



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**FUNÇÕES COMPORTAMENTAIS DAS DIVISÕES COMPACTA E  
DIFUSA DO NÚCLEO DORSOMEDIAL DO HIPOTÁLAMO DE  
RATOS**

Dissertação de Mestrado em Ciências Fisiológicas

Ana Carolina de Assis Alves

Orientador

Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Vitória, 23 de Novembro de 2007

Alves, Ana Carolina de Assis

Funções Comportamentais das Divisões Compacta e Difusa do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo de Ratos.

Alves, A.C.A. – Vitória, 2007.

Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo.

Orientador: Prof. Dr. Luiz C. Schenberg

1. Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo, 2. Estimulação Elétrica, 3. Estimulação Química, 4. NMDA, 5. Comportamentos de Defesa, 6. Rato.

# FUNÇÕES COMPORTAMENTAIS DAS DIVISÕES COMPACTA E DIFUSA DO NÚCLEO DORSOMEDIAL DO HIPOTÁLAMO DE RATOS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Ana Carolina de Assis Alves

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg – Orientador, UFES

---

Prof. Dr. Leandro José Bertoglio – UFSC

---

Prof. Dr. Sérgio Lucena Mendes – UFES

---

Coordenador do PPGCF – Prof. Dr. Luiz C. Schenberg

Vitória, 23 de Novembro de 2007

## **AGRADECIMENTOS**

Deus, obrigada por estar sempre ao meu lado, proporcionando os meios necessários para que eu consiga alcançar meus objetivos. Obrigada famílias Alves, Assis, Nascimento, Siqueira e Leite, pelo carinho e pelos incentivos moral e financeiro. Obrigada mãe e pai, por terem me ensinado a buscar o conhecimento. Obrigada Gustavo, pela companhia e incentivo nas longas horas de estudo. Agradeço também ao professor Luiz Carlos Schenberg, pela orientação e atenção dedicada aos seus orientandos. Ao pessoal do laboratório de Neurobiologia, pelos momentos descontraídos e troca de conhecimentos. Aos professores Leandro José Bertoglio e Sérgio Lucena Mendes, pela participação na banca de avaliação desta dissertação.

*“Toute pensée émet un coup de dés”*

*Stéphane Mallarmé*

## ÍNDICE

<b>RESUMO</b> .....	01
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	04
Caracterização Neuroanatômica do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo.....	05
<i>Delimitação e Subdivisões do Núcleo Dorsomedial do hipotálamo</i> .....	05
<i>Aferências do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo</i> .....	06
<i>Eferências do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo</i> .....	08
Funções do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo.....	13
<i>Funções Alimentares</i> .....	13
<i>Funções Reprodutivas</i> .....	17
<i>Funções Neuroendócrinas</i> .....	18
<i>Funções na Termogênese</i> .....	19
<i>Funções Cardiovasculares</i> .....	21
<i>Funções Defensivas</i> .....	23
<i>Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo, Estresse e Transtornos de Ansiedade</i> .....	29
Referências.....	38
<b>OBJETIVOS</b> .....	53
<b>RESULTADOS</b> .....	55
<b>Efeitos Comportamentais da Estimulação Elétrica e Química das Divisões Compacta e Difusa do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo do Rato</b> .....	56
<i>Introdução</i> .....	57
<i>Material e Métodos</i> .....	61
<i>Resultados</i> .....	65
<i>Discussão</i> .....	75
<i>Referências</i> .....	80
<b>CONCLUSÕES</b> .....	88



## ÍNDICE DE FIGURAS

### RESULTADOS

<i>Figura 1. Sítios de estimulação elétrica por variação de intensidade, variação de frequência ou microinfusão de NMDA.....</i>	66
<i>Figura 2. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da intensidade de pulsos elétricos aplicados ao HDMc e HDMd no ambiente pobre.....</i>	68
<i>Figura 3. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da frequência de pulsos elétricos aplicados ao HDMc e HDMd no ambiente pobre.....</i>	69
<i>Figura 4. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da intensidade de pulsos elétricos aplicados ao HDMc nos ambientes pobre ou rico.....</i>	70
<i>Figura 5. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da frequência de pulsos elétricos aplicados ao HDMc nos ambientes pobre ou rico.....</i>	71
<i>Figura 6. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da intensidade de pulsos elétricos aplicados ao HDMd nos ambientes pobre ou rico.....</i>	72
<i>Figura 7. Comportamentos defensivos e não-defensivos produzidos por microinfusão de NMDA no HDMd.....</i>	73
<i>Figura 8. Doses limiares medianas de NMDA necessárias para a eliciação de comportamentos defensivos e não-defensivos.....</i>	74

## ÍNDICE DE TABELAS

### RESULTADOS

<i>Tabela 1. Grupos de ratos de acordo com o tipo de estímulo e o sítio estimulado no HDM.....</i>	65
--	----

## ABREVIATURAS

- ACTH – hormônio adrenocorticotrófico
- APO – área preóptica
- APOMn – área preóptica mediana
- CRH – hormônio liberador de corticotrofina
- GABA – ácido gama-aminobutírico
- GABA-A – receptor GABAérgico do tipo A
- GDEE – dietil-éster-ácido glutâmico
- HDM – núcleo dorsomedial do hipotálamo
- HDMc – núcleo dorsomedial do hipotálamo, parte compacta
- HDMd – núcleo dorsomedial do hipotálamo, parte difusa
- HVM – núcleo ventromedial do hipotálamo
- HVMdm – núcleo ventromedial do hipotálamo, parte dorsomedial
- HVMvl – núcleo ventromedial do hipotálamo, parte ventrolateral
- LCE – labirinto-em-cruz elevado
- MCPA – matéria cinzenta periaquedutal
- MCPAce – matéria cinzenta periaquedutal central
- MCPAd – matéria cinzenta periaquedutal dorsal
- MCPAdl – matéria cinzenta periaquedutal dorsolateral
- MCPAl – matéria cinzenta periaquedutal lateral
- MCPAvl – matéria cinzenta periaquedutal ventrolateral
- NMDA – ácido N-metil-D-aspártico
- NTS – núcleo do trato solitário
- PHA-L – leucoaglutinina de *Phaseolus vulgaris*
- PMd – núcleo pré-mamilar dorsal
- PVN – núcleo paraventricular do hipotálamo

**RESUMO**

Funções Comportamentais das Divisões Compacta e Difusa do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo de Ratos. Alves, A.C.A., Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil, 2007.

O hipotálamo dorsomedial (HDM) tem sido proposto como uma estrutura crucial na organização dos comportamentos defensivos de animais e nos transtornos de ansiedade de humanos. Contudo, não existem estudos quantitativos que permitam avaliar o seu papel nos comportamentos defensivos, alimentares, reprodutivos e agressivos. Portanto, o presente estudo utilizou a análise logística dos limiares para examinar o repertório comportamental eliciado pela estimulação das partes difusa (HDMd) e compacta (HDMc) deste núcleo com pulsos senoidais de intensidade crescente (0–75  $\mu$ A, 60 Hz), pulsos quadrados de frequência crescente (30  $\mu$ A, 1 ms, 0–130 Hz) e microinfusão de NMDA (10 mM, 0,5 nmol/min, 2,3 nmol). Comportamentos alimentares, sexuais e agressivos foram avaliados na presença de alvos específicos (água, comida, fêmea e camundongo). As curvas de limiar foram obtidas por análise logística das frequências acumuladas das respostas limiares e comparadas pelo teste do  $\chi^2$  da razão de verossimilhanças (critério de Bonferroni de 5%). A estimulação com pulsos senoidais de ambas as divisões produziu imobilidade, exoftalmia, defecação, micção, trote, galope e salto. Contudo, enquanto a estimulação do HDMc por variação de frequência eliciou imobilidade, exoftalmia, defecação e micção, a estimulação por frequência do HDMd somente eliciou a exoftalmia, não tendo sido observadas as respostas estritamente defensivas de trote, galope e salto. A microinfusão de NMDA no HDMd somente produziu respostas dose-dependentes para imobilidade, exoftalmia, defecação e trote. Entretanto, também

foram observados comportamentos ingestivos (comer e beber), reprodutivos (cheirar a genitália da fêmea) e, eventualmente, respostas de micção, galope e salto nas doses mais elevadas de NMDA ( $>1,4$  nmol). A participação dos receptores NMDA do HDMc não pôde ser avaliada devido ao número limitado de ratos com cânulas nesta região ( $n = 3$ ). Por outro lado, a estimulação da divisão dorsomedial do hipotálamo ventromedial (HVMdm), tanto por variação da intensidade quanto da frequência, produziu exoftalmia, micção, defecação, trote e saltos com estímulos inferiores àqueles observados para o HDMD e HDMc. Em contraste, não foram observadas após a estimulação da divisão ventrolateral do HVM ( $n = 15$ ). Estes dados sugerem que as respostas obtidas por estimulação do HDMD possam ter sido devido à difusão de corrente tanto para o HVMdm quanto HDMc. Portanto, como a estimulação por frequência tem alta resolução espacial, os nossos resultados sugerem que o HDMc possa estar implicado na organização das respostas de exoftalmia, defecação, micção e, possivelmente, imobilidade, mas não nas respostas de defesa às ameaças proximais como o galope e saltos.

Palavras-chaves: Hipotálamo Dorsomedial, Hipotálamo Ventromedial, Comportamentos de Defesa, Estimulação Elétrica, Estimulação Química, NMDA.

## **INTRODUÇÃO GERAL**

## CARACTERIZAÇÃO NEUROANATÔMICA DO NÚCLEO DORSOMEDIAL DO HIPOTÁLAMO

### *Delimitação e Subdivisões do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo*

A primeira descrição do núcleo dorsomedial do hipotálamo (HDM) pode ser encontrada em Cajal (1909) que o descreve como 'uma massa ovóide de matéria cinzenta separada da linha mediana por uma camada de fibras particularmente espessa'. O HDM é dividido em dois subnúcleos. Gurdjian (1927) descreveu a parte posterior, que se funde caudalmente com o núcleo periventricular posterior. Esta região do HDM foi denominada posteriormente de parte compacta (HDMc), e descrita como um denso agrupamento na porção intermediária do HDM, formando uma estrutura semelhante a uma asa (Paxinos, 1985; Paxinos e Watson, 1986). Adicionalmente à parte compacta, o HDM inclui uma porção difusa (HDMd) (Paxinos e Watson, 1986), posteriormente subdividida em partes dorsal e ventral (Paxinos e Watson, 1998; Thompson e Swanson, 1998). A parte dorsal corresponde à parte anterior do HDM descrita por Thompson e Swanson (1998).

O HDM é um núcleo do hipotálamo periventricular com localização bem estabelecida em relação aos núcleos adjacentes. O HDM encontra-se em uma região adjacente ao terceiro ventrículo, caudal ao núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN), dorsal ao núcleo ventromedial do hipotálamo (HVM) e ventral à zona incerta (Paxinos, 1985; Thompson *et al.*, 1996). Thompson *et al.* (1996) propõem que o HDM funde-se, caudalmente, de forma quase indistinta com o núcleo periventricular posterior. Segundo Paxinos (1985), o núcleo estende-se

caudalmente para partes mais ventrais, unindo-se ao núcleo arqueado na região do recesso mamilar. Nesta região, o núcleo tuberal magnocelular do hipotálamo está intimamente associado com o pólo dorsal do HDM. Deste nível até o bordo caudal do HDM, na região ventral aos núcleos mamilares, não há distinção clara entre o núcleo arqueado e o HDM. Krieg (1932) sugeriu que a borda lateral poderia estender-se à área perifornical. Contudo, em um estudo recente, Thompson *et al.* (1996) sugerem que esta área não faça parte do HDM, uma vez que suas projeções para o tronco cerebral e medula espinhal são bastante distintas daquelas do HDM (Hancock, 1976; Saper *et al.*, 1976; Hosoya, 1980; Swanson e Kuypers, 1980; Schwanzel-Fukuda *et al.*, 1984; Tucker e Saper, 1985; Hosoya *et al.*, 1987).

#### *Aferências do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo*

As projeções do HDM foram extensivamente estudadas por Thompson e Swanson (1998). Estes estudos neuroanatômicos, utilizando marcação anterógrada com leucoaglutinina de *Phaseolus vulgaris* (PHA-L), mostram que a principal fonte de aferências do HDM surge no hipotálamo, havendo poucas projeções significantes com origem no telencéfalo e tronco cerebral. Mais que isso, com exceção do núcleo preóptico magnocelular, parte magnocellular do PVN, núcleo supraóptico e núcleos mamilares medial e lateral, todos os núcleos principais do hipotálamo contêm pelo menos um pequeno número de neurônios que se projeta para o HDM. Entretanto, a despeito de projeções numerosas dos núcleos hipotalâmico anterior, preóptico periventricular, preóptico posterodorsal e região caudal do núcleo preóptico supraquiasmático, a



única projeção densa para o HDM origina-se no núcleo paraestrial (Risold *et al.*, 1994; Thompson e Swanson, 1998). Aferências hipotalâmicas moderadas provêm da parte medial do núcleo preóptico medial e núcleos preóptico mediano (Gu e Simerly, 1997; Thompson e Swanson, 1998), periventricular anteroventral, preóptico anteroventral (incluindo as regiões preópticas ventromedial e ventrolateral), preóptico anterodorsal e área preóptica medial (Thompson e Swanson, 1998). Gu e Simerly (1997) também relataram projeções com origem no órgão vasculoso da lâmina terminal. Todos os núcleos preópticos projetam para a parte anterior (dorsal, difusa) do HDM e tendem a evitar a parte posterior (compacta) deste núcleo, e nenhum se projeta significativamente para o HVM ou para a região de baixa densidade neuronal ventralmente ao HDM (Thompson e Swanson, 1998). Adicionalmente, o HDM possui conexões recíprocas com o HVM e a área hipotalâmica lateral (Luiten e Room, 1980; Ter Horst e Luiten, 1987), sugerindo uma relação entre estes núcleos na regulação da ingestão de comida (Luiten e Room, 1980). Também existem projeções recíprocas entre PVN e HDM (Ter Horst e Luiten, 1987) que podem ser importantes para o controle da função cardiovascular e/ou neuroendócrina (Womack e Barrett-Jolley, 2007).

As projeções talâmicas ao HDM originam-se principalmente dos núcleos talâmico paraventricular e subparafascicular e habênula lateral, e em menor quantidade das partes magnocelular e parvicelular do núcleo subparafascicular. Em geral, projeções com origem no telencéfalo provêm de áreas restritas e são mais esparsas. O HDM recebe aferências subcorticais principalmente do núcleo do leito da estria terminal e núcleo septal lateral e, em menor escala, da substância inominada nos níveis rostrais da área hipotalâmica anterior. No córtex, tanto o córtex pré-frontal (principalmente área infralímbica,

mas também a área prelímbica e tenia tecta), quanto o claustrum e subiculum ventral contribuem com fibras para o HDM (Thompson e Swanson, 1998).

As fibras provenientes do tronco cerebral estão primariamente limitadas à matéria cinzenta periaquedutal (MCPA), núcleo parabraquial e bulbo ventrolateral, e de forma mais esparsa, em vários núcleos da rafe, núcleo reticular mesencefálico, região do grupo celular noradrenérgico A7, núcleo de Barrington e matéria cinzenta central pontina, além de um grupo muito restrito de neurônios na parte caudal do núcleo incerto. Na MCPA, as projeções para o HDM têm origem de todos os níveis rostrocaudais. Contudo, estas projeções não são particularmente densas, embora aumentem caudalmente. No bulbo foram observadas projeções leves das partes caudais do núcleo do trato solitário (NTS) e ao longo da região do paragigantocelular e núcleo reticular medular que é geralmente referido como o bulbo ventrolateral (Thompson e Swanson, 1998). Portanto, o HDM pode receber informação sobre o estado metabólico do animal, tanto via projeções do bulbo ventrolateral quanto do núcleo parabraquial. Embora o NTS envie aferências leves para o HDM, regiões que recebem aferências víscero-sensoriais proeminentes da primeira região, tais como o bulbo ventrolateral e partes centrolateral e dorsolateral do núcleo parabraquial, enviam fibras profusas ao HDM (Loewy *et al.*, 1981; Herbert *et al.*, 1990).

#### *Eferências do Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo*

Thompson *et al.* (1996), em estudos utilizando PHA-L, mostram que as projeções do HDM do rato são principalmente intra-hipotalâmicas, com componentes menores direcionados para o tronco cerebral e telencéfalo. Esses

autores verificaram que as eferências do HDM seguem três vias ascendentes distintas: 1) periventricular, que cursa pela zona hipotalâmica periventricular e inerva os núcleos preóptico supraquiasmático, periventricular anteroventral, preóptico mediano, paraestrial, núcleo fusiforme do núcleo do leito da estria terminal, preóptico posterodorsal e, particularmente, a camada parvocelular do PVN (Ter Horst e Luiten, 1986, 1987; Thompson *et al.*, 1996) através de densas projeções glutamatérgicas excitatórias (Womack e Barrett-Jolley, 2007); 2) ventral, que após contribuir com poucas fibras para os núcleos arqueado (Thompson *et al.*, 1996), HVM (Ter Horst e Luiten, 1986; Thompson *et al.*, 1996), hipotalâmico anterior, área retroquiasmática (incluindo peri-supraquiasmática) e núcleo supraóptico, projeta-se rostralmente à superfície ventral do cérebro; e 3) lateral, que transita pela parte medial da área hipotalâmica lateral, contribuindo para o feixe prosencefálico medial e inervando, principalmente, a área preóptica medial, parte lateral do núcleo preóptico medial e núcleos preópticos anterodorsal e anteroventral. Algumas fibras ascendentes periventriculares seguem uma rota dorsal para a habênula e núcleos paratenial e paraventricular do tálamo, mas emitem, ao nível da área preóptica, um pequeno, porém significativo, contingente de fibras que contorna a comissura anterior e penetra na área septal. Alguns poucos axônios do grupo ascendente lateral cursam a fimbria até o hipocampo, enquanto outros seguem pela estria terminal e ansa peduncularis até a amígdala. Embora muitas fibras convirjam para a lâmina terminal, algumas podem seguir rostralmente até o núcleo olfatório anterior. As projeções descendentes do HDM são consideravelmente menos substanciais e mais esparsas que as projeções ascendentes. As projeções descendentes convergem em vários níveis e seguem duas vias: 1) dorsal, que cursa pelo sistema periventricular do mesencéfalo e

inerva o núcleo paraventricular do tálamo, colículo superior, núcleo reticular mesencefálico, área retrorubral, núcleo dorsal da rafe e núcleo cuneiforme, e de forma mais densa o núcleo hipotalâmico posterior, núcleo de Barrington, substância cinzenta central pontina (Thompson *et al.*, 1996) e MCPA (Ter Horst e Luiten, 1986; Beitz, 1989; Thompson *et al.*, 1996), uma projeção possivelmente glutamatérgica que, juntamente com as projeções de outras regiões cerebrais para a MCPA, pode influenciar o papel desta em muitas funções importantes incluindo antinocicepção, mecanismos defensivos ou vocalização (Beitz, 1989); e 2) ventral, que se estende através de partes caudais do hipotálamo e regiões ventromediais do tronco cerebral, projetando-se levemente para os corpos mamilares, núcleos pré-mamilares dorsal (PMd) e ventral, núcleos tuberomamilar dorsal e ventral, núcleo periventricular posterior, área tegmental ventral, núcleo central superior da rafe e núcleos medulares magno e pálido da rafe (Thompson *et al.*, 1996). O núcleo pálido da rafe é um importante sítio termorregulatório no tronco cerebral, cuja desinibição promove ativação simpática do tecido adiposo marrom e vasoconstrição cutânea na cauda do rato (DiMicco e Zaretsky, 2007). Estas duas vias permanecem, em grande parte, segregadas ao longo do tronco cerebral. Embora a via dorsal pareça terminar ao nível do núcleo parabraqiual, uns poucos axônios, presumivelmente do caminho ventral, podem ser localizados caudalmente em núcleos tão distantes como o NTS (Thompson *et al.*, 1996). Ainda, segundo Fontes *et al.* (2001), o HDM envia projeções diretas para o bulbo ventrolateral rostral, um componente essencial para mediar efeitos simpáticos renais eliciados pelo HDM (Horiuchi *et al.*, 2004, 2006).

Outros estudos revelam ainda que eferências do HDM atingem o núcleo motor dorsal do vago, núcleo ambíguo e formação reticular parvocelular

em níveis medulares mais baixos, núcleo oculomotor no mesencéfalo, núcleo hipotalâmico lateral, e, de forma mais densa, órgãos circumventriculares, particularmente o órgão vasculoso da lâmina terminal e o órgão subfornicial. Adicionalmente, foram descritas projeções descendentes para neurônios pré-ganglionares inervando o pâncreas, envolvendo o HDM na liberação de hormônio pancreático (Ter Horst e Luiten, 1986). Estas projeções poderiam surgir de neurônios adjacentes ao HDM (Thompson *et al.*, 1996). De fato, estudos com marcação retrógrada mostram que a medula espinhal recebe projeções da porção parvocelular do PVN e área hipotalâmica lateral (Hancock, 1976), não tendo sido encontrada nenhuma aferência do HDM. Apesar das diversas áreas de projeção do HDM, (Thompson *et al.*, 1996) não observaram marcação alguma, ou apenas uma tênue marcação, nas áreas motoras, córtex somatosensorial e visceral, núcleo pré-mamilar ventral, córtex cerebelar, núcleo de Kölliker-Fuse, e regiões em torno do lócus cerúleo. Ainda, embora estes autores tenham relatado algumas fibras no órgão subfornicial e fibras ocasionais na área postrema, não observaram fibra alguma no órgão vasculoso. Como o órgão vasculoso é pequeno e de difícil localização, as projeções do HDM a este núcleo, relatadas por outros autores, podem representar a densa projeção do HDM para uma área imediatamente vizinha ao órgão vasculoso (Thompson *et al.*, 1996).

Estudos de tracejamento pós-mortem revelaram que projeções eferentes intrahipotalâmicas do HDM humano atingem de forma mais densa o PVN, HVM e a área abaixo do PVN (Dai *et al.*, 1998). Não obstante, Thompson *et al.* (1996) sugerem que estas projeções contornam o HVM, sem estabelecer conexões profundas. Por outro lado, estes autores, tal como Ter Horst e Luiten (1987), aceitam a possibilidade de que elas possam fazer contatos sinápticos com

dendritos distais do HVM. No entanto, estes contatos não foram demonstrados efetivamente. Em adição, nenhum dos experimentos com injeções de PHA-L centradas no HDM de ratos marcaram mais que uma ou outra fibra ocasional no HVM (Thompson *et al.*, 1996). Outros campos terminais significantes do HDM humano incluem o núcleo periventricular, a área hipotalâmica lateral e a parte medial da área hipotalâmica anteroventral. Fibras escassas projetam para o núcleo supraquiasmático, núcleo infundibular, núcleo hipotalâmico posterior e parte posterior do núcleo do leito da estria terminal. As projeções das partes dorsal e ventral do HDM mostram algumas diferenças. A parte dorsal do HDM possui projeções mais densas para a parte dorsal do PVN, comparado à parte ventral do PVN. Em contraste, a parte ventral do HDM possui projeções mais densas para a parte ventral do PVN. Eferências do HDM para o PVN passam próximo a muitos neurônios liberadores dos hormônios vasopressina, ocitocina e corticotrofina, sugerindo que os neurônios do HDM podem influenciar diretamente estes neurônios do PVN. As projeções intrahipotalâmicas do HDM de humanos assemelham-se muito às do rato, indicando que a organização destas projeções é similar em ambas as espécies (Dai *et al.*, 1998).

De acordo com Thompson *et al.* (1996), o HDM apresenta conexões muito diferentes dos núcleos da zona medial hipotalâmica. O estudo de suas projeções mostra que ele é muito mais semelhante, tanto nas conexões neuroanatômicas como nas suas funções, à zona periventricular do hipotálamo.

## FUNÇÕES DO NÚCLEO DORSOMEDIAL DO HIPOTÁLAMO

O HDM tem sido implicado em uma ampla variedade de respostas, incluindo aquelas das funções ingestivas (Bernardis, 1972; Dalton *et al.*, 1981), ritmicidade circadiana (Bellinger *et al.*, 1976, 1986; Buijs *et al.*, 1993), função reprodutiva (Gallo, 1981; Gunnet e Freeman, 1985; Pan e Gala, 1985), controle cardiovascular (Anderson e DiMicco, 1990; Soltis e DiMicco, 1991; Stotz-Potter *et al.*, 1996; Gören *et al.*, 2000, 2003), locomoção (Sinnamon, 1984), estresse e/ou ansiedade e, conseqüentemente, no sítio de ação dos ansiolíticos (Soltis e DiMicco, 1992; Inglefield *et al.*, 1994; Jardim e Guimarães, 2001). A seguir apresentaremos as principais evidências de sua participação nestas funções.

### *Funções Alimentares*

Estudos recentes envolvem o HDM e outras regiões hipotalâmicas na regulação da ingestão alimentar. Receptores sensíveis ao metabolismo de glicose, reservas de lipídeo corporal, distensão do estômago, bem como receptores de neuropeptídeos e canabinóides têm sido identificados e localizados no hipotálamo. Segundo estas observações, neurônios com ações anoréxicas (alpha-MSH, peptídeo CART, hormônio liberador de corticotrofina, urocortina III, colecistocinina, peptídeos glucagon-símiles) ou que estimulam a ingestão alimentar (neuropeptídeo Y, orexinas, hormônio concentrador da melanina, galanina) estão localizados no HDM, bem como no núcleo hipotalâmico arqueado, PVN e HVM, além da área hipotalâmica dorsolateral (Palkovits, 2003). De fato, a injeção intracerebroventricular de galanina induz aumento significativo nos níveis

de c-Fos no HDM e núcleo central da amígdala (Blackshear *et al.*, 2007). Ainda, a injeção intravenosa de leptina, uma substância envolvida na alimentação, termogênese e estado neuroendócrino (Zhang *et al.*, 1994), ativa muitos grupos celulares no cérebro do rato, incluindo HDM, HVM e PVN. Como o PVN recebe projeção do HDM, a ativação de elementos autonômicos e neuroendócrinos, específicos do PVN, pode ser desencadeada por aferências do HDM ativadas por leptina (Elmqvist *et al.*, 1998). O HDM também é considerado parte de um sistema beta-adrenérgico envolvido na modulação da disponibilidade de glicose e ácidos graxos livres. Estudos conduzidos por Zaia *et al.* (1997) mostram que o aumento na concentração plasmática de glicose e a diminuição nos níveis de triglicerídeos 5 minutos após a microinjeção de 12,5 nmol de norepinefrina ou epinefrina no HDM são inibidos por microinjeção prévia, no HDM, do antagonista beta-adrenérgico propranolol, mas não pelo antagonista alfa-adrenérgico prazosina. Ainda, a microinjeção de outros neurotransmissores como glutamato, dopamina ou acetilcolina, não causam alterações nestes parâmetros metabólicos. Estas mudanças metabólicas podem ser explicadas pelas conexões diretas entre o HDM e os núcleos ventromedial e paraventricular do hipotálamo, além da área hipotalâmica lateral, regiões envolvidas na regulação da ingestão de comida, controle da glicemia e insulinemia (Ter Horst e Luiten, 1987). O HDM poderia exercer um controle nestas regiões hipotalâmicas, através de seus neurônios sensíveis à glicose (Oomura e Yoshimatsu, 1984; Bernardis e Bellinger, 1987).

Adicionalmente aos processos que controlam a ingestão de comida, o HDM possui um importante papel na regulação do peso corporal (Bellinger e Bernardis, 2002). Assim, a expressão do gene do neuropeptídeo Y no HDM é aumentada em resposta ao exercício continuado, bem como por restrição crônica



de comida, sugerindo que o neuropeptídeo Y expressado no HDM possui um importante papel na alimentação e controle do peso corporal (Bi, 2007). De fato, diversos autores têm demonstrado que a transecção de fibras ventrais ou posteriores ao HDM de ratos ou lesões eletrolíticas neste núcleo provocam hipofagia, retardo no aumento de peso e tamanho do corpo (Bellinger *et al.*, 1979, 1986; Dalton *et al.*, 1981; Bernardis e Luboshitzky, 1983; Bernardis *et al.*, 1987; Bellinger e Bernardis, 1999) e hipodipsia (Bernardis *et al.*, 1963; Bernardis, 1970, 1972; Dalton *et al.*, 1981), além da redução do peso da gordura epididimal, da lipólise estimulada por epinefrina, do conteúdo de proteína da gordura epididimal e do peso do tecido adiposo intercapsular marrom; porém, a composição corporal mantém-se normal (Bellinger *et al.*, 1986). Em contraste, a lipólise basal aumenta (Bernardis e Luboshitzky, 1983). Entretanto, estes ratos possuem parâmetros metabólicos normais (Bernardis e Bellinger, 1990) e conseguem recuperar o peso corporal, após privação parcial de comida, com a mesma competência e o mesmo intervalo de tempo que ratos intactos. Estes estudos sugeriram que a lesão do HDM levaria ao aparecimento de um novo ponto de ajuste (*set point*) do peso corporal, com valor inferior àquele dos ratos com HDM intacto, porém, adequado para a homeostase alimentar do animal (Bellinger *et al.*, 1979, 1986; Bernardis *et al.*, 1987). Neste caso, a baixa ingestão de comida pode ser reflexo deste mecanismo regulatório (Bernardis e Bellinger, 1990). Por outro lado, a hiperinsulinemia, hiperlipidemia e aumento da gordura evocados por lesões do HVM não foram atenuadas por lesões eletrolíticas bilaterais no HDM, sugerindo a independência da 'síndrome do HVM' em relação ao HDM (Bernardis *et al.*, 1974).

Segundo Ter Horst e Luiten (1986), parece que o HDM também está envolvido na liberação de hormônio pancreático através de uma via

neuroendócrina que se projeta para a camada parvocelular do PVN na área que contém células positivas para o hormônio liberador de corticotrofina (CRH). De fato, lesões do HDM, HVM e PVN aumentam a atividade do nervo vago pancreático e reduzem a atividade do nervo esplâncnico pancreático. Ao contrário, lesão da área hipotalâmica lateral diminui a atividade vago pancreática e produz tanto aumento quanto diminuição da atividade do nervo esplâncnico pancreático. Assim, a modulação hipotalâmica da secreção do hormônio pancreático envolve tanto o sistema nervoso simpático quanto o parassimpático, fornecendo evidências que além do HVM e área hipotalâmica lateral, o HDM e o PVN também estão envolvidos neste mecanismo (Yoshimatsu *et al.*, 1984).

Outros estudos mostraram que a microinjeção de bicuculina, um antagonista de receptores do ácido gama-aminobutírico (tipo GABA-A), no HDM de ratos anestesiados promove aumentos dose-dependentes na motilidade do jejuno e cólon, além da elevação nos batimentos cardíacos e na pressão arterial. Entretanto, a microinjeção similar em sítios anteriores ao HDM, dentro ou próximo ao PVN, atenua os efeitos cardiovasculares sem promover mudança na função intestinal. Por outro lado, tanto a vagotomia quanto o bloqueio de receptores muscarínicos por administração intravenosa de atropina atenuaram (mas não aboliram) a motilidade do jejuno e cólon induzida pela microinjeção da bicuculina no HDM. Os aumentos nos batimentos cardíacos e pressão arterial em resposta à bicuculina não foram afetados por estas intervenções. Assim, enquanto a desinibição de neurônios no HDM aumenta a motilidade do jejuno através de vias colinérgicas vagais, a motilidade do cólon é aumentada por meio de vias colinérgicas e não colinérgicas, tanto vagais quanto não vagais (Greenwood e DiMicco, 1995).

### *Funções Reprodutivas*

A influência do HDM nas funções reprodutivas foi pouco estudada. Não obstante, Gallo (1981) mostrou que a estimulação elétrica do HDM pode inibir a liberação pulsátil do hormônio luteinizante de forma independente da neurotransmissão serotoninérgica. Contudo, este efeito pode ter sido devido à estimulação de fibras de passagem. Adicionalmente, lesões eletrolíticas do HDM, ou HVM, não influenciaram a inibição dos pulsos noturnos de prolactina induzida pela estimulação elétrica da área preóptica mediana (APOMn) de fêmeas ovariectomizadas, nem a secreção diurna de prolactina após a estimulação da APOMn (Gunnert e Freeman, 1985). Entretanto, esta estimulação da APOMn aumentou os níveis diurnos deste hormônio em fêmeas com HDM e HVM intactos. Contudo, lesões extensas da área preóptica medial/núcleo supraquiasmático ou lesões discretas do HVM em ratas ovariectomizadas tratadas com estradiol, bloquearam a onda vespertina de prolactina induzida pelo estradiol. Ao contrário, lesões do HDM aumentaram a magnitude da onda vespertina de prolactina (Pan e Gala, 1985). De fato, estudos mais recentes com imuno-histoquímica de proteína c-Fos em ratas submetidas à estimulação cérvico-vaginal (pseudo-gravidez) confirmam a participação do HDM e HVM (bem como da MCPA, área preóptica medial, amígdala medial e núcleo do leito da estria terminal) nos circuitos envolvidos com o comportamento reprodutivo em ratos (Tetel *et al.*, 1993).

### *Funções Neuroendócrinas*

O bloqueio de receptores GABA-A no HDM promove o aumento significativo de níveis plasmáticos dos hormônios adrenocorticotrófico (ACTH) e corticosterona (DiMicco e Abshire, 1987; Keim e Shekhar, 1996; Bailey e DiMicco, 2001; Zaretskaia *et al.*, 2002). Ainda, lesões eletrolíticas no HDM (ou HVM) desorganizam a secreção diurna de corticosterona plasmática (Bellinger *et al.*, 1976; Bernardis e Bellinger, 1987). Os aumentos nos níveis plasmáticos do ACTH e corticosterona não são eliciados por injeção de antagonistas GABAérgicos em sítios anteriores ao HDM, sugerindo que a liberação destes hormônios não seja devido à difusão do antagonista ao PVN (Keim e Shekhar, 1996). Como o PVN é o local primário da síntese do CRH, o qual regula a liberação do ACTH, o PVN e o HDM foram propostos como partes de um circuito hipotalâmico que coordena as respostas fisiológicas, comportamentais e neuroendócrinas associadas com estresse (Keim e Shekhar, 1996). O HDM também tem sido relacionado à ritmicidade circadiana. Segundo Verwey *et al.* (2007), ratos com privação alimentar, mas com acesso por 2 h diárias a alimentos altamente palatáveis como o chocolate, apresentam um aumento na expressão de *Period2*, uma proteína associada a um gene com influência estabelecida no ritmo circadiano. Estas alterações foram observadas principalmente no HDM, mas também em outras regiões, como o núcleo oval do leito da estria terminal, núcleos central e basolateral da amígdala e giro denteado. Ao contrário, a expressão da *Period2* não é afetada em ratos com livre acesso à comida. Estes resultados sugerem que o aumento da expressão da *Period2* foi ocasionado pelo alívio do estado metabólico negativo associado à apresentação do chocolate no grupo privado.

### *Funções na Termogênese*

O mecanismo da termogênese em ratos parece envolver a ativação do tecido adiposo marrom mediada por mecanismos simpatoadrenais. De fato, a injeção prévia de propranolol (1 mg/kg) na artéria femoral abole o aumento da temperatura do tecido adiposo marrom observado após a microinjeção de bicuculina no HDM (Zaretskaia *et al.*, 2002). A termogênese independente de tremores, em ratos, parece ser controlada pelas eferências do HDM para o núcleo pálido rostral da rafe, podendo também influenciar a vasomotricidade cutânea, tremores e ajustes endócrinos termorregulatórios (DiMicco e Zaretsky, 2007). Cerri e Morrison (2006) propõem que duas áreas hipotalâmicas, o HDM e a área préóptica (APO), são capazes de produzir o aumento na atividade nervosa simpática, da frequência cardíaca, da termogênese do tecido adiposo marrom e do gasto de energia, em resposta a aumentos locais do CRH. Entretanto, a liberação deste hormônio na APO promove uma ativação depende de receptor glutamatérgico dos neurônios do HDM que, por sua vez, produzem o aumento da descarga dos neurônios no núcleo pálido da rafe, provavelmente neurônios pré-motores simpáticos cardíacos e da atividade simpática do tecido adiposo marrom (Cao *et al.*, 2004). Nakamura *et al.* (2005) sugerem que neurônios da APO que expressam o receptor de prostaglandina e projetam-se ao HDM e área hipotalâmica dorsal, medeiam a resposta de febre através de um mecanismo GABAérgico. Contudo, a microinjeção bilateral de muscimol, um agonista GABAérgico, no HDM e área hipotalâmica dorsal, mas não na área hipotalâmica lateral, inibe tanto as respostas termogênicas (aumento da temperatura corporal, aumento da atividade simpática e da temperatura do tecido adiposo marrom e

aumento do CO<sub>2</sub> expirado) quanto cardiovasculares (pressão arterial e frequência cardíaca) à microinjeção de prostaglandina E2 na área préóptica. Adicionalmente, a ativação de neurônios no HDM pode mediar a hipertermia relacionada a uma variedade de estressores em ratos. A microinjeção de volumes pequenos de bicuculina (10 pmol/50 nl) no HDM ou núcleo hipotalâmico posterior produz aumentos na temperatura corporal e temperatura do tecido adiposo marrom, efeitos ausentes após injeções similares no PVN, HVM, região entre o HDM e HVM, ou regiões laterais ao HDM (Zaretskaia *et al.*, 2002).

Estudos recentes mostraram que a microinjeção de agonistas GABA-A ou antagonistas de receptores glutamatérgicos do tipo ácido N-metil-D-aspartico (NMDA) na metade dorsal da MCPA (MCPAd) reduz os aumentos na temperatura corporal e frequência cardíaca produzidos pela microinjeção de bicuculina no HDM. Em contraste, a injeção de antagonistas de receptores glutamatérgicos não-NMDA na MCPAd foi incapaz de alterar as respostas cardiovasculares evocadas por ativação do HDM, indicando que somente os receptores do tipo NMDA da MCPAd são fundamentais nos efeitos termogênicos eliciados por desinibição dos neurônios no HDM (da Silva *et al.*, 2006; de Menezes *et al.*, 2006). Outro estudo mostrou que a exposição de ratos a uma temperatura baixa (10 °C), mas não à temperatura elevada (33 °C), ativa os neurônios do HDM de forma mais pronunciada do que nas outras regiões que se projetam à MCPA, corroborando a importância das projeções do HDM à última estrutura (Yoshida *et al.*, 2005).

### *Funções Cardiovasculares*

A atividade dos neurônios do HDM pode ser determinada pelo balanço do tônus para receptores GABA-A e receptores de aminoácidos excitatórios (DiMicco *et al.*, 1996). Os efeitos cardiovasculares observados após ativação do HDM são similares aos observados durante o estresse (DiMicco *et al.*, 1996) e podem ser regulados por níveis extracelulares de GABA (Anderson e DiMicco, 1990). Por outro lado, a atividade dos receptores de aminoácidos excitatórios desta região parece ser necessária para o aumento da frequência cardíaca associado ao estresse (Soltis e DiMicco, 1992). Assim, microinjeções de bicuculina e dos aminoácidos excitatórios caínico, AMPA e NMDA (0,7–10 pmol/50 nl) no HDM aumentam as frequências cardíaca e respiratória e, de forma menos acentuada, a pressão sanguínea (Soltis e DiMicco, 1991, 1992; Shekhar *et al.*, 1993, 2002; De Novellis *et al.*, 1995; DiMicco *et al.*, 1996; Keim e Shekhar, 1996; Gören *et al.*, 2000, 2003; Bailey e DiMicco, 2001; Zaretskaia *et al.*, 2002). Estas respostas são mais eficazes que aquelas evocadas por estimulação similar na amígdala ou no PVN, tornando-se progressivamente menores à medida que o sítio de injeção afasta-se do HDM em direção ao PVN (De Novellis *et al.*, 1995; DiMicco *et al.*, 1996; Keim e Shekhar, 1996; Gören *et al.*, 2000; Bailey e DiMicco, 2001). Gören *et al.* (2003) sugerem que a estimulação do HDM por NMDA ativa o PVN, uma vez que aumenta a liberação de ácido L-glutâmico neste núcleo, sem interferir na liberação do GABA. Adicionalmente, a microinjeção, no HDM, de ácido quinurênico, um antagonista de aminoácido excitatório, bloqueia as respostas cardiovasculares observadas após a injeção de antagonistas do

receptor GABA-A na amígdala basolateral de forma mais eficaz que injeções de ácido quinurênico em regiões lateral ou dorsal ao HDM (Soltis *et al.*, 1998).

Embora Bailey e DiMicco (2001) tenham sugerido que as microinjeções unilaterais de concentrações pequenas de NMDA (5 pmol/100 nl) no HDM não são capazes de alterar a pressão arterial ou a frequência cardíaca, estudos anteriores do mesmo grupo (Soltis e DiMicco, 1991, 1992) mostraram que as respostas cardiovasculares de defesa podem ser obtidas com concentrações bastante inferiores (entre 0,68 e 5 pmol/50 nl). Em contraste os aumentos na frequência cardíaca somente foram observados após a estimulação elétrica do hipotálamo dorsal (pulsos quadrados com trens de 0,5 ms, 0,5–100 Hz, 100  $\mu$ A), mas não do HDM (Van Der Plas *et al.*, 1995).

A despeito dos dados contraditórios com estimulação intracraniana, as respostas cardiovasculares induzidas pelo estresse de jato de ar são consistentemente reduzidas pela microinjeção bilateral de muscimol ou de antagonistas de receptores de aminoácidos excitatórios, no HDM (Soltis e DiMicco, 1992; DiMicco *et al.*, 1996; Stotz-Potter *et al.*, 1996). Contrariamente, as respostas cardiovasculares não são influenciadas por microinjeção de muscimol no PVN (De Novellis *et al.*, 1995; DiMicco *et al.*, 1996; Stotz-Potter *et al.*, 1996) ou por microinjeção do ácido quinurênico nas regiões adjacentes ao HDM (Soltis e DiMicco, 1992), após o estresse de jato de ar. Estes resultados sugerem que as respostas induzidas pelo estresse resultam da ativação de neurônios do HDM, e não do PVN, ou de áreas hipotalâmicas adjacentes ao HDM (Soltis e DiMicco, 1992; De Novellis *et al.*, 1995; DiMicco *et al.*, 1996; Stotz-Potter *et al.*, 1996).

A despeito dos resultados descritos acima, a microinjeção de doses altas de NMDA (68 pmol) ou glutamato no HDM não têm efeitos consistentes na



pressão arterial e frequência cardíaca (Soltis e DiMicco, 1991; De Novellis *et al.*, 1995; DiMicco *et al.*, 1996; Gören *et al.*, 2000, 2003). Portanto, o uso de altas doses de aminoácidos excitatórios pode ser um método não confiável para evocar excitação neuronal em certas regiões do sistema nervoso central (Soltis e DiMicco, 1991).

### *Funções Defensivas*

As primeiras evidências do envolvimento de estruturas subcorticais na organização neural de reações emocionais similares ao medo ou à raiva foram descritas por Goltz (1892), em gatos cronicamente decorticados. Estas observações foram corroboradas nos estudos posteriores com a eliciação da falsa-ira (*sham rage*), uma reação assim denominada devido à presumível carência da apreciação subjetiva do estado emocional de gatos decorticados (Bard e Rioch, 1937). Estes estudos mostraram que a falsa-ira não era abolida pela remoção de estruturas rostrais ao tálamo ou hipotálamo, sugerindo a presença indispensável do diencefalo caudal para a expressão deste comportamento (Cannon e Britton, 1925; Bard, 1928). De fato, alguns anos mais tarde, Hess e Brügger (1943) demonstraram que estas respostas podiam ser eliciadas pela estimulação elétrica da região perifornical do hipotálamo de gatos livres e não anestesiados. Estes estudos foram replicados em várias espécies ao longo do século passado, inclusive em sagüis, nos quais foi demonstrado o envolvimento do HVM e regiões adjacentes nos comportamentos de defesa (Lipp e Hunsperger, 1978). Não obstante, estudos com lesão hipotalâmica ou seção diencefálica mostraram que o hipotálamo, por si só, não era indispensável para

expressão dos comportamentos defensivos. Em particular, gatos com lesão ou isolamento cirúrgico do hipotálamo ainda eram capazes de reagir adequadamente às ameaças ambientais, a despeito de déficits manifestos dos comportamentos de busca e apreensão de objetos específicos (Fernandez De Molina e Hunsperger, 1962; Ellison e Flynn, 1968). Fernandez De Molina e Hunsperger (1962) também mostraram que a reação de defesa podia ser eliciada pela estimulação elétrica de baixa intensidade tanto do hipotálamo quanto da amígdala e MCPA. Contudo, observaram que a lesão bilateral da MCPA ocasionava a perda da reação de defesa induzida por estimulação elétrica do hipotálamo ou da amígdala; mas as lesões das últimas estruturas não prejudicavam a reação de defesa induzida por estimulação da MCPA. Adicionalmente, as respostas induzidas por estimulação da amígdala eram abolidas por lesões do hipotálamo, mas não o contrário. Baseados nestas observações, Fernandez De Molina e Hunsperger (1962) propuseram um modelo longitudinal de organização do sistema cerebral de defesa, no qual a MCPA seria a via final de integração destas respostas, constituindo-se num sistema auto-suficiente (*self reliant system*). De fato, a estimulação neuro-seletiva com aminoácidos excitatórios (L-glutamato ou L-homocistêmico) somente foi capaz de eliciar o padrão completo da reação comportamental e cardiovascular de defesa, incluindo a vasodilatação do leito muscular, quando foi aplicada à MCPAd. Em contraste, não foi possível obter a vasodilatação do leito muscular por estimulação química dos núcleos do hipotálamo (Hilton e Yardley, 1986; Redfern e Yardley, 1986).

Desenvolvimentos posteriores revelaram que a MCPA é organizada em colunas funcionais longitudinais ao longo do aqueduto, quais sejam, as colunas dorsomedial (MCPAdm), dorsolateral (MCPAdl), lateral (MCPAl) e

ventrolateral (MCPAvl) (Bandler *et al.*, 1991; Bandler e Depaulis, 1991; Carrive, 1991). Outros autores incluem uma região periventricular (MCPApv) envolta por um anel denominado MCPA central (MCPAce) (Veening *et al.*, 1991). A estimulação, com aminoácidos excitatórios, da MCPAI do gato promove uma vigorosa postura de ameaça (dilatação da pupila, piloereção, vocalização e retração das orelhas e/ou arqueamento do dorso) e comportamentos de fuga (Bandler e Carrive, 1988), enquanto os ratos apresentam recuo defensivo (*backward defense*) e fuga (*forward avoidance*) (Bandler e Depaulis, 1991). Ressalte-se, no entanto, que os testes em ratos foram conduzidos em uma caixa bastante pequena (25 x 30 x 35 cm). Bandler e Depaulis (1991) também relataram que a imobilidade evocada por estimulação da MCPAvl de gatos ou ratos é hiporeativa, diferente da imobilidade reativa (*freezing*) eliciada pela estimulação da MCPAI. O controle da função cardiovascular também difere entre a MCPAI e a MCPAvl, com efeitos hipertensivos eliciados pela MCPAI e efeitos hipotensivos eliciados pela MCPAvl (Carrive, 1991). Contudo, Bittencourt *et al.* (2004), utilizando uma arena de 50 cm de diâmetro e altura, mostraram que enquanto a resposta de defecação é restrita à MCPAI, as respostas de exoftalmia, imobilidade, micção, trote, galope e salto podem ser eliciadas por estimulação elétrica ou química tanto da MCPAI quanto MCPAdl, numa estreita faixa de intensidades ou doses. A relação intensidade-dependente das respostas comportamentais já havia sido mostrada para as respostas cardiovasculares da MCPA (Schenberg *et al.*, 1993). Por outro lado, embora Bittencourt *et al.* (2004) também tenham obtido imobilidade, exoftalmia e trote por estimulação da MCPAvl, os limiares elevados destas respostas sugerem a difusão da corrente ou aminoácido para a MCPAI. Estes autores também mostraram que os limiares

mais baixos, tanto elétricos quanto químicos, são observados na MCPAdI, sugerindo um papel crucial desta coluna na iniciação e integração das respostas defensivas. Contrariamente, descartaram o envolvimento da MCPAvI nos comportamentos defensivos inatos, tanto ativos (fuga) quanto passivos (reação de imobilidade tensa ou reativa).

As relações funcionais entre os núcleos hipotalâmicos e MCPA ainda não estão totalmente estabelecidas. Dentre os estudos pioneiros sobre este tema, Carobrez (1987) sugeriu a existência de uma projeção glutamatérgica, do hipotálamo medial à MCPAd, envolvida na mediação das reações comportamental e cardiovascular de defesa. Este autor observou que a microinjeção, na MCPAd, de dietil-éster do ácido glutâmico (GDEE), um antagonista competitivo do receptor glutamatérgico, reduziu a hipertensão e aboliu as respostas defensivas (fuga ou congelamento) eliciadas pela estimulação elétrica ou química do mesmo local. Todavia, o GDEE não antagonizou as respostas à microinjeção de ácido caínico. Mais que isso, a microinjeção de GDEE na MCPAd reduziu a reação de defesa cardiovascular e comportamental evocada por estimulação elétrica do hipotálamo medial (incluindo o HDM e hipotálamo dorsal).

Estudos de marcação retrógrada e anterógrada revelaram conexões profundas entre o hipotálamo e a MCPA. Embora a marcação retrógrada do HDM tenha mostrado projeções apenas moderadas para a MCPAvI, a marcação anterógrada com PHAL revelou uma projeção bastante definida para a MCPAce, originária da região central do HDM, provavelmente, da parte compacta deste núcleo. Projeções mais leves também foram observadas para a MCPAvI. Contudo, regiões periféricas da MCPA, incluindo as colunas dorsomedial,

dorsolateral e lateral, apresentaram pouca ou nenhuma marcação. Estas projeções foram similares àquelas do HVM ventrolateral (Veening *et al.*, 1991). Em contraste, estes autores mostraram que o HVM dorsomedial (HVMdm) envia projeções abundantes para a MCPA, abrangendo tanto a região central quanto periférica das colunas dorsomedial, lateral e, principalmente, dorsolateral. Neste sentido, é importante ressaltar que o HDM projeta-se para o HVM (Thompson *et al.*, 1996).

A despeito da crescente importância da MCPA na execução dos comportamentos defensivos, DiMicco *et al.* (2002) consideram o HDM como uma área clássica de defesa. Em particular, estes autores mostraram que a desinibição ou a estimulação dos neurônios do HDM evoca um padrão de respostas cardiovasculares que se assemelham à reação de defesa. Contudo, os aumentos da frequência cardíaca evocados por estimulação do HDM são mais expressivos que aqueles observados para a pressão arterial (Soltis e DiMicco, 1992; De Novellis *et al.*, 1995; Keim e Shekhar, 1996; Bailey e DiMicco, 2001; Shekhar *et al.*, 2002; Zaretskaia *et al.*, 2002; Gören *et al.*, 2003). Também não há referência acerca da produção de vasodilatação muscular pela estimulação do HDM. Contudo, conforme mencionamos, Hilton e Yardley (1986) foram incapazes de eliciar esta resposta em seu estudo com a exploração extensa do hipotálamo através de microinjeções do aminoácido DL-homocistêmico.

Os estudos sobre o controle da locomoção mostraram que enquanto a locomoção exploratória é induzida, principalmente, pela estimulação elétrica do hipotálamo lateral, a fuga e os saltos são evocados pela estimulação do hipotálamo medial. Enquanto a locomoção exploratória por estimulação do hipotálamo lateral está correlacionada às projeções subpálidas para a região

locomotora mesencefálica, os comportamentos de fuga parecem estar associados a um substrato difuso que ocupa quase todo o hipotálamo medial (Lammers *et al.*, 1988). Os componentes locomotores e fisiológicos da reação de defesa hipotalâmica parecem estar sob inibição GABAérgica tônica na região do hipotálamo posterior. Isto foi demonstrado por meio da microinjeção bilateral, no núcleo hipotalâmico posterior, dos antagonistas GABAérgicos bicuculina e picrotoxina ou do inibidor da síntese do GABA isoniazida. Estas drogas produziram aumentos dose-dependentes da atividade locomotora, sugerindo uma reação de escape. Em contraste, as injeções de estriquinina (antagonista do receptor da glicina) no hipotálamo posterior, ou de bicuculina (1–25 ng) na área hipotalâmica lateral, HDM ou HVM, não eliciaram esta resposta (Shekhar e DiMicco, 1987). Por outro lado, a microinjeção de 10 pmol de bicuculina no HDM de ratos provocou um aumento da atividade locomotora (Bailey e DiMicco, 2001; Zaretskaia *et al.*, 2002; de Menezes *et al.*, 2006), contudo, de forma modesta e inconsistente (de Menezes *et al.*, 2006). As respostas induzidas por estimulação do HDM parecem ser controladas pela MCPA caudal. De fato, a microinjeção de muscimol na última região reduz os aumentos da atividade locomotora produzidos pela microinjeção de bicuculina no HDM (de Menezes *et al.*, 2006).

Além das respostas locomotoras, existem evidências do envolvimento do HDM com a imobilidade tônica e outros comportamentos defensivos. A imobilidade tônica é uma resposta de intensa inibição comportamental que parece ter grande valor adaptativo quando a presa não pode revidar ao ataque do predador, sendo subjugada por este (Thompson *et al.*, 1981). Assim, a microinjeção do carbacol, um agonista nicotínico, no HDM/HVM de cobaias reduz a duração dos episódios de imobilidade tônica, enquanto a

microinjeção no hipotálamo anterior aumenta esta resposta. Este efeito indica que tanto o HDM/HVM como a MCPAd podem estar envolvidos no término do episódio de imobilidade tônica, favorecendo a resposta de fuga num momento de desatenção do predador (de Oliveira *et al.*, 1997). No mesmo sentido, a exposição de um rato ao gato, ou apenas ao odor do gato, promove aumento da imunorreatividade-Fos no HDM, HVMdm e MCPAd, bem como de outras áreas envolvidas com os comportamentos defensivos como o núcleo medial da amígdala e PMd (Canteras *et al.*, 1997; Dielenberg *et al.*, 2001). Contudo, diferentemente do estímulo natural, os comportamentos defensivos eliciados por microinjeção de NMDA (7 nmol) na MCPAd promovem aumento da expressão da proteína Fos no HVMdm e PMd, dentre outras regiões, mas não no HDM ou no PVN (Ferreira-Netto *et al.*, 2005). Ainda, Canteras *et al.* (1997) mostram que lesões citotóxicas bilaterais no PMd de ratos reduzem as respostas de congelamento e escape e aumentam o tempo total de exploração do ambiente durante exposição ao predador. Estes animais tornam-se mais dóceis e vocalizam menos quando manuseados.

#### *Núcleo Dorsomedial do Hipotálamo, Estresse e Transtornos de Ansiedade*

Conforme já mencionamos, o HDM tem sido implicado na resposta de estresse em ratos (DiMicco e Abshire, 1987; Soltis e DiMicco, 1991, 1992; Shekhar, 1993; De Novellis *et al.*, 1995; Keim e Shekhar, 1996; Bailey e DiMicco, 2001; Zaretskaia *et al.*, 2002; Bailey *et al.*, 2003). De fato, a estimulação elétrica ou química desta região, por meio da microinjeção de drogas que bloqueiam a transmissão GABAérgica ou estimulam receptores glutamatérgicos, produz um

padrão de mudanças fisiológicas e comportamentais típico do estresse (Milani e Graeff, 1987; Soltis e DiMicco, 1991, 1992; Shekhar, 1993; De Novellis *et al.*, 1995; Shekhar e Katner, 1995; Keim e Shekhar, 1996; Shekhar *et al.*, 2002). Em particular, a estimulação química do HDM de ratos não anestesiados causa uma elevação do ACTH de até 700% (Zaretskaia *et al.*, 2002). Em adição, Gasser *et al.* (2006) sugerem que a corticosterona modula as respostas comportamentais e fisiológicas a estressores mediante a alteração da neurotransmissão serotoninérgica do HDM. De fato, o HDM envia eferências para o distrito parvocelular do PVN onde estão concentrados os neurônios de CRH (Ter Horst e Luiten, 1987; Thompson *et al.*, 1996). Além disto, um número significativo destes neurônios é ativado por choque nas patas ou estresse de natação (Cullinan *et al.*, 1996; Li e Sawchenko, 1998). No conjunto, estas observações sugerem que a mobilização do eixo HPA, que é emblemática do estresse, pode ser controlada por projeções excitatórias do HDM ao PVN (Bailey e DiMicco, 2001). No mesmo sentido, o HDM também parece ser um componente essencial da resposta cardiovascular ao estresse (Soltis e DiMicco, 1991, 1992; Shekhar *et al.*, 1993, 2002; De Novellis *et al.*, 1995; DiMicco *et al.*, 1996; Keim e Shekhar, 1996; Stotz-Potter *et al.*, 1996; Soltis *et al.*, 1998; Gören *et al.*, 2000, 2003; Bailey e DiMicco, 2001; Zaretskaia *et al.*, 2002).

O HDM também tem sido implicado nos transtornos de ansiedade. Os fundamentos da classificação atual dos transtornos de ansiedade foram desenvolvidos por Sigmund Freud, em colaboração com Joseph Breuer, nos '*Estudos Seleccionados sobre a Histeria*' (1895). Freud denominou os transtornos de ansiedade 'neuroses de angústia' (*Angstneuroses*) e separou-as das neurastenias que incluíam uma ampla variedade de distúrbios, inclusive



transtornos do humor como a depressão maior (melancolia). Em sua descrição sobre as neuroses de angústia, (Freud, 1895) discriminou duas principais síndromes, a 'expectativa ansiosa' (*Angstliche*), que ele considerou como a forma essencial do transtorno de ansiedade, e o menos freqüente 'ataque de angústia' (*Angstanfall*). De acordo com a descrição de Freud, a expectativa ansiosa era '*um quantum de ansiedade livre e flutuante que controla a escolha das idéias por antecipação*'. Pessoas atormentadas por este tipo de ansiedade antecipam o pior de qualquer evento, interpretando cada acontecimento como um mau presságio. Em contraste, no ataque de angústia '*a ansiedade surge repentinamente na consciência sem ter sido despertada por qualquer idéia*'. Freud enfatizou que estes ataques poderiam manifestar-se como '*um sentimento de pura ansiedade*', sem qualquer pensamento associado, ou como uma combinação deste sentimento com '*a interpretação mais próxima da terminação da vida, como a idéia de morte iminente ou insanidade ameaçadora*'. Estes ataques poderiam estar associados a '*alguma parestesia... [ou] um distúrbio de uma ou muitas funções somáticas, como a respiração, atividade cardíaca, inervação vasomotora e atividade glandular*'. Freud também distinguiu estes ataques das fobias, transtorno obsessivo-compulsivo ('*neurose obsessiva*') e transtorno do estresse pós-traumático ('*neurose comum*'), entre outras condições. A descrição clínica de Freud da 'expectativa ansiosa' e do 'ataque de angústia' assemelha-se aos diagnósticos atuais de transtorno de ansiedade generalizada (TAG) e transtorno do pânico (TP), respectivamente (APA, 1994). Não obstante, os transtornos de ansiedade continuaram a ser diagnosticados como neurastenias até a metade do século passado (Frances *et al.*, 1993). Entretanto, este cenário começou a mudar após o estudo de Klein (1964) que mostrou que o TAG e o TP são tratáveis por

diferentes classes de fármacos. Assim, enquanto a ‘*expectativa ansiosa*’ respondeu a ansiolíticos (barbitúricos, meprobamato e clordiazepóxido) e sedativos (fenotiazinas), os ataques de pânico somente foram atenuados pelo tratamento crônico com o antidepressivo tricíclico imipramina. Na mesma época, Pitts e McClure (1967) demonstraram que os ataques de pânico tinham ‘marcadores fisiológicos’, já que eles podiam ser precipitados pela administração intravenosa de lactato de sódio em pacientes propensos aos ataques espontâneos de pânico, mas não em voluntários normais.

Os sintomas que acompanham os ataques de pânico espontâneos em humanos incluem a taquicardia (Freedman *et al.*, 1985; Stein *et al.*, 1992; Rechlin *et al.*, 1994), alteração da atividade respiratória (Goetz *et al.*, 1994), dor torácica, suor, tremores e vertigem, fuga imediata da situação, congelamento, sensações de sufocamento ou uma dificuldade em respirar profundamente. Alguns pacientes também temem perder o controle dos esfíncteres anal ou vesical (Cassano e Savino, 1993). Em adição a infusões intravenosas de lactato de sódio (Pitts e McClure, 1967; Liebowitz *et al.*, 1984, 1986; Reiman *et al.*, 1984), a maioria dos pacientes com transtorno do pânico também experimenta ataques de pânico após inalação de CO<sub>2</sub> (Gorman *et al.*, 1994) ou estimulação química com ioimbina, um antagonista de receptores noradrenérgicos alfa-2 (Charney *et al.*, 1984).

Alguns sintomas característicos dos ataques de pânico em humanos, em particular, aumento da atividade respiratória e taquicardia, são similares às respostas observadas pela estimulação química do HDM de ratos (Shekhar *et al.*, 2002; Fontes *et al.*, 2006). Em razão desta e de outras evidências, Shekhar *et al.* (1996) sugeriram que a disfunção crônica da neurotransmissão

GABAérgica do HDM é responsável pelo transtorno do pânico, uma vez que simula parte de seus aspectos comportamentais, cardiovasculares e respiratórios. De fato, além da taquicardia, taquipnéia e hipertensão, a ativação do HDM por microinjeção de ácido caínico ou bicuculina promove aumentos na atividade locomotora sugestivos de resposta de fuga (Bailey e DiMicco, 2001; Shekhar *et al.*, 2002; Zaretskaia *et al.*, 2002; de Menezes *et al.*, 2006). Entretanto, conforme já mencionamos, o aumento da locomoção é modesto e inconsistente (de Menezes *et al.*, 2006), havendo, inclusive, relatos negativos após a microinjeção de bicuculina no HDM (Shekhar e DiMicco, 1987). Por outro lado, as respostas cardiovasculares e respiratórias eliciadas pela bicuculina foram bloqueadas por lesão dos terminais catecolaminérgicos do HDM ou pelo tratamento prévio com os panicolíticos imipramina (5 e 15 mg/kg, 7 dias) e clonazepam (5 mg/kg, 3 dias) (Shekhar, 1994). De fato, tanto o susto potencializado pelo medo (Shekhar *et al.*, 1994) quanto o bloqueio dos receptores GABA-A no HDM (Shekhar *et al.*, 2002) promovem o aumento significativo dos níveis extracelulares de norepinefrina desta região, sugerindo que a liberação aumentada de norepinefrina pode ser um importante indutor da resposta de pânico (Shekhar, 1994; Shekhar e Katner, 1995; Shekhar *et al.*, 2002).

Presumivelmente, a inconsistência das respostas comportamentais levou Shekhar e colaboradores a utilizar bombas osmóticas para induzir uma disfunção GABAérgica do HDM mediante a microinfusão crônica de alilglicina, um inibidor da síntese do GABA (Shekhar *et al.*, 1996, 2006; Shekhar e Keim, 1997, 2000; Johnson e Shekhar, 2006). Os ratos assim tratados apresentaram respostas semelhantes ao pânico quando foram infundidos, por via endovenosa, com uma solução de lactato de sódio (0,5 M; 10 ml/kg) similar àquela que

precipita os ataques de pânico em pacientes. Estas respostas foram bloqueadas por microinjeções de antagonistas de receptores NMDA no HDM (Johnson e Shekhar, 2006), ou de tetrodotoxina, um bloqueador de canais de sódio, no órgão vascular da lâmina terminal (Shekhar e Keim, 1997). Ao contrário, a administração de tetrodotoxina no órgão subfornicial não teve efeito algum sobre as respostas cardiovasculares induzidas pela injeção endovenosa de lactato. Por fim, a microinfusão de lactato no órgão vascular da lâmina terminal dos ratos tratados com alilglicina eliciou respostas cardiovasculares e atividade locomotora de forma mais robusta que no órgão subfornicial. Portanto, Shekhar e Keim (1997) propuseram que as projeções do órgão vascular da lâmina terminal ao HDM constituem o sistema de detecção do lactato no cérebro. Adicionalmente, um estudo recente do mesmo grupo implica os receptores de angiotensina II do HDM na fisiologia do transtorno do pânico, uma vez que a injeção de angiotensina II no HDM de ratos propensos ao pânico resultou em aumentos dose-dependentes da pressão arterial e frequências cardíaca e respiratória, de forma similar às respostas à infusão de lactato. Estes efeitos foram antagonizados pela microinjeção prévia de saralasin, um antagonista de receptores de angiotensina II, no HDM (Shekhar *et al.*, 2006). Em adição aos aumentos na frequência cardíaca e pressão arterial observados após a infusão de lactato, a disfunção GABAérgica crônica, no HDM, eliciou efeitos ansiogênicos no teste de interação social e no LCE, sugerindo, segundo Shekhar *et al.* (1996), o desenvolvimento de um transtorno semelhante ao pânico nestes ratos.

A despeito dos estudos acima sugerindo o envolvimento do HDM no transtorno do pânico, vários autores propõem que estes ataques são mediados pela MCPA (Gentil, 1988; Graeff, 1990; Deakin e Graeff, 1991; Jenck *et al.*, 1995;

Schenberg *et al.*, 2001; Vargas e Schenberg, 2001; Mobbs *et al.*, 2007). De fato, antes mesmo da inclusão do transtorno do pânico na psiquiatria norteamericana (APA, 1987), Nashold *et al.* (1969) mostraram que a estimulação elétrica da MCPAd em seres humanos é capaz de produzir sintomas muito semelhantes aos ataques de pânico, por exemplo, intensa ansiedade, pânico, sentimentos de terror e de morte iminente acompanhados pelo aumento dos batimentos cardíacos, dor difusa na face e no peito, dispnéia, sensação de sufocamento referida à cavidade torácica, abertura total dos olhos, sensações de rubor/frio, vontade de urinar e vibração da cabeça, face ou tórax. Em ratos, a estimulação elétrica ou química da MCPAd também elicia comportamentos de defesa que se assemelham aos ataques de pânico em humanos, tais como imobilidade reativa e comportamentos de fuga caracterizados por trote, galope e saltos acompanhados pelas respostas autonômicas de exoftalmia, defecação, micção, taquicardia, hipertensão e hiperpnéia (Schenberg *et al.*, 1981, 1983; Brandão *et al.*, 1982; Bittencourt *et al.*, 2004). Assim, Deakin e Graeff (1991) propuseram que a MCPAd seria a estrutura responsável pelos comportamentos de defesa contra predadores em condições de medo extremo (ataque proximal). Mais que isto, a administração crônica do panicolítico clomipramina (5 ou 10 mg/kg/dia por 21 dias, i.p.) aumentou os limiares de imobilidade, trote, galope, salto e micção induzidos por estimulação elétrica da MCPAd de ratos. Adicionalmente, o galope foi seletiva e virtualmente abolido pelo tratamento crônico com uma dose clínica de fluoxetina (1 mg/kg/dia por 21 dias, i.p.), um inibidor seletivo da recaptação de serotonina com ação panicolítica comprovada (Vargas e Schenberg, 2001). É importante ressaltar que estes efeitos foram observados para um regime de doses e curso temporal similares aos da terapia do pânico. Por outro lado, a maprotilina (10 mg/kg/dia),

um inibidor seletivo da recaptação de noradrenalina que carece de atividade antipânico conspícua, somente atenuou a resposta de congelamento. As administrações agudas de antidepressivos e diazepam não tiveram efeitos sobre os comportamentos eliciados por estimulação da MCPAd (Schenberg *et al.*, 2001; Vargas e Schenberg, 2001). Segundo estes autores, estes resultados sugerem que a reação de defesa eliciada pela estimulação da MCPAd do rato seja um modelo válido dos ataques de pânico de humanos. Adicionalmente, dentre as inúmeras respostas da reação de defesa, Schenberg *et al.* (2001) sugerem que o galope é o melhor candidato a modelo de ataque do pânico.

Comportamentos associados à ansiedade podem ser observados após a estimulação do HDM (Soltis e DiMicco, 1991, 1992; Shekhar, 1993; De Novellis *et al.*, 1995; Shekhar e Katner, 1995; Keim e Shekhar, 1996; Shekhar *et al.*, 2002). Assim, tanto a microinjeção de muscimol e do benzodiazepínico midazolam (60 nmol/0,3 µl) no HDM quanto lesões neurotóxicas deste núcleo com ácido ibotênico, promovem respostas ansiolíticas no labirinto-em-cruz elevado (LCE) e no teste de interação social (Shekhar, 1993; Inglefield *et al.*, 1994; Shekhar e Katner, 1995; Jardim e Guimarães, 2001). Adicionalmente, enquanto a microinjeção de picrotoxina ou bicuculina no HDM promoveu o aumento da ansiedade no LCE e no teste de interação social (Shekhar, 1993; Shekhar e Katner, 1995), as microinjeções de muscimol e bicuculina não produziram efeitos nem ansiolíticos, nem ansiogênicos em outras regiões do hipotálamo. Em adição, a ansiólise promovida pelo midazolam foi antagonizada pelo pré-tratamento com uma microinjeção de flumazenil (60 nmol), um antagonista do receptor benzodiazepínico (Jardim e Guimarães, 2001). Contudo, os antagonistas dos receptores NMDA exerceram um efeito maior sobre a atividade exploratória que

na ansiedade (Jardim e Guimarães, 2001) e os antagonistas dos receptores não-NMDA não tiveram efeito algum sobre a ansiedade (Jardim e Guimarães, 2004). Em contraste, como a injeção de antagonistas do receptor NMDA na MCPAd produziu efeitos ansiolíticos em ratos submetidos ao LCE, a MCPA pode ser o sítio da ação ansiolítica destes compostos administrados sistemicamente, participando de comportamentos de defesa mais sutis, semelhantes à ansiedade (Guimarães *et al.*, 1991; Matheus *et al.*, 1994; Carobrez *et al.*, 2001). É possível, por outro lado, que a ansiedade mediada pela MCPA tenha uma qualidade própria, correspondendo à ansiedade antecipatória dos pacientes de TP quando se encontram em locais que julgam favorecer os ataques de pânico.

Contudo, é interessante notar que embora o 'desejo de fugir' seja um dos principais sintomas dos ataques de pânico, não houve relato de respostas de fuga após a administração endovenosa do lactato nos ratos com disfunção GABAérgica no HDM (Shekhar *et al.*, 1996, 2006; Shekhar e Keim, 1997, 2000; Johnson e Shekhar, 2006). Adicionalmente, Shekhar *et al.* (1996) utilizam os conceitos de ansiedade generalizada (avaliada pelos testes de interação social e LCE) e pânico como estados emocionais equivalentes, uma noção questionável tanto do ponto de vista farmacológico (Klein, 1964) quanto clínico (Deakin e Graeff, 1991) ou biológico (Mobbs *et al.*, 2007). Por fim, as doses de midazolam administradas no HDM (60 nmol) são várias ordens de grandeza maiores que aquelas que induzem efeitos ansiolíticos por administração periférica, impedindo inferências conclusivas acerca do papel específico do HDM nos comportamentos estudados.

Adicionalmente, nem os ataques de pânico situacionais ou induzidos por lactato em humanos, nem os comportamentos de congelamento e fuga

induzidos pela estimulação elétrica da MCPAd de ratos produzem aumentos nos níveis de cortisol (humanos), ACTH e prolactina (humanos e ratos), diferenciando estas respostas do estresse (Silva, 2003). Contrariamente, a estimulação química do HDM de ratos não anestesiados produz aumentos dos níveis plasmáticos ACTH de até 700% (Zaretskaia *et al.*, 2002), sugerindo que, ao invés do pânico, este núcleo seja um mediador da resposta de estresse.

Em vista destes fatos e da necessidade de uma caracterização mais precisa do repertório comportamental do HDM, os experimentos que se seguem utilizaram a análise logística de limiares para determinar o repertório de respostas comportamentais da estimulação elétrica e química do HDMd e HDMc, tanto na presença de água, comida, uma fêmea e um camundongo quanto na ausência destes estímulos.

## REFERÊNCIAS

- Anderson JJ, DiMicco JA. 1990. Effect of local inhibition of gamma-aminobutyric acid uptake in the dorsomedial hypothalamus on extracellular levels of gamma-aminobutyric acid and on stress-induced tachycardia: a study using microdialysis. *J Pharmacol Exp Ther* 255: 1399-1407.
- APA. 1987. *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders (DSM-IV)*, American Psychiatric Association Press, Washington DC,
- APA. 1994. *Diagnostic and Statistical Manual for Mental Disorders (DSM-IV)*, American Psychiatric Association Press, Washington DC,
- Bailey TW, DiMicco JA. 2001. Chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamus elevates plasma ACTH in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R8-15.



- Bailey TW, Nicol GD, Schild JH, DiMicco JA. 2003. Synaptic and membrane properties of neurons in the dorsomedial hypothalamus. *Brain Res* 985: 150-162.
- Bandler R, Carrive P. 1988. Integrated defence reaction elicited by excitatory amino acid microinjection in the midbrain periaqueductal grey region of the unrestrained cat. *Brain Res* 439: 95-106.
- Bandler R, Carrive P, Depaulis A. 1991. Emerging principles of organization of the midbrain periaqueductal gray matter. In: *The midbrain periaqueductal gray matter* (A Depaulis, R Bandler), Plenum Press, New York, 1-8.
- Bandler R, Depaulis A. 1991. Midbrain periaqueductal gray control of defensive behavior in the cat and the rat. In: *The midbrain periaqueductal gray matter* (A Depaulis, R Bandler), Plenum Press, New York, 175-198.
- Bard P. 1928. A diencephalic mechanism for the expression of rage with special reference to the sympathetic nervous system. *Am J Physiol* 84: 490-513.
- Bard P, Rioch DM. 1937. A study of four cats deprived of neocortex and additional portions of the forebrain. *Johns Hopk Hosp Bull* 60: 73-148.
- Beitz AJ. 1989. Possible origin of glutamatergic projections to the midbrain periaqueductal gray and deep layer of the superior colliculus of the rat. *Brain Res Bull* 23: 25-35.
- Bellinger LL, Bernardis LL. 1999. Effect of dorsomedial hypothalamic nuclei knife cuts on ingestive behavior. *Am J Physiol* 276: R1772-1779.
- Bellinger LL, Bernardis LL. 2002. The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: lessons learned from lesioning studies. *Physiol Behav* 76: 431-442.
- Bellinger LL, Bernardis LL, Brooks S. 1979. The effect of dorsomedial hypothalamic nuclei lesions on body weight regulation. *Neuroscience* 4: 659-665.
- Bellinger LL, Bernardis LL, Mendel VE. 1976. Effect of ventromedial and dorsomedial hypothalamic lesions on circadian corticosterone rhythms. *Neuroendocrinology* 22: 216-225.
- Bellinger LL, Mendel VE, Bernardis LL, Castonguay TW. 1986. Meal patterns of rats with dorsomedial hypothalamic nuclei lesions or sham operations. *Physiol Behav* 36: 693-698.

- Bernardis LL. 1970. Participation of the dorsomedial hypothalamic nucleus in the "feeding center" and water intake circuitry of the weanling rat. *J Neurovisc Relat* 31: 387–398.
- Bernardis LL. 1972. Hypophagia, hypodipsia, and hypoactivity following electrolytic lesions in the dorsomedial hypothalamic nuclei of mature rats of both sexes. *J Neural Transm* 33: 1-10.
- Bernardis LL, Bellinger LL. 1987. The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited: 1986 update. *Brain Res* 434: 321-381.
- Bernardis LL, Bellinger LL. 1990. Somatic, endocrine and metabolic changes in controls pair-fed for six weeks to rats with dorsomedial hypothalamic nucleus lesions (DMNL rats). *Physiol Behav* 48: 789-794.
- Bernardis LL, Box BM, Stevenson JAF. 1963. Growth following hypothalamic lesions in the weanling rat. *Endocrinology* 72: 684-692.
- Bernardis LL, Chlouverakis C, Schnatz JD, Frohman LA. 1974. Effect of dorsomedial hypothalamic lesions before and after placement of obesity-producing ventromedial hypothalamic lesions in the weanling male rat. *Brain Res* 69: 67-75.
- Bernardis LL, Luboshitzky R. 1983. Hypothalamus and brown fat: white and brown adipose tissue lipolysis in weanling rats with dorsomedial hypothalamic lesions. *Neurol Res* 5: 69-81.
- Bernardis LL, McEwen G, Kodis M, Feldman MJ. 1987. Pair-feeding of sham-operated controls to rats with dorsomedial hypothalamic lesions: new evidence for an 'organismic' set point. *Behav Brain Res* 26: 99-108.
- Bi S. 2007. Role of dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y in energy homeostasis. *Peptides* 28: 352-356.
- Bittencourt AS, Carobrez AP, Zamprogno LP, Tufik S, Schenberg LC. 2004. Organization of single components of defensive behaviors within distinct columns of periaqueductal gray matter of the rat: role of N-methyl-D-aspartic acid glutamate receptors. *Neuroscience* 125: 71-89.
- Blackshear A, Yamamoto M, Anderson BJ, Holmes PV, Lundstrom L, Langel U, Robinson JK. 2007. Intracerebroventricular administration of galanin or galanin receptor subtype 1 agonist M617 induces c-Fos activation in central amygdala and dorsomedial hypothalamus. *Peptides* 28: 1120-1124.

- Brandão ML, de Aguiar JC, Graeff FG. 1982. GABA mediation of the anti-aversive action of minor tranquilizers. *Pharmacol Biochem Behav* 16: 397-402.
- Buijs RM, Kalsbeek A, van der Woude TP, van Heerikhuizen JJ, Shinn S. 1993. Suprachiasmatic nucleus lesion increases corticosterone secretion. *Am J Physiol* 264: R1186-1192.
- Cajal SRy. 1909. *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*, apud Thompson et al., 1996, da tradução inglesa de Swanson, L., 1995,
- Cannon WB, Britton SN. 1925. Studies on the conditions of activity in endocrine glands XV. Pseudoaffective medulliadrenal secretion. *Am J Physiol* 72: 283-294.
- Canteras NS, Chiavegatto S, Valle LE, Swanson LW. 1997. Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. *Brain Res Bull* 44: 297-305.
- Cao WH, Fan W, Morrison SF. 2004. Medullary pathways mediating specific sympathetic responses to activation of dorsomedial hypothalamus. *Neuroscience* 126: 229-240.
- Carobrez AP. 1987. *Mediação da reação de defesa por aminoácidos excitatórios*. Departamento de Farmacologia, Faculdade de medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 96.
- Carobrez AP, Teixeira KV, Graeff FG. 2001. Modulation of defensive behavior by periaqueductal gray NMDA/glycine-B receptor. *Neurosci Biobehav Rev* 25: 697-709.
- Carrive P. 1991. Functional organization of PAG neurons controlling regional vascular beds. In: *The midbrain periaqueductal gray matter* (A Depaulis, R Bandler), Plenum Press, New York, 67-100.
- Cassano GB, Savino M. 1993. Symptomatology of panic disorder: an attempt to define the panic-agoraphobic spectrum phenomenology. In: *The psychopharmacology of panic* (SA Montgomery), Oxford University Press, New York, 38-57.
- Cerri M, Morrison SF. 2006. Corticotropin releasing factor increases in brown adipose tissue thermogenesis and heart rate through dorsomedial hypothalamus and medullary raphe pallidus. *Neuroscience* 140: 711-721.

- Charney DS, Heninger GR, Breier A. 1984. Noradrenergic function in panic anxiety. Effects of yohimbine in healthy subjects and patients with agoraphobia and panic disorder. *Arch Gen Psychiatry* 41: 751-763.
- Cullinan WE, Helmreich DL, Watson SJ. 1996. Fos expression in forebrain afferents to the hypothalamic paraventricular nucleus following swim stress. *J Comp Neurol* 368: 88-99.
- da Silva LG, Jr., Menezes RC, Villela DC, Fontes MA. 2006. Excitatory amino acid receptors in the periaqueductal gray mediate the cardiovascular response evoked by activation of dorsomedial hypothalamic neurons. *Neuroscience* 139: 1129-1139.
- Dai J, Van Der Vliet J, Swaab DF, Buijs RM. 1998. Postmortem anterograde tracing of intrahypothalamic projections of the human dorsomedial nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol* 401: 16-33.
- Dalton LD, Carpenter RG, Grossman SP. 1981. Ingestive behavior in adult rats with dorsomedial hypothalamic lesions. *Physiol Behav* 26: 117-123.
- de Menezes RC, Zaretsky DV, Fontes MA, DiMicco JA. 2006. Microinjection of muscimol into caudal periaqueductal gray lowers body temperature and attenuates increases in temperature and activity evoked from the dorsomedial hypothalamus. *Brain Res* 1092: 129-137.
- De Novellis V, Stotz-Potter EH, Morin SM, Rossi F, DiMicco JA. 1995. Hypothalamic sites mediating cardiovascular effects of microinjected bicuculline and EAAs in rats. *Am J Physiol* 269: R131-140.
- de Oliveira L, Hoffmann A, Menescal-de-Oliveira L. 1997. Participation of the medial and anterior hypothalamus in the modulation of tonic immobility in guinea pigs. *Physiol Behav* 62: 1171-1178.
- Deakin JFW, Graeff FG. 1991. 5-HT and mechanisms of defence. *J Psychopharmacol* 5: 305-315.
- Dielenberg RA, Hunt GE, McGregor IS. 2001. "When a rat smells a cat": the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. *Neuroscience* 104: 1085-1097.
- DiMicco JA, Abshire VM. 1987. Evidence for GABAergic inhibition of a hypothalamic sympathoexcitatory mechanism in anesthetized rats. *Brain Res* 402: 1-10.

- DiMicco JA, Samuels BC, Zaretskaia MV, Zaretsky DV. 2002. The dorsomedial hypothalamus and the response to stress: part renaissance, part revolution. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 469-480.
- DiMicco JA, Stotz-Potter EH, Monroe AJ, Morin SM. 1996. Role of the dorsomedial hypothalamus in the cardiovascular response to stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 23: 171-176.
- DiMicco JA, Zaretsky DV. 2007. The dorsomedial hypothalamus: a new player in thermoregulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R47-63.
- Ellison GD, Flynn JP. 1968. Organized aggressive behavior in cats after surgical isolation of the hypothalamus. *Arch Ital Biol* 106: 1-20.
- Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. 1998. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 741-746.
- Fernandez De Molina A, Hunsperger RW. 1962. Organization of the subcortical system governing defence and flight reactions in the cat. *J Physiol* 160: 200-213.
- Ferreira-Netto C, Borelli KG, Brandao ML. 2005. Neural segregation of Fos-protein distribution in the brain following freezing and escape behaviors induced by injections of either glutamate or NMDA into the dorsal periaqueductal gray of rats. *Brain Res* 1031: 151-163.
- Fontes MA, Tagawa T, Polson JW, Cavanagh SJ, Dampney RA. 2001. Descending pathways mediating cardiovascular response from dorsomedial hypothalamic nucleus. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H2891-2901.
- Fontes MAP, Menezes RCA, Villela DC, Da Silva Jr LG. 2006. The dorsomedial hypothalamus and the organization of the cardiovascular response to emotional stress: a functional perspective. In: X Simpósio Brasileiro de fisiologia cardiovascular Medicina, Ribeirão Preto, 13-20.
- Frances A, Miele GM, Widiger TA, Pincus HA, Manning D, Davis WW. 1993. The classification of panic disorders: from Freud to DSM-IV. *J Psychiat Res* 27: 3-10.
- Freedman RR, Ianni P, Ettetdgui E, Puthethath N. 1985. Ambulatory monitoring of panic disorder. *Arch Gen Psychiatry* 42: 244-248.

- Freud S. 1895. On the right to separate from neurasthenia a definite symptom-complex as 'anxiety neurosis' (Angstneurose). In: The major works of Sigmund Freud, great books of western world Encyclopaedia Britannica, London, 1978,
- Gallo RV. 1981. Effect of electrical stimulation of the dorsomedial hypothalamic nucleus on pulsatile LH release in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 32: 134-138.
- Gasser PJ, Lowry CA, Orchinik M. 2006. Corticosterone-sensitive monoamine transport in the rat dorsomedial hypothalamus: potential role for organic cation transporter 3 in stress-induced modulation of monoaminergic neurotransmission. *J Neurosci* 26: 8758-8766.
- Gentil V. 1988. The aversive system, 5-HT and panic attacks. In: Selected models of anxiety, depression and psychosis (P Simon, P Soubrié, D Wildlocher), Karger, A. G., Basel, 142–145.
- Goetz RR, Klein DF, Gorman JM. 1994. Consistencies between recalled panic and lactate-induced panic. *Anxiety* 1: 31-36.
- Goltz F. 1892. Der Hund ohne Grosshirn. *Pflügers Arch ges Physiol* 51: 570-614.
- Gören MZ, Akici A, Berkman K, Onat F. 2000. Cardiovascular responses to NMDA injected into nuclei of hypothalamus or amygdala in conscious rats. *Pharmacology* 61: 257-262.
- Gören MZ, Yananli HR, Berkman K, Onat F, Aker R. 2003. The influence of dorsomedial hypothalamic nucleus on contralateral paraventricular nucleus in NMDA-mediated cardiovascular responses. *Brain Res* 968: 219-226.
- Gorman JM, Papp LA, Coplan JD, Martinez JM, Lennon S, Goetz RR, Ross D, Klein DF. 1994. Anxiogenic effects of CO<sub>2</sub> and hyperventilation in patients with panic disorder. *Am J Psychiatry* 151: 547-553.
- Graeff FG. 1990. Brain defence systems and anxiety. In: Handbook of anxiety (M Roth, GD Burrows, R Noyes), Elsevier, Amsterdam, 307-354.
- Greenwood B, DiMicco JA. 1995. Activation of the hypothalamic dorsomedial nucleus stimulates intestinal motility in rats. *Am J Physiol* 268: G514-521.
- Gu GB, Simerly RB. 1997. Projections of the sexually dimorphic anteroventral periventricular nucleus in the female rat. *J Comp Neurol* 384: 142-164.

- Guimarães FS, Carobrez AP, De Aguiar JC, Graeff FG. 1991. Anxiolytic effect in the elevated plus-maze of the NMDA receptor antagonist AP7 microinjected into the dorsal periaqueductal grey. *Psychopharmacology (Berl)* 103: 91-94.
- Gunnert JW, Freeman ME. 1985. The interaction of the medial preoptic area and the dorsomedial-ventromedial nuclei of the hypothalamus in the regulation of the mating-induced release of prolactin. *Neuroendocrinology* 40: 232-237.
- Gurdjian ES. 1927. The diencephalon of the albino rat. apud Thompson et al., 1996
- Hancock MB. 1976. Cells of origin of hypothalamo-spinal projections in the rat. *Neurosci Lett* 3: 179-184.
- Herbert H, Moga MM, Saper CB. 1990. Connections of the parabrachial nucleus with the nucleus of the solitary tract and the medullary reticular formation in the rat. *J Comp Neurol* 293: 540-580.
- Hess WR, Brügger M. 1943. Das subkortikale Zentrum den affektiven Abwehrreaktion. *Acta Helv Physiol* 1: 33-52.
- Hilton SM, Yardley CP. 1986. Blood pressure and heart rate responses to long term stimulation of the hypothalamic defence area in the rat. *J Physiol* 373: 85-85.
- Horiuchi J, McAllen RM, Allen AM, Killinger S, Fontes MA, Dampney RA. 2004. Descending vasomotor pathways from the dorsomedial hypothalamic nucleus: role of medullary raphe and RVLM. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R824-832.
- Horiuchi J, McDowall LM, Dampney RA. 2006. Differential control of cardiac and sympathetic vasomotor activity from the dorsomedial hypothalamus. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33: 1265-1268.
- Hosoya Y. 1980. The distribution of spinal projection neurons in the hypothalamus of the rat, studied with the HRP method. *Exp Brain Res* 40: 79-87.
- Hosoya Y, Ito R, Kohno K. 1987. The topographical organization of neurons in the dorsal hypothalamic area that project to the spinal cord or to the nucleus raphe pallidus in the rat. *Exp Brain Res* 66: 500-506.

- Inglefield JR, Schwarzkopf SB, Kellogg CK. 1994. Alterations in behavioral responses to stressors following excitotoxin lesions of dorsomedial hypothalamic regions. *Brain Res* 633: 151-161.
- Jardim MC, Guimarães FS. 2001. GABAergic and glutamatergic modulation of exploratory behavior in the dorsomedial hypothalamus. *Pharmacol Biochem Behav* 69: 579-584.
- Jardim MC, Guimarães FS. 2004. Role of glutamate ionotropic receptors in the dorsomedial hypothalamic nucleus on anxiety and locomotor behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 79: 541-546.
- Jenck F, Moreau JL, Martin JR. 1995. Dorsal periaqueductal gray-induced aversion as a simulation of panic anxiety: elements of face and predictive validity. *Psychiatry Res* 57: 181-191.
- Johnson PL, Shekhar A. 2006. Panic-prone state induced in rats with GABA dysfunction in the dorsomedial hypothalamus is mediated by NMDA receptors. *J Neurosci* 26: 7093-7104.
- Keim SR, Shekhar A. 1996. The effects of GABA<sub>A</sub> receptor blockade in the dorsomedial hypothalamic nucleus on corticotrophin (ACTH) and corticosterone secretion in male rats. *Brain Res* 739: 46-51.
- Klein DF. 1964. Delineation of Two Drug-Responsive Anxiety Syndromes. *Psychopharmacologia* 5: 397-408.
- Krieg WJS. 1932. The hypothalamus of the albino rat. *J Comp Neurol* 55: 19-89.
- Lammers JH, Kruk MR, Meelis W, van der Poel AM. 1988. Hypothalamic substrates for brain stimulation-induced patterns of locomotion and escape jumps in the rat. *Brain Res* 449: 294-310.
- Li HY, Sawchenko PE. 1998. Hypothalamic effector neurons and extended circuitries activated in "neurogenic" stress: a comparison of footshock effects exerted acutely, chronically, and in animals with controlled glucocorticoid levels. *J Comp Neurol* 393: 244-266.
- Liebowitz MR, Fyer AJ, Gorman JM, Dillon D, Appleby IL, Levy G, Anderson S, Levitt M, Palij M, Davies SO, et al. 1984. Lactate provocation of panic attacks. I. Clinical and behavioral findings. *Arch Gen Psychiatry* 41: 764-770.



- Liebowitz MR, Gorman JM, Fyer A, Dillon D, Levitt M, Klein DF. 1986. Possible mechanisms for lactate's induction of panic. *Am J Psychiatry* 143: 495-502.
- Lipp HP, Hunsperger RW. 1978. Threat, attack and flight elicited by electrical stimulation of the ventromedial hypothalamus of the marmoset monkey *Callithrix jacchus*. *Brain Behav Evol* 15: 260-293.
- Loewy AD, Wallach JH, McKellar S. 1981. Efferent connections of the ventral medulla oblongata in the rat. *Brain Res* 228: 63-80.
- Luiten PG, Room P. 1980. Interrelations between lateral, dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei in the rat. An HRP study. *Brain Res* 190: 321-332.
- Matheus MG, Nogueira RL, Carobrez AP, Graeff FG, Guimaraes FS. 1994. Anxiolytic effect of glycine antagonists microinjected into the dorsal periaqueductal grey. *Psychopharmacology (Berl)* 113: 565-569.
- Milani H, Graeff FG. 1987. GABA-benzodiazepine modulation of aversion in the medial hypothalamus of the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 28: 21-27.
- Mobbs D, Petrovic P, Marchant JL, Hassabis D, Weiskopf N, Seymour B, Dolan RJ, Frith CD. 2007. When fear is near: threat imminence elicits prefrontal-periaqueductal gray shifts in humans. *Science* 317: 1079-1083.
- Nakamura Y, Nakamura K, Matsumura K, Kobayashi S, Kaneko T, Morrison SF. 2005. Direct pyrogenic input from prostaglandin EP3 receptor-expressing preoptic neurons to the dorsomedial hypothalamus. *Eur J Neurosci* 22: 3137-3146.
- Nashold BS, Jr., Wilson WP, Slaughter DG. 1969. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. *J Neurosurg* 30: 14-24.
- Oomura Y, Yoshimatsu H. 1984. Neural network of glucose monitoring system. *J Auton Nerv Syst* 10: 359-372.
- Palkovits M. 2003. Hypothalamic regulation of food intake. *Ideggyogy Sz* 56: 288-302.
- Pan JT, Gala RR. 1985. Central nervous system regions involved in the estrogen-induced afternoon prolactin surge. I. Lesion studies. *Endocrinology* 117: 382-387.
- Paxinos G. 1985. *The rat nervous system: Forebrain and midbrain*, Academic Press, Austrália,

- Paxinos G, Watson C. 1986. The rat brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, Sydney,
- Paxinos G, Watson C. 1998. The rat brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, San Diego,
- Pitts FN, Jr., McClure JN, Jr. 1967. Lactate metabolism in anxiety neurosis. *N Engl J Med* 277: 1329-1336.
- Rechlin T, Weis M, Spitzer A, Kaschka WP. 1994. Are affective disorders associated with alterations of heart rate variability? *J Affect Disord* 32: 271-275.
- Redfern WS, Yardley CP. 1986. Effects of lesions of the mid brain periaqueductal grey matter on the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J Physiol* 373: 92-92.
- Reiman EM, Raichle ME, Butler FK, Herscovitch P, Robins E. 1984. A focal brain abnormality in panic disorder, a severe form of anxiety. *Nature* 310: 683-685.
- Risold PY, Canteras NS, Swanson LW. 1994. Organization of projections from the anterior hypothalamic nucleus: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. *J Comp Neurol* 348: 1-40.
- Saper CB, Loewy AD, Swanson LW, Cowan WM. 1976. Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brain Res* 117: 305-312.
- Schenberg LC, Bittencourt AS, Sudre EC, Vargas LC. 2001. Modeling panic attacks. *Neurosci Biobehav Rev* 25: 647-659.
- Schenberg LC, De Aguiar JC, Graeff FG. 1983. GABA modulation of the defense reaction induced by brain electrical stimulation. *Physiol Behav* 31: 429-437.
- Schenberg LC, de Aguiar JC, Salgado HC, Graeff FG. 1981. Depressant action of chlordiazepoxide on cardiovascular and respiratory changes induced by aversive electrical stimulation of the brain. *Braz J Med Biol Res* 14: 69-72.
- Schenberg LC, Vasquez EC, da Costa MB. 1993. Cardiac baroreflex dynamics during the defence reaction in freely moving rats. *Brain Res* 621: 50-58.
- Schwanzel-Fukuda M, Morrell JI, Pfaff DW. 1984. Localization of forebrain neurons which project directly to the medulla and spinal cord of the rat by retrograde tracing with wheat germ agglutinin. *J Comp Neurol* 226: 1-20.

- Shekhar A. 1993. GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of rats regulate anxiety in the elevated plus-maze test. I. Behavioral measures. *Brain Res* 627: 9-16.
- Shekhar A. 1994. Effects of treatment with imipramine and clonazepam on an animal model of panic disorder. *Biol Psychiatry* 36: 748-758.
- Shekhar A, DiMicco JA. 1987. Defense reaction elicited by injection of GABA antagonists and synthesis inhibitors into the posterior hypothalamus in rats. *Neuropharmacology* 26: 407-417.
- Shekhar A, Johnson PL, Sajdyk TJ, Fitz SD, Keim SR, Kelley PE, Gehlert DR, DiMicco JA. 2006. Angiotensin-II is a putative neurotransmitter in lactate-induced panic-like responses in rats with disruption of GABAergic inhibition in the dorsomedial hypothalamus. *J Neurosci* 26: 9205-9215.
- Shekhar A, Katner JS. 1995. Dorsomedial hypothalamic GABA regulates anxiety in the social interaction test. *Pharmacol Biochem Behav* 50: 253-258.
- Shekhar A, Katner JS, Rusche WP, Sajdyk TJ, Simon JR. 1994. Fear-potentiated startle elevates catecholamine levels in the dorsomedial hypothalamus of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 48: 525-529.
- Shekhar A, Katner JS, Sajdyk TJ, Kohl RR. 2002. Role of norepinephrine in the dorsomedial hypothalamic panic response: an in vivo microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 493-500.
- Shekhar A, Keim SR. 1997. The circumventricular organs form a potential neural pathway for lactate sensitivity: implications for panic disorder. *J Neurosci* 17: 9726-9735.
- Shekhar A, Keim SR. 2000. LY354740, a potent group II metabotropic glutamate receptor agonist prevents lactate-induced panic-like response in panic-prone rats. *Neuropharmacology* 39: 1139-1146.
- Shekhar A, Keim SR, Simon JR, McBride WJ. 1996. Dorsomedial hypothalamic GABA dysfunction produces physiological arousal following sodium lactate infusions. *Pharmacol Biochem Behav* 55: 249-256.
- Shekhar A, Sims LS, Bowsher RR. 1993. GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of rats regulate anxiety in the elevated plus-maze test. II. Physiological measures. *Brain Res* 627: 17-24.

- Silva SR. 2003. Neuroendocrinologia da reação de defesa induzida por estimulação da matéria cinzenta periaquedutal de ratos Wistar e selvagens: uma resposta incomum de 'estresse' similar aos ataques de pânico. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória-ES, 117.
- Sinnamon HM. 1984. Forelimb and hindlimb stepping by the anesthetized rat elicited by electrical stimulation of the diencephalon and mesencephalon. *Physiol Behav* 33: 191-199.
- Soltis RP, Cook JC, Gregg AE, Stratton JM, Flickinger KA. 1998. EAA receptors in the dorsomedial hypothalamic area mediate the cardiovascular response to activation of the amygdala. *Am J Physiol* 275: R624-631.
- Soltis RP, DiMicco JA. 1991. GABAA and excitatory amino acid receptors in dorsomedial hypothalamus and heart rate in rats. *Am J Physiol* 260: R13-20.
- Soltis RP, DiMicco JA. 1992. Hypothalamic excitatory amino acid receptors mediate stress-induced tachycardia in rats. *Am J Physiol* 262: R689-697.
- Stein MB, Tancer ME, Uhde TW. 1992. Heart rate and plasma norepinephrine responsivity to orthostatic challenge in anxiety disorders. Comparison of patients with panic disorder and social phobia and normal control subjects. *Arch Gen Psychiatry* 49: 311-317.
- Stotz-Potter EH, Morin SM, DiMicco JA. 1996. Effect of microinjection of muscimol into the dorsomedial or paraventricular hypothalamic nucleus on air stress-induced neuroendocrine and cardiovascular changes in rats. *Brain Res* 742: 219-224.
- Swanson LW, Kuypers HG. 1980. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *J Comp Neurol* 194: 555-570.
- Ter Horst GJ, Luiten PG. 1986. The projections of the dorsomedial hypothalamic nucleus in the rat. *Brain Res Bull* 16: 231-248.

- Ter Horst GJ, Luiten PG. 1987. Phaseolus vulgaris leuco-agglutinin tracing of intrahypothalamic connections of the lateral, ventromedial, dorsomedial and paraventricular hypothalamic nuclei in the rat. *Brain Res Bull* 18: 191-203.
- Tetel MJ, Getzinger MJ, Blaustein JD. 1993. Fos expression in the rat brain following vaginal-cervical stimulation by mating and manual probing. *J Neuroendocrinol* 5: 397-404.
- Thompson RH, Canteras NS, Swanson LW. 1996. Organization of projections from the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a PHA-L study in the rat. *J Comp Neurol* 376: 143-173.
- Thompson RH, Swanson LW. 1998. Organization of inputs to the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a reexamination with Fluorogold and PHAL in the rat. *Brain Res Brain Res Rev* 27: 89-118.
- Thompson RKR, Foltin RW, Boylan RJ, Sweet A, Graves CA, Lowitz CE. 1981. Tonic immobility in Japanese quail can reduced the probability of sustained attack by cats. *Anim Learn Behav* 9: 145-149.
- Tucker DC, Saper CB. 1985. Specificity of spinal projections from hypothalamic and brainstem areas which innervate sympathetic preganglionic neurons. *Brain Res* 360: 159-164.
- Van Der Plas J, Wiersinga-Post JE, Maes FW, Bohus B. 1995. Cardiovascular effects and changes in midbrain periaqueductal gray neuronal activity induced by electrical stimulation of the hypothalamus in the rat. *Brain Res Bull* 37: 645-656.
- Vargas LC, Schenberg LC. 2001. Long-term effects of clomipramine and fluoxetine on dorsal periaqueductal grey-evoked innate defensive behaviours of the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 155: 260-268.
- Veening J, Buma P, Ter Horst GJ, Roeling TAP, Luiten PGM, Nieuwenhuys R. 1991. Hypothalamic projections to the PAG in the rat: topographical, immuno-electronmicroscopical and functional aspects. In: *The midbrain periaqueductal gray matter* (A Depaulis, R Bandler), Plenum Press, New York, 387-415.
- Verwey M, Khoja Z, Stewart J, Amir S. 2007. Differential regulation of the expression of Period2 protein in the limbic forebrain and dorsomedial

- hypothalamus by daily limited access to highly palatable food in food-deprived and free-fed rats. *Neuroscience* 147: 277-285.
- Womack MD, Barrett-Jolley R. 2007. Activation of paraventricular nucleus neurones by the dorsomedial hypothalamus via a tachykinin pathway in rats. *Exp Physiol* 92: 671-676.
- Yoshida K, Konishi M, Nagashima K, Saper CB, Kanosue K. 2005. Fos activation in hypothalamic neurons during cold or warm exposure: projections to periaqueductal gray matter. *Neuroscience* 133: 1039-1046.
- Yoshimatsu H, Nijima A, Oomura Y, Yamabe K, Katafuchi T. 1984. Effects of hypothalamic lesion on pancreatic autonomic nerve activity in the rat. *Brain Res* 303: 147-152.
- Zaia CT, Gaziri LC, Zaia DA, Delattre E, Dolnikoff MS, Timo-Iaria C. 1997. Effect of chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamic nucleus on blood plasma glucose, triglycerides and free fatty acids in rats. *Brain Res Bull* 42: 195-198.
- Zaretskaia MV, Zaretsky DV, Shekhar A, DiMicco JA. 2002. Chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamus evokes non-shivering thermogenesis in anesthetized rats. *Brain Res* 928: 113-125.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

## **OBJETIVOS**

A despeito dos estudos que sugerem a participação do HDM em comportamentos relacionados ao estresse, ansiedade, reprodução e alimentação, não há uma caracterização dos comportamentos eliciados por estimulação elétrica ou química das seções difusa e compacta do HDM. Assim, o presente estudo avaliou o repertório comportamental da estimulação elétrica e química do HDM. Para tanto, foram estabelecidos os seguintes objetivos:

1. Caracterizar o envolvimento do HDM do rato nos comportamentos inatos de defesa, mediante a análise logística dos limiares das respostas induzidas por estimulação por variação da intensidade ou frequência de um pulso elétrico, ou da dose de NMDA.

2. Verificar se as estimulações elétrica e química do HDM também produzem comportamentos agressivos (boxear, posturas laterais, ataques, mordidas), sexuais (manipulação oro-genital, montar, penetração) ou alimentares (comer, beber) na presença de alvos apropriados (camundongo, fêmea, comida e água).

3. Determinar se existem diferenças nestes repertórios para as partes compacta e difusa do HDM.

4. *Objetivo de publicação:* Neuroscience (impacto 3,9).



## **RESULTADOS**

**Efeitos Comportamentais da Estimulação Elétrica e Química  
das Divisões Compacta e Difusa do Núcleo Dorsomedial do  
Hipotálamo do Rato**

**Ana Carolina de Assis Alves**

*Participação Individual:* Os experimentos referentes à estimulação elétrica e química foram conduzidos por Ana Carolina de Assis Alves e contaram com a colaboração de Fabiane De Nadai Pezzin.

Pesquisa apoiada por CAPES e CNPq

## INTRODUÇÃO

O hipotálamo dorsomedial (HDM) foi recentemente proposto como uma estrutura crucial na mediação das respostas ao estresse. De fato, a estimulação química do HDM de ratos, tanto pela microinjeção de agonistas glutamatérgicos quanto de antagonistas gabaérgicos, produz aumentos acentuados na frequência cardíaca e atividade respiratória e, em menor grau, na pressão arterial (Soltis e DiMicco, 1991, 1992; De Novellis *et al.*, 1995; Shekhar e Katner, 1995; DiMicco e Monroe, 1996; DiMicco *et al.*, 1996; Keim e Shekhar, 1996; Gören *et al.*, 2000, 2003; Bailey e DiMicco, 2001; Shekhar *et al.*, 2002; Zaretskaia *et al.*, 2002). A estimulação do HDM também induz um aumento da temperatura que parece ser independente da resposta termogênica de tiritar, assemelhando-se, portanto, à termogênese induzida pelo estresse (Zaretskaia *et al.*, 2002; Nakamura *et al.*, 2005; Cerri e Morrison, 2006; DiMicco e Zaretsky, 2007). Contudo, Yoshida *et al.* (2005) encontraram imunorreatividade c-Fos no HDM de ratos que foram expostos ao frio (10 °C). Mais importante, no entanto, a estimulação do HDM de ratos não anestesiados causou aumentos acentuados dos níveis plasmáticos dos 'hormônios do estresse', que se elevaram em 700% para o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e 160% para a corticosterona (Keim e Shekhar, 1996; Bailey e DiMicco, 2001; Zaretskaia *et al.*, 2002).

O HDM também tem sido implicado nas respostas relacionadas ao medo e ansiedade. De fato, além da ativação autonômica e respiratória, a microinjeção de ácido caínico ou bicuculina no HDM promove aumentos na atividade locomotora similares à resposta de fuga (Bailey e DiMicco, 2001; Shekhar *et al.*, 2002; Zaretskaia *et al.*, 2002; de Menezes *et al.*, 2006). Contudo,

os aumentos na locomoção foram apenas modestos e inconsistentes (de Menezes *et al.*, 2006), incluindo até relatos negativos com microinjeção de bicuculina (Shekhar e DiMicco, 1987).

A estimulação do HDM também produz comportamentos que têm sido associados ao transtorno de ansiedade generalizada (Soltis e DiMicco, 1991, 1992; Shekhar, 1993; De Novellis *et al.*, 1995; Shekhar e Katner, 1995; Keim e Shekhar, 1996; Shekhar *et al.*, 2002). Assim, a microinjeção no HDM do agonista gabaérgico muscimol (0,09 nmol/0,25 µl) ou doses elevadas de midazolam (60 nmol/0,3 µl) reduziu a ansiedade nos testes de interação social e labirinto-em-cruz elevado (LCE) (Shekhar, 1993; Shekhar e Katner, 1995; Jardim e Guimarães, 2001). Efeitos similares foram obtidos pela lesão deste núcleo com ácido ibotênico (Inglefield *et al.*, 1994). Ao contrário, as microinjeções de picrotoxina ou bicuculina promoveram efeitos ansiogênicos (Shekhar, 1993; Shekhar e Katner, 1995).

As respostas à estimulação do HDM também foram associadas aos ataques espontâneos de pânico em humanos (Shekhar *et al.*, 1996, 2002; Fontes *et al.*, 2006). De fato, os efeitos cardiovasculares e respiratórios eliciados pela bicuculina foram bloqueados pelo tratamento crônico com os panicolíticos imipramina (5 e 15 mg/kg, 7 dias) e clonazepam (5 mg/kg, 3 dias) (Shekhar, 1994). Para testar esta hipótese, Shekhar *et al.* (1996) utilizaram bombas osmóticas para desenvolver um modelo de disfunção gabaérgica do HDM mediante a infusão a crônica de alilglicina, um inibidor da síntese do GABA. Os ratos assim tratados apresentaram respostas similares ao pânico quando foram submetidos à infusão endovenosa da mesma solução de lactato de sódio (0,5 M, 10 ml/kg) que precipita ataques de pânico em pacientes (Shekhar *et al.*, 1996,

2006; Shekhar e Keim, 1997, 2000; Johnson e Shekhar, 2006). Adicionalmente, as respostas ao lactato foram bloqueadas pela microinjeção do HDM com antagonistas de receptores glutamatérgicos NMDA (Johnson e Shekhar, 2006).

A despeito destas evidências, outros autores propõem que os ataques de pânico sejam mediados pela metade dorsal da matéria cinzenta periaquedutal (MCPAd) (Gentil, 1988; Graeff, 1990; Deakin e Graeff, 1991; Jenck *et al.*, 1995; Schenberg *et al.*, 2001; Vargas e Schenberg, 2001; Mobbs *et al.*, 2007). De fato, a estimulação elétrica desta estrutura em humanos produz sintomas praticamente idênticos àqueles observados nos ataques de pânico, tais como ansiedade, pânico, sentimentos de terror e sensação de morte iminente acompanhados pelo aumento dos batimentos cardíacos, dor difusa na face e no peito, dispnéia, sensação de sufocamento referida à cavidade torácica, abertura dos olhos, sensações de rubor ou frio, vontade de urinar e vibração da cabeça, face ou tórax (Nashold *et al.*, 1969). Adicionalmente, a estimulação elétrica ou química da MCPAd de ratos elicia comportamentos de defesa análogos aos dos ataques de pânico de humanos, tais como a imobilidade tensa e comportamentos de fuga (trote, galope e saltos) associados às respostas de taquicardia, hipertensão e hiperpnéia (Schenberg *et al.*, 1981, 1983; Brandão *et al.*, 1982; Bittencourt *et al.*, 2004). Mais importante, a administração crônica (mas não aguda) dos panicolíticos clomipramina (5 ou 10 mg/kg/dia por 21 dias, i.p.) e fluoxetina (1 mg/kg/dia por 21 dias, i.p.) causou aumentos pronunciados dos limiares da reação de defesa em regime de doses e curso temporal similares aos da terapia do pânico (Schenberg *et al.*, 2001; Vargas e Schenberg, 2001). Por fim, ao contrário do HDM, estudos recentes de nosso laboratório mostraram que a estimulação da MCPAd não é acompanhada da ativação do eixo hipotálamo-

hipófise-adrenal, reproduzindo a ausência de ativação deste eixo nos ataques de pânico situacionais ou induzidos por lactato em homens (Silva, 2003).

Em adição, o HDM tem sido relacionado a funções ingestivas (Yoshimatsu *et al.*, 1984; Ter Horst e Luiten, 1986; Greenwood e DiMicco, 1995; Zaia *et al.*, 1997; Elmquist *et al.*, 1998; Bellinger e Bernardis, 2002; Bi, 2007; Blackshear *et al.*, 2007) e reprodutivas (Gallo, 1981; Gunnet e Freeman, 1985; Pan e Gala, 1985; Tetel *et al.*, 1993). De fato, diversos estudos têm demonstrado que a transecção de fibras ventrais ou posteriores ao HDM de ratos ou lesões eletrolíticas neste núcleo provocam hipofagia, hipodipsia, retardo no aumento de peso e tamanho do corpo (ver Bellinger e Bernardis, 2002). A participação do HDM nos circuitos envolvidos com o comportamento reprodutivo em ratos é confirmada por estudos recentes com imuno-histoquímica de proteína c-Fos em ratas submetidas à estimulação cérvico-vaginal (pseudo-gravidez) (Tetel *et al.*, 1993). Adicionalmente, enquanto a estimulação elétrica do HDM inibiu a liberação pulsátil do hormônio luteinizante, lesões químicas deste núcleo aumentaram a magnitude da onda vespertina de prolactina induzida pela estimulação elétrica da área preóptica mediana (Gallo, 1981; Pan e Gala, 1985).

A despeito da diversidade de estudos que sugerem a participação do HDM em comportamentos relacionados ao estresse, ansiedade, transtorno do pânico, reprodução e alimentação, não há uma caracterização precisa do repertório comportamental desta região. Portanto, o presente estudo utilizou a análise logística dos limiares para examinar os comportamentos eliciados por estimulação das partes difusa (HDMd) e compacta (HDMc) do HDM com pulsos senoidais de intensidade crescente, pulsos quadrados de frequência crescente ou microinfusão de NMDA.

## MATERIAL E MÉTODOS

*Animais.* Ratos Wistar albinos machos (n = 40), pesando entre 200 e 250 g, foram mantidos em gaiolas individuais com paredes de vidro e livre acesso à água e comida. Os experimentos e cuidados com os animais seguiram os Princípios Internacionais para Pesquisa Biomédica com Animais (CIOMS, 1985).

*Quimitrodo.* Os quimitrodos eram confeccionados com uma cânula-guia de aço inoxidável de 0,6 mm de diâmetro externo e cerca de 6 mm de comprimento, à qual era colado um fio de aço inoxidável (California Fine Wire Company, Grover City, EUA) de 0,25 mm de diâmetro externo, isolado em toda extensão exceto na seção transversal de sua extremidade. O eletrodo era montado de forma que sua extremidade ficasse 2,6 mm abaixo da cânula-guia. O eletrodo e cânula-guia eram soldados aos pinos de um soquete de circuito integrado (Celis, BCPT 50; Tyco Electronics, São Paulo, Brasil), permitindo a estimulação elétrica ou química do cérebro. Durante a estimulação elétrica, a cânula-guia servia de pólo indiferente.

*Cirurgia.* Os ratos eram anestesiados com 100 mg/kg de quetamina e 10 mg/kg de xilazina (i.p.) (Vetbrands, Jacareí, SP, Brasil). Em seguida, eram fixados ao estereotáxico (David Kopf, Tujunga, EUA) e cobertos com uma manta para evitar a hipotermia. Após a tricotomia e exposição da calota craniana, realizava-se uma trepanação com o auxílio de uma broca adiamantada (KG Sorensen 1016, SP, Brasil), expondo-se o seio venoso. O eletrodo era posicionado medialmente à cânula-guia e dirigido ao HDM segundo as coordenadas 3,2 mm posterior ao

bregma, 0,5 mm lateral ao plano sagital e 8,6 mm abaixo da calota craniana. O seio venoso era afastado durante a implantação, para evitar a ruptura deste durante a introdução do quimitrodo. A implantação do quimitrodo era facilitada por uma pequena incisão na dura-máter com o auxílio de uma agulha hipodérmica. O quimitrodo era ancorado por parafusos de aço inoxidável e resina acrílica autopolimerizável (JET, São Paulo, Brasil). Um tubo plástico de 1 cm de altura e diâmetro, contendo ganchos para a conexão do cabo de estimulação e da agulha de microinfusão, era fixado sobre a prótese para proteção do quimitrodo. Ao final da cirurgia, um estilete de aço inoxidável era introduzido na cânula-guia para evitar sua obstrução.

*Estimulação elétrica.* Cinco dias após a cirurgia, os animais eram conectados a um estimulador e colocados numa arena de acrílico transparente, com 60 cm de diâmetro e altura, situada numa sala com som atenuado e temperatura controlada (23–25 °C). Após um período de habituação de 15 min, os ratos eram submetidos a duas sessões diárias de estimulação elétrica, uma no período da manhã, numa arena de acrílico transparente, com 50 cm de altura e diâmetro (ambiente pobre), e outra no período da tarde quando eram apresentados água, comida, fêmea e camundongo (ambiente rico). Este procedimento era realizado em 2 dias consecutivos. No primeiro dia, os ratos eram estimulados com trens de 30 s de pulsos senoidais de intensidades crescentes (0–75  $\mu$ A), em passos de 5  $\mu$ A, mas frequência fixa (60 Hz). No segundo dia, a estimulação era feita com trens de 20 s de pulsos catódicos, quadrados, de frequência variável (0–130 Hz), em passos de 10 Hz, porém duração (1 ms) e intensidade (30  $\mu$ A) constantes.



*Estimulação química.* No terceiro dia, os ratos eram submetidos a uma sessão de estimulação química por microinfusão de NMDA (10 mM) à velocidade de 50 nL/min (0,5 nmol/min), até o volume máximo de 230 nL (2,3 nmol), ou até a apresentação de respostas defensivas intensas (galopes e/ou saltos). A microinfusão do NMDA foi realizada através de uma agulha endodôntica (diâmetro externo de 0,25 mm) com o mesmo comprimento do eletrodo, permitindo a estimulação química de região contígua à estimulada eletricamente. Uma microseringa de precisão de 1µL (Hamilton, EUA), acoplada a uma bomba de infusão de velocidade constante (Insight, Ribeirão Preto, Brasil) era conectada à agulha endodôntica por meio de uma cânula de polietileno (PE 10, Clay Adams, EUA). O sistema permitia a livre movimentação dos ratos durante a microinfusão. O tempo de microinfusão era monitorado com o auxílio de um cronômetro, registrando-se a latência das respostas comportamentais. As latências eram posteriormente convertidas nos volumes infundidos e doses correspondentes.

*Registros comportamentais.* Os comportamentos dos animais eram avaliados por observação direta do experimentador, colocado a 50 cm da arena. As respostas limiares, *i.e.*, aquelas emitidas com a menor intensidade de corrente, eram registradas de modo binário, como 'emitidas' ou 'não', independente de sua frequência ou duração em um único período de estimulação. Os comportamentos defensivos foram registrados de acordo com o etograma de Bittencourt *et al.* (2004). Este etograma foi ampliado com os comportamentos alimentares (beber ou comer), reprodutivos (montar, cheirar a genitália da fêmea, intromissão) e agressivos (investigar, morder, perseguir, capturar, boxear, ameaça lateral, salto

de ataque) que pudessem ser registrados durante a estimulação na presença de água, comida, uma fêmea e um camundongo.

*Droga.* O NMDA (Sigma, St. Louis, EUA) foi preparado segundo Bittencourt *et al.* (2004), dissolvendo-se o aminoácido em solução tampão com a seguinte composição (mM): NaCl (145), KCl (4,7), CaCl<sub>2</sub> (1,8), glicose (5), HEPES (15), EDTA (0,03). O pH da solução foi neutralizado com pequenos volumes de NaOH (5 N), evitando-se variações significativas do volume e concentração final da solução de NMDA.

*Análise histológica.* Ao término da estimulação química, a agulha de microinjeção era mantida no local e os ratos eram anestesiados e perfundidos intracardialmente, por meio de uma bomba peristáltica (Masterflex CE, 77120-70, Barrington, IL, EUA), com 100 ml de solução salina (NaCl 0,9%) seguidos por 100 ml de solução formaldeído (10%). As cabeças com a agulha de microinjeção eram mantidas em formaldeído por no mínimo, cinco dias, para a moldagem do trato do eletrodo e agulha. Após isto, os cérebros eram removidos, colocados em solução formaldeído por mais cinco dias e, em seguida, preparados em blocos da região mesencefálica e seccionados (80 µm) em um vibrátomo (Vibratome, EUA). Os cortes eram colocados em lâminas previamente gelatinizadas, submetidos à secagem em baixa temperatura (38 °C) por 24 h, desidratados, corados com vermelho neutro (Sigma, EUA) e montados com DPX (Aldrich Chemical Company, Milwaukee, EUA). Os sítios estimulados eram identificados com o auxílio de um microscópio (Nikon Eclipse 1300, Japão) e registrados em diagramas coronais do atlas do cérebro do rato (Paxinos e Watson, 1998).

*Análise estatística.* As curvas de probabilidade das respostas limiares foram obtidas pelo ajuste logístico das frequências acumuladas. Regressões significantes foram avaliadas pelo  $\chi^2$  de Wald. As curvas de limiares dos subnúcleos do HDM, nos ambientes pobre e rico, foram comparadas por testes de razão de verossimilhanças. A descrição abrangente dos métodos de regressão logística pode ser encontrada em outros estudos (Collett, 2003; Bittencourt *et al.*, 2005). As diferenças foram consideradas significantes para o nível descritivo de 5%. As variações nos limiares foram descritas pelas medianas das intensidades, frequências e doses de NMDA ( $I_{50\pm EP}$ ,  $F_{50\pm EP}$ ,  $DE_{50\pm EP}$ ).

## RESULTADOS

### *Sítios estimulados*

Freqüentemente, o eletrodo e a agulha dos quimitrodos localizaram-se em estruturas diferentes, porém contíguas. Portanto, os sítios estimulados elétrica e quimicamente foram agrupados separadamente. A maioria dos eletrodos (59%) e, principalmente, agulhas (84%), localizou-se no HDMd (Tab.1, Fig.1).

Tabela 1. Grupos de ratos de acordo com o tipo de estímulo e o sítio estimulado no HDM.

Estrutura	Pulso senoidal	Pulso quadrado	NMDA
HDMc	16	16	3
HDMd	23	23	16
Total	39	39	19

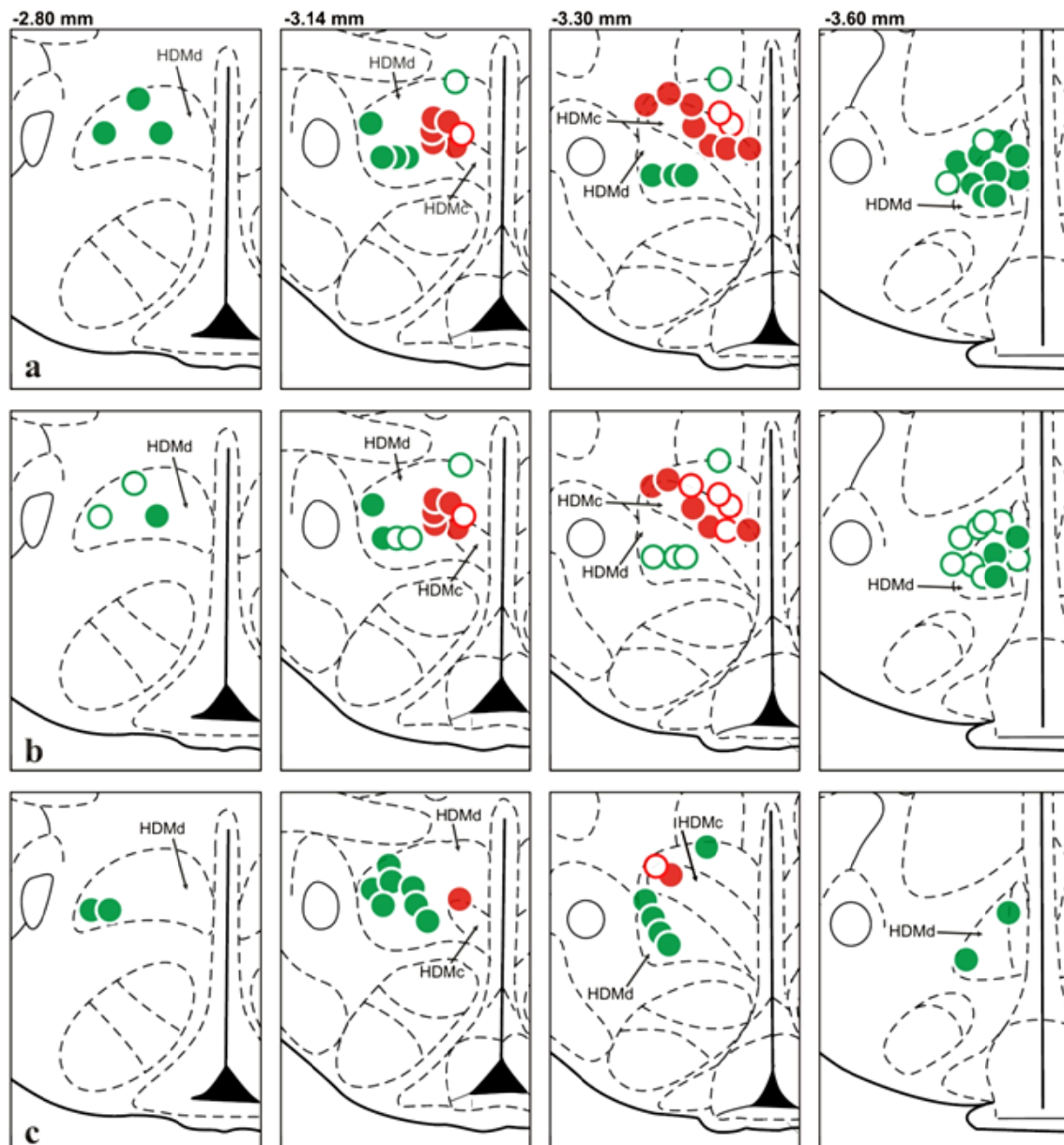


Figura 1. Sítios de estimulação elétrica por variação de intensidade (a), variação de frequência (b) ou microinfusão de NMDA (c). Símbolos vermelhos representam eletrodos ou agulhas localizados no HDMc; símbolos verdes representam eletrodos ou agulhas localizados no HDMd; círculos cheios indicam a presença de respostas de defesa; círculos vazios indicam a ausência de respostas de defesa. Os diagramas foram extraídos do Atlas do cérebro do rato de Paxinos e Watson (1998). Os números acima dos diagramas indicam as coordenadas ântero-posteriores em relação ao bregma.

### *Comparação das respostas evocadas por HDMc e HDMd*

*Estimulação senoidal no ambiente pobre.* A estimulação com pulso senoidal das partes compacta e difusa do HDM evocou todas as respostas de defesa do rato. Contudo, os limiares de resposta do HDMd foram acentuadamente maiores para a exoftalmia ( $\Delta I_{50} = 140\%$ ;  $\chi^2 = 52,5$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ), micção ( $\Delta I_{50} = 56\%$ ;  $\chi^2 = 19,6$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ), trote ( $\Delta I_{50} = 63\%$ ;  $\chi^2 = 41,1$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ) e salto ( $\Delta I_{50} = 154\%$ ;  $\chi^2 = 72,0$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ). Limiares ligeiramente maiores, porém significantes, também foram observados para as respostas de galope ( $\Delta I_{50} = 9\%$ ;  $\chi^2 = 8,5$ ; g.l. 1;  $P < 0,01$ ) e defecação ( $\Delta I_{50} = 13\%$ ;  $\chi^2 = 10,51$ ; g.l. 1;  $P < 0,005$ ) do HDMd. Em contraste, embora os limiares de imobilidade do HDMd também tenham sido maiores que aqueles do HDMc ( $\Delta I_{50} = 11\%$ ), os valores não diferiram estatisticamente (Fig.2).

*Estimulação por freqüência no ambiente pobre.* A estimulação por freqüência foi eficaz entre 10 a 100 Hz, aproximadamente, ocorrendo o bloqueio das respostas nas freqüências superiores. Diferentemente da estimulação senoidal, na qual foram obtidos ajustes significantes para todas as respostas em ambas as divisões do HDM, a estimulação com pulsos quadrados somente forneceu ajustes significantes para as respostas de exoftalmia, imobilidade, defecação e micção do HDMc e para a exoftalmia do HDMd, impedindo a obtenção de estimativas consistentes da  $F_{50}$  para as demais respostas. Não obstante, os limiares do HDMd foram acentuadamente maiores para a resposta de exoftalmia ( $\Delta F_{50} = 375\%$ ;  $\chi^2 = 42,0$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ). Adicionalmente, a despeito da ausência de

ajuste significativo, os limiares do HDMd também foram maiores para as respostas de imobilidade ( $\chi^2 = 17,6$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ), micção ( $\chi^2 = 24,2$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ), defecação ( $\chi^2 = 14,2$ ; g.l. 1;  $P < 0,001$ ) e trote ( $\chi^2 = 8,2$ ; g.l. 1;  $P < 0,05$ ). Por fim, as respostas de galope e salto somente ocorreram no HDMc (Fig.3).

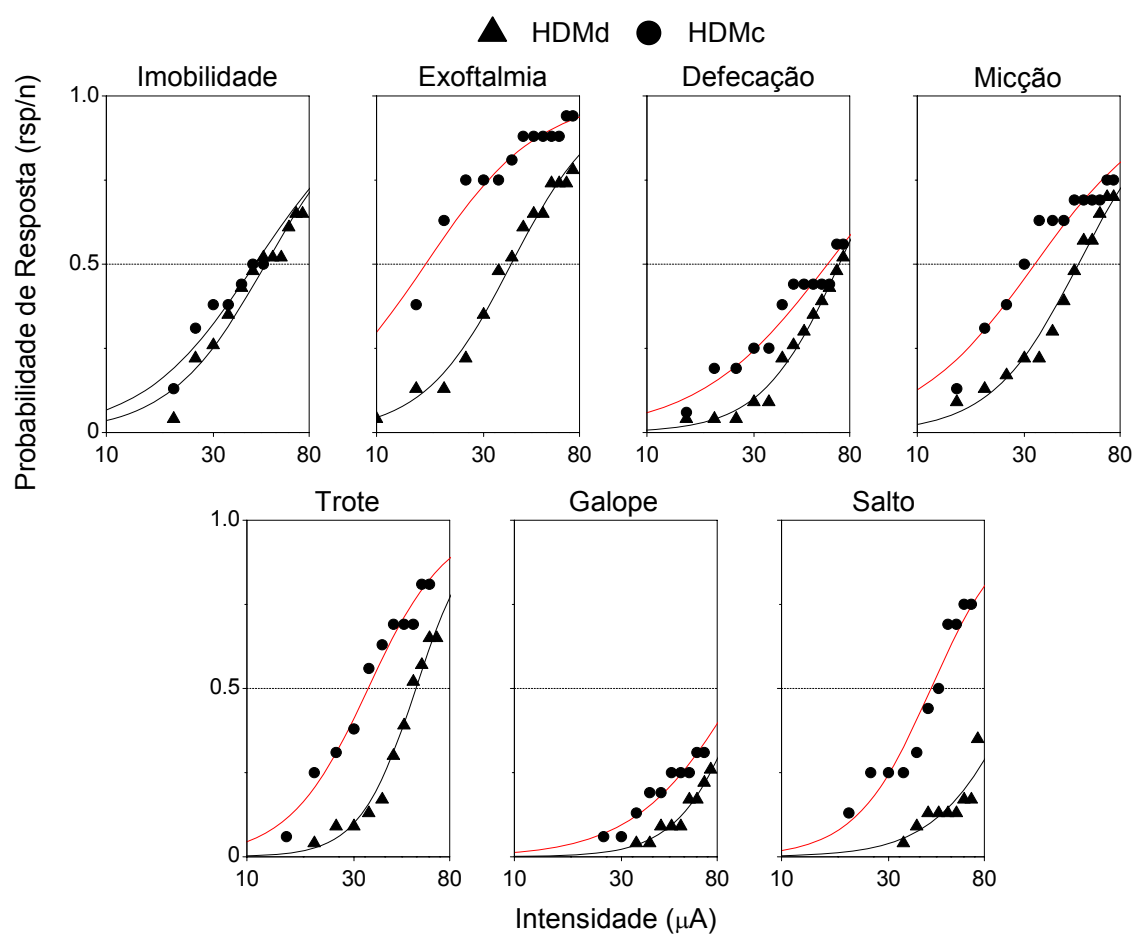


Figura 2. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da intensidade de pulsos elétricos (30 s, 60 Hz, 0–75  $\mu$ A) aplicados ao HDMc ( $n = 16$ ) e HDMd ( $n = 23$ ) no ambiente pobre. As curvas sigmóides foram ajustadas segundo o modelo logístico. rsp, número de animais que apresentaram a resposta; n, número total de ratos estimulados. As linhas em vermelho indicam diferenças significantes em relação ao HDMd ( $P < 0,05$ , testes do  $\chi^2$  da razão de verossimilhanças).

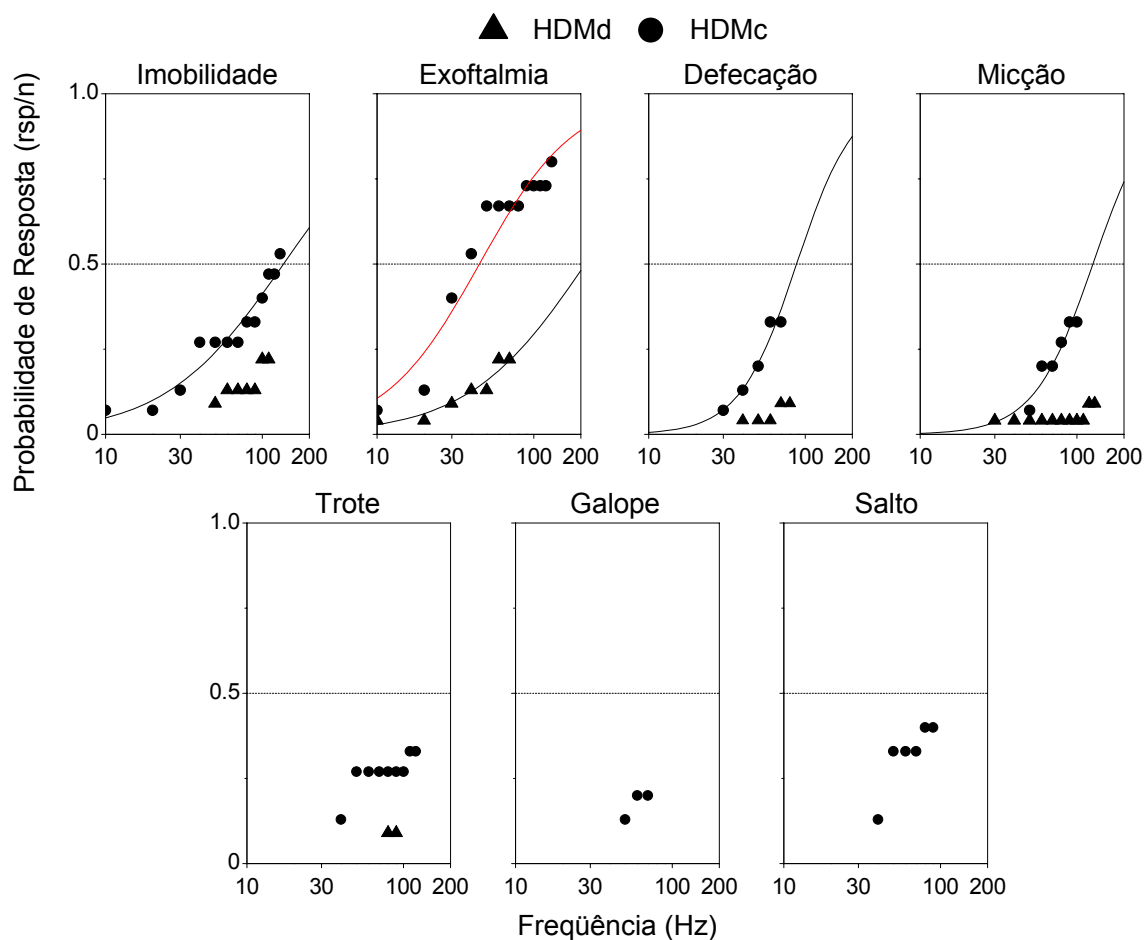


Figura 3. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da frequência de pulsos elétricos (20 s, 30  $\mu$ A, 0–130 Hz) aplicados ao HDMc ( $n = 16$ ) e HDMd ( $n = 23$ ) no ambiente pobre. As curvas sigmóides foram ajustadas segundo o modelo logístico. Os gráficos sem linha representam as respostas cujo ajuste da função logística não alcançou a significância estatística. rsp, número de animais que apresentaram a resposta; n, número total de ratos estimulados. A linha em vermelho indica diferença significativa em relação ao HDMd ( $P < 0,05$ , testes do  $\chi^2$  da razão de verossimilhanças).

*Comparação dos limiares nos ambientes pobre e rico.* A estimulação elétrica na presença de água, comida, fêmea e camundongo somente eliciou as respostas de defesa, não tendo sido observados comportamentos consumatórios, reprodutivos ou agressivos, tanto em relação à fêmea quanto ao camundongo. Os limiares nos ambientes pobre e rico foram similares para a maioria das respostas de defesa, independente do tipo de estimulação (senoidal ou frequência). De fato, os limiares

da estimulação senoidal do HDMc só diferiram para a micção, sendo maiores no ambiente rico ( $\Delta I_{50} = 86\%$ ;  $\chi^2 = 17,2$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ) (Fig.4). Os limiares da estimulação por frequência deste núcleo também foram maiores para defecação ( $\Delta F_{50} = 98\%$ ;  $\chi^2 = 5,4$ ; g.l. 1;  $P < 0,05$ ) e, principalmente, micção ( $\Delta F_{50} = 213\%$ ;  $\chi^2 = 9,6$ ; g.l. 1;  $P < 0,005$ ), no ambiente rico. Contudo, os limiares de imobilidade ( $\Delta F_{50} = -15\%$ ;  $\chi^2 = 3,9$ ; g.l. 1;  $P < 0,05$ ) foram reduzidos na presença da fêmea e do camundongo (Fig.5).

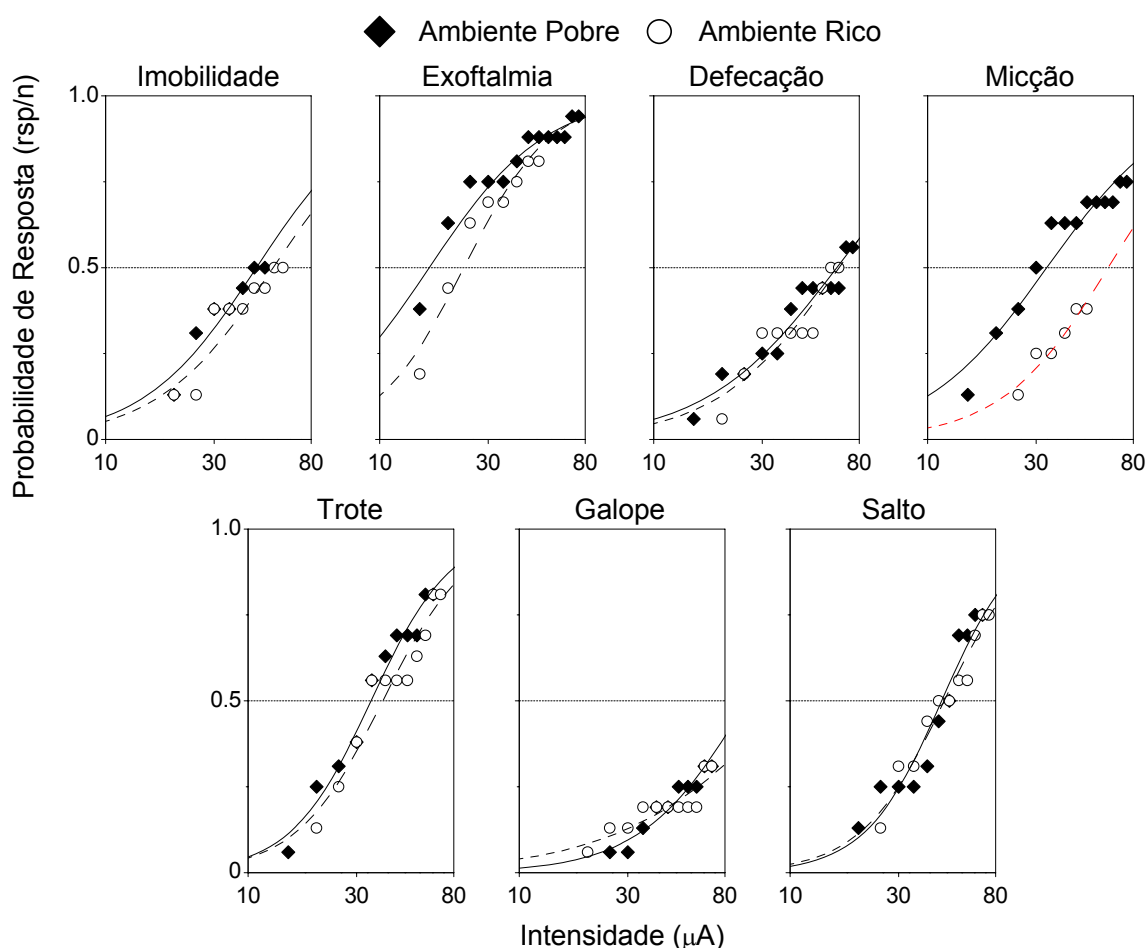


Figura 4. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da intensidade de pulsos elétricos (30 s, 60 Hz, 0–75  $\mu$ A) aplicados ao HDMc ( $n = 16$ ) nos ambientes pobre (linhas cheias) ou rico (linhas tracejadas). As curvas sigmóides foram ajustadas segundo o modelo logístico. rsp, número de animais que apresentaram a resposta; n, número total de ratos estimulados. A linha em vermelho indica diferença significativa em relação ao ambiente pobre ( $P < 0,05$ , testes do  $\chi^2$  da razão de verossimilhanças).



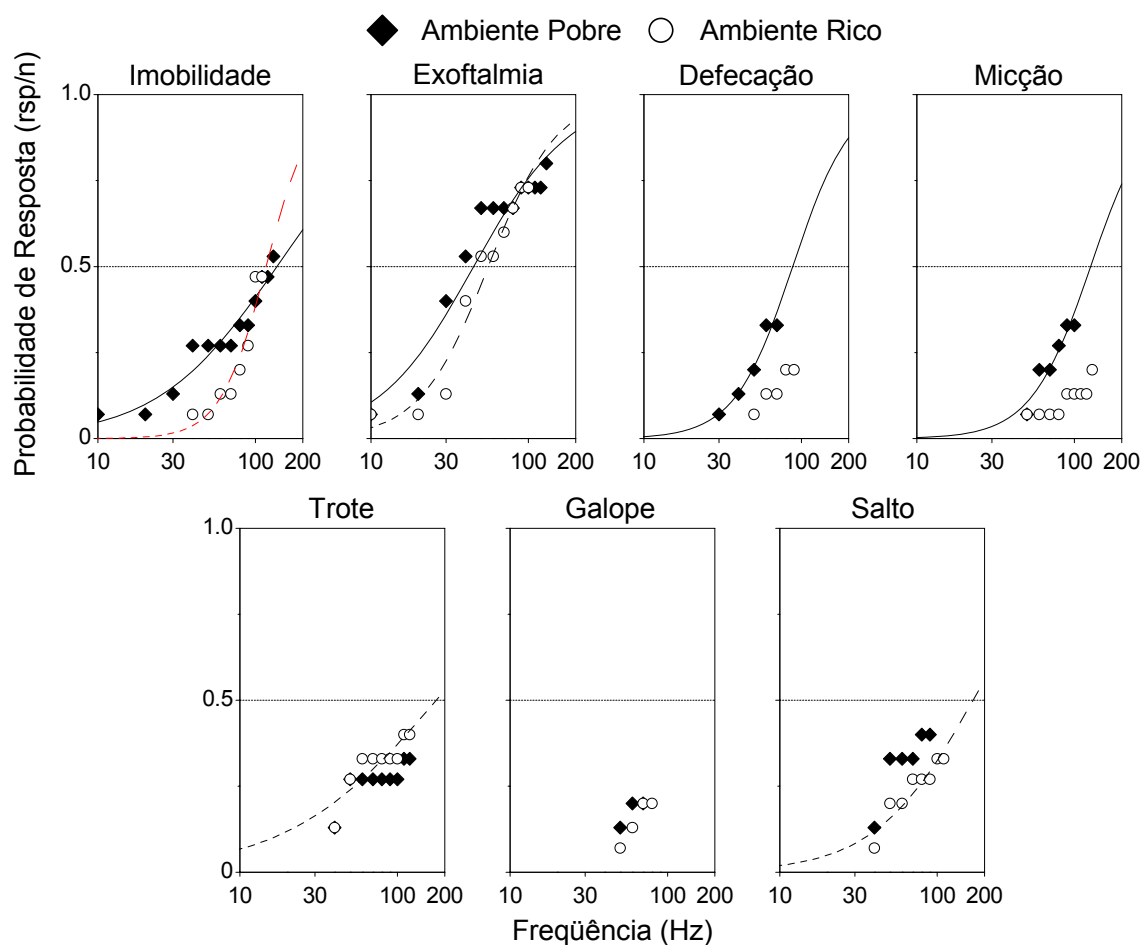


Figura 5. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da frequência de pulsos elétricos (20 s, 30  $\mu$ A, 0–130 Hz) aplicados ao HDMc ( $n = 16$ ) nos ambientes pobre (linhas cheias) ou rico (linhas tracejadas). As curvas sigmóides foram ajustadas segundo o modelo logístico. Os gráficos sem linha representam as respostas cujo ajuste da função logística não alcançou a significância estatística. rsp, número de animais que apresentaram a resposta; n, número total de ratos estimulados. A linha em vermelho indica diferença significativa em relação ao ambiente pobre ( $P < 0,05$ , testes do  $\chi^2$  da razão de verossimilhanças).

Com relação ao HDMd, somente foram observadas diferenças significantes para os limiares da estimulação senoidal, que foram maiores no ambiente rico para as respostas de trote ( $\Delta I_{50} = 18\%$ ;  $\chi^2 = 4,4$ ; g.l. 1;  $P < 0,05$ ) e, de forma mais acentuada, micção ( $\Delta I_{50} = 70\%$ ;  $\chi^2 = 42,4$ ; g.l. 1;  $P < 0,0001$ ) (Fig.6).

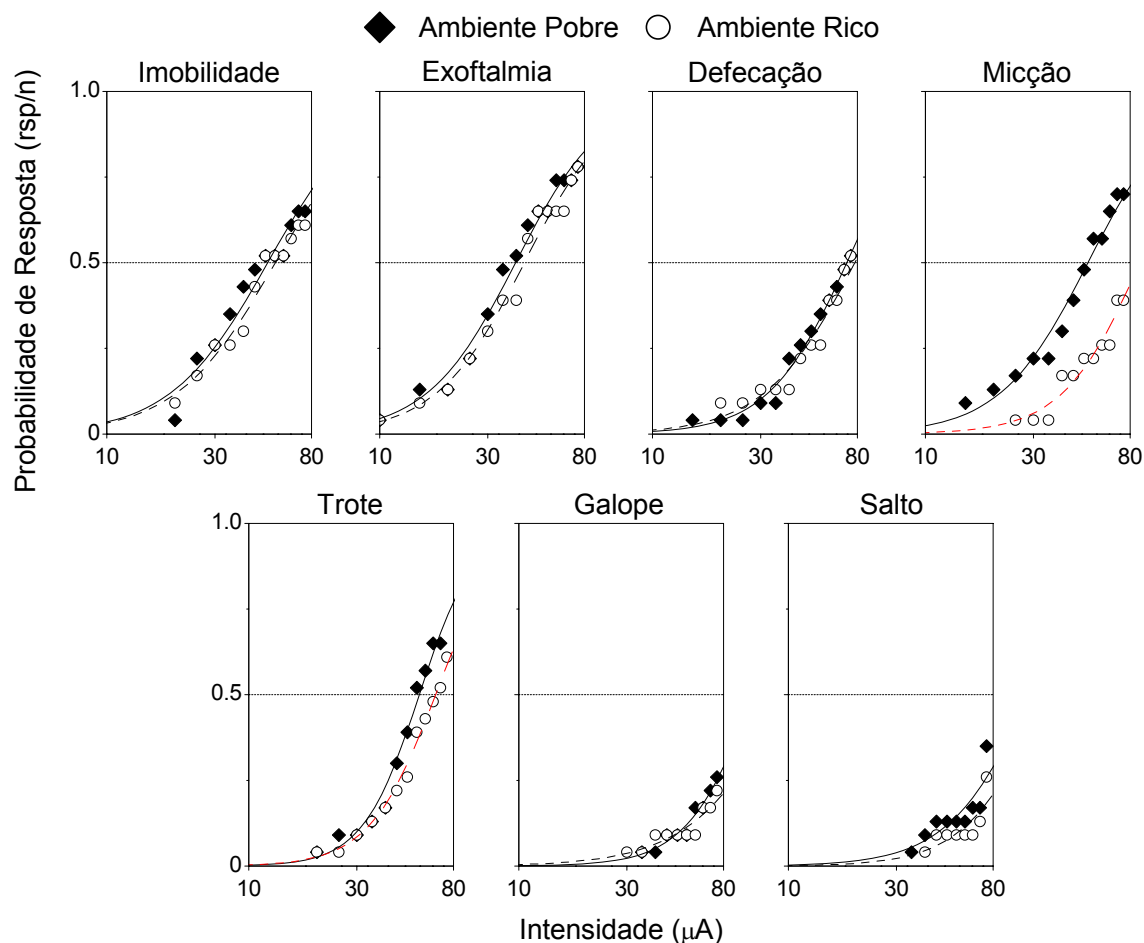


Figura 6. Curvas de probabilidade dos comportamentos defensivos produzidos pela estimulação por variação da intensidade de pulsos elétricos (30 s, 60 Hz, 0–75  $\mu\text{A}$ ) aplicados ao HDMd ( $n = 23$ ) nos ambientes pobre (linhas cheias) ou rico (linhas tracejadas). As curvas sigmóides foram ajustadas segundo o modelo logístico. rsp, número de animais que apresentaram a resposta; n, número total de ratos estimulados. As linhas em vermelho indicam diferenças significantes em relação ao ambiente pobre ( $P < 0,05$ , testes do  $\chi^2$  da razão de verossimilhanças).

*Estimulação com microinfusão de NMDA.* As curvas dose-dependentes dos comportamentos de defesa somente foram obtidas para a estimulação do HDMd para imobilidade, exoftalmia, defecação e trote. Respostas isoladas também foram obtidas nas doses elevadas ( $>1,4$  nmol) para micção ( $n = 1$ ), galope ( $n = 1$ ) e salto ( $n = 1$ ). A estimulação do HDMd também produziu os comportamentos de comer, beber e cheirar a genitália da fêmea, cujo ajuste logístico foi estatisticamente significativo (Fig.7). Dentre estes, comer e, principalmente,

exoftalmia, apresentaram os menores limiares. Embora beber tenha apresentado os maiores limiares, sua magnitude foi similar àquela dos comportamentos de imobilidade, defecação, trote e cheirar genitália (Fig.8). Por outro lado, em virtude do número limitado de ratos com cânulas no HDMc ( $n = 3$ ), não foi possível realizar a análise logística para este subnúcleo. Nestes ratos somente foram observadas as respostas de exoftalmia ( $n = 2$ ), trote ( $n = 1$ ), comer ( $n = 1$ ) e beber ( $n = 2$ ).

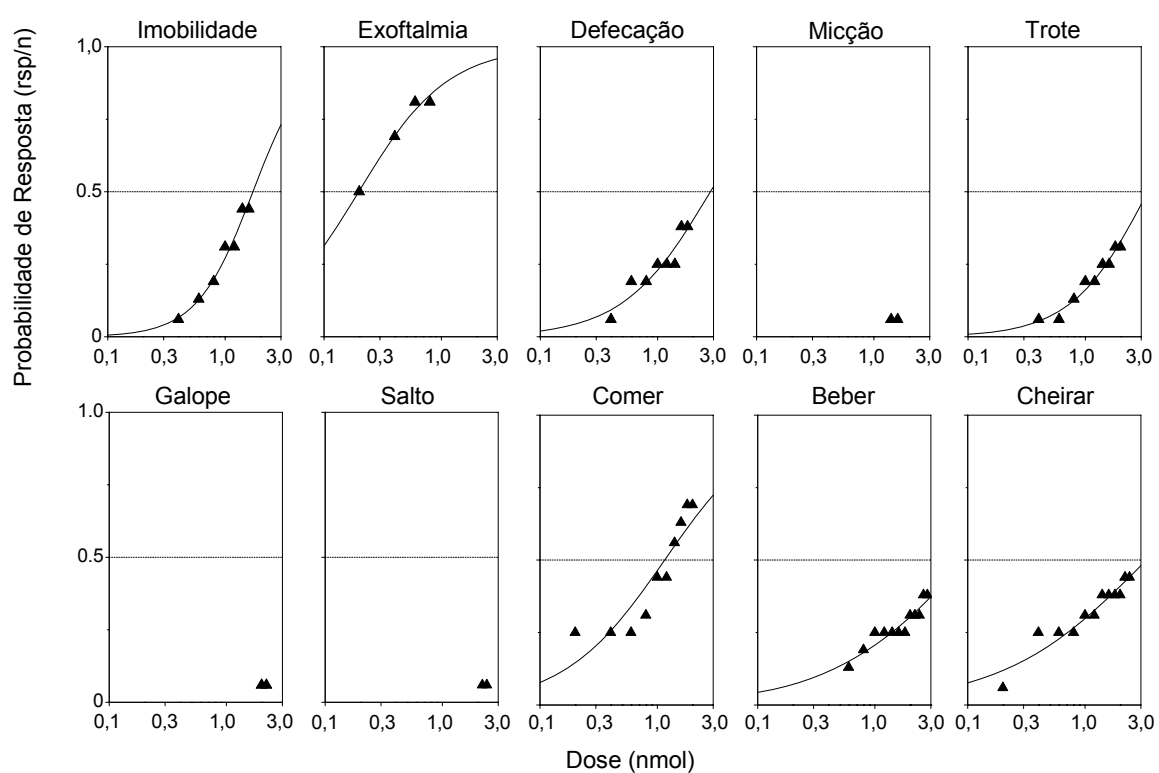


Figura 7. Comportamentos defensivos e não-defensivos produzidos por microinfusão de NMDA (10 mM, 0,5 nmol/min) no HDMd. As curvas sigmóides foram ajustadas segundo o modelo logístico. rsp, número de animais que apresentaram a resposta; n, número total de ratos estimulados.

Os quimitrodos adjacentes ao HDM localizaram-se, principalmente, na divisão ventrolateral do hipotálamo ventromedial (HVMvl,  $n = 15$ ) e alguns poucos em sua divisão dorsomedial (HVMdm,  $n = 3$ ). Destes, a estimulação do

HVMdm, tanto por variação de intensidade quanto de frequência, eliciu as respostas defensivas de exoftalmia, micção, defecação, trote e saltos com estímulos de magnitude menor ( $30 \mu\text{A}$ ) que a registrada para o HDMc e HDMd. Contudo, não foram observadas as respostas de imobilidade e galope. A estimulação do HVMvl não eliciu comportamento algum de defesa, agressivo, ingestivo ou reprodutivo.

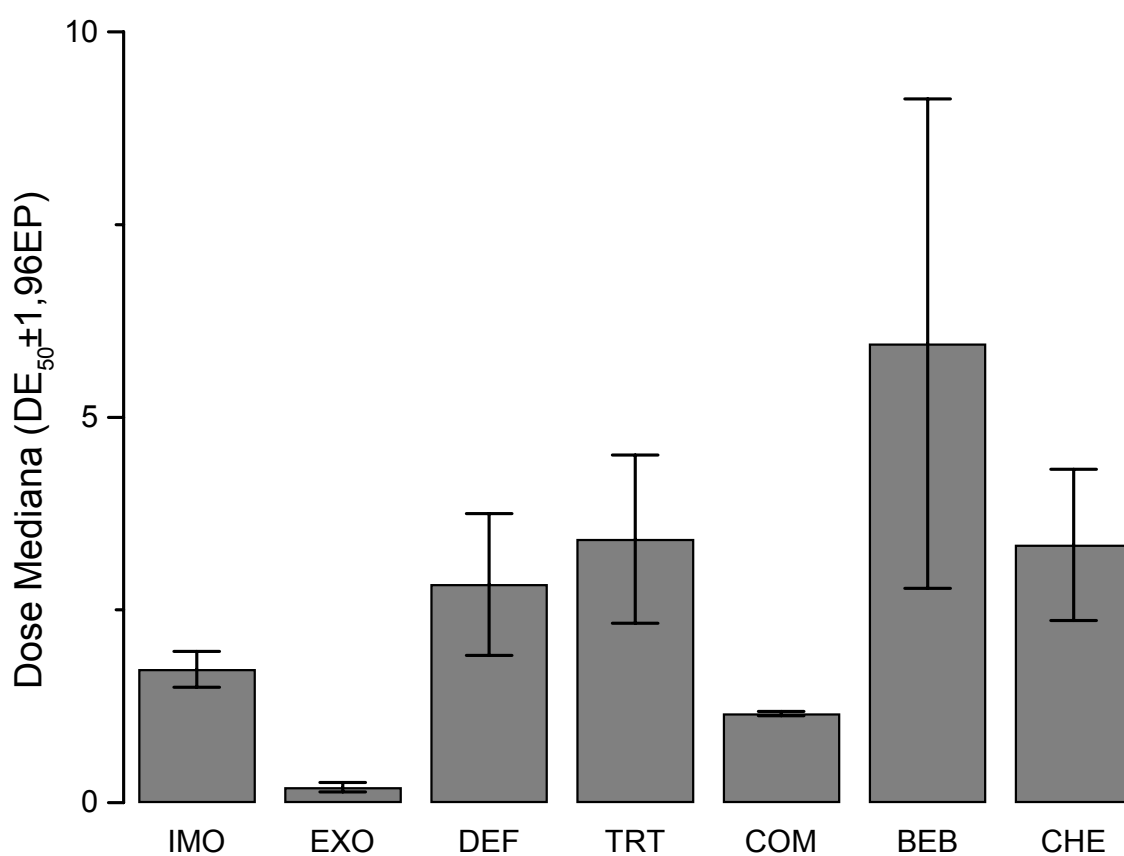


Figura 8. Doses limiares medianas ( $DE_{50} \pm IC95\%$ ) de NMDA cuja microinjeção no HDMd eliciu comportamentos defensivos e não-defensivos. IMO, imobilidade; EXO, exoftalmia; DEF, defecação; TRT, trote; COM, comer; BEB, beber; CHE, cheirar a genitália da fêmea.

## DISCUSSÃO

A estimulação elétrica senoidal tanto do HDMc quanto do HDMd eliciou todas as respostas de defesa do rato. Entretanto, exceto pela imobilidade, cujos limiares foram similares para ambas as divisões, os limiares do HDMd foram maiores para todas as respostas. Em contraste, a estimulação por frequência do HDMc somente eliciou as respostas de exoftalmia, imobilidade, defecação e micção e do HDMd, apenas a exoftalmia. Mesmo assim, os limiares da última resposta foram maiores que aqueles do HDMc. Na estimulação por frequência, as respostas defensivas somente foram observadas até o estímulo de 100 Hz. Acima deste valor, os ratos permaneciam em repouso, sugerindo o bloqueio funcional dos neurônios pelas frequências mais elevadas (despolarização persistente). A estimulação química do HDMd somente eliciou respostas dose-dependentes de imobilidade, exoftalmia, defecação e trote. Exceto pela exoftalmia, os comportamentos observados foram eliciados por doses de NMDA muito maiores que as observadas na MCPA (Bittencourt *et al.*, 2004). Como o número de ratos estimulados quimicamente no HDMc foi muito pequeno, não foi possível comparar a microinfusão de NMDA das subdivisões compacta e difusa do HDM. Contudo, embora a estimulação elétrica não tenha eliciado comportamentos alimentares, reprodutivos ou agressivos, em ambas as divisões do HDM, a estimulação química do HDMd com NMDA eliciou respostas dose-dependentes de comer, beber e cheirar a genitália da fêmea, comportamentos usualmente incompatíveis com as respostas de defesa. Por outro lado, a estimulação elétrica do HVMdm, tanto por variação de intensidade quanto de frequência, eliciou praticamente todas as respostas defensivas do rato, quais sejam, exoftalmia, micção,

defecação, trote e saltos, em estímulos menores que aqueles registrados para o HDMc e HDMd. Não obstante, não foram observadas as respostas de imobilidade e galope. Em contraste, a despeito do número razoável de ratos ( $n = 15$ ), a estimulação do HVMvl não eliciou nenhum comportamento defensivo, agressivo, ingestivo ou reprodutivo.

Comparada à estimulação com pulsos senoidais, a estimulação por frequência eliciou um número menor de respostas defensivas em ambas as divisões do HDM, corroborando a maior resolução espacial deste tipo de estimulação (Bittencourt *et al.*, 2004). Como a estimulação elétrica induziu um repertório mais completo de defesa e com menores limiares no HDMc e HVMdm, as respostas produzidas pela estimulação senoidal do HDMd devem ter sido devido à difusão de corrente para os primeiros. Estas observações foram particularmente claras para a estimulação por variação da frequência. De fato, estudos de marcação anterógrada com leucoaglutinina de *Phaseolus vulgaris* (PHA-L) revelaram que o HVMdm envia projeções abundantes para a MCPA, principalmente, para a coluna dorsolateral (Veening *et al.*, 1991), uma estrutura crucial na eliciação das respostas defensivas do rato (Bittencourt *et al.*, 2004). Em adição, Veening *et al.* (1991) mostraram uma projeção bastante densa, provavelmente, da parte compacta do HDM, para a região central da MCPA (MCPAce). Esta região é a principal origem das projeções da MCPA ao núcleo de Barrington (NBar), uma estrutura central do controle do cólon e da bexiga (Blok e Holstege, 1994, 1998; Valentino *et al.*, 2000). Assim, a obtenção de micção e defecação pela estimulação elétrica do HDMc, bem como da defecação pela estimulação com NMDA, sugere a participação de um circuito HDMc-MCPA-NBar nestas respostas. Adicionalmente, Greenwood e DiMicco (1995) mostraram que a

microinjeção de bicuculina, um antagonista de receptores do ácido gama-aminobutírico (tipo GABA-A), no HDM de ratos anestesiados promove aumentos dose-dependentes na motilidade do jejuno e cólon. Contrariamente às projeções do HDM para a MCPAce, as regiões 'periféricas' da MCPA, abrangendo as colunas dorsomedial, dorsolateral e lateral, apresentaram pouca ou nenhuma marcação com PHA-L (Veening *et al.*, 1991). Estes autores também observaram projeções leves do HDM para a MCPAvl. Por outro lado, embora a estimulação do HVMvl não tenha eliciado nenhuma resposta de defesa, o HVMvl e o HDM enviam projeções similares à MCPA (Veening *et al.*, 1991). Portanto, as respostas distintas do HDM e HVMvl devem ser atribuídas a diferenças funcionais e neuroquímicas específicas destas projeções. Alternativamente, eventuais projeções do HDMc para o HVM (Thompson *et al.*, 1996) poderiam influenciar os comportamentos de defesa organizados ao nível da MCPA. De fato, estudos com imuno-histoquímica da proteína c-Fos mostraram o envolvimento do HVMdm nos comportamentos defensivos eliciados pela presença ou odor do predador (Canteras *et al.*, 1997; Risold *et al.*, 1997; Dielenberg *et al.*, 2001; Ferreira-Netto *et al.*, 2005).

Baseado em estudos recentes (De Novellis *et al.*, 1995; Horiuchi *et al.*, 2004), Fontes *et al.* (2006) sugeriram que o HDMc é a estrutura mais responsiva do HDM à microinjeção de aminoácidos excitatórios ou aos antagonistas do receptor GABA-A. Contudo, nenhum dos estudos mencionados cita qualquer diferença entre o HDMc e HDMd e não fornece dados que permitam tal conclusão. Portanto, o presente estudo apresenta as primeiras evidências da diferenciação funcional das subdivisões compacta e difusa do HDM.

Por outro lado, o aumento dos limiares da micção e defecação durante as estimulações do HDMc no ambiente rico parece ter sido devido à presença da fêmea e do camundongo. Os estímulos externos também podem ter sido responsáveis pela ativação comportamental, reduzindo os limiares do HDMc para imobilidade e promovendo as respostas de trote e salto ausentes no ambiente pobre.

Embora a estimulação química seja neuroseletiva, poupando as fibras de passagem, a microinjeção de NMDA no HDMd eliciou respostas que não foram observadas com os estímulos elétricos senoidal e quadrado. Em particular, o NMDA eliciou respostas dose-dependentes de comer, beber e cheirar genitália. Apesar das doses elevadas, estes resultados sugerem um papel específico dos receptores NMDA nestes comportamentos. De fato, existem evidências do envolvimento dos receptores glutamatérgicos do HDM de forma mais acentuada na atividade exploratória que na ansiedade (Jardim e Guimarães, 2001, 2004). Adicionalmente, enquanto a injeção intracerebroventricular de galanina aumenta os níveis de c-Fos no HDM (Blackshear *et al.*, 2007), a transecção de fibras ventrais ou posteriores ao HDM ou lesões eletrolíticas neste núcleo provocam hipofagia, hipodipsia e retardo no aumento de peso e tamanho do corpo (Bellinger e Bernardis, 2002). Embora a estimulação do HDM não tenha eliciado comportamentos reprodutivos, este núcleo parece estar envolvido com funções neuroendócrinas relacionadas à reprodução. Assim, enquanto a estimulação elétrica do HDM inibiu a liberação pulsátil do hormônio luteinizante (Gallo, 1981), lesões químicas desta região aumentaram a magnitude da onda vespertina de prolactina induzida por estimulação da área preóptica mediana (Pan e Gala, 1985). A rigor, Bailey *et al.* (2003) não encontraram evidência alguma de



correntes sinápticas mediadas por receptores glutamatérgicos NMDA em neurônios do HDM. A baixa densidade dos receptores NMDA do HDM (Bailey *et al.*, 2003) poderia explicar tanto as doses elevadas do aminoácido quanto o provável mascaramento das respostas de beber, comer e cheirar genitália pelo repertório dominante da estimulação elétrica. É aconselhável, portanto, a replicação destes estudos com agonistas de receptores glutamatérgicos não-NMDA. Por outro lado, também não podemos descartar a difusão do NMDA para outras áreas do hipotálamo envolvidas nestes comportamentos, como parece ser o caso do HVM (Bernardis *et al.*, 1974; Luiten e Room, 1980; Tetel *et al.*, 1993; Palkovits, 2003). Em particular, neurônios com ações anoréxicas ou que estimulam a ingestão alimentar estão localizados no HDM, bem como no HVM, PVN, núcleo hipotalâmico arqueado e área hipotalâmica dorsolateral (Palkovits, 2003). Além disto, a injeção intravenosa de leptina, uma substância envolvida na alimentação, termogênese e estado neuroendócrino (Zhang *et al.*, 1994), induz aumento significativo nos níveis de c-Fos no HDM, HVM e núcleo paraventricular do hipotálamo (Elmqvist *et al.*, 1998). Ainda, a estimulação cérvico-vaginal (pseudo-gravidez) de ratas induz a imunorreatividade para c-Fos no HDM e HVM, bem como MCPA, área preóptica medial, amígdala medial e núcleo do leito da estria terminal (Tetel *et al.*, 1993).

A despeito dos diversos estudos que sugerem a participação do HDM no transtorno de pânico, a estimulação por frequência do HDMc não eliciu as respostas de fuga (trote, galope e saltos) que são típicas da defesa proximal quando o escape é viável (Blanchard *et al.*, 1990). É interessante notar que estas respostas também não foram observadas após a administração endovenosa de

lactato de sódio em ratos pânico-propensos (Shekhar *et al.*, 1996, 2006; Shekhar e Keim, 1997, 2000; Johnson e Shekhar, 2006).

A ausência de trote, galope e salto no repertório do HDM contraria a noção de que este núcleo é uma área clássica da reação de defesa (DiMicco *et al.*, 2002). Mais que isso, mostramos que o HDM não é uma estrutura homogênea, uma vez que somente sua parte compacta, mas não a difusa, está envolvida nos comportamentos de exoftalmia, micção, defecação e, provavelmente, imobilidade.

## REFERÊNCIAS

- Bailey TW, DiMicco JA. 2001. Chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamus elevates plasma ACTH in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280: R8-15.
- Bailey TW, Nicol GD, Schild JH, DiMicco JA. 2003. Synaptic and membrane properties of neurons in the dorsomedial hypothalamus. *Brain Res* 985: 150-162.
- Bellinger LL, Bernardis LL. 2002. The dorsomedial hypothalamic nucleus and its role in ingestive behavior and body weight regulation: lessons learned from lesioning studies. *Physiol Behav* 76: 431-442.
- Bernardis LL, Chlouverakis C, Schnatz JD, Frohman LA. 1974. Effect of dorsomedial hypothalamic lesions before and after placement of obesity-producing ventromedial hypothalamic lesions in the weanling male rat. *Brain Res* 69: 67-75.
- Bi S. 2007. Role of dorsomedial hypothalamic neuropeptide Y in energy homeostasis. *Peptides* 28: 352-356.
- Bittencourt AS, Carobrez AP, Zamprogno LP, Tufik S, Schenberg LC. 2004. Organization of single components of defensive behaviors within distinct

- columns of periaqueductal gray matter of the rat: role of N-methyl-D-aspartic acid glutamate receptors. *Neuroscience* 125: 71-89.
- Bittencourt AS, Nakamura-Palacios EM, Mauad H, Tufik S, Schenberg LC. 2005. Organization of electrically and chemically evoked defensive behaviors within the deeper collicular layers as compared to the periaqueductal gray matter of the rat. *Neuroscience* 133: 873-892.
- Blackshear A, Yamamoto M, Anderson BJ, Holmes PV, Lundstrom L, Langel U, Robinson JK. 2007. Intracerebroventricular administration of galanin or galanin receptor subtype 1 agonist M617 induces c-Fos activation in central amygdala and dorsomedial hypothalamus. *Peptides* 28: 1120-1124.
- Blanchard DC, Blanchard RJ, Rodgers RJ. 1990. Pharmacological and neural control of anti-predator defense in the rat. *Aggr Behav* 16: 165–175.
- Blok BFM, Holstege G. 1994. Direct projections from the periaqueductal grey to the pontine micturition center (M-region): an anterograde and retrograde tracing study in the cat. *Neurosci Lett* 166: 93–96.
- Blok BFM, Holstege G. 1998. The central nervous system control of micturition in cats and humans. *Behav Brain Res* 92: 119–125.
- Brandão ML, de Aguiar JC, Graeff FG. 1982. GABA mediation of the anti-aversive action of minor tranquilizers. *Pharmacol Biochem Behav* 16: 397-402.
- Canteras NS, Chiavegatto S, Valle LE, Swanson LW. 1997. Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. *Brain Res Bull* 44: 297-305.
- Cerri M, Morrison SF. 2006. Corticotropin releasing factor increases in brown adipose tissue thermogenesis and heart rate through dorsomedial hypothalamus and medullary raphe pallidus. *Neuroscience* 140: 711-721.
- CIOMS. 1985. International guiding principles for medical research involving animals, Geneva,
- Collett D. 2003. Modelling binary data, Chapman e Hall/CRC, Florida, EUA,
- de Menezes RC, Zaretsky DV, Fontes MA, DiMicco JA. 2006. Microinjection of muscimol into caudal periaqueductal gray lowers body temperature and attenuates increases in temperature and activity evoked from the dorsomedial hypothalamus. *Brain Res* 1092: 129-137.

- De Novellis V, Stotz-Potter EH, Morin SM, Rossi F, DiMicco JA. 1995. Hypothalamic sites mediating cardiovascular effects of microinjected bicuculline and EAAs in rats. *Am J Physiol* 269: R131-140.
- Deakin JFW, Graeff FG. 1991. 5-HT and mechanisms of defence. *J Psychopharmacol* 5: 305–315.
- Dielenberg RA, Hunt GE, McGregor IS. 2001. "When a rat smells a cat": the distribution of Fos immunoreactivity in rat brain following exposure to a predatory odor. *Neuroscience* 104: 1085-1097.
- DiMicco J, Monroe AJ. 1996. Stimulation of metabotropic glutamate receptors in the dorsomedial hypothalamus elevates heart rate in rats. *Am J Physiol* 270: R1115-1121.
- DiMicco JA, Samuels BC, Zaretskaia MV, Zaretsky DV. 2002. The dorsomedial hypothalamus and the response to stress: part renaissance, part revolution. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 469-480.
- DiMicco JA, Stotz-Potter EH, Monroe AJ, Morin SM. 1996. Role of the dorsomedial hypothalamus in the cardiovascular response to stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 23: 171-176.
- DiMicco JA, Zaretsky DV. 2007. The dorsomedial hypothalamus: a new player in thermoregulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R47-63.
- Elmqvist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. 1998. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 741-746.
- Ferreira-Netto C, Borelli KG, Brandao ML. 2005. Neural segregation of Fos-protein distribution in the brain following freezing and escape behaviors induced by injections of either glutamate or NMDA into the dorsal periaqueductal gray of rats. *Brain Res* 1031: 151-163.
- Fontes MAP, Menezes RCA, Villela DC, Da Silva Jr LG. 2006. The dorsomedial hypothalamus and the organization of the cardiovascular response to emotional stress: a functional perspective. In: X Simpósio Brasileiro de fisiologia cardiovascular Medicina, Ribeirão Preto, 13-20.
- Gallo RV. 1981. Effect of electrical stimulation of the dorsomedial hypothalamic nucleus on pulsatile LH release in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 32: 134-138.

- Gentil V. 1988. The aversive system, 5-HT and panic attacks. In: Selected models of anxiety, depression and psychosis (P Simon, P Soubrié, D Wildlocher), Karger, A. G., Basel, 142–145.
- Gören MZ, Akici A, Berkman K, Onat F. 2000. Cardiovascular responses to NMDA injected into nuclei of hypothalamus or amygdala in conscious rats. *Pharmacology* 61: 257-262.
- Gören MZ, Yananli HR, Berkman K, Onat F, Aker R. 2003. The influence of dorsomedial hypothalamic nucleus on contralateral paraventricular nucleus in NMDA-mediated cardiovascular responses. *Brain Res* 968: 219-226.
- Graeff FG. 1990. Brain defence systems and anxiety. In: Handbook of anxiety (M Roth, GD Burrows, R Noyes), Elsevier, Amsterdam, 307-354.
- Greenwood B, DiMicco JA. 1995. Activation of the hypothalamic dorsomedial nucleus stimulates intestinal motility in rats. *Am J Physiol* 268: G514-521.
- Gunnet JW, Freeman ME. 1985. The interaction of the medial preoptic area and the dorsomedial-ventromedial nuclei of the hypothalamus in the regulation of the mating-induced release of prolactin. *Neuroendocrinology* 40: 232-237.
- Horiuchi J, McAllen RM, Allen AM, Killinger S, Fontes MA, Dampney RA. 2004. Descending vasomotor pathways from the dorsomedial hypothalamic nucleus: role of medullary raphe and RVLM. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R824-832.
- Inglefield JR, Schwarzkopf SB, Kellogg CK. 1994. Alterations in behavioral responses to stressors following excitotoxin lesions of dorsomedial hypothalamic regions. *Brain Res* 633: 151-161.
- Jardim MC, Guimarães FS. 2001. GABAergic and glutamatergic modulation of exploratory behavior in the dorsomedial hypothalamus. *Pharmacol Biochem Behav* 69: 579-584.
- Jardim MC, Guimarães FS. 2004. Role of glutamate ionotropic receptors in the dorsomedial hypothalamic nucleus on anxiety and locomotor behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 79: 541-546.
- Jenck F, Moreau JL, Martin JR. 1995. Dorsal periaqueductal gray-induced aversion as a simulation of panic anxiety: elements of face and predictive validity. *Psychiatry Res* 57: 181-191.

- Johnson PL, Shekhar A. 2006. Panic-prone state induced in rats with GABA dysfunction in the dorsomedial hypothalamus is mediated by NMDA receptors. *J Neurosci* 26: 7093-7104.
- Keim SR, Shekhar A. 1996. The effects of GABAA receptor blockade in the dorsomedial hypothalamic nucleus on corticotrophin (ACTH) and corticosterone secretion in male rats. *Brain Res* 739: 46-51.
- Luiten PG, Room P. 1980. Interrelations between lateral, dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei in the rat. An HRP study. *Brain Res* 190: 321-332.
- Mobbs D, Petrovic P, Marchant JL, Hassabis D, Weiskopf N, Seymour B, Dolan RJ, Frith CD. 2007. When fear is near: threat imminence elicits prefrontal-periaqueductal gray shifts in humans. *Science* 317: 1079-1083.
- Nakamura Y, Nakamura K, Matsumura K, Kobayashi S, Kaneko T, Morrison SF. 2005. Direct pyrogenic input from prostaglandin EP3 receptor-expressing preoptic neurons to the dorsomedial hypothalamus. *Eur J Neurosci* 22: 3137-3146.
- Nashold BS, Jr., Wilson WP, Slaughter DG. 1969. Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. *J Neurosurg* 30: 14-24.
- Palkovits M. 2003. Hypothalamic regulation of food intake. *Ideggyogy Sz* 56: 288-302.
- Pan JT, Gala RR. 1985. Central nervous system regions involved in the estrogen-induced afternoon prolactin surge. I. Lesion studies. *Endocrinology* 117: 382-387.
- Paxinos G, Watson C. 1998. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Academic Press, San Diego,
- Risold PY, Thompson RH, Swanson LW. 1997. The structural organization of connections between hypothalamus and cerebral cortex. *Brain Res Brain Res Rev* 24: 197-254.
- Schenberg LC, Bittencourt AS, Sudre EC, Vargas LC. 2001. Modeling panic attacks. *Neurosci Biobehav Rev* 25: 647-659.
- Schenberg LC, De Aguiar JC, Graeff FG. 1983. GABA modulation of the defense reaction induced by brain electrical stimulation. *Physiol Behav* 31: 429-437.

- Schenberg LC, de Aguiar JC, Salgado HC, Graeff FG. 1981. Depressant action of chlordiazepoxide on cardiovascular and respiratory changes induced by aversive electrical stimulation of the brain. *Braz J Med Biol Res* 14: 69-72.
- Shekhar A. 1993. GABA receptors in the region of the dorsomedial hypothalamus of rats regulate anxiety in the elevated plus-maze test. I. Behavioral measures. *Brain Res* 627: 9-16.
- Shekhar A. 1994. Effects of treatment with imipramine and clonazepam on an animal model of panic disorder. *Biol Psychiatry* 36: 748-758.
- Shekhar A, DiMicco JA. 1987. Defense reaction elicited by injection of GABA antagonists and synthesis inhibitors into the posterior hypothalamus in rats. *Neuropharmacology* 26: 407-417.
- Shekhar A, Johnson PL, Sajdyk TJ, Fitz SD, Keim SR, Kelley PE, Gehlert DR, DiMicco JA. 2006. Angiotensin-II is a putative neurotransmitter in lactate-induced panic-like responses in rats with disruption of GABAergic inhibition in the dorsomedial hypothalamus. *J Neurosci* 26: 9205-9215.
- Shekhar A, Katner JS. 1995. Dorsomedial hypothalamic GABA regulates anxiety in the social interaction test. *Pharmacol Biochem Behav* 50: 253-258.
- Shekhar A, Katner JS, Sajdyk TJ, Kohl RR. 2002. Role of norepinephrine in the dorsomedial hypothalamic panic response: an in vivo microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 493-500.
- Shekhar A, Keim SR. 1997. The circumventricular organs form a potential neural pathway for lactate sensitivity: implications for panic disorder. *J Neurosci* 17: 9726-9735.
- Shekhar A, Keim SR. 2000. LY354740, a potent group II metabotropic glutamate receptor agonist prevents lactate-induced panic-like response in panic-prone rats. *Neuropharmacology* 39: 1139-1146.
- Shekhar A, Keim SR, Simon JR, McBride WJ. 1996. Dorsomedial hypothalamic GABA dysfunction produces physiological arousal following sodium lactate infusions. *Pharmacol Biochem Behav* 55: 249-256.
- Silva SR. 2003. Neuroendocrinologia da reação de defesa induzida por estimulação da matéria cinzenta periaquedutal de ratos Wistar e selvagens: uma resposta incomum de 'estresse' similar aos ataques de pânico.

- Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória-ES, 117.
- Soltis RP, DiMicco JA. 1991. GABAA and excitatory amino acid receptors in dorsomedial hypothalamus and heart rate in rats. *Am J Physiol* 260: R13-20.
- Soltis RP, DiMicco JA. 1992. Hypothalamic excitatory amino acid receptors mediate stress-induced tachycardia in rats. *Am J Physiol* 262: R689-697.
- Ter Horst GJ, Luiten PG. 1986. The projections of the dorsomedial hypothalamic nucleus in the rat. *Brain Res Bull* 16: 231-248.
- Tetel MJ, Getzinger MJ, Blaustein JD. 1993. Fos expression in the rat brain following vaginal-cervical stimulation by mating and manual probing. *J Neuroendocrinol* 5: 397-404.
- Thompson RH, Canteras NS, Swanson LW. 1996. Organization of projections from the dorsomedial nucleus of the hypothalamus: a PHA-L study in the rat. *J Comp Neurol* 376: 143-173.
- Valentino RJ, Kosboth M, Colflesh M, Miselis RR. 2000. Transneuronal labeling from the rat distal colon: anatomic evidence for regulation of distal colon function by a pontine corticotropin-releasing factor system. *J Comp Neurol* 417: 399-414.
- Vargas LC, Schenberg LC. 2001. Long-term effects of clomipramine and fluoxetine on dorsal periaqueductal grey-evoked innate defensive behaviours of the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 155: 260-268.
- Veening J, Buma P, Ter Horst GJ, Roeling TAP, Luiten PGM, Nieuwenhuys R. 1991. Hypothalamic projections to the PAG in the rat: topographical, immuno-electronmicroscopical and functional aspects. In: *The midbrain periaqueductal gray matter* (A Depaulis, R Bandler), Plenum Press, New York, 387-415.
- Yoshida K, Konishi M, Nagashima K, Saper CB, Kanosue K. 2005. Fos activation in hypothalamic neurons during cold or warm exposure: projections to periaqueductal gray matter. *Neuroscience* 133: 1039-1046.
- Yoshimatsu H, Nijima A, Oomura Y, Yamabe K, Katafuchi T. 1984. Effects of hypothalamic lesion on pancreatic autonomic nerve activity in the rat. *Brain Res* 303: 147-152.



- Zaia CT, Gaziri LC, Zaia DA, Delattre E, Dolnikoff MS, Timo-laria C. 1997. Effect of chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamic nucleus on blood plasma glucose, triglycerides and free fatty acids in rats. *Brain Res Bull* 42: 195-198.
- Zaretskaia MV, Zaretsky DV, Shekhar A, DiMicco JA. 2002. Chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamus evokes non-shivering thermogenesis in anesthetized rats. *Brain Res* 928: 113-125.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432.

## **CONCLUSÕES**

- As respostas de defesa eliciadas pela estimulação elétrica ou química do HDMd ocorreram devido à difusão da corrente para estruturas vizinhas, como o HDMc ou HVMdm.
- O HDMc somente está envolvido na organização das respostas defensivas de exoftalmia, defecação, micção e, provavelmente, imobilidade.
- O HDMc é a estrutura responsiva do HDM ao estímulo elétrico.
- A estimulação elétrica do HVMdm elicia comportamentos defensivos com estímulos de magnitude menores que aqueles observados para o HDMd ou HDMc.
- A estimulação elétrica do HVMvl não promove o aparecimento de respostas defensivas, alimentares, agressivas ou reprodutivas.
- Este estudo é a primeira evidência da diferenciação funcional entre o HDMc e o HDMd.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)