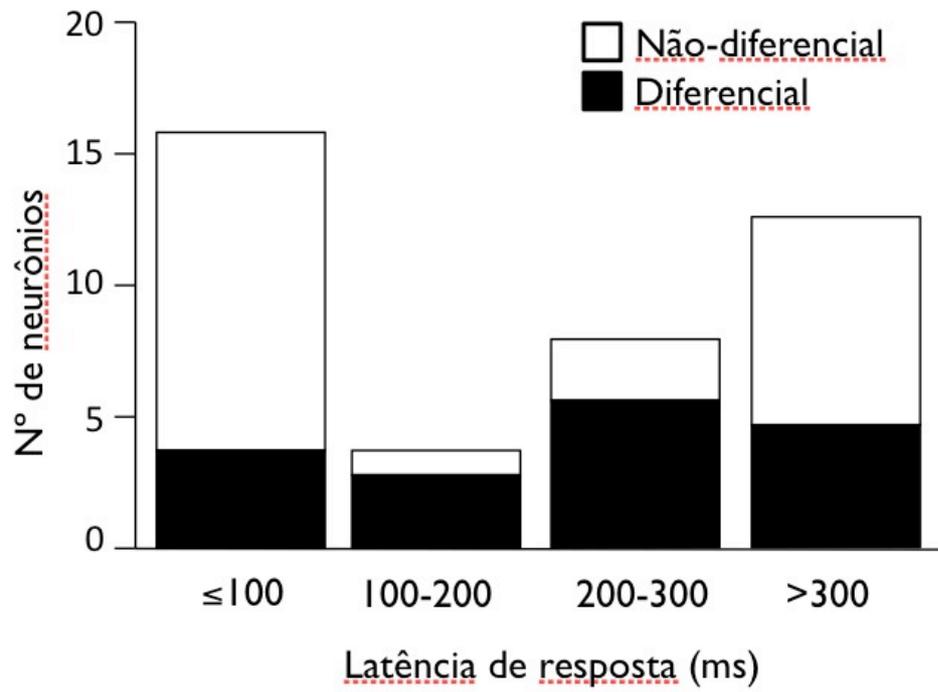


Figura 10. Distribuição de neurônios do PUL quanto à latência de respostas aos estímulos visuais.

4 DISCUSSÃO

4.1 COMPARAÇÃO ENTRE RECONHECIMENTO FACIAL DE PRIMATAS HUMANOS E NÃO-HUMANOS

Os mecanismos neurais para o reconhecimento de faces em humanos apresentam paralelos próximos no cérebro de primatas não-humanos (76). Há uma similaridade na configuração espacial da face humana e de primatas não-humanos (77) e algumas expressões faciais humanas encontram análogos morfológicos em macacos (78). Além disso, ambos macacos e humanos utilizam-se de padrões de visualização similares quando olham para figuras de faces, ou seja, dirigem maior atenção à região dos olhos (79). Em contrapartida, Parr et al. (80) encontraram um efeito de inversão em macacos rhesus quando estes inspecionavam faces de co-específicos, mas não quando inspecionavam faces de humanos. Entretanto, Guo et al. (81) encontraram estratégias óculo-motoras similares quando ambos inspecionam faces de humanos e macacos na posição normal, invertida e “rearranjada”. Estes resultados sugerem que macacos inspecionam faces humanas e de outros primatas eficientemente.

4.2 CARACTERÍSTICAS DAS RESPOSTAS DE NEURÔNIOS DO PULVINAR

Ao contrário da AM de primatas (82), alguns neurônios do PUL responderam a figuras geométricas. No entanto, a complexidade do padrão das respostas às expressões faciais sugerem que os aspectos geométricos das faces não são o único fator subjacente à ativação destes neurônios. Além disso, neurônios do PUL mostraram atividade diferencial específica a uma ou duas expressões emocionais do mesmo modelo. Nenhum deles, não obstante, mostrou atividade diferencial à mesma emoção em todos os modelos. Isso significa que o PUL deve participar da codificação de alguns aspectos emocionais e não-emocionais dos estímulos. Nesta hipótese, ele poderia servir como uma via de acesso para as informações que

seguiriam para áreas corticais e sub-corticais (83) com respeito à relevância emocional.

O padrão de respostas dos neurônios pulvinares também variou consideravelmente em sua latência. Isso provavelmente reflete as diferentes aferências e eferências corticais e sub-corticais que o PUL mantém. Neurônios com maior latência de respostas (acima de 300 ms) podem estar mediando conexões com áreas corticais assim como propôs Olshausen et al. (84). Os neurônios com respostas mais rápidas (abaixo de 100 ms), por sua vez, provavelmente fazem parte da rota sub-cortical mais rápida para a AM. Uma possibilidade vislumbrada aqui é que o PUL pode passar informações emocionais mais salientes de maneira mais veloz para a AM e, possivelmente, também para outras áreas corticais. Isso pode ocorrer rápido o suficiente para ser independente do reconhecimento consciente do estímulo (35), o que configuraria *blindsight*. Essa sugestão é consoante com um estudo recente em que um paciente com lesões bilaterais totais da AM mostrou detecção rápida e processamento não-conscientes de faces de medo (25). O PUL pode também ser parte de um processamento mais refinado, e portanto mais lento, mediando comunicação cortical.

O número de neurônios visualmente responsivos parecem ser relativamente baixo, uma vez que o PUL está tradicionalmente estabelecido como parte do processamento visual geral. Não obstante, os núcleos lateral e medial do PUL, de onde os dados foram extraídos, parecem estar implicados em uma gama diversa de funções que incluem direcionamento de movimentos e até memória (85-87). Apesar de o presente estudo não representar um mapa de registros que esgote toda a estrutura do PUL, a aparente baixa percentagem de neurônios visualmente responsivos amostrados pode ser indicativo das variadas atribuições desta estrutura. É importante levar em conta também que até áreas visuais corticais podem apresentar um baixo número de neurônios que respondem a estímulos visuais, a depender do tipo de estímulo empregado. Molotchnikoff & Shumikhina (88), por exemplo, encontraram em torno de 20% de neurônios (variando por tipo de célula nervosa) responsivos a estímulos oscilatórios no córtex visual de gatos (áreas 17 e 18) e que estavam correlacionados com a desativação do PUL. Esse mesmo grupo de pesquisadores encontraram previamente na porção lateral-posterior do PUL apenas 14% de neurônios responsivos a este mesmo tipo de estímulo (89). Independente disso, os dados aqui coletados mostraram que, dentro do número de

neurônios visualmente responsivos do PUL, há uma percentagem relativamente alta (43,9%, 18 de 41) de neurônios que respondiam a aspectos faciais e/ou emocionais.

4.3 O PAPEL DO NÚCLEO PULVINAR

Robinson et al. (90) sugeriram um papel do PUL na saliência de estímulos visuais e, desde então, vários investigadores apresentaram evidências nesse sentido. A partir destas evidências, o PUL parece modular atenção visual suprimindo distrações visuais (90-93). Uma vez que a porção do medial do PUL, há muito já demonstrado, projeta uma forte eferência para AM (11) e para os córtices frontal e temporal (94-96), é razoável supor uma influência do PUL como um todo no processamento de estímulos visuais emocionalmente salientes. Ademais, estudos recentes indicam que o córtex pré-frontal, especialmente sua porção anterior e medial, está envolvido na cognição social. Como essa área recebe fortes projeções pulvinares (29), o PUL pode também influenciar a cognição social da mesma maneira.

Ward et al. (38) indicaram que o PUL não apresenta propriedades topográficas e conexões para poder mediar estímulos complexos. Apesar de o presente estudo não lidar diretamente com essa questão, os resultados aqui apresentados corroboram o papel do PUL no processamento de estímulos complexos (e.g., faces emocionais). Ainda assim, os aspectos específicos de estímulos faciais que geram respostas pulvinares requerem investigações mais detalhadas. Pelo menos em termos de latência, algumas características do PUL já puderam ser deduzidas dos presentes resultados. Como alguns neurônios responderam com latências baixas (de até 20 ms), a atividade do PUL parece estar envolvida também com o rápido processamento de faces.

5 MATERIAIS E MÉTODO (ESTUDO 2 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA LESÃO DO CS NAS EMOÇÕES E COGNIÇÃO SOCIAL)

5.1 SUJEITOS

Os sujeitos infantis empregados no presente estudo são do gênero *Cebus* com idade inferior a 6 meses. São oriundos dos Centros de Triagem Animais Silvestres (CETAS-IBAMA) em Goiânia, Curitiba e Salvador. Eles estão mantidos nas dependências do Centro de Primatologia (CP). O Centro de Primatologia está localizado na Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília (16°30”S, 46°30”W) cerca de 25 km do centro de Brasília. A FAL possui uma área de 4.340 hectares e faz parte da Área de Proteção Ambiental (APA) das Bacias do Gama e Cabeça do Veado. As condições de manutenção dos animais estão em observância a normas de cuidados e manutenção de animais do IBAMA. Para tal, antes de se acolher os sujeitos, foi construído dentro do CP um pavilhão incluindo viveiros, área de testes e área de testes específicos para os propósitos do presente estudo (Ver apêndice A, B e C). Este pavilhão foi construído com financiamento da JSPS (“Japan Society for Promotion of Science: Grant-in-Aid for Scientific Research A-22240051”) via convênio firmado entre a JST (“Japan Science and Technology Agency”) e a Universidade de Brasília (acordo 03931/2008). Os cuidados dispensados a eles estão de acordo com o Comitê de Ética do Instituto de Biologia da UnB e seguindo os “Principles of Laboratory Animal Care” (NIH Nº 85-23, revisão 1996). O presente projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal do Instituto de Biologia da Universidade de Brasília (CEUA-IB/UnB; UnBDOC nº29273/2009).

Eles foram mantidos e habituados a estas instalações até atingirem a idade mínima para a cirurgia (6 meses). Após a cirurgia, os animais foram realocados em díades ou tétrades em seus viveiros onde foram feitas as observações comportamentais. Estes viveiros foram especialmente projetados para os propósitos do presente experimento, permitindo o alojamento de animais por toda vida destes. Eles consistem de uma área de 1,5 m X 1,5 m X 1,8 m com substrato natural de terra, areia e serragem, elementos de enriquecimento ambiental (balanço, galhos

etc.), uma caixa ninho para até 4 animais pequenos ou 1 adulto e um filhote e paredes móveis que permitem o acesso ao viveiro adjacente. Inicialmente, os sujeitos foram divididos em dois grupos: lesão ($n=3$) e controle ($n=3$). Cada grupo foi submetido aos mesmos procedimentos no que concerne a alojamento e cuidados. Um animal do grupo lesão veio a óbito durante o período de testes, na quinta semana pós-cirúrgica, em virtude de infecção hepática. Antes de reiniciar os testes, os demais sujeitos de ambos os grupos foram submetidos a exames de fezes e sangue para assegurar que nenhum deles havia sido infectado. Os dados coletados deste espécimen foram incluídos nos testes em que ele participou e estão indicados nos resultados abaixo. Um dos sujeitos do grupo controle foi mantido em díade com a mãe e os demais de ambos os grupos foram mantidos em tétrade pela duração do estudo. O sujeito mantido em díade com a mãe foi excluído dos testes sociais dada a diferença de contato social no viveiro.

5.2 CIRURGIAS

Para a determinação das coordenadas da área-alvo, antes do procedimento cirúrgico, foi utilizado o atlas estereotáxico para *Cebus* (97) e a histologia de animais em idade comparável que vieram a óbito. Entre 10 e 15 dias após a cirurgia, os animais foram submetidos a uma sessão de ressonância magnética. Eles foram submetidos a uma leve anestesia com cloridrato de cetamina (5 mg/kg, i.m.) e cloridrato de xilazina (0,5 mg/kg, i.m.) imediatamente antes de entrar no aparelho.

No dia da cirurgia, os infantes foram anestesiados com isoflurano/O₂ e seus sinais vitais (temperatura, batimento cardíaco e pressão sanguínea) foram continuamente monitorados. Solução de salina foi administrada durante todo o procedimento para garantir a hidratação do sujeito. O animal foi fixado no aparelho estereotáxico e foram registradas as coordenadas referenciais. Após a tricotomia, a área de incisão foi desinfetada e um anestésico local (Marcaína, 25%) foi administrado sub-cutaneamente.

A incisão no escalpo permitiu a craniotomia bilateral nas regiões acima do CS

e uma segunda incisão foi feita na dura-máter. Foi feita a craniotomia com uso de uma broca cirúrgica em quatro pontos do crânio imediatamente acima dos pontos de infusão. Foram ao todo 4 pontos de infusão, 2 por colículo. Uma micropipeta de vidro confeccionada por nossos colaboradores na Universidade de Toyama, Japão, contendo o IBO e conectada a uma seringa foi inserida verticalmente pelas incisões na dura-máter e no crânio. As inserções foram controladas manualmente pela seringa. Foram lentamente injetados de 0,4 a 0,6 microlitros de IBO nas estruturas. A pipeta ficou no ponto de injeção por cerca de 3 minutos após as injeções para garantir total difusão do ácido, assim como para impedir refluxo para dentro da agulha durante a sua retração. Finda a infusão, a pipeta foi retirada lentamente. O processo se repetiu igualmente para cada ponto de infusão. Uma vez terminadas todas as infusões, as lesões no crânio deixadas pelas brocas foram preenchidas por resina acrílica. Após a secagem e endurecimento da resina, as incisões foram suturadas. A incisão suturada e região adjacente foram esterilizadas com Betadine e Etanol a 70% para evitar infecções.

O grupo controle foi submetido a cirurgias 'fictícias' (ou "*shams*"). Estes também foram incluídos nos procedimentos de separação da mãe, ressonância magnética e anestesia. No tocante à cirurgia, o grupo controle foi submetido a todos os passos até a inserção de agulha. Entretanto, em vez de IBO, somente o veículo PBS foi administrado. Após isso, foi realizada a sutura, seguida dos demais passos já descritos para o grupo lesão.

Os cuidados pós-operatórios incluíram administração de cefalexina (25mg/kg, i.m.; antibiótico) e meloxicam (7,5mg/kg, i.m.; anti-inflamatório e analgésico) uma vez por dia durante 5 dias. Como precaução contra edemas, fosfato de sódio foi administrado na véspera da cirurgia e nos quatro dias seguintes. Além disso, foi feita a assepsia diária do sítio de incisão até terminar o período de cicatrização. Foram adquiridas imagens de T-2 e FLAIR ("Fluid Attenuated Inversion Fluid") com separação de cortes de 2mm em um GE Gyroscan de 1,5 T (fig. 11). Essas imagens foram utilizadas para verificar a extensão da área atingida, alguma lesão residual em áreas vizinhas ao CS e para aprimorar cirurgias subsequentes. As injeções de IBO

resultaram em lesões bilaterais circunscritas, caracterizadas por perda neuronal recoberta por gliose, em todos os animais do grupo lesão. As lesões abarcaram todas as camadas do CS até o limite inferior (colículo inferior e matéria cinzenta central) e se estenderam em dois terços do eixo rostrocaudal do CS.

A técnica utilizada neste estudo – lesão excitotóxica por IBO – é de grande valor científico, pois permite estudar os efeitos da retirada da região cerebral em questão, sem lesar fibras de passagem (axônios). Em outras palavras, a lesão realizada fica circunscrita à região-alvo, evitando romper a comunicação entre outras áreas cerebrais que passa pela área atingida. Em conjunto com a técnica de Ressonância Magnética, a lesão por ácido IBO tornou-se procedimento padrão para esse tipo de estudo. Esta combinação evita que os animais empregados no estudo tenham que ser sacrificados para se confirmar os sítios de lesão e as respectivas extensões na área-alvo. Assim é possível empregar o mesmo animal em estudos longitudinais ou mais de um estudo durante toda a vida útil deste. Isso é de valor inestimável para o estudo em primatas não-humanos dada a baixa disponibilidade destes como sujeitos de pesquisa e sobretudo as implicações éticas relacionadas com o tema. A correspondência entre a imagem T-2 e FLAIR de Ressonância Magnética e a análise histológica foi estabelecida por dois grupos independentes em estudos específicos de metodologia experimental (98, 99).

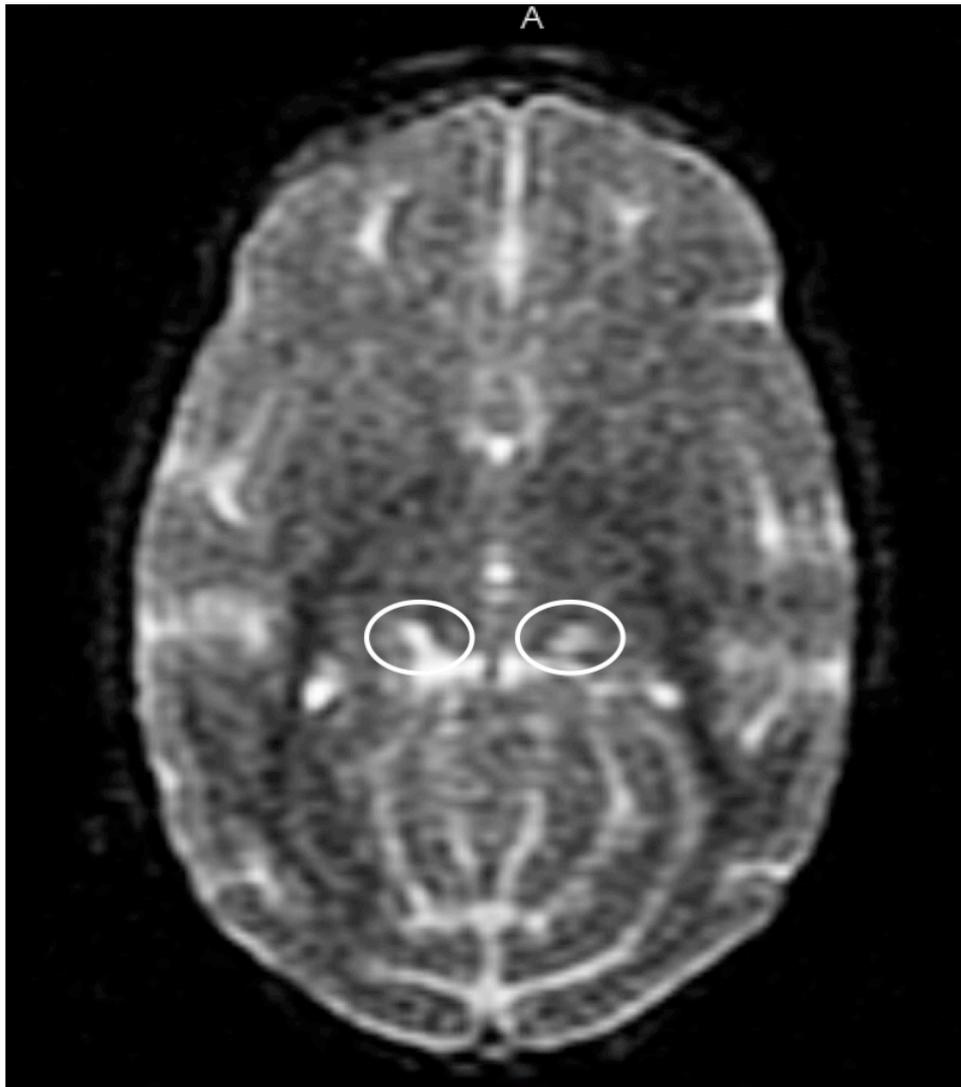


Figura 11. Corte axial de ressonância magnética de um dos sujeitos do grupo lesão 7 dias após a cirurgia. Círculos brancos destacando os edemas nas regiões dos colículos superiores.

5.3 ANÁLISE COMPORTAMENTAL

A coleta de dados comportamentais foi feita nos próprios viveiros dos sujeitos. Todas as observações aqui descritas foram realizadas por uma câmera de vídeo montada no momento dos testes para gravação. Nenhuma das observações ou testes abaixo foram feitos na presença de um experimentador. Todos os procedimentos abaixo compreenderam o período de duas semanas pré-cirúrgicas

até a 16ª semana pós-cirúrgica. Todos os procedimentos foram realizados entre às 8:00 h e 11:00 h da manhã.

Análise comportamental – Foram feitas 3 filmagens pré-cirúrgicas e 3 filmagens pós-cirúrgicas dos sujeitos com duração de 30 minutos. Para diminuir o efeito de interferência do experimentador ou tratador no comportamento espontâneo dos sujeitos, os primeiros 15 minutos de gravação foram ignorados durante análise. O comportamento social espontâneo de cada sujeito foi analisado individualmente. Foram considerados os seguintes comportamentos:

- proximidade: estar a distância de um braço (do filhote) de um ou mais animais por mais de 1 s;
- contato físico: manter contato físico com um ou mais animais por mais de 1 s;
- limpeza alheia (ou *allogrooming*): limpar/catar com os dedos no pelo de outro animal por mais de 1 s;
- brincar: interagir com outro animal em contato físico com mordiscos e agarros;
- exploração ano-genital: farejar ou aproximar as narinas/face à região ano-genital de outro animal;
- seguir: locomover-se seguindo a trajetória de outro animal a uma distância não superior a um braço (do filhote);
- aceitar proximidade: permanecer no mesmo local após a chegada de outro animal a distância de um braço (do filhote) por mais de 1 s;
- contato visual: dirigir o olhar para região da face de outro animal em reciprocidade com este.

Todos os comportamentos descritos acima foram agrupados em 'comportamentos sociais', exceto o comportamento de contato visual, que foi analisado separadamente.

Além da observação comportamental no próprio viveiro, foram realizados três testes para se avaliar o impacto da lesão no comportamento social e de defesa:

A) Teste de interação social com adulto desconhecido – os sujeitos foram capturados e levados individualmente para a arena de testes (3 m X 2 m X 1,5 m). Durante uma sessão de 30 minutos, uma fêmea adulta do gênero *Cebus* foi mantida em uma caixa de transporte colocada em uma das extremidades desta arena, permitindo o contato visual e físico entre os animais. Os sujeitos não tiveram nenhum contato prévio com esta fêmea. Foi avaliado o tempo total despendido na área próxima do adulto e na área distante do adulto, além da frequência de entradas na área próxima (Figura 12). Após os 30 minutos, o sujeito era capturado dentro da arena e levado de volta para o próprio viveiro. A arena de testes era limpa de fezes e urina ao fim de cada sessão. O teste de interação social foi repetido duas vezes para cada sujeito.

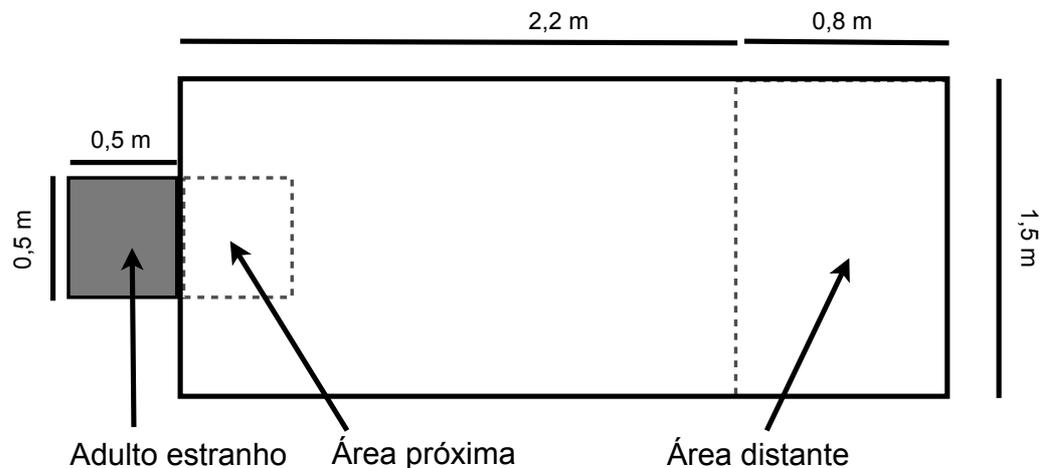


Figura 12. Representação esquemática da arena para o teste de interação com adulto estranho. As áreas próxima e distante só foram demarcadas no vídeo durante a análise, não existindo fisicamente durante o teste.

B) Teste de dominância social – os sujeitos foram capturados e levados aos pares para uma arena de teste (3 m X 1,5 m X 1,5 m) após um período de 12 horas de privação de alimentos. Os pares neste teste consistiam sempre de um sujeito do grupo controle e um sujeito do grupo lesão, mantendo entre eles a menor diferença de peso e tamanho possível. Uma vez ambos na arena, cada sessão se iniciava com a inserção de um pedaço de fruta (banana) no centro da área de testes e tinha duração de

15 minutos. Foi avaliada a dominância social a partir de: (1) latência de primeiro contato de cada animal até o pedaço de fruta; (2) tempo gasto por cada animal comendo e/ou manipulando o pedaço de fruta no 1º minuto; e (3) a frequência de contato com o pedaço de fruta. Após os 15 minutos de sessão, os sujeitos eram recapturados na arena e retornados aos respectivos viveiros. Quaisquer restos de fruta remanescentes eram retirados, assim como o substrato da arena de testes era limpo de fezes e urina ao fim de cada sessão. O teste de dominância social foi repetido duas vezes para cada sujeito.

- C) Teste de confronto com predador – os animais foram levados individualmente a um viveiro adjacente ao viveiro de moradia, mediante a abertura de uma parede retrátil entre ambos compartimentos. Neste viveiro de teste, os animais eram mantidos isolados dos demais e sem contato visual entre eles. Eles foram privados de comida por 12 horas antes da realização do teste. Uma vez separados, o experimentador abria o viveiro e colocava o estímulo aversivo no centro do viveiro. O estímulo consistia de uma serpente de borracha enrolada em espiral dentro de um prato de metal. Um pedaço de fruta (banana) era colocado no centro do espiral da serpente (Fig. 13). Houve 4 sessões com duração de 5 minutos cada. Durante este período, foi observada a latência de contato com o pedaço de fruta. Ao fim da sessão, a serpente e quaisquer sobras de fruta eram retiradas do viveiro e o sujeito era conduzido de volta ao próprio viveiro. Tomou-se cuidado para que os sujeitos não tivessem nenhum contato visual com a serpente de borracha em qualquer momento fora do período de teste. Para tal, o estímulo era sempre transportado dentro de um saco plástico opaco. As sessões ocorreram a 1, 6 e 15 semanas (tentativas 1, 2 e 3, respectivamente) após a cirurgia para avaliar um possível efeito de habituação ou de plasticidade cerebral. Uma semana após a tentativa 3, realizou-se uma tentativa controle. Todos os procedimentos desta tentativa foram idênticos às demais, exceto que o

prato de metal continha apenas o pedaço de fruta, sem a serpente de borracha. Um ano depois, foram realizadas mais uma sessão com a serpente e uma sessão sem serpente.



Figura 13. Modelo de serpente de borracha e pedaço de banana utilizado no teste de confronto com o predador.

6 RESULTADOS

A frequência dos comportamentos sociais agrupados do grupo controle mostrou uma tendência de aumento entre as sessões pré- e pós-cirúrgicas. Na figura 14, os dados comportamentais foram divididos por sessões experimentais. Nas sessões pré-cirúrgicas e na primeira sessão pós-cirúrgica, houve uma tendência de maior frequência nos comportamentos sociais para o grupo controle, porém não-significativa (Análise de variância de medidas repetidas – ANOVA – desenho misto com fatores de grupo e tentativa; $P > 0,05$). Essa diferença diminuiu nas últimas duas sessões pós-cirúrgicas. A frequência dos comportamentos sociais do grupo lesão na primeira sessão pós-cirúrgica alcançou $P = 0,054$ em relação à sessão pós-cirúrgica 3 e em relação ao grupo controle na sessão pós-cirúrgica.

Em relação ao comportamento visual, não houve diferença entre os grupos controle e lesão (Fig. 15) nas sessões pré-cirúrgicas ($P > 0,05$). O grupo controle apresentou uma tendência de maior frequência para este comportamento na primeira sessão pós-cirúrgica ($P > 0,05$). Este aumento não foi observado nas sessões seguintes. Assim como no caso dos comportamentos sociais agrupados, a frequência de comportamento visual tendeu a aumentar para ambos grupos nas sessões pós-cirúrgicas 2 e 3 ($P > 0,05$).

Os resultados do teste de interação com adulto desconhecido estão ilustrados nas figura 16 (A e B) e figura 17. Não houve diferença no tempo despendido na região próxima entre os grupos controle e lesão na área próxima (Fig. 16.A) nem na área distante (Fig. 16.B). O grupo lesão entretanto tendeu a despende menos tempo na área distante somente na segunda sessão, também sem significância estatística (Fig. 16.B). Não houve tampouco diferenças entre os grupos no parâmetro de frequência de entradas na área próxima nas duas sessões. Na segunda sessão houve uma tendência de maior frequência para o grupo controle que não alcançou significância estatística (Fig. 17; $P > 0,05$). O tempo de latência até a primeira entrada na área próxima está ilustrado na figura 18. Não foram

encontradas diferenças estatísticas entre os grupos nas duas sessões, apesar de uma tendência de ambos grupos reduzirem a latência na segunda sessão ($P > 0,05$).

No teste de dominância entre os sujeitos, não foram encontradas diferenças na latência até o primeiro contato com a fruta ou no tempo de manipulação da fruta durante o primeiro minuto em ambas sessões (Fig. 19 e 20; $P > 0,05$). A frequência total de contatos com a fruta também não apresentou diferenças significativas entre os grupos ou entre as sessões (Fig. 21).

No teste de confronto com predador, o grupo controle não buscou o pedaço de fruta em nenhuma das tentativas com a presença da serpente de borracha, ao passo que o grupo lesão buscou a fruta rapidamente no início de cada sessão, com ou sem serpente (Fig. 22). Não houve diferença estatística entre a latência do grupo lesão nas 4 tentativas. Na tentativa controle, o grupo controle buscou a fruta dentro da duração de cinco minutos. O teste de ANOVA (desenho misto com fatores de grupo e tentativa) usando ajuste de Bonferroni para análise pareada mostrou diferença significativa entre grupos na sessão de 1 a 3 ($F_{1,3}=720,723$; $P \leq 0,001$) mas não na tentativa controle ($P=0,458$). Houve também uma diminuição significativa para o grupo controle na tentativa sem a serpente ($F_{3,9}=58,877$; $P=0,004$).

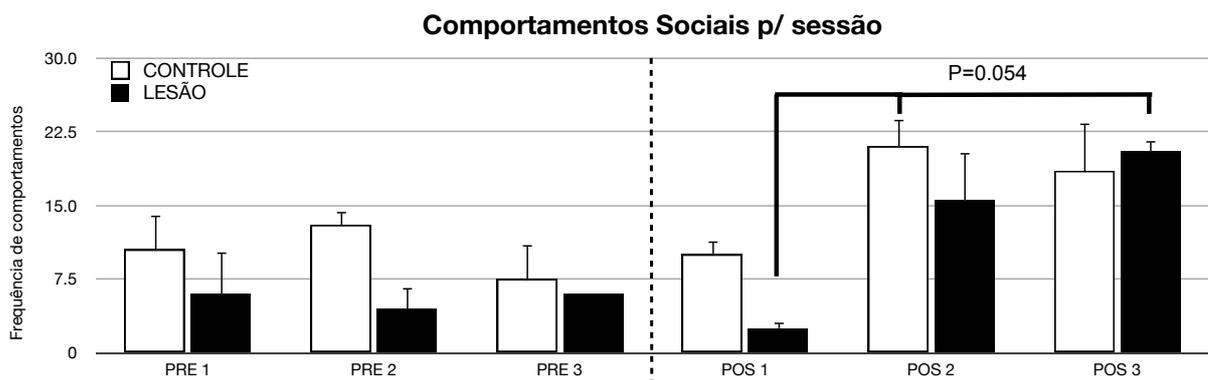


Figura 14. Frequência de comportamentos sociais agrupados observados no próprio viveiro distribuídos por sessões pré-cirúrgicas (PRE 1, PRE 2 e PRE 3) e sessões pós-cirúrgicas (POS 1, POS 2 e POS 3). ($n=4$)

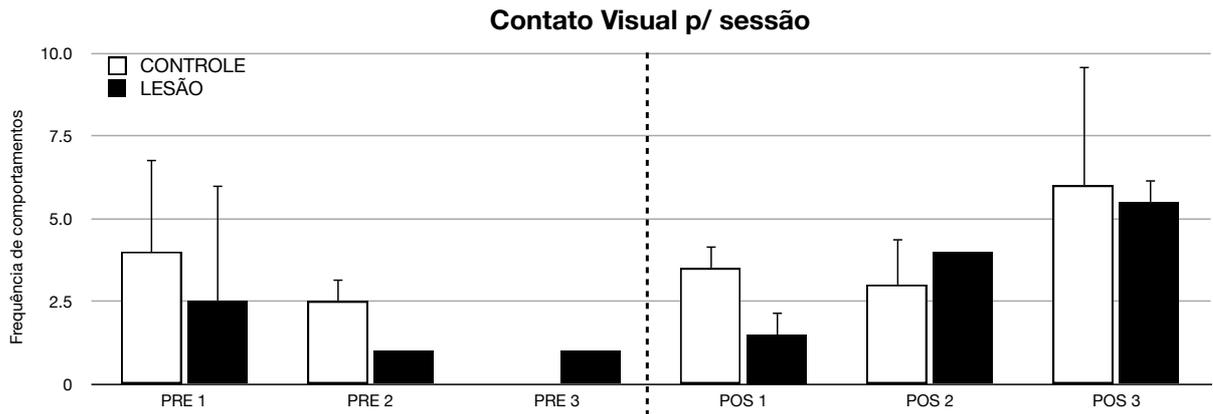


Figura 15. Frequência de comportamentos de contato visual entre sujeitos observados no próprio viveiro distribuídos por sessões pré-cirúrgicas (PRE 1, PRE 2 e PRE 3) e sessões pós-cirúrgicas (POS 1, POS 2 e POS 3). (n= 4)

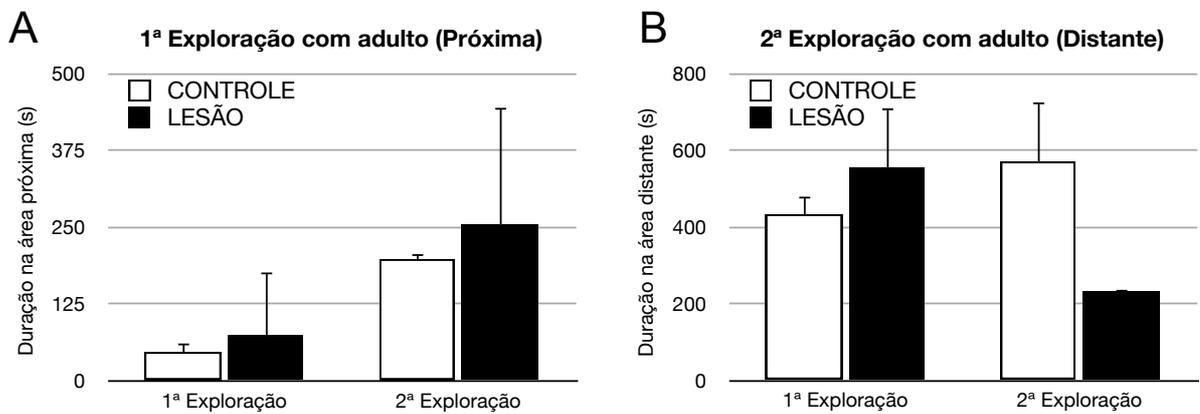


Figura 16. Exploração da arena na presença de animal adulto estranho em duas sessões em tempo despendido (A) na região próxima ao adulto estranho e (B) na região distante do adulto estranho.

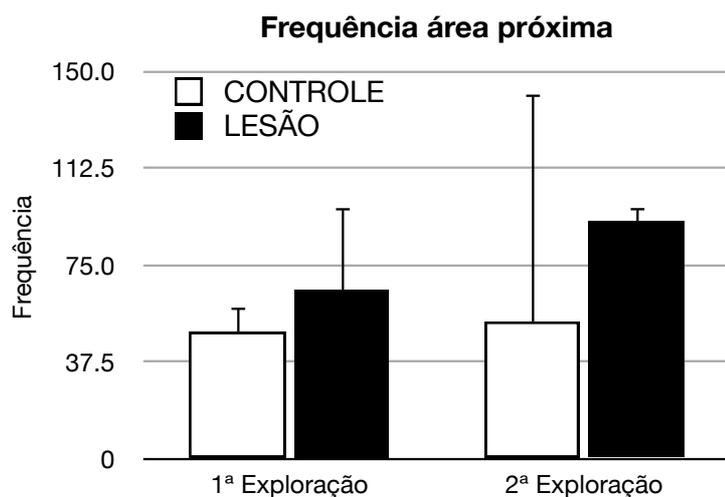


Figura 17. Exploração da arena na presença de animal adulto estranho em frequência de entradas na região próxima ao adulto estranho.

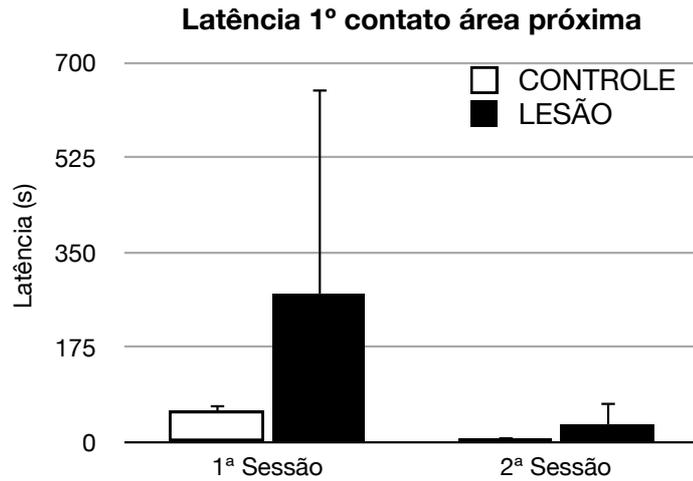


Figura 18. Latência da 1ª entrada na área próxima ao adulto estranho em duas sessões.

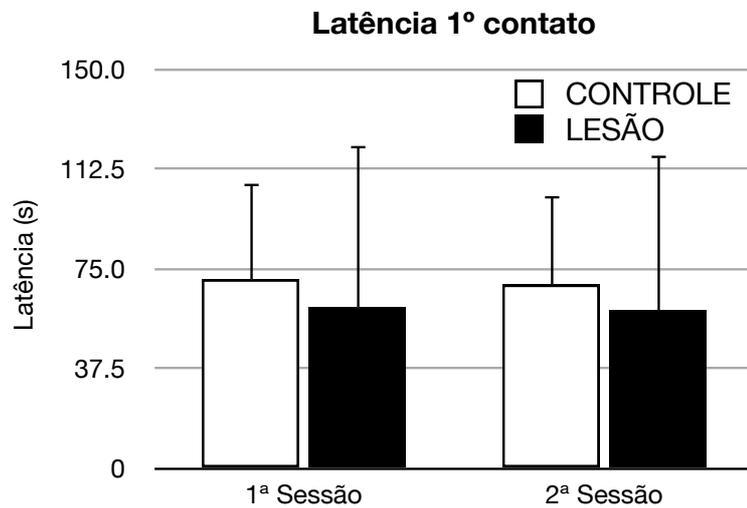


Figura 19. Latência até 1º contato com a fruta no teste de dominância (s). (n=4)

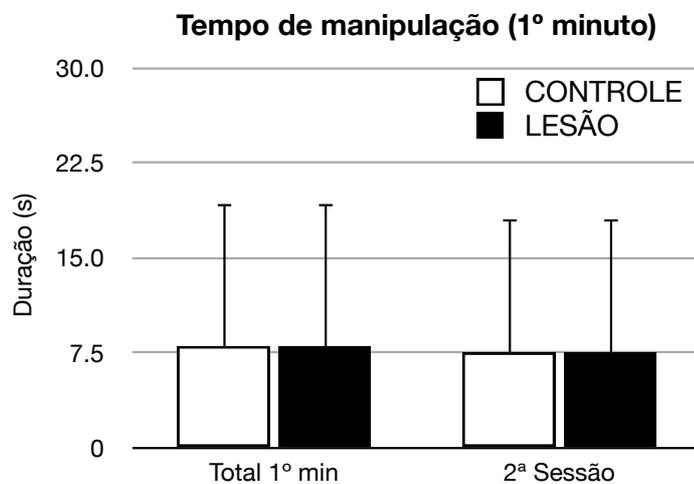


Figura 20. Tempo de manipulação da fruta no teste de dominância considerando apenas o 1º minuto de cada sessão (s). (n=4)

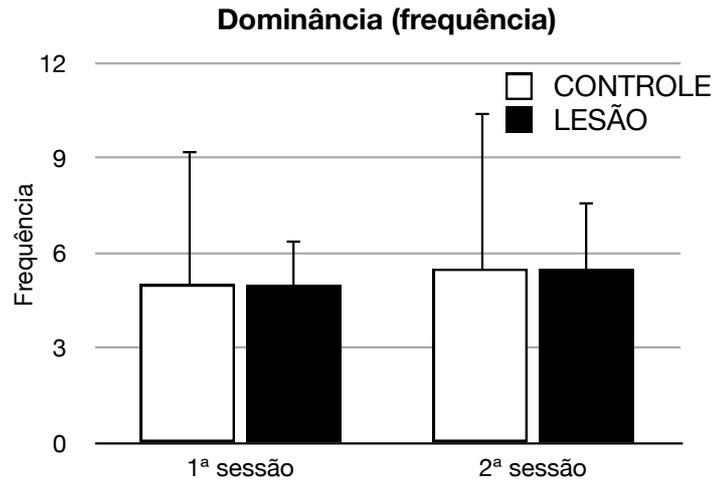


Figura 21. Dominância entre sujeitos controle e lesão em frequência total de contatos com a fruta.

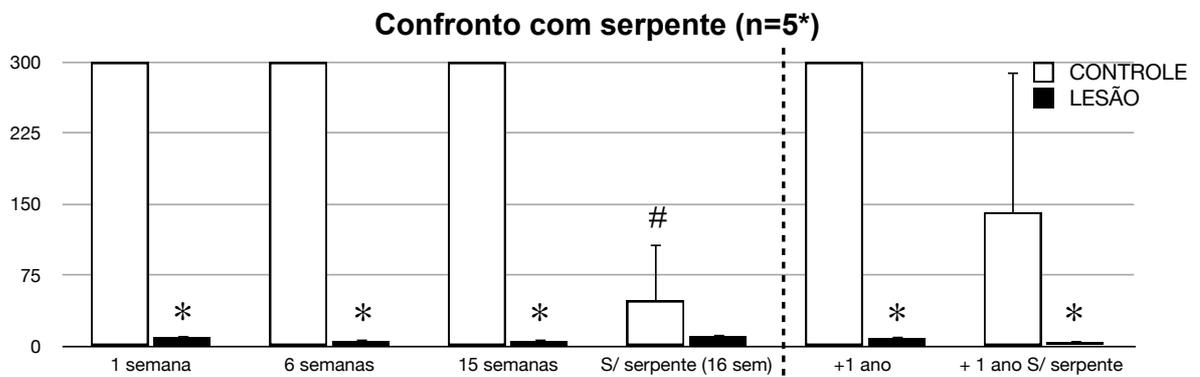


Figura 22. Latência até o alvo (pedaço de fruta) em tentativas de 300 segundos. * indica diferença estatística comparada ao grupo controle na mesma tentativa e # indica diferença estatística entre o grupo controle na tentativa controle e nas tentativas anteriores. (n = 6, na primeira semana; nas demais n = 5)

7 DISCUSSÃO

Os resultados dos comportamentos sociais espontâneos no próprio viveiro mostraram algumas tendências que não atingiram o índice de significância estatística. Antes da cirurgia, os animais lesados apresentaram, de forma geral, uma menor frequência de comportamentos sociais do que os animais do grupo controle. Essa diferença tendeu a se acentuar na primeira sessão pós-cirúrgica. A frequência destes comportamentos aumentou para os dois grupos nas duas sessões subsequentes, sendo que para o grupo lesão esse aumento foi muito próximo do índice de significância (Fig. 14). Como o número de sujeitos amostrados reduziu o poder dos testes estatísticos aplicados, é difícil interpretar esta tendência.

A frequência de contato visual entre os sujeitos apresentou um padrão semelhante aos resultados do comportamento social agrupado. Entretanto, além do reduzido número amostral, este é um comportamento de baixa frequência, o que dificulta ainda mais a análise estatística. Ainda assim, é importante analisar este comportamento de forma isolada por duas razões. Em primeiro lugar, este comportamento está intimamente ligado a déficits visuais encontrados em pacientes autistas. Em segundo lugar, como o CS está implicado no direcionamento sacádico dos olhos, uma lesão deste poderia induzir prejuízos na capacidade visual. A análise dos resultados deste comportamento todavia indica que o grupo lesão apresentou desempenho semelhante ao grupo controle, sobretudo nas sessões pós-cirúrgicas. Isso sugere que esta lesão não está ligada a deficiência de contato visual em autistas e tampouco os sujeitos do grupo lesão apresentaram algum déficit visual.

Os dados da exploração da arena na presença de um adulto estranho não revelaram diferenças entre os grupos lesão e controle. De forma geral, todos os sujeitos visitaram a área próxima de maneira similar, em termos de duração e frequência das visitas. Curiosamente, os animais lesados despenderam menos tempo na área distante durante a segunda sessão. Esse maior tempo gasto na região intermediária é de difícil explicação, porém é importante notar que áreas em que foi dividida a arena não mantêm as mesmas dimensões. Assim deve-se tomar cuidado em extrapolar as diferenças de duração. A latência de primeira visita dos animais lesados à área próxima também mostrou uma tendência de aumento na

primeira sessão e que foi revertida na segunda sessão. No entanto, a dispersão dos dados foi muito acentuada para permitir significância estatística.

De forma geral, a lesão no CS não induziu nenhuma variação nos parâmetros de dominância social do presente estudo. Ambos grupos experimentais apresentaram valores equivalentes para 'latência até o 1º contato', 'tempo de manipulação no 1º minuto' e 'frequência total de manipulações'. Esses resultados estão de acordo com o estudo de Machado & Bachevalier (100) em que lesões seletivas da AM (assim como do hipocampo e córtex orbito-frontal) não alteraram os comportamentos espontâneos de dominância em macacos rhesus em uma situação de grupo social. Neste estudo, animais com lesão na AM apresentaram severas alterações de personalidade que culminaram em déficits de interação social. Eles também demonstraram alterações na maneira com que respondiam a sinais de ameaça, sobretudo reduzindo a frequência de comportamentos de dominância frente a sinais sociais de ameaça.

No testes de confronto com a serpente, as lesões bilaterais do CS induziram uma redução da inibição comportamental frente a um estímulo ameaçador. As diferenças na latência entre o grupo controle e lesão são bastante distintas. Os sujeitos do grupo controle buscaram o pedaço de fruta somente nas sessões em que não havia a serpente de borracha (sessão controle). Os sujeitos do grupo lesão, por outro lado, o fizeram no início de todas as sessões, independente da presença ou ausência do estímulo ameaçador. Em alguns casos, foi possível ver um sujeito do grupo lesão comer a fruta, sentado em cima da serpente de borracha. Além disso, os aspectos ameaçadores do estímulo não diminuíram com o tempo, uma vez que o grupo controle continuou evitando a serpente até um ano após o primeiro contato. Em um experimento similar, Vitale et al. (101) demonstraram que macacos-prego sem lesões diminuíam as respostas de medo a um modelo de serpente depois de algumas exposições. Diferente do presente estudo, no entanto, o trabalho de Vitale et al. incluiu animais adultos e sessões mais longas em intervalos menores entre elas. Estas disparidades podem explicar a diferença de reação ao estímulo aversivo ao longo do tempo.

A latência medida neste teste não foi estatisticamente diferente entre os grupos na sessão controle (ie. sem serpente), mesmo considerando estímulos possivelmente associados ao estímulo ameaçador (prato de metal, viveiro de teste e separação dos outros animais). De forma geral, isso indica que as características

aversivas do teste residem no estímulo em vez de estarem relacionadas ao contexto. Apesar de ambos os grupos terem sido sujeitos à privação de alimentos durante 12 horas antes de cada tentativa, os sujeitos do grupo lesão foram capazes de localizar o alvo e se locomover até ele rapidamente em todas as sessões. O grupo controle exibiu comportamento bastante similar na sessão controle. Somados todos esses fatores, conclui-se que redução ou falta de inibição em relação à serpente não podem ser atribuídos a déficits de atenção, motivação ou visuo-perceptuais.

Os dados do teste de confronto com a serpente indicam que o CS é importante para codificar estímulos de ameaça, pelo menos na infância. Esses dados são muito próximos aos resultados obtidos em macacos rhesus jovens com a lesão neonatal na AM (102). Neste estudo do grupo de David Amaral, animais com lesão na AM apresentaram o mesmo tipo de inibição comportamental frente a um modelo de serpente. Serão necessárias, não obstante, futuras investigações no CS para determinar se a diminuição/falta de inibição restringe-se a lesões precoces ou se lesões do CS em sujeitos adultos também induziriam este efeito, como no caso da AM (103, 104).

8 DISCUSSÃO GERAL

Em uma longa sequência de trabalhos, o grupo de Arne Ohman estabeleceu um sólido arcabouço de evidências demonstrando que faces (principalmente de ameaça, como faces de raiva e surpresa) e serpentes são estímulos diferenciados para circuitaria do medo no cérebro de primatas (para revisão, ver 105). Ambas classes de estímulos compartilham características especiais. Em primeiro lugar, os estudos de medo condicionado mostraram que figuras ou vídeos de faces e serpentes são mais facilmente associados a estímulos aversivos e que essa associação costuma ser mais forte e persistente do que estímulos neutros ou positivos (106-109). Segundo, figuras de serpentes ou faces de ameaça eliciam respostas de medo mesmo quando apresentadas abaixo do limiar de detecção consciente (blindsight; 35, 47, 110). Além disso, tais estímulos são mais rapidamente encontrados em tarefas de busca visual (111-116). Essas evidências sugerem que tanto faces quanto serpentes foram priorizadas pelo processo evolutivo de primatas.

Essa priorização advém de situações distintas da história evolutiva (117, 118). As reações a predadores, em geral, envolvem respostas mais imediatas e diretas (eg. fuga), ao passo que confrontos com coespecíficos já demandam respostas mais complexas, como comportamentos de rendição e submissão (119). De fato, distúrbios fóbicos baseados nesses estímulos apresentam características bastante distintas. Fobias sociais apresentam componentes mais cognitivos e estratégicos do que fobias de animais, como serpentes ou aranhas (120-122).

A visão de serpentes é um estímulo de ameaça relevante para sobrevivência de primatas. Estima-se que os incidentes com serpentes, ainda hoje em dia, sejam responsáveis por 100.000 mortes por ano em todo o mundo (123). Em primatas não-humanos, tal estimativa é mais difícil de ser estabelecida, apesar de algumas observações de campo já terem relatado ataques de serpentes (124, 125). De fato, Isbell (126) propôs que serpentes (especialmente as venenosas) exerceram grande pressão seletiva na formação evolucionária do sistema visual de primatas. A evolução da via visual subcortical de primatas, por exemplo, coincide com a pressão seletiva por serpentes venenosas em primatas do velho e do novo mundo (126). Além disso, a utilização de serpentes como estímulo aversivo em experimentos indica que estas apresentam características muito particulares para primatas. Um

único pareamento, por exemplo, é suficiente para eliciar respostas de medo condicionado em humanos (127, 128). A aquisição de medo condicionado a serpentes em macacos também foi demonstrada por aprendizagem vicária, simplesmente pela observação da reação de medo em outros animais (129). Fotografias de serpentes e réplicas inanimadas induzem, em primatas, respostas de medo próximas àquelas eliciadas pela interação com os próprios animais (101).

Desinibição comportamental frente a serpentes é geralmente atribuída à redução do medo ou de comportamentos defensivos (103, 130) ou aumento de docilidade (104), também visto na Síndrome de Klüver-Bucy (131). Nesse sentido, outros sintomas dessa síndrome, como hiper-oralidade, hiper-sexualidade ou agnosia visual não foram observadas no grupo lesão. Esses animais mostraram-se claramente capazes de diferenciar o pedaço de banana (comestível) da serpente de borracha (não comestível), o que não corroboraria a possibilidade de déficit de reconhecimento visual dos estímulos. Os dados do comportamento de contato visual também indicam, como já citado acima, que os animais lesados não sofreram prejuízo na capacidade visual.

Dado que a via colículo-pulvinar já foi implicada na base do desenvolvimento do “cérebro social” (10), lesões precoces do CS ou PUL podem estar no cerne dos déficits sociais e de defesa encontrados em pacientes autistas (65, 132, 133). Kleinhans et al. (65) encontraram hipoatividade desta via em pacientes autistas em uma tarefa de reconhecimento de faces. O PUL recebe projeções do CS e também algumas projeções diretas da retina (30, 31, 134) e, por sua vez, envia projeções para AM (35) assim como para os córtices visuais associativos (135). Apesar de ser ainda difícil precisar o papel individual de cada uma dessas estruturas, estudos de tempo de reação e de neuroimagem implicaram ambos na detecção de ameaça e outros estímulos emocionalmente relevantes (34, 35, 65). Esses dados são corroborados pelos dados neurofisiológicos do primeiro estudo do presente trabalho (73).

O papel e as implicações da via colículo-pulvinar têm sido recentemente alvo de debate entre pesquisadores (135-138). A proposta inicial de uma via sub-cortical que enviaria informações emocionalmente relevantes de forma rápida até a AM foi formalmente formulada inicialmente, em 1996, por LeDoux (24). Nesta proposta, o processamento rápido deste tipo de informação prescindiria da ativação do córtex e a AM centralizaria o processo não-consciente de estímulos emocionais e sociais.

Várias linhas de investigação encontraram evidências em suporte a essa concepção (35, 36, 65, 139, 140). Pessoa e Adolphs (135), no entanto, alinhavaram uma série de críticas ao modelo de LeDoux e propuseram uma alternativa em que o papel da AM, assim como do PUL, residiria na coordenação de áreas corticais para a avaliação do significado afetivo dos estímulos visuais. Essa proposta cunhada de “modelo de ondas múltiplas” atribui um papel mais proeminente para o córtex no processamento das emoções.

Apesar de não negarem o envolvimento de estruturas subcorticais no processamento de estímulos relevantes para emoção, Pessoa e Adolphs posicionaram-se contra a existência de uma conexão direta CS-PUL-AM em primatas. Estudos anatômicos demonstraram conexões entre o CS e o PUL (87, 141), mais especificamente entre as camadas superficiais do CS e o núcleo inferior do PUL, e entre o núcleo medial do PUL e AM (11, 29). Ainda assim, os autores argumentam que esses estudos não demonstraram conexões entre o núcleo inferior do PUL e a AM, mas apenas com o córtex visual. Entretanto, um estudo mais recente, utilizando tractografia *in vivo* em humanos, conseguiu demonstrar que as regiões do PUL com aferências do CS também projetam para AM (139).

Na perspectiva de ondas múltiplas, o papel do CS fica relegado a processos de atenção visual e movimentos sacádicos dos olhos. Apesar disso, estudos com roedores demonstraram que o CS participa do sistema de defesa do cérebro mediante conexões com a matéria cinzenta periaquedutal e com a substância negra, estruturas envolvidas em respostas de fuga frente a predadores (43, 142-144). Além disso, pacientes humanos com hemisferectomia apresentam percepção não-consciente de estímulos via ativação do CS (145, 146). Em macacos, o CS também mantém preservada sua atividade após hemisferectomia (147).

A distribuição de latência de respostas do Estudo 1 (fig. 10) indica que neurônios do PUL também respondem rapidamente a estímulos de expressões faciais. Os dados de comportamento social do Estudo 2 não indicaram diferenças entre os grupos experimentais, porém algumas tendências podem não terem sido confirmadas em função do pequeno número amostral. Os dados de confronto com o predador, por outro lado, já mostram uma diferença mais clara entre os grupos na reação a um estímulo de ameaça. Assim, os resultados obtidos no presente trabalho, apesar de empregarem metodologias distintas, dão suporte à via colículo-pulvinar no processamento de estímulos emocionalmente relevantes.

O presente trabalho entretanto não esgota a controvérsia entre os modelos de LeDoux e Pessoa-Adolphs. As estruturas aqui analisadas mantêm conexões com outras estruturas corticais e sub-corticais, o que resulta em diferentes implicações para o processamento de estímulos sociais e de emoções. Não obstante, quando somados a outros trabalhos da literatura, os presentes achados favorecem a função de processamento rápido de estímulos relevantes da via colículo-pulvinar em detrimento do córtex (via retino-calcarina; fig. 23). Eles também sublinham a necessidade de se explorar a via colículo-pulvinar em estudos sobre distúrbios sociais, como as síndromes do espectro autista e fobias.

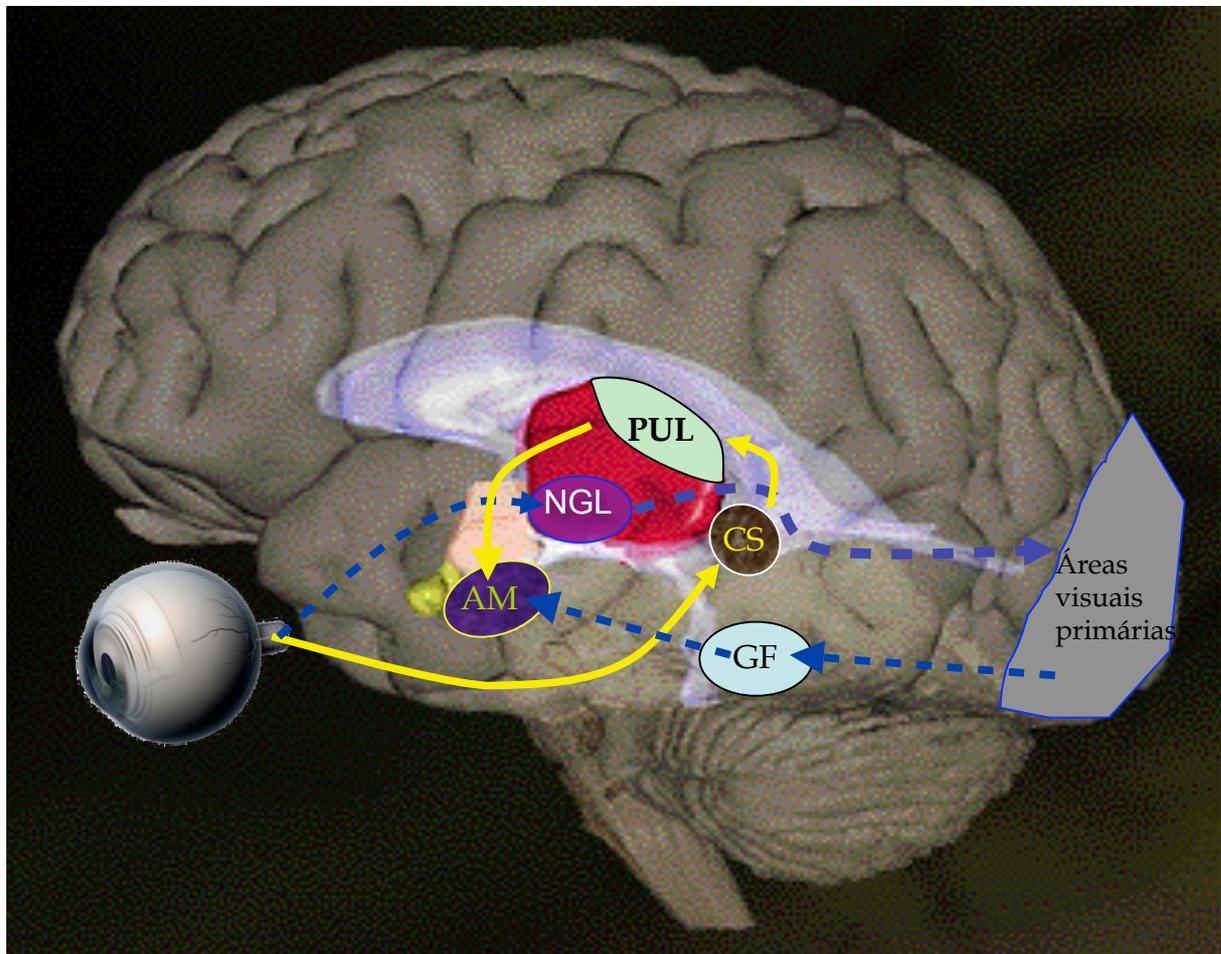


Figura 23. Vias visuais envolvidas no reconhecimento de estímulos emocionais (simplificadas). Via colículo-pulvinar (setas amarelas); Via retino-calcarina (setas azuis pontilhadas). AM = amígdala; CS = colículo superior; GF = giro fusiforme; NGL = núcleo geniculado lateral; PUL = pulvinar.

9 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nos dois estudos do presente trabalho corroboram a existência da via colículo-pulvinar e do seu papel no processamento de estímulos emocionalmente relevantes. Os registros realizados no PUL indicam que este processamento pode ocorrer rapidamente, condizente com processamento subliminar de estímulos visuais. O caráter transitório dos déficits sociais induzidos pela lesão no CS, sobretudo no comportamento de contato visual, sugere que essa estrutura não é crítica para os déficits sociais encontradas no espectro autista. Por outro lado, as diferenças duradouras no conflito com a serpente indicam que o CS participa do reconhecimento de ameaças. Futuros trabalhos podem explorar a participação do CS na memória filogenética de predadores, testando diferentes estímulos de ameaça (e.g. potenciais predadores naturais e não-naturais). Seria importante também avaliar o impacto de lesões no CS em animais adultos, ao invés de sujeitos infantis.

10 REFERÊNCIAS

1. Thierry B, Singh M, Kaumanns W. *Macaque Societies: A model for the study of social organization*. Cambridge: Cambridge University Press; 2004.
2. Fragaszy DM, Visalberghi E, Fedigan LM. *The Complete Capuchin: The biology of the genus Cebus*. Cambridge: Cambridge University Press; 2004.
3. Kail RE. *Children and Their Development* 4th ed. New Jersey: Prentice Hall; 2006.
4. Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. *Brain Research Reviews*. 2010;65(1):56-79.
5. Robert AC, Finger S. Neural insult and critical period concepts. In: Bornstein MH, editor. *Sensitive Periods in Development: Interdisciplinary Perspectives*. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum; 1987.
6. Machado CJ, Bachevalier J. Non-human primate models of childhood psychopathology: the promise and the limitations. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. 2003;44(1):64-87.
7. Webster MJ, Ungerleider LG, Bachevalier J. Connections of inferior temporal areas TE and TEO with medial temporal-lobe structures in infant and adult monkeys. *Journal of Neuroscience*. 1991;11(4):1095-116.
8. Rodman HR. Development of inferior temporal cortex in the monkey. *Cerebral Cortex*. 1994;4(5):484-98.
9. Finlay BL, Darlington RB. Linked regularities in the development and evolution of mammalian brains. *Science*. 1995;268(5217):1578-84.
10. Johnson MH. Subcortical face processing. *Nature Reviews Neuroscience*. 2005;6(10):766-74.
11. Jones EG, Burton H. A projection from the medial pulvinar to the amygdala in primates. *Brain Res*. 1976;104(1):142-7. Epub 1976/03/05.
12. Tomaz C, Dickinsonanson H, McGaugh JL. Basolateral amygdala lesions block diazepam-induced anterograde amnesia in an inhibitory avoidance task. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992;89(8):3615-9.
13. Tomaz C, Frank JE, Conde C. Integrative function of the Amygdala in emotional memory storage. In: Ono T, Matsumoto G, Llinas RR, Norgren R, Nishijo

- H, Tamura R, editors. Cognition and emotion in the brain Selected topics of the International Symposium on Limbic and Association Cortical Systems. Amsterdam: Elsevier; 2003. p. 335 – 46.
14. LeDoux JE. The emotional Brain: The mysterious underpinnings of emotional life. New York: Touchstone Press; 1999.
 15. LeDoux J. The amygdala. *Current Biology*. 2007;17:R868-R74.
 16. Frank JE, Tomaz C. Lateralized impairment of the emotional enhancement of verbal memory in patients with amygdala-hippocampus lesion. *Brain and Cognition*. 2003;52(2):223-30.
 17. Thompson CI. Long-term behavioral development of rhesus monkeys after amygdectomy in infancy. In: Ben-Ari Y, editor. *The amygdaloid complex* Amsterdam: Elsevier; 1981. p. 259-70.
 18. Prather MD, Lavenex P, Mauldin-Jourdain ML, Mason WA, Capitanio JP, Mendoza SP, et al. Increased social fear and decreased fear of objects in monkeys with neonatal amygdala lesions. *Neuroscience*. 2001;106(4):653-8.
 19. LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*. 2000;23:155-84.
 20. Tomaz C, Dickinsonanson H, McGaugh JL, SouzaSilva MA, Viana MB, Graeff FG. Localization in the amygdala of the amnesic action of diazepam on emotional memory. *Behavioural Brain Research*. 1993;58(1-2):99-105.
 21. Leonard CM, Rolls ET, Wilson FAW, Baylis GC. Neurons in the amygdala of the monkey with responses selective for faces. *Behavioural Brain Research*. 1985;15(2):159-76.
 22. Whalen PJ, Rauch SL, Etcoff NL, McInerney SC, Lee MB, Jenike MA. Masked presentations of emotional facial expressions modulate amygdala activity without explicit knowledge. *Journal of Neuroscience*. 1998;18(1):411-8.
 23. Phelps EA, O'Connor KJ, Gatenby JC, Gore JC, Grillon C, Davis M. Activation of the left amygdala to a cognitive representation of fear. *Nature Neuroscience*. 2001;4(4):437-41.
 24. LeDoux JE. *The emotional brain*. New York: Simon & Schuster; 1996.
 25. Tsuchiya N, Moradi F, Felsen C, Yamazaki M, Adolphs R. Intact rapid detection of fearful faces in the absence of the amygdala. *Nat Neurosci*. 2009;12(10):1224-5. Epub 2009/09/01.

26. Piech RM, McHugo M, Smith SD, Dukic MS, Van Der Meer J, Abou-Khalil B, et al. Fear-enhanced visual search persists after amygdala lesions. *Neuropsychologia*. 2010;In press.
27. Amaral DG, Price JL, Pitkanen A, Carmichael ST. Anatomical organization of the primate amygdaloid complex. In: Aggleton JP, editor. *The amygdala: Neurobiological aspects of emotion, child's social environment or the environment pro- memory, and mental dysfunction*. New York: John Wiley & Sons, Inc; 1992. p. 1-66.
28. Aggleton JP, Saunders RC. The amygdala – what's happened in the last decade. In: Aggleton JP, editor. *The amygdala – second edition: Functional analysis* Oxford: Oxford Universtiy Press; 2000. p. 1-30.
29. Romanski LM, Giguere M, Bates JF, Goldman-Rakic PS. Topographic organization of medial pulvinar connections with the prefrontal cortex in the rhesus monkey. *J Comp Neurol*. 1997;379(3):313-32. Epub 1997/03/17.
30. Nakagawa S, Tanaka S. Retinal projections to the pulvinar nucleus of the macaque monkey: a re-investigation using autoradiography. *Exp Brain Res*. 1984;57(1):151-7. Epub 1984/01/01.
31. Benevento LA, Fallon JH. The ascending projections of the superior colliculus in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J Comp Neurol*. 1975;160(3):339-61. Epub 1975/04/01.
32. Partlow GD, Colonnier M, Szabo J. Thalamic projections of superior colliculus in rhesus-monkey, *macaca-mulatta* - light and electron-microscopic study. *Journal of Comparative Neurology*. 1977;171(3):285-317.
33. Benevento LA, Standage GP. The organization of projections of the retinorecipient and nonretinorecipient nuclei of the pretectal complex and layers of the superior colliculus to the lateral pulvinar and medial pulvinar in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology*. 1983;217(3):307-36.
34. Ward R, Danziger S, Bamford S. Response to visual threat following damage to the pulvinar. *Curr Biol*. 2005;15(6):571-3. Epub 2005/03/31.
35. Morris JS, Ohman A, Dolan RJ. A subcortical pathway to the right amygdala mediating "unseen" fear. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(4):1680-5.

36. Liddell BJ, Brown KJ, Kemp AH, Barton MJ, Das P, Peduto A, et al. A direct brainstem-amygdala-cortical 'alarm' system for subliminal signals of fear. *Neuroimage*. 2005;24(1):235-43.
37. Vuilleumier P, Armony JL, Driver J, Dolan RJ. Distinct spatial frequency sensitivities for processing faces and emotional expressions. *Nat Neurosci*. 2003;6(6):624-31. Epub 2003/05/13.
38. Ward R, Calder AJ, Parker M, Arend I. Emotion recognition following human pulvinar damage. *Neuropsychologia*. 2007;45(8):1973-8. Epub 2007/01/26.
39. Siman-Tov T, Papo D, Gadoth N, Schonberg T, Mendelsohn A, Perry D, et al. Mind Your Left: Spatial Bias in Subcortical Fear Processing. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2009;21(9):1782-9.
40. Lord C, Spence S. Autism spectrum disorders: Phenotype and Diagnosis. In: Moldin SO, J.L.R. R, editors. *Understanding Autism: from basic neuroscience to treatment*. Washington: CRC Press; 2006.
41. Cynader M, Berman N. Receptive-field organization of monkey superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*. 1972;35(2):187-&.
42. Robinson DA. Eye-movements evoked by collicular stimulation in alert monkey. *Vision Research*. 1972;12(11):1795-&.
43. Coimbra NC, De Oliveira R, Freitas RL, Ribeiro SJ, Borelli KG, Pacagnella RC, et al. Neuroanatomical approaches of the tectum-reticular pathways and immunohistochemical evidence for serotonin-positive perikarya on neuronal substrates of the superior colliculus and periaqueductal gray matter involved in the elaboration of the defensive behavior and fear-induced analgesia. *Experimental Neurology*. 2006;197(1):93-112.
44. Maravita A, Bolognini N, Bricolo E, Marzi CA, Savazzi S. Is audiovisual integration subserved by the superior colliculus in humans? *Neuroreport*. 2008;19(3):271-5.
45. Leo F, Bertini C, di Pellegrino G, Ladavas E. Multisensory integration for orienting responses in humans requires the activation of the superior colliculus. *Experimental Brain Research*. 2008;186(1):67-77.
46. Bell AH, Meredith MA, Van Opstal AJ, Munoz DP. Crossmodal integration in the primate superior colliculus underlying the preparation and initiation of saccadic eye movements. *Journal of Neurophysiology*. 2005;93(6):3659-73.

47. Gelder BC, Morris JS, Dolan RJ. Unconscious fear influences emotional awareness of faces and voices. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(51):18682-7.
48. Alvarado JC, Vaughan JW, Stanford TR, Stein BE. Multisensory versus unisensory integration: Contrasting modes in the superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*. 2007;97(5):3193-205.
49. Nishijo H, Hori E, Tazumi T, Ono T. Neural correlates to both emotion and cognitive functions in the monkey amygdala. *Behavioural Brain Research*. 2008;188(1):14-23.
50. Tazumi T, Hori E, Maior RS, Ono T, Nishijo H. Neural correlates to seen gaze-direction and orientation in the macaque monkey amygdala *Neuroscience*. 2010;169(1):287-301.
51. Dalton KM, Nacewicz BM, Johnstone T, Schaefer HS, Gernsbacher MA, Goldsmith HH, et al. Gaze fixation and the neural circuitry of face processing in autism. *Nature Neuroscience*. 2005;8(4):519-26.
52. Moldin SO, Rubenstein JLR. *Understanding Autism: from basic neuroscience to treatment*. Washington: CRC Press; 2006.
53. Association AP. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-Text Revision*. 4th ed. Washington 2000.
54. Sparks BF, Friedman SD, Shaw DW, Aylward EH, Echelard D, Artru AA, et al. Brain structural abnormalities in young children with autism spectrum disorder. *Neurology*. 2002;59(2):184-92.
55. Bailey A, Luthert P, Dean A, Harding B, Janota I, Montgomery M, et al. A clinicopathological study of autism. *Brain*. 1998;121:889-905.
56. Kemper TL, Bauman M. Neuropathology of infantile autism. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 1998;57(7):645-52.
57. Courchesne E. Abnormal early brain development in autism. *Molecular Psychiatry*. 2002;7:S21-S3.
58. Hebert MR, Caviness Jr. VS. Neuroanatomy and neuroimage studies. In: Tuchman R, Rapin I, editors. *Autism: A Neurological Disorder of Early Brain Development*. London: Mac Keith Press; 2006.
59. Levitt JG, O'Neill J, Blanton RE, Smalley S, Fadale D, McCracken JT, et al. Proton magnetic resonance spectroscopic imaging of the brain in childhood autism. *Biological Psychiatry*. 2003;54(12):1355-66.

60. Luna B, Minshew NJ, Garver KE, Lazar NA, Thulborn KR, Eddy WF, et al. Neocortical system abnormalities in autism - An fMRI study of spatial working memory. *Neurology*. 2002;59(6):834-40.
61. Critchley HD, Daly EM, Bullmore ET, Williams SCR, Van Amelsvoort T, Robertson DM, et al. The functional neuroanatomy of social behaviour - Changes in cerebral blood flow when people with autistic disorder process facial expressions. *Brain*. 2000;123:2203-12.
62. Schultz RT, Gauthier I, Klin A, Fulbright RK, Anderson AW, Volkmar F, et al. Abnormal ventral temporal cortical activity during face discrimination among individuals with autism and Asperger syndrome. *Archives of General Psychiatry*. 2000;57(4):331-40.
63. Pierce K, Muller RA, Ambrose J, Allen G, Courchesne E. Face processing occurs outside the fusiform 'face area' in autism: evidence from functional MRI. *Brain*. 2001;124:2059-73.
64. Hadjikhani N, Joseph RM, Snyder J, Chabris CF, Clark J, Steele S, et al. Activation of the fusiform gyrus when individuals with autism spectrum disorder view faces. *Neuroimage*. 2004;22(3):1141-50.
65. Kleinhans NM, Richards T, Johnson LC, Weaver KE, Greenson J, Dawson G, et al. fMRI evidence of neural abnormalities in the subcortical face processing system in ASD. *Neuroimage*. 2011;54(1):697-704. Epub 2010/07/27.
66. Pascual JM. Animal models of the human mind: Is there anything like being autistic? *Neuroscience Letters*. 2011;505(2):59-60.
67. Weigel RM. Facial expressions of the brown capuchin monkey (*cebus-apella*). *Behaviour*. 1979;68:250-&.
68. Marmi J, Bertranpetit J, Terradas J, Takenaka O, Domingo-Roura X. Radiation and phylogeography in the Japanese macaque, *Macaca fuscata*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2004;30(3):676-85.
69. Kanazawa S. Recognition of facial expressions in a Japanese monkey (*Macaca fuscata*) and humans (*Homo sapiens*). *Primates*. 1996;37(1):25-38.
70. Ishibashi H, Hihara S, Iriki A. Acquisition and development of monkey tool-use: behavioral and kinematic analyses. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2000;78(11):958-66.
71. Hihara S, Obayashi S, Tanaka M, Iriki A. Rapid learning of sequential tool use by macaque monkeys. *Physiology & Behavior*. 2003;78(3):427-34.

72. Hacia JG, Makalowski W, Edgemon K, Erdos MR, Robbins CM, Fodor SPA, et al. Evolutionary sequence comparisons using high-density oligonucleotide arrays. *Nature Genetics*. 1998;18(2):155-8.
73. Maior RS, Hori E, Tomaz C, Ono T, Nishijo H. The monkey pulvinar neurons differentially respond to emotional expressions of human faces. *Behavioural Brain Research*. 2010;215(1):129-35.
74. Nishijo H, Ono T, Nishino H. Single neuron responses in amygdala of alert monkey during complex sensory stimulation with affective significance. *Journal of Neuroscience*. 1988;8(10):3570-83.
75. Kusama T, Mabuchi M. *Stereotaxic atlas of the brain of Macaca fuscata*. Tokyo: Tokyo University Press; 1970.
76. Rolls ET. Functions of the primate temporal lobe cortical visual areas in invariant visual object and face recognition. *Neuron*. 2000;27(2):205-18.
77. Carmel D, Bentin S. Domain specificity versus expertise: factors influencing distinct processing of faces. *Cognition*. 2002;83(1):1-29.
78. Preuschoft S. Laughter and smile in barbary macaques (*macaca-sylvanus*). *Ethology*. 1992;91(3):220-36.
79. Nahm FKD, Perret A, Amaral DG, Albright TD. How do monkeys look at faces? *Journal of Cognitive Neuroscience*. 1997;9(5):611-23.
80. Parr LA, Winslow JT, Hopkins WD. Is the inversion effect in rhesus monkeys face-specific? *Animal Cognition*. 1999;2:123-9.
81. Guo K, Robertson RG, Mahmoodi S, Tadmor Y, Young MP. How do monkeys view faces? - a study of eye movements. *Experimental Brain Research*. 2003;150(3):363-74.
82. Nishijo H, Hori E, Tazumi T, Eifuku S, Umeno K, Tabuchi E, et al. Role of the monkey amygdala in social cognition. In: Ono T, Matsumoto G, Llinas RR, Norgren R, Nishijo H, Tamura R, editors. *Cognition and emotion in the brain Selected topics of the International Symposium on Limbic and Association Cortical Systems*. Amsterdam: Elsevier; 2003. p. 295-310.
83. Desimone R, Wessinger M, Thomas L, Schneider W, Cold Spring Harbor Lab P. Attentional control of visual-perception - cortical and subcortical mechanisms. *Brain* /. 1990;55:963-71.

84. Olshausen BA, Anderson CH, Vanessen DC. A neurobiological model of visual-attention and invariant pattern-recognition based on dynamic routing of information. *Journal of Neuroscience*. 1993;13(11):4700-19.
85. Acuna C, Gonzalez F, Dominguez R. Sensorimotor unit-activity related to intention in the pulvinar of behaving cebus-apella monkeys. *Experimental Brain Research*. 1983;52(3):411-22.
86. Salzmann E. Attention and memory trials during neuronal recording from the primate pulvinar and posterior parietal cortex (area pg). *Behavioural Brain Research*. 1995;67(2):241-53.
87. Stepniewska I. The Pulvinar Complex. In: Kaas JH, Collins CE, editors. *The Primate Visual System*. Florida: CRC Press; 2004. p. 53-80.
88. Molotchnikoff S, Shumikhina S. The lateral posterior-pulvinar complex modulation of stimulus-dependent oscillations in the cat visual cortex. *Vision Research*. 1996;36(14):2037-46.
89. Shumikhina S, Molotchnikoff S. Visually-triggered oscillations in the cat lateral posterior-pulvinar complex. *Neuroreport*. 1995;6(17):2341-7.
90. Robinson DL, Petersen SE. The pulvinar and visual salience. *Trends in Neurosciences*. 1992;15(4):127-32.
91. Buchsbaum MS, Buchsbaum BR, Chokron S, Tang C, Wei TC, Byne W. Thalamocortical circuits: fMRI assessment of the pulvinar and medial dorsal nucleus in normal volunteers. *Neuroscience Letters*. 2006;404(3):282-7.
92. Corbetta M, Miezin FM, Dobmeyer S, Shulman GL, Petersen SE. Selective and divided attention during visual discriminations of shape, color, and speed - functional-anatomy by positron emission tomography. *Journal of Neuroscience*. 1991;11(8):2383-402.
93. Laberge D, Buchsbaum MS. Positron emission tomographic measurements of pulvinar activity during an attention task. *Journal of Neuroscience*. 1990;10(2):613-9.
94. Acuna C, Cudeiro J, Gonzalez F, Alonso JM, Perez R. Lateral-posterior and pulvinar reaching cells - comparison with parietal area-5a - a study in behaving macaca-nemestrina monkeys. *Experimental Brain Research*. 1990;82(1):158-66.
95. Baizer JS, Desimone R, Ungerleider LG. Comparison of subcortical connections of inferior temporal and posterior parietal cortex in monkeys. *Visual Neuroscience*. 1993;10(1):59-72.

96. Ma TP, Lynch JC, Donahoe DK, Attallah H, Rafols JA. Organization of the medial pulvinar nucleus in the macaque. *Anatomical Record*. 1998;250(2):220-37.
97. Manocha SL, Totada RS, Bourne GH. A stereotaxic atlas of the brain of the cebus monkey. Oxford: Oxford University Press; 1968.
98. Malkova L, Lex CK, Mishkin M, Saunders RC. MRI-based evaluation of locus and extent of neurotoxic lesions in monkeys. *Hippocampus*. 2001;11(4):361-70.
99. Nemanic S, Alvarado MC, Price RE, Jackson EF, Bachevalier J. Assessment of locus and extent of neurotoxic lesions in monkeys using neuroimaging techniques: a replication. *Journal of Neuroscience Methods*. 2002;121(2):199-209.
100. Machado CJ, Bachevalier J. The impact of selective amygdala, orbital frontal cortex, or hippocampal formation lesions on established social relationships in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Behavioral Neuroscience*. 2006;120(4):761-86.
101. Vitale AF, Visalberghi E, Delillo C. Responses to a snake model in captive crab-eating macaques (*macaca-fascicularis*) and captive tufted capuchins (*cebus-apella*). *International Journal of Primatology*. 1991;12(3):277-86.
102. Bliss-Moreau E, Toscano JE, Bauman MD, Mason WA, Amaral DG. Neonatal amygdala lesions alter responsiveness to objects in juvenile macaques. *Neuroscience*. 2011;178:123-32. Epub 2011/01/11.
103. Machado CJ, Kazama AM, Bachevalier J. Impact of Amygdala, Orbital Frontal, or Hippocampal Lesions on Threat Avoidance and Emotional Reactivity in Nonhuman Primates. *Emotion*. 2009;9(2):147-63.
104. Mason WA, Capitanio JP, Machado CJ, Mendoza SP, Amaral DG. Amygdalectomy and responsiveness to novelty in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): Generality and individual consistency of effects. *Emotion*. 2006;6(1):73-81.
105. Ohman A. Of snakes and faces: An evolutionary perspective on the psychology of fear. *Scandinavian Journal of Psychology*. 2009;50(6):543-52.
106. Ohman A, Dimberg U. Facial expressions as conditioned stimuli for electrodermal responses - case of preparedness. *Journal of Personality and Social Psychology*. 1978;36(11):1251-8.
107. Olsson A, Phelps EA. Learned fear of "unseen" faces after Pavlovian, observational, and instructed fear. *Psychological Science*. 2004;15(12):822-8.
108. Boschen MJ, Parker I, Neumann DL. Changes in implicit associations do not occur simultaneously to Pavlovian conditioning of physiological anxiety responses. *Journal of Anxiety Disorders*. 2007;21(6):788-803.

109. Sarlo M, Munafo M. When Faces Signal Danger: Event-Related Potentials to Emotional Facial Expressions in Animal Phobics. *Neuropsychobiology*. 2010;62(4):235-44.
110. Esteves F, Dimberg U, Ohman A. Automatically elicited fear - conditioned skin-conductance responses to masked facial expressions. *Cognition & Emotion*. 1994;8(5):393-413.
111. Ohman A, Flykt A, Esteves F. Emotion drives attention: Detecting the snake in the grass. *Journal of Experimental Psychology-General*. 2001;130(3):466-78.
112. Flykt A. Preparedness for action: Responding to the snake in the grass. *American Journal of Psychology*. 2006;119(1):29-43.
113. Flykt A. Visual search with biological threat stimuli: Accuracy, reaction times, and heart rate changes. *Emotion*. 2005;5(3):349-53.
114. Ohman A, Lundqvist D, Esteves F. The face in the crowd revisited: A threat advantage with schematic stimuli. *Journal of Personality and Social Psychology*. 2001;80(3):381-96.
115. Ohman A, Juth P, Lundqvist D. Finding the face in a crowd: Relationships between distractor redundancy, target emotion, and target gender. *Cognition & Emotion*. 2010;24(7):1216-28.
116. Masataka N, Hayakawa S, Kawai N. Human Young Children as well as Adults Demonstrate 'Superior' Rapid Snake Detection When Typical Striking Posture Is Displayed by the Snake. *Plos One*. 2010;5(11).
117. New J, Cosmides L, Tooby J. Category-specific attention for animals reflects ancestral priorities, not expertise. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(42):16598-603.
118. Nairne JS, Pandeirada JNS. Adaptive memory: Ancestral priorities and the mnemonic value of survival processing. *Cognitive Psychology*. 2010;61(1):1-22.
119. Butovskaya M, Kozintsev A, Welker C. Conflict and reconciliation in two groups of crab-eating monkeys differing in social status by birth. *Primates*. 1996;37(3):261-70.
120. Ohman A. Face the beast and fear the face - animal and social fears as prototypes for evolutionary analyses of emotion. *Psychophysiology*. 1986;23(2):123-45.

121. Campbell DW, Sareen J, Stein MB, Kravetsky LB, Paulus MP, Hassard ST, et al. Happy but not so approachable: the social judgments of individuals with generalized social phobia. *Depression and Anxiety*. 2009;26(5):419-24.
122. Alfano CA, Beidel DC, Turner SM. Cognitive correlates of social phobia among children and adolescents. *Journal of Abnormal Child Psychology*. 2006;34(2):189-201.
123. Kasturiratne A, Wickremasinghe AR, de Silva N, Gunawardena NK, Pathmeswaran A, Premaratna R, et al. The Global Burden of Snakebite: A Literature Analysis and Modelling Based on Regional Estimates of Envenoming and Deaths. *Plos Medicine*. 2008;5(11):1591-604.
124. Foerster S. Two incidents of venomous snakebite on juvenile blue and Sykes monkeys (*Cercopithecus mitis stuhlmanni* and *C-m. albogularis*). *Primates*. 2008;49(4):300-3.
125. Ferrari SF, Beltrao-Mendes R. Do snakes represent the principal predatory threat to callitrichids? Fatal attack of a viper (*Bothrops leucurus*) on a common marmoset (*Callithrix jacchus*) in the Atlantic Forest of the Brazilian Northeast. *Primates*. 2011;52(3):207-9.
126. Isbell LA. Snakes as agents of evolutionary change in primate brains. *Journal of Human Evolution*. 2006;51(1):1-35.
127. Ohman A, Mineka S. The malicious serpent: Snakes as a prototypical stimulus for an evolved module of fear. *Current Directions in Psychological Science*. 2003;12(1):5-9.
128. Ohman A, Eriksson A, Olofsson C. One-trial learning and superior resistance to extinction of autonomic responses conditioned to potentially phobic stimuli. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1975;88(2):619-27.
129. Cook M, Mineka S. Selective associations in the observational conditioning of fear in rhesus-monkeys. *Journal of Experimental Psychology-Animal Behavior Processes*. 1990;16(4):372-89.
130. Chudasama Y, Izquierdo A, Murray EA. Distinct contributions of the amygdala and hippocampus to fear expression. *European Journal of Neuroscience*. 2009;30(12):2327-37.
131. Kluver H, Bucy PC. Preliminary analysis of functions of the temporal lobes in monkeys (Reprinted from *Archives of Neurology and Psychiatry*, vol 42, pg 979, 1939). *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 1997;9(4):606-20.

132. Skuse D. Genetic influences on the neural basis of social cognition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*. 2006;361(1476):2129-41.
133. Vlamings P, Jonkman LM, Kemner C. An Eye for Detail: An Event-Related Potential Study of the Rapid Processing of Fearful Facial Expressions in Children. *Child Development*. 2010;81(4):1304-19.
134. O'Brien BJ, Abel PL, Olavarria JF. The retinal input to calbindin-D28k-defined subdivisions in macaque inferior pulvinar. *Neuroscience Letters*. 2001;312(3):145-8.
135. Pessoa L, Adolphs R. Emotion processing and the amygdala: from a 'low road' to 'many roads' of evaluating biological significance. *Nature Reviews Neuroscience*. 2010;11(11):773-82.
136. Adams WJ, Gray KLH, Garner M, Graf EW. On the "special" status of emotional faces ... Comment on Yang, Hong, and Blake (2010). *Journal of Vision*. 2011;11(3).
137. de Gelder B, van Honk J, Tamietto M. Emotion in the brain: of low roads, high roads and roads less travelled. *Nature Reviews Neuroscience*. 2011;12(7).
138. Pessoa L, Adolphs R. Emotion and the brain: multiple roads are better than one. *Nature Reviews Neuroscience*. 2011;12(7):425-U72.
139. Tamietto M, de Gelder B. Neural bases of the non-conscious perception of emotional signals. *Nature Reviews Neuroscience*. 2010;11(10):697-709.
140. Morris JS, Ohman A, Dolan RJ. Conscious and unconscious emotional learning in the human amygdala. *Nature*. 1998;393(6684):467-70.
141. Stepniewska I, Qi HX, Kaas JH. Projections of the superior colliculus to subdivisions of the inferior pulvinar in New World and Old World monkeys. *Visual Neuroscience*. 2000;17(4):529-49.
142. Comoli E, Coizet V, Boyes J, Bolam JP, Canteras NS, Quirk RH, et al. A direct projection from superior colliculus to substantia nigra for detecting salient visual events. *Nature Neuroscience*. 2003;6(9):974-80.
143. Redgrave P, Dean P. Does the PAG Learn about Emergencies from the Superior Colliculus? In: Depaulies A, Blander R, editors. *The midbrain periaqueductal gray matter*. s: SpringerLink; 1992. p. 199-209.
144. Coimbra NC, Eichenberger GCD, Gorchinski RT, Maisonnette S. Effects of the blockade of opioid receptor on defensive reactions elicited by electrical stimulation

within the deep layers of the superior colliculus and DPAG. *Brain Research*. 1996;736(1-2):348-52.

145. Leh SE, Mullen KT, Ptito A. Absence of S-cone input in human blindsight following hemispherectomy. *European Journal of Neuroscience*. 2006;24(10):2954-60.

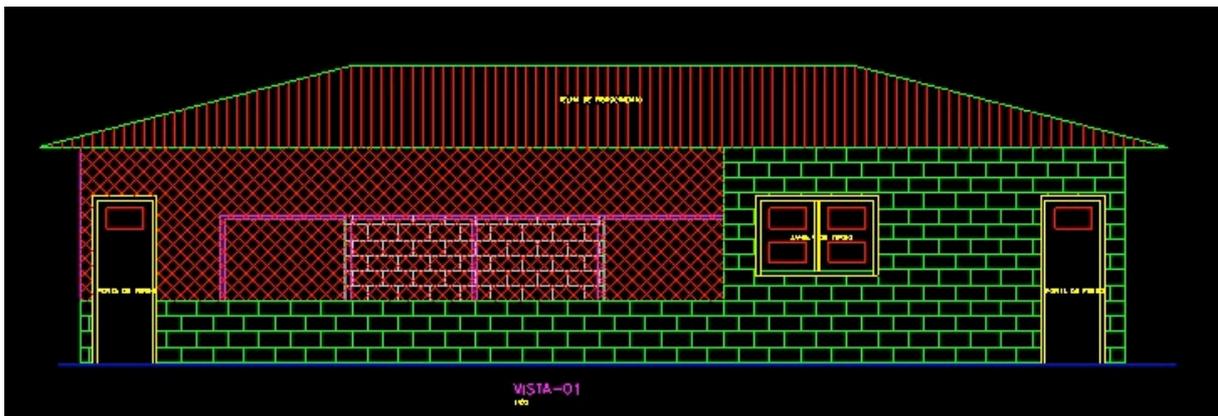
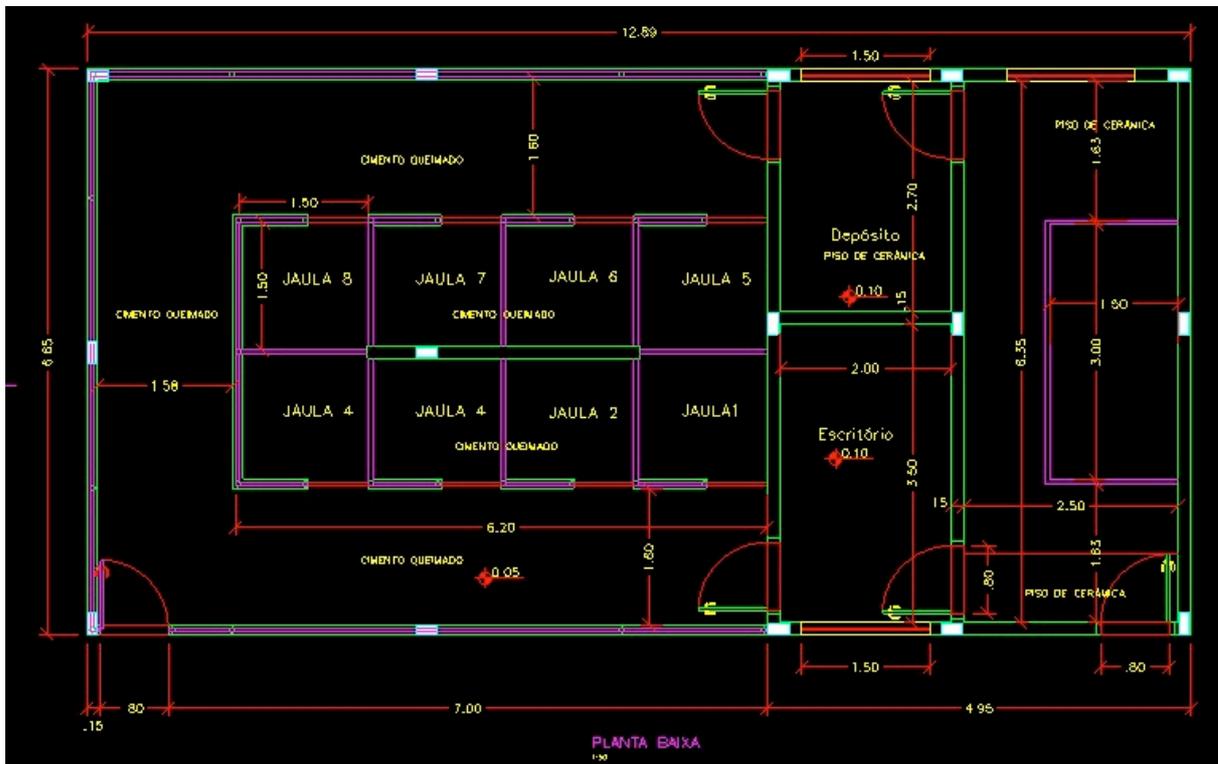
146. Ptito A, Leh SE. Neural substrates of blindsight after hemispherectomy. *Neuroscientist*. 2007;13(5):506-18.

147. Theoret H, Boire D, Herbin M, Ptito M. Anatomical sparing in the superior colliculus of hemispherectomized monkeys. *Brain Research*. 2001;894(2):274-80.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO CEUA-IB/UnB

 <p>Universidade de Brasília Instituto de Ciências Biológicas Comitê de Ética no Uso Animal</p>
<p>Brasília, 26 de maio de 2009.</p>
<p style="text-align: center;">DECLARAÇÃO</p>
<p>Declaramos que o projeto intitulado “Efeitos da lesão do cóliculo superior no desenvolvimento da cognição social em macacos-prego (<i>Cebus spp.</i>).”, UnBDOC nº. 29273/2009, sob responsabilidade do Prof. Dr. Carlos Alberto Bezeira Tomaz, foi avaliada e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.</p>
<p style="text-align: right;"> Prof. Antonio Sebben Coordenador do CEUA</p>

APÊNDICE A – PLANTA BAIXA E VISTA LATERAL DO PAVILHÃO



APÊNDICE B – CONSTRUÇÃO DO PAVILHÃO



APÊNDICE C – OBRA FINALIZADA



APÊNDICE D – ARTIGO PUBLICADO NA BEHAVIORAL BRAIN RESEARCH

Behavioural Brain Research 215 (2010) 129–135



Contents lists available at ScienceDirect

Behavioural Brain Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbr

Research report

The monkey pulvinar neurons differentially respond to emotional expressions of human faces

Rafael S. Maior^{a,b}, Etsuro Hori^a, Carlos Tomaz^b, Taketoshi Ono^a, Hisao Nishijo^{a,*}^a System Emotional Science, Graduate School of Medicine, University of Toyama, Toyama 930-0194, Japan^b Laboratory of Neurosciences and Behavior, Department of Physiological Sciences, Institute of Biology, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 April 2010

Received in revised form 2 July 2010

Accepted 10 July 2010

Available online 17 July 2010

Keywords:

Pulvinar

Monkey

Emotion recognition

Facial expression

Single-unit recording

ABSTRACT

Recent psychological studies suggest that the amygdala is not essential for early stages of emotional facial processing, and that the colliculo-pulvinar pathway might play this role. Nevertheless, the actual role of pulvinar nucleus on the recognition of emotional faces remains obscure. In the present study, we recorded single-unit activity of pulvinar neurons in 2 monkeys during recognition of emotional faces in a delayed non-match-to-sample (DNMS) task, using human face stimuli with differing emotional expressions (sad, angry, happy, surprised and neutral) and simple geometric pattern control figures. A total of 184 single neurons from lateral and medial pulvinar have been sampled. From this total, 41 (22.2%) were found to be “visually responsive”, that is, responded to one or more of the visual stimuli. Among the visually responsive neurons, 23 responded non-differentially to all stimuli (facial stimuli and control). Another 18 responded differentially to facial identity and/or emotional expression. Response latencies of the pulvinar neurons to these facial stimuli ranged very widely; firing onsets for 16 (39.0%, 16/41) neurons were shorter than 100 ms, while for 13 (31.7%, 13/41) it was greater than 300 ms. The results thus indicate that 43.9% of the visually responsive pulvinar neurons differentially responded to the emotional expressions of the human faces. Furthermore, wide distribution of the response latencies of the pulvinar neurons suggests that pulvinar neurons might mediate intracortical connections as well as the fast subcortical pathway to the amygdala. These results highlight a role of the pulvinar in the processing of emotional facial stimuli.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The face is a primary source of information in primates' social communication. As primate species are generally social they tend to rely heavily on visual signs and cues from conspecifics. One of the proposed pathways for the processing facial stimuli involves the superior colliculus (SC), the pulvinar nucleus of the thalamus and the amygdala [4,10,17,23,27]. A recent neuropsychological study indicated that an individual with complete bilateral amygdala lesions, who cannot recognize fear from faces, nonetheless showed normal rapid detection and nonconscious processing of those same fearful faces [32]. This suggests that the amygdala is not essential for early stages of fear processing, and the colliculo-pulvinar pathway might play such role. This colliculo-pulvinar pathway seems to provide a subcortical route to fast but coarse information about emotional stimuli [34,35]. Ward et al. [34,35] demonstrated the behavioral significance of the pulvinar in the pro-

cess of visual threat. In their experiment, a patient with damage to the left pulvinar showed a slower response to visual threat, indicating the pulvinar's significance in rapid processing. Vuilleumier et al. [33] on the other hand, found pulvinar activation to be sensitive to spatial frequencies of facial stimuli. Moreover, this circuit has even been implicated in coding emotionally relevant stimuli in subliminal conditions (blindsight). Subjects exposed to masked (i.e., subliminal) stimuli of fearful faces were shown to activate this pathway in the absence of conscious awareness [15].

Interestingly the pulvinar is very minute or even unidentifiable in rats and other small rodents. In primate evolution, it has grown to quarter of the thalamus mass in most non-human species, “reaching its greatest dimensions in the human brain” [30]. Since primate societies employ complex facial communication, the prominence of the pulvinar may possibly reflect a role in facial expression recognition.

The pulvinar therefore has three particular features that make it a good candidate for emotional face processing, namely: a large expansion among primate species, which rely on facial cues for social communication; a modulatory role in visual attention; and anatomical connections between visual system and limbic system. Nevertheless, the actual role of pulvinar nucleus on the recognition of emotional faces remains obscure. We therefore conducted

* Corresponding author at: System Emotional Science, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Sugitani 2630, Toyama 930-0194, Japan. Tel.: +81 76 434 7215; fax: +81 76 434 5012.
E-mail address: nishijo@med.u-toyama.ac.jp (H. Nishijo).

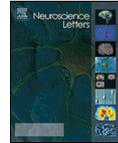
APÊNDICE E – ARTIGO PUBLICADO NA NEUROSCIENCE LETTERS

Neuroscience Letters 504 (2011) 257–260



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Neuroscience Letters

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neulet

Superior colliculus lesions impair threat responsiveness in infant capuchin monkeys

Rafael S. Maior^a, Etsuro Hori^b, Marília Barros^c, Danilo S. Teixeira^a, Maria Clotilde H. Tavares^a, Taketoshi Ono^b, Hisao Nishijo^b, Carlos Tomaz^{a,*}^a Primate Center and Laboratory of Neurosciences and Behavior, Department of Physiological Sciences, Institute of Biology, University of Brasília, CEP 70910-900, Brasília, DF, Brazil^b System Emotional Science, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Toyama 930-0194, Japan^c Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Health Sciences, University of Brasília, CEP 70910-900 Brasília, DF, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 July 2011

Received in revised form 30 August 2011

Accepted 21 September 2011

Keywords:

Superior colliculus

Cebus

Threat recognition

Ibotenic acid

ABSTRACT

The ability to react fast and efficiently in threatening situations is paramount for the survival of organisms and has been decisive in our evolutionary history. Defense mechanisms in primates rely on the fast recognition of potential predators and facial expressions of conspecifics. The neural circuitry responsible for the detection of threat is generally thought to be centered on the amygdala. Although it is a pivotal structure in the processing of emotional stimuli, the amygdala does not seem necessary for the early stages of this process. Here we show that bilateral neurotoxic lesions of the superior colliculus in infant capuchin monkeys impaired the recognition of a rubber-snake in a threat-reward conflict task. Lesioned monkeys were uninhibited by a snake in a food-reward retrieval task. Lack of inhibition in the task was observed over the course of 15 weeks. The long lasting recognition impairment of a natural predator observed here is similar to the tameness aspects of Kluver–Bucy syndrome, indicating an important role of this structure in threat recognition.

© 2011 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

The ability to react fast and efficiently in threatening situations is paramount for the survival of organisms. Defense mechanisms in primates rely on the fast recognition of different classes of threats, including facial expressions of conspecifics and potential predators [12,24]. Early detection of emotional faces, particularly of anger, fear and surprise, seems strictly related to an efficient threat detection already functional in early infancy [14]. The neural circuitry responsible for the detection of threat is generally thought to be centered on the amygdala [12]. Although it is well established as a pivotal structure in the processing of emotional/threatening stimuli [9,15] and also to integrate gaze and head direction [29], the amygdala seems not necessary for the early stages of this process [30].

The subcortical visual pathway, including the superior colliculus (SC) and the pulvinar nucleus (PUL), develops very early [5]. Johnson [7] suggested that the colliculo–pulvinar pathway, together with the amygdala, would be the basis for further facial specialization in maturity. Indeed, the colliculo–pulvinar pathway has been proposed to provide a fast route to the amygdala [8,20,21,26] although this has been recently disputed [27]. This pathway has been implicated in response to subliminal presentation of

emotional-relevant stimuli [13] and that it conveys such information to the amygdala [12]. Accordingly, the colliculo–pulvinar pathway seems to tune coarse, low-frequency emotional stimuli [33], consistent with the fast processing required for critically relevant stimuli.

Nevertheless, the SC has only been indirectly implicated in the processing of relevant facial information and/or threatening stimuli by a few imaging studies and theoretical proposals [10,12,13,24]. Here we show that bilateral neurotoxic lesions of the SC impair recognition of threat in infant capuchin monkeys. In this study, a rubber-snake was used as stimulus since snakes are invariably regarded as a threat across all primate species [1,23,25,31] and may have even been decisive in the evolutionary formation of the primate visual system [6].

Six capuchin monkeys (*Cebus* spp.) were employed in the present study. They were divided into two groups: SC-sham ($n=3$) and SC-lesioned ($n=3$). One subject from the lesioned group died after 5 weeks of surgery due to a pathogen infection. The data from this subject were included only for the first trial. Before further testing commenced, blood and feces exams were carried out to ensure all other subjects were infected in any way. Upon surgery, animals weighed from 600 g to 1200 g and were no older than 6 months. Testing started one week after surgery for all animals. All subjects were born in captivity and kept in the Primate Center, University of Brasília, throughout the experiment. They were

* Corresponding author. Tel.: +55 61 3107 2919; fax: +55 61 3107 2926.
E-mail address: ctomaz@unb.br (C. Tomaz).