

NORA TEIXEIRA MENDES NOSÉ SAKAMOTO

CONEXÕES AFERENTES DA FORMAÇÃO RETICULAR MESENCEFÁLICA: UM
ESTUDO COM A PEROXIDASE DO RÁBANO SILVESTRE (HRP) NO RATO

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas para a obtenção do tí
tulo de Doutor em Ciências na
área de Biologia Celular e Mole-
cular.

CAMPINAS
1982

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

/UNICAMP
a29c

4757/BC

Para meus pais

Para Akira

Para Luís Otávio e Carlos Armando

AGRADECIMENTOS

Desejo exprimir aqui minha gratidão a todos aqueles que, de alguma maneira, contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao Dr. Juarez Aranha Ricardo pela confiança que depositou em mim, por sua orientação segura a que devo grande parte da minha formação científica e pela profunda amizade, encorajadora nos momentos difíceis.

A Dra. Sara Shammah-Lagnado, grande amiga e colaboradora, fonte constante de entusiasmo e ensinamentos, pela extrema dedicação e ajuda em todas as fases desta jornada.

Ao Dr. Cesar Timo-Iaria que, no plano pessoal, é o amigo e incentivador, e, no plano profissional, o exemplo de dignidade e amor ao trabalho.

Ao Dr. Walter A. Hadler, com quem, na convivência diária, estamos sempre aprendendo, e cujo espírito científico e extrema compreensão permitiram a realização do presente trabalho.

Ao Dr. Jarbas A. Bauer, o amigo e incentivador entusiasmado, sempre disposto a discutir e ajudar, pela acolhida em seu laboratório, proporcionando-me novos conhecimentos.

Ao Dr. Ricardo Teixeira Mendes e Dra. Arja T. T. Mendes pela hospedagem carinhosa e amiga durante todas as etapas deste trabalho.

Ao Dr. Fritz Köberle, Dra. Sylvia Campiglia, Dr. Núbio Negrão e Teluyo Fukasawa pelo constante apoio, incentivo e amizade.

A meus pais, a quem devo tudo o que sou, minha profunda gratidão pela inestimável ajuda, pelo constante sacrifício e pela extrema dedicação a meus filhos, principalmente no período em que me ocupei desta pesquisa.

Ao Akira, meu grande companheiro, pela compreensão e apoio nas horas difíceis desta jornada e a meus filhos, por todas as vezes que lhes neguei atenção por me ocupar deste estudo.

A Sheila, Inês e Otávio, amigos de todas as horas, pelo carinho e grandeza de sua dedicação.

Aos Srs. Nilo Teixeira e Roberto Vieira pelo valioso auxílio técnico e amizade.

A Sra. Anna Gagliardi pela cooperação na parte bibliográfica.

As Sras. Maria Elidia dos Santos e Eunice Cherman Andreoli pela datilografia.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUÇÃO	1
MATERIAIS E MÉTODOS	15
1. Procedimento cirúrgico para a injeção intracerebral da enzima	15
2. Preparo da micropipeta	16
3. Perfusão do animal e microtomia	17
4. Reação histoquímica	18
RESULTADOS	20
1. Local de injeção da enzima	20
2. Localização dos pericários marcados pela HRP	20
2.1. Telencéfalo	24
2.2. Diencéfalo	38
2.3. Mesencéfalo e região do istmo do rombencéfalo..	39
2.4. Ponte	41
2.5. Cerebelo	42
2.6. Medula oblonga	43
2.7. Medula espinal	45
DISCUSSÃO	46
1. Considerações metodológicas	46
2. Fontes de projeções para a formação reticular mesen- cefálica	47
2.1. Prosencéfalo	48
2.2. Mesencéfalo	54
2.3. Projeções ascendentes para a formação reticular mesencefálica	58
3. Possíveis implicações funcionais	61
SUMÁRIO	65
APÊNDICE: Considerações metodológicas	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

INTRODUÇÃO

O termo formação reticular foi introduzido por anatomistas no século XIX para designar uma área extensa, filogeneticamente antiga, do tronco cerebral (entendido aqui como abarcando medula oblonga, ponte e mesencéfalo), caracterizada estruturalmente por apresentar agregados difusos de células de diferentes tipos e tamanhos, separados por uma rica malha de fibras que trafegam em múltiplas direções. A formação reticular não apresenta, porém, nenhum aspecto histológico que, isolado, a diferencie de outros territórios nervosos centrais (RAMÓN-MOLINER & NAUTA, 1966), sendo, para tanto, por demais impreciso o critério adotado pelos anatomistas clássicos. Compreende-se, assim, que, até certo ponto, a delimitação dos territórios neurais abarcados pela expressão "formação reticular" seja tarefa arbitrária e bastante relacionada a meros hábitos de linguagem dos neurocientistas. Assim, por exemplo, alguns agrupamentos celulares bem delimitados do tronco cerebral, como o núcleo rubro, o complexo olivar inferior e os núcleos dos nervos cranianos não são habitualmente incluídos na formação reticular; outros agrupamentos neurais não tão bem circunscritos, como o núcleo reticular lateral e o núcleo reticular tegmental da ponte, embora pudessem ser encarados como parte da formação reticular em função de sua estrutura anatômica, não o são pelos fisiologistas, provavelmente por se projetarem densamente apenas para o cerebelo, o que os diferenciaria funcionalmente dos demais núcleos reticulares. Os núcleos da rafe, embora apresentando estrutura reticu

lar e funcionalmente relacionados com a formação reticular, nem sempre são incluídos nesse complexo nuclear (BRODAL, 1981).

A primeira tentativa sistemática de parcelamento citoarquitetônico da formação reticular foi feita por OLSZEWSKY (1954), que, utilizando material corado pela técnica de Nissl¹, subdividiu essa região em grupos celulares mais ou menos bem circunscritos. Sem entrarmos em pormenores, mencionaremos aqui, apenas, alguns núcleos reticulares mais importantes no contexto da presente tese (para descrições detalhadas ver BRODAL, 1957; VALVERDE, 1961). Assim, no bulbo, encontramos os núcleos reticulares ventral, gigantocelular, lateral e paramedianos. Na ponte destacam-se os núcleos reticulares caudal e oral da ponte e o núcleo reticular tegmental da ponte (de Bechterew), enquanto na transição pontino-mesencefálica situam-se o núcleo tegmental pedunculopontino, o locus coeruleus e a área parabraquial (BRODAL, 1957, 1981). O núcleo reticular oral da ponte se continua, de forma gradual, com a formação reticular mesencefálica. Mencionaremos, finalmente, o complexo da rafe, cujos núcleos ocupam a linha mediana do tronco cerebral desde a medula oblonga até o mesencéfalo, destacando-se, no bulbo, o núcleo magno da rafe e, no mesencéfalo e no istmo do rombencéfalo, os núcleos dorsal e mediano da rafe. É importante ressaltar que, sobretudo em suas porções pontina e bulbar, o cerne da formação reticular pode ser grosseiramente subdividido, do ponto de vista citoarquitetônico, em uma região magnocelu-

¹ Em apêndice, no final desta tese, o leitor interessado poderá encontrar uma breve discussão de alguns dos principais métodos utilizados em pesquisas neuroanatômicas.

lar, que ocupa aproximadamente os dois terços mediais da formação reticular, e outra parvocelular, restrita primariamente ao terço lateral da referida estrutura. A porção medial magno celular é constituída basicamente pelos já referidos núcleos reticulares ventral, gigantocelular, caudal da ponte e oral da ponte, em sequência caudo-rostral, devendo-se destacar que as transições entre esses núcleos são muito graduais.

Entre as conclusões sugeridas por estudos da formação reticular com as técnicas de Golgi (ver, por exemplo, SCHEIBEL & SCHEIBEL, 1958; VALVERDE, 1961; RAMÓN-MOLINER & NAUTA, 1966), as seguintes merecem ênfase. Os dendritos dos neurônios reticulares são tipicamente longos, retilíneos e pouco ramificados, e mantêm contacto íntimo com feixes longitudinais de fibras que trafegam pela região; existe um elevado grau de superposição entre os campos dendríticos de neurônios diversos, o que vem a obscurecer parcialmente as fronteiras nucleares determinadas com os métodos de Nissl. Ao contrário do que supunham os neurofisiologistas, a maioria dos neurônios reticulares, especialmente daqueles situados nas áreas mediais, é do tipo I de Golgi; seus axônios freqüentemente se dicotomizam em um ramo ascendente, que pode atingir áreas proencefálicas, e outro descendente, que pode alcançar a medula espinal. Ao longo do seu trajeto longitudinal, os axônios dos neurônios reticulares em pauta emitem numerosas ramificações colaterais que estabelecem contactos sinápticos com as arborizações dendríticas de outros neurônios reticulares. É fácil perceber que as particularidades que acabamos de mencionar sugerem a existência de um amplo substrato anatômico para fenômenos de integração funcional longitudinal ao longo da forma

ção reticular, bem como para a concatenação entre ações ascendentes e descendentes da formação reticular. Os neurônios pertencentes ao terço lateral da formação reticular são células relativamente pequenas, cujos axônios, curtos, parecem - se projetar para os dois terços mediais da referida estrutura. Também importante é a observação de que neurônios sensoriais de segunda ordem emitem ramos colaterais predominate - mente para as porções laterais da formação reticular, enquanto os colaterais das vias longas descendentes (como a via piramidal) ou ascendentes (como o trato espinotalâmico lateral) se dirigem fundamentalmente para as áreas mediais magnocelulares. Esses dados sugerem que a porção medial magnocelular poderia ser encarada como a região "motora" ou "efetora" da formação reticular, enquanto a porção lateral parvocelular funcionaria primariamente como uma região "receptora" ou "de associação", cuja atividade modularia de forma direta apenas o funcionamento dos territórios mediais, "efetores", da formação reticular (BRODAL, 1957, 1981).

CONEXÕES ANATÔMICAS ENTRE A FORMAÇÃO RETICULAR E OUTRAS ÁREAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Além das conexões intrínsecas da formação reticular, existem conexões longas que permitem uma comunicação direta ou indireta entre a formação reticular e muitas outras áreas do sistema nervoso central. Dada a sua importância, tais conexões longas já foram objeto de inúmeras investigações que utilizaram desde os métodos neuroanatômicos clássicos de degeneração retrógrada e anterógrada até as técnicas

auto-radiográficas e histoquímicas recentes. Descreveremos resumidamente, a seguir, algumas das principais conexões aferentes e eferentes conhecidas da formação reticular.

As conexões longas que deixam a formação reticular podem-se subdividir em três grupos: as que se dirigem ao cerebelo, as descendentes para níveis espinais, e as ascendentes que atingem níveis mais altos do sistema nervoso central.

O cerebelo é uma das estruturas que recebem amplas projeções da formação reticular. Estudos clássicos de degeneração retrógrada (BRODAL, 1957) e, posteriormente, com o método da peroxidase (BATINI et alii, 1978; ELLER & CHANPALAY, 1976), evidenciaram que o cerebelo recebe projeções do núcleo reticular tegmental da ponte e dos núcleos reticulares bulbares lateral e paramedianos. Trabalhos mais recentes mostraram que também a área parabraquial (BATINI et alii, 1978; SOMANA & WALBERG, 1979) e o locus coeruleus (PICKEL et alii, 1974) se projetam para o cerebelo. Parece que o núcleo reticular lateral, os paramedianos e o núcleo tegmental da ponte se projetam exclusivamente para o cerebelo, como evidencia a perda praticamente completa de células observada nesses núcleos após a descerebelação (BRODAL, 1957). Por representarem vários dos núcleos do tronco aqui citados estações terminais de fibras provenientes da medula espinal e do núcleo do trato solitário, as suas projeções para o cerebelo poderiam carrear informações provenientes da periferia somática e visceral.

Investigações que se valeram das técnicas de degeneração retrógrada, de MARCHI e de NAUTA (ver BRODAL, 1957, 1981) revelaram a existência de amplas projeções reticuloespi

nais que, basicamente a partir dos dois terços mediais da formação reticular bulbar e pontina, se dirigem, correndo sobretudo no funículo ventrolateral, predominantemente para regiões intermediárias do corno ventral da medula espinal que contêm neurônios internunciais que se projetam para motoneurônios. As fibras reticuloespinais pontinas provêm principalmente da parte caudal do núcleo reticular oral da ponte e da parte rostral do núcleo reticular caudal da ponte, enquanto as bulbares se originam sobretudo no núcleo reticular gigantocelular. Fato importante é a coincidência parcial entre os territórios que recebem projeções espinorreticulares e as regiões de origem das vias reticuloespinais o que sugere a existência de alças espino-retículo-espinais, provavelmente envolvidas em atividades motoras rápidas em resposta a informações sensoriais ascendentes (ZEMLAN & PFAFF, 1979). Devemos salientar também que as mesmas áreas reticulares citadas são alvo de projeções corticorreticulares, o que indica a existência de vias córtico-retículo-espinais, consideradas importantes no contexto dos mecanismos motores ditos extrapiramidais. Recentemente, trabalhos utilizando a peroxidase do rábano silvestre (HRP) (BASBAUM & FIELDS, 1979; TOHYAMA *et alii*, 1979; ZEMLAN & PFAFF, 1979), mostraram que também a formação reticular mesencefálica, o locus coeruleus, a área parabraqual, o núcleo magno da rafe e alguns distritos laterais do tegmento pontino se projetam para a medula espinal. Estudos autoradiográficos e histoquímicos recentes revelaram ser muito mais extensa do que se supunha a distribuição espinal das projeções reticulares. Assim, as regiões da substância cinzenta da

medula espinal que albergam neurônios simpáticos pré-ganglionares e motoneurônios somáticos parecem receber projeções diretas da formação reticular muito mais densas do que se acreditava antes (HOLSTEGE et alii, 1979). O corno dorsal da medula espinal recebe aferências provenientes do núcleo magno da rafe (BASBAUM et alii, 1978) e do núcleo reticular gigantocelular (HOLSTEGE et alii, 1979). O locus coeruleus, por sua vez, dá origem a fibras noradrenérgicas que se distribuem para a quase totalidade da substância cinzenta ao longo de toda a extensão da medula espinal (NYGREN & OLSON, 1977).

Os métodos de Golgi revelaram a existência de projeções da formação reticular para todos os núcleos de nervos cranianos do tronco cerebral (SCHEIBEL & SCHEIBEL, 1958), o que já foi em parte confirmado pela auto-radiografia (GRAYBIEL, 1977); essas projeções representariam importantes elos em vias oligossinápticas que vão do córtex cerebral até núcleos de nervos cranianos.

A região medial da formação reticular pontina e bulbar, sobretudo a metade caudal do núcleo reticular gigantocelular e o distrito caudal do núcleo reticular caudal da ponte, parece emitir projeções ascendentes longas (BRODAL, 1957, 1981). Com técnicas de degeneração anterógrada, NAUTA & KUYPERS (1958) verificaram que essas fibras ascendentes se dirigem tanto para amplas regiões da própria formação reticular como para a substância cinzenta periaquedutal, colículo superior, área pré-tectal, região subtalâmica e núcleos talâmicos intralaminares. Estes últimos, por sua vez, projetam-se diretamente para extensas áreas do córtex cerebral e para os núcleos

caudado e putâmen (CARPENTER, 1976; HERKENHAM, 1980; JONES & LEAVITT, 1974; NAUTA & DOMESICK, 1979). Devemos ressaltar que os locais de origem das fibras reticulares ascendentes longas coincidem parcialmente com as áreas nas quais terminam as fibras espinorreticulares, o que sugere a existência de vias oligossinápticas espino-retículo-prosencefálicas.

EDWARDS (1975) e EDWARDS & de OLMOS (1976), em estudos auto-radiográficos, descreveram projeções da formação reticular mesencefálica para a região subtalâmica e para os núcleos talâmicos intralaminares, bem como para as porções pontina e bulbar da formação reticular. Os mesmos autores observaram também que regiões laterais da formação reticular mesencefálica se projetam para estruturas límbicas e hipotalâmicas, que recebem ainda densas projeções de distritos paramedianos da formação reticular mesencefálica, de acordo com as observações clássicas de NAUTA & KUYPERS (1958).

A área parabraqüal se projeta tanto para o tálamo "específico" como para territórios límbicos e hipotalâmicos (NORGREN, 1976; NORGREN & LEONARD, 1973). Recentemente, KOH & RICARDO (1978), valendo-se de métodos auto-radiográficos e do método histoquímico da HRP, sugeriram a existência de uma segregação funcional no seio dessas projeções, ao constatarem que a porção "gustativa" da área parabraqüal, envia fibras basicamente para o núcleo gustativo do tálamo, enquanto a região "interoceptiva" da referida estrutura do tronco cerebral se projeta predominantemente para territórios límbicos.

As projeções (noradrenérgicas) ascendentes difusas do locus coeruleus atingem, entre outras estruturas, ex-

tensas áreas corticais, núcleos talâmicos intralaminares, região subtalâmica, hipotálamo lateral, área pré-óptica e complexo septal (LINDVALL & BJÖRKLUND, 1974; PICKEL et alii, 1974). O prosencéfalo recebe ainda projeções de pequenos agregados neuronais catecolaminérgicos situados na formação reticular pontinobulbar (LINDVALL & BJÖRKLUND, 1974). O principal contingente de inervação serotonérgica para o prosencéfalo parece provir dos núcleos mediano e dorsal da rafe mesencefálica (KELLAR et alii, 1977); essas fibras atingem muitas estruturas, entre as quais o córtex cerebral, os núcleos caudado e putâmen, o hipocampo, o complexo amigdalóide, a área septal, o hipotálamo e os núcleos talâmicos não-específicos (CONRAD et alii, 1974). Utilizando métodos histoquímicos, SHUTE & LEWIS (1967) descreveram projeções colinérgicas da formação reticular mesencefálica principalmente para o tálamo não-específico e para inúmeros territórios hipotalâmicos e límbicos.

Examinemos agora, sucintamente, algumas das principais conexões aferentes conhecidas da formação reticular, lembrando que o elevado grau de convergência de informações neurais para a formação reticular é um dos aspectos mais comumente enfatizados em abordagens funcionais dessa região do sistema nervoso central.

O cerebelo se projeta densamente para a porção parvocelular da formação reticular, para a formação reticular mesencefálica e para os núcleos reticulares tegmental da ponte, oral da ponte, caudal da ponte e paramedianos do bulbo (ver, por exemplo, FAULL, 1978; FAULL & CARMAN, 1978).

A medula espinal também se projeta importante-mente para a formação reticular. As vias espinorreticulares

se originam no corno dorsal em níveis cervicais, torácicos e lombares, ascendem pelo funículo ventrolateral acompanhando o trato espinotalâmico e terminam na formação reticular pontina e bulbar, envolvendo predominantemente a região magnocelular e, também, o núcleo reticular lateral, os núcleos paramedianos e o núcleo reticular tegmental da ponte (ROSSI & BRODAL, 1957; MEHLER *et alii*, 1960). A região correspondente ao núcleo reticular parvicelular praticamente não recebe fibras espinais (BRODAL, 1957). As projeções espinorreticulares representam um possível substrato anatômico para o acesso à formação reticular de informações aferentes carregadas pelos nervos espinais. Além disso, como vários dos agrupamentos celulares reticulares inervados pela medula espinal se projetam, por sua vez, para o cerebelo, algumas das projeções espinorreticulares poderiam estar vinculadas a vias espino-retículo-cerebelares capazes de conduzir informações sensoriais ao cerebelo.

Vários agrupamentos sensoriais secundários vinculados aos nervos cranianos também emitem projeções para a formação reticular. Assim, a área parabraqial recebe densas projeções do núcleo do trato solitário, tanto da sua parte caudal, "interoceptiva" (RICARDO & KOH, 1978), como da sua porção rostral, "gustativa" (KOH & RICARDO, 1978; NORGREN & LEONARD, 1973). Núcleos vestibulares, trigeminais e auditivos também enviam projeções para a formação reticular (ver BRODAL, 1957, 1981). Impulsos ópticos poderiam ter acesso à formação reticular por meio, por exemplo, das projeções tectorreticulares provenientes das camadas profundas do colículo superior (GRAHAM, 1977), enquanto informações olfativas atingem

a formação reticular mesencefálica provavelmente por intermédio do fascículo prosencefálico medial (MOTOKIZAWA, 1974) , que percorre a área hipotalâmica lateral.

As conexões corticorreticulares constituem uma maciça projeção que se origina fundamentalmente em áreas corticais sensitivo-motoras, com alguma contribuição de outras áreas (temporal e occipital). Essas fibras corticífugas, entretanto, não suprem com igual intensidade a formação reticular, mas terminam predominantemente em uma área caudal que coincide com o núcleo gigantocelular e em uma área mais rostral que inclui os núcleos reticulares caudal e oral da ponte (ROSSI & BRODAL, 1956), havendo também uma projeção direta para a formação reticular mesencefálica (VALVERDE, 1962). Há ainda fibras corticífugas que terminam nos núcleos reticulares lateral, paramedianos bulbares e tegmental da ponte; essas fibras poderiam representar parte de rotas córtico-retículo-cerebelares (ver BRODAL, 1981).

Os núcleos da base também se projetam para a formação reticular. Assim, o segmento interno do globo pálido (ponto de origem da principal via de saída do corpo estriado) envia fibras para a parte compacta do núcleo tegmental pedunculopontino (ver NAUTA & DOMESICK, 1979); esse mesmo núcleo reticular recebe projeções da parte compacta (dopaminérgica) da substância negra (BECKSTEAD et alii, 1979). Observações auto-radiográficas (RICARDO, 1981) indicam a existência de amplas projeções da zona incerta e do núcleo do campo H_1 de Forel (região subtalâmica) para a formação reticular mesencefálica, para o núcleo tegmental pedunculopontino e para a porção medial magnocelular da formação reticular pontina e

bulbar.

Ainda entre as fibras que se dirigem à formação reticular, encontram-se as de origem em estruturas hipotalâmicas e límbicas. Assim, as áreas hipotalâmica lateral, pré-óptica e septal, e, em algumas espécies, a formação hipocampal, se projetam para áreas reticulares mesencefálicas, sobretudo para as estruturas paramedianas que, em conjunto, constituem a chamada área límbica mesencefálica de Nauta (NAUTA, 1958 ; NAUTA & HAYMAKER, 1969); essas conexões fechariam circuitos límbico-hipotalâmico-mesencefálicos bidirecionais tidos como de importância central na regulação de processos autonômicos, endócrinos e comportamentais.

Ao considerarmos as conexões, em parte recíprocas, da formação reticular com outras áreas do sistema nervoso, pudemos constatar a existência de um rico substrato anatômico para uma integração funcional estreita entre a referida estrutura do tronco cerebral e áreas prosencefálicas, espinais e cerebelares, bem como antever o fato de que poucos domínios neurais escapam à esfera de influência da maquinaria reticular. Uma discussão extensa do envolvimento da formação reticular em múltiplas funções e disfunções do sistema nervoso fugiria ao escopo do presente trabalho (para revisões recentes o leitor interessado poderá consultar, por exemplo, HOBSON & BRAZIER, 1980); faremos apenas, a seguir, uma breve menção a alguns pontos particularmente relevantes no contexto desta tese.

Em 1949, em um trabalho que se tornou clássico,

MORUZZI & MAGOUN descobriram que a estimulação elétrica da formação reticular leva a uma ativação eletrocorticográfica generalizada. Essa observação foi rapidamente confirmada, e, associada a experimentos subsequentes, deu origem à idéia de que um "sistema ativador ascendente", a partir da formação reticular do tronco, se projeta difusamente sobre o córtex cerebral e regula o nível geral da atividade cerebral, estando conspicuamente envolvido no controle do ciclo vigília-sono e de praticamente todos os outros aspectos da chamada "atividade nervosa superior" (para revisões, ver LINDSLEY, 1960; LURIA, 1981; MORGANE & STERN, 1974; MORUZZI, 1972).

Numerosos experimentos envolvendo lesões e transecções do tronco cerebral evidenciaram o papel crucial do distrito mesencefálico da formação reticular nesses circuitos ativadores ascendentes (ver MORUZZI, 1972). Essa noção foi recentemente fortalecida por resultados obtidos com unidades isoladas (ROPERT & STERIADE, 1981; STERIADE *et alii.*, 1980). Mais recentemente, experimentos envolvendo a aplicação de ácido caínico à formação reticular mesencefálica indicaram que a ativação induzida pela estimulação elétrica dessa estrutura se deve realmente à excitação de corpos celulares de neurônios reticulares e não à estimulação de fibras de passagem (KITSIKIS & STERIADE, 1981). Nesse contexto, é muito importante salientar que, considerados em conjunto, os resultados de inúmeros estudos experimentais indicaram que a "maior parte da atividade espontânea da formação reticular mesencefálica não é autóctone, mas requer um suporte adequado de influências ascendentes ou descendentes" (MORUZZI, 1972, p.45).

A partir dessas observações pode-se inferir

que um conhecimento preciso das conexões aferentes da formação reticular mesencefálica é, sem dúvida, fundamental para o progresso das idéias em múltiplas domínios funcionais de grande importância. Entretanto, quase todo o nosso conhecimento anatômico atual sobre essas aferências provém de estudos de rastreamento anterógrado de fibras que se originam em outras estruturas cerebrais e que têm como um de seus alvos a formação reticular mesencefálica. Nos poucos casos em que algumas conexões aferentes da formação reticular mesencefálica foram investigadas com a técnica de mapeamento retrógrado pela HRP, os autores restringiram seu interesse a projeções particulares (por exemplo, no gato, RINVIK et alii, 1976; PARENT & STERIADE, 1981), ou injetaram simultaneamente outras estruturas mesencefálicas nas quais estavam primariamente interessados (por exemplo, GROFOVÁ et alii, 1978, no gato; MORRELL et alii, 1981, no rato).

O presente trabalho representa uma tentativa sistemática de estudar, pelo método de marcação retrógrada que utiliza a peroxidase do rábano silvestre (HRP), as conexões aferentes da formação reticular mesencefálica no rato, espécie na qual vários aspectos do ciclo vigília-sono já foram analisados (ver, por exemplo, TIMO-IARIA et alii, 1970; LIDBRINK, 1974; RICARDO et alii, 1980; TAMASY et alii, 1980).

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho utilizamos 44 ratos albinos adultos, fêmeas, cujos pesos variaram entre 160 e 205g. Nosso objetivo foi realizar injeções unilaterais de HRP em áreas caudais, rostrais e laterais da formação reticular mesencefálica (FRM).

PROCEDIMENTO CIRÚRGICO PARA A INJEÇÃO INTRACEREBRAL DA ENZIMA

Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral a 10% (Merck) injetado intraperitonealmente na dose de 0,4 ml/100g de peso, e a seguir colocados em aparelho estereotático (DAVID KOPF) próprio para ratos. Após uma incisão ao longo da linha mediana da pele que recobre o crânio, expúnhamos a tábua óssea e efetuávamos o alinhamento do eixo ântero-posterior. A seguir, com o auxílio de uma broca odontológica, removíamos uma pequena extensão óssea (de 3 a 6 mm) na região que recobre o pólo frontal do hemisfério cerebral direito, com a finalidade de expor a veia cerebral superior, localizada entre o pólo frontal e o bulbo olfativo; essa veia era a nossa referência para a coordenada ântero-posterior. Em seguida, expúnhamos o seio venoso longitudinal superior, que nos servia como referência para a coordenada lateral.

A seguir, calculadas as coordenadas ântero-posterior e lateral desejadas, procedíamos à trepanação de uma área de aproximadamente 2 mm de diâmetro para a introdução da micropipeta contendo a HRP. A leitura do zero vertical nesse

ponto se fazia com a dura-máter intacta e ligeiramente pressionada pela micropipeta. Em seguida, perfurávamos as meninges e introduzíamos a micropipeta até atingir a área cerebral visada em nossos experimentos. As coordenadas utilizadas foram estabelecidas primariamente com o auxílio do atlas de KÖNIG & KLIPPEL (1963), e modificadas de acordo com os resultados que íamos obtendo.

A injeção da enzima demandava o contacto elétrico entre a solução de HRP e o ânodo de uma fonte eletrônica de corrente (MIDGARD ELECTRONICS, Watertown, Massachusetts); o contacto era estabelecido por um fio de prata introduzido na micropipeta. O circuito se fechava com a ligação do cátodo à pele do animal. Uma corrente constante, que variava entre 0,5 e 1,0 μ A, passava pela solução durante 1,5 a 6,0 min. Terminada a injeção de HRP e decorridos 5 min após a fonte ter sido desligada, a micropipeta era retirada do cérebro e a incisão cutânea suturada. Esse método, com algumas modificações, corresponde ao originalmente desenvolvido por GRAYBIEL & DEVOR (1974).

PREPARO DA MICROPIPETA

As micropipetas eram preparadas a partir de capilares de vidro; com o auxílio de um estirador (DAVID KOPF) obtinha-se um diâmetro interno de ponta que variava entre 12 e 20 μ m. Em seguida, as pipetas eram preenchidas, sob microscópio, com uma solução a 13% de HRP (SIGMA, tipo VI) em tampão TRIS-HCl a pH 8,6.

PERFUSÃO E MICROTOMIA

Após a cirurgia, os animais eram mantidos em gaiolas individuais por um período de 48 horas; a nossa intenção era estabelecer um valor para o tempo de sobrevivência que não alterasse os limites da área injetada (NAUTA *et alii*, 1974) e que fosse compatível com a velocidade de transporte axoplasmático (La VAIL & La VAIL, 1975; SJÖSTRAND & FRIZELL 1975) e condizente com trabalhos feitos em outras áreas da Formação Reticular (ANDREZIK *et alii*, 1981). Decorridas as 48 horas, os animais eram novamente anestesiados e submetidos a perfusão intracardíaca, primeiramente com 50 ml de solução fisiológica a 21°C, aos quais se seguiam 600 ml da solução fixadora (paraformaldeído a 1,0%, glutaraldeído a 1,25% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4) à mesma temperatura; a solução fixadora fluía pelo animal por 30 minutos, em fluxo primeiramente rápido e posteriormente lento.

Com a finalidade de remover o excesso de aldeídos livres que poderiam interferir com a reação histoquímica e também visando à crioproteção, perfundíamos o animal com 600 ml de uma terceira solução de sacarose a 10% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, a 4°C. Toda a nossa perfusão baseou-se no procedimento II de ROSENE & MESULAM (1978).

Imediatamente após a passagem da terceira solução, o cérebro era cuidadosamente retirado e mantido nessa mesma solução, a 4°C, por um período que variou de 2 horas a 3 dias.

A etapa seguinte consistia na microtomia em microtomo de congelamento (AMERICAN OPTICAL COMPANY, mod. 840C), com o auxílio do qual obtínhamos cortes frontais com espessura de

50 μ m. Em 17 animais retiramos também a medula espinal, cuja microtomia seguiu o mesmo padrão. Todos os cortes seriados do encéfalo e 1 a cada 5 cortes da medula eram colocados em 6 compartimentos contendo tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, e estocados a 4°C por uma noite.

REAÇÃO HISTOQUÍMICA

Após esse período, procedíamos à reação histoquímica para evidenciar a HRP, utilizando como cromógeno a 3-3' - 5-5' tetrametilbenzidina (TMB), escolhida entre outros cromógenos (MESULAM, 1978) de acordo com a técnica de MESULAM et alii (1980), que se subdivide nas 4 etapas seguintes:

a) lavagens sucessivas em água destilada;

b) período de incubação de 20 minutos com o cromógeno (TMB) em meio alcoólico (15 mg TMB/7,5 ml de etanol a 40°C) tamponado, ao qual se acrescentava nitroprussiato de sódio com a finalidade de estabilizar a reação (300mg de nitro - ferricianeto de sódio em 15 ml de tampão acetato 0,2M, pH 3,3, e 277,5 ml de água destilada);

c) reação enzimática propriamente dita, iniciada com a adição de H_2O_2 ao meio (9 a 12 ml de H_2O_2 a 1%), por 20 minutos, ao abrigo de luz. O complexo HRP. H_2O_2 , formado ao se a crescentar o peróxido de hidrogênio, oxida o cromógeno, resultando em precipitado colorido que indica a atividade da peroxidase;

d) interrupção da reação por meio de lavagens sucessivas em tampão acetato 0,01 M, gelado, a pH 3,3.

Os cortes eram montados em lâminas previamente

recobertas com gelatina - alúmen de cromo, tendo-se o cuidado de não ultrapassar o período de 4 horas para a montagem, tempo ideal máximo para os cortes permanecerem no tampão.

Após secagem ao ar por um período mínimo de 24 horas, efetuávamos uma coloração para facilitar a identificação citoarquitetônica das diferentes áreas cerebrais, utilizando uma solução de vermelho neutro a 1% em tampão acetato, pH 4,8. Em seguida os cortes eram desidratados rapidamente para evitar perda do produto de reação e montados em bálsamo do Canadá (Merck).

Todo o material era examinado com microscopia de campo claro (ZEISS MOD. WL), e os locais que apresentavam corpos celulares de neurônios com depósito de HRP (ver NAUTA et alii, 1974) eram assinalados em esquemas de cortes selecionados. Os neurônios marcados com a enzima foram contados em vários dos experimentos com a finalidade de se obter uma idéia mais precisa acerca da densidade das projeções e de possíveis diferenças quantitativas entre as aferências de áreas caudais, rostrais e laterais da formação reticular.

Na descrição de nossos resultados, o termo "número total de células" (JACKSON & CROSSMAN, 1981) denotará o número total de neurônios marcados encontrados em uma determinada estrutura a cada 150 μ m.

RESULTADOS

LOCAIS DE INJEÇÃO DA PEROXIDASE

Confirmando o que já foi descrito por numerosos autores (por exemplo, MESULAM, 1978; MORRELL et alii, 1981), uma série preliminar de experimentos revelou que a TMB indica um local de injeção muito maior do que aquele revelado pela técnica (muito menos sensível) que emprega a diaminobenzidina como cromógeno. É bem sabido, por outro lado, que a delimitação precisa de um sítio de injeção de HRP é uma das principais dificuldades com que se defronta o pesquisador que utiliza esse método (ver, por exemplo, BRODAL, 1981). Com o propósito de não subestimar a área máxima de captação da peroxidase, consideramos, como local de injeção, tanto a região central bastante densa como o halo mais difuso que a circunda.

Dos 44 animais injetados, somente em 15 obtivemos injeções de HRP praticamente confinadas à formação reticular mesencefálica; apenas as observações feitas nesses animais serão mencionadas nesta tese.

LOCALIZAÇÃO DOS PERICÁRIOS MARCADOS PELA HRP

Inúmeras estruturas situadas em várias áreas cerebrais apresentaram neurônios com reação positiva para a peroxidase após a injeção dessa enzima na formação reticular mesencefálica. A Tabela I relaciona essas estruturas, a sua lateralidade, e uma estimativa do número relativo de neurônios marca

TABELA I - RESUMO DAS CONEXÕES AFERENTES DA FORMAÇÃO RETICULAR MESENCEFÁLICA

REGIÃO DE NEURÔNIOS MARCADOS	LATERALIDADE	
	IPSO	CONTRA
<u>TELENCÉFALO</u>		
Córtex cerebral*		
Área pré-central lateral	+++	
Área pré-frontal	++	
Área cingulada posterior	+	
Área somatossensorial (Sm.I)	+	
Complexo amigdalóide, núcleo central	+	
Núcleo entopeduncular	+	
<u>DIENCÉFALO</u>		
Região subtalâmica, zona incerta e campos de Forel	+++	+
Núcleos hipotalâmicos		
Anterior	+	
Dorsomedial	+	
Lateral	+	
Posterior	+	
Ventromedial	+	
Áreas pré-óptica, núcleo lateral	+	
Área pré-óptica, núcleo medial	+	
Tálamo, núcleo ventromedial	+	
<u>MESENCEFALO E REGIÃO DO ISTMO DO ROMBENCÉFALO</u>		
Substância cinzenta central	+++	+
Formação reticular mesencefálica	++(?)	+++
Área parabraquial, divisões medial e lateral	++	+
Colículo superior, estrato cinzento profundo	++	+
Substância negra, parte reticular	++	
Núcleo intersticial de Cajal	+	+

TABELA I (Continuação)

Núcleos da comissura posterior	+	+
Área tegmental ventral de Tsai	+	
<u>Locus coeruleus</u>	+	
Núcleo da Darkschewitsch	+	
Núcleo dorsal da rafe	+	
Núcleo tegmental dorsolateral	+	
Núcleo tegmental pedunculopontino, parte compacta	+	
Substância negra, parte compacta	+	
<u>PONTE</u>		
Núcleo reticular caudal da ponte	+++	+++
Núcleo reticular oral da ponte	+++	++
Núcleos do lemnisco lateral	+	+
Núcleo magno da rafe	+	+
Núcleo sensitivo principal do trigêmeo		+
<u>CEREBELO</u> *		
Núcleo interpósito		+++
Núcleo lateral		+++
Núcleo medial		+
<u>MEDULA OBLONGA</u>		
Núcleo reticular gigantocelular	++	++
Núcleo espinal do trigêmeo, parte oral*	+	++
Núcleo reticular parvocelular	+	+
Núcleo reticular ventral	+	+
Núcleo vestibular medial	+	
Núcleo vestibular descendente (inferior)	+	
Núcleo cuneiforme		+
		+

TABELA I (Continuação)

<u>MEDULA ESPINAL</u>	
Segmentos cervicais	+

Arroladas estão todas as estruturas cerebrais que consistentemente al-
bergavam neurônios marcados na maioria dos 15 experimentos cujos lo-
cais de injeção de HRP estão ilustrados na Fig. 1. Em 8 desses casos
a medula espinal também foi examinada. A densidade relativa de neurô-
niso marcados está indicada pelos seguintes símbolos: +++, alta; ++,
moderada; +, baixa. As estruturas assinaladas com um asterisco são
aquelas nas quais diferenças topográficas foram observadas (ver tex-
to); nesses casos, a densidade de marcação neuronal indicada na Tabe-
la se refere à constatada após injeções de HRP na porção rostral da
formação reticular mesencefálica. (?) = incerto; ipso = ipsolateral ;
contra = contralateral.

dos em cada uma delas. A localização das referidas estruturas está ilustrada na Fig. 22, que apresenta esquemas de um caso típico (R-22), cujos locais de injeção podem ser vistos nas Figs. 1, 2J e 3B. Os comentários a seguir fornecem informações adicionais sobre a distribuição dos neurônios marcados nas várias regiões cerebrais.

TELENCÉFALO

Córtex cerebral - Quase todos os neurônios marcados no telencéfalo foram vistos no córtex cerebral, ipsilateralmente ao local de injeção. A maior concentração de células marcadas (número total de células no caso R-22: 87) ocupava a área pré-central lateral (terminologia segundo KRETTEK & PRICE, 1977), que parece corresponder à "região praecentralis granularis" (ROSE, 1931), assim como à área 10 de KRIEG (1946). Nessa região, os pericários marcados formavam uma faixa na região dorso-lateral do hemisfério (Fig. 2B); tal faixa começava aproximadamente 2mm caudalmente ao pólo frontal e se estendia por cerca de 2,1mm ao longo da dimensão ântero-posterior. Dentro do chamado córtex pré-frontal, um número moderado de células marcadas (número total de células no R-22: 41) foi encontrado na divisão dorsal da área cingulada anterior e na área pré-central medial (nomenclatura de KRETTEK & PRICE, 1977) (Fig. 2A-C), enquanto em todas as demais divisões observamos apenas escassa marcação celular. Em uma região cortical que parece corresponder à área somatossensorial (Sm I) (Fig. 2E) delineada por WELKER (1971, 1976) também encontramos alguns poucos neurônios marcados. Finalmente, pouquíssimos peri

ABREVIATURAS USADAS NAS FIGURAS

- a - núcleo ambíguo
- AC - comissura anterior
- acd - divisão dorsal da área cingulada anterior
- aid - área insular agranular dorsal
- avt - área tegmental ventral de Tsai
- BC - braço conjuntivo
- BP - pedúnculo cerebelar médio
- bst - núcleo intersticial da estria terminal
- c - núcleo central do complexo amigdalóide
- CC - crus cerebri
- cg - substância cinzenta central
- cp - núcleo caudado-putâmen
- cv - núcleo espinal do trigêmeo, parte caudal
- d - núcleo de Darkschewitsch
- db - núcleo da banda diagonal de Broca
- DBC - decussação do braço conjuntivo
- dh - "dorsolateral hump"
- dm - núcleo dorsomedial de Åström
- dr - núcleo dorsal da rafe
- ep - núcleo entopeduncular
- FR - fascículo retroflexo
- FX - fórnice
- G - joelho do nervo facial
- g - núcleo gelatinoso do tálamo
- GD - núcleo tegmental dorsal de Gudden
- Gi - núcleo reticular gigantocelular
- gld - núcleo geniculado lateral dorsal

gp - globo pálido
Gv - núcleo tegmental ventral de Gudden
h - núcleo habenular lateral
H₁ - campo H₁ de Forel
H₂ - campo H₂ de Forel
hd - núcleo dorsomedial do hipotálamo
hl - região hipotalâmica lateral
hp - núcleo hipotalâmico posterior
hv - núcleo ventromedial do hipotálamo
IC - cápsula interna
ic - colículo superior
in - núcleo intersticial de Cajal
io - complexo olivar inferior
ip - núcleo interpeduncular
ipV - núcleo espinal do trigêmeo, parte interpolar
it - núcleo interpósito do cerebelo
l - núcleo lateral do cerebelo
la - núcleo lateral do complexo amigdalóide
lc - locus coeruleus
ld - núcleo lateral dorsal do tálamo
ll - núcleo do lemnisco lateral
lp - núcleo posterolateral do tálamo
lr - núcleo reticular lateral
m - núcleo medial do cerebelo
ML - lemnisco medial
mr - núcleo magno da rafe
mrf - formação reticular mesencefálica
MT - trato mamilotalâmico
mV - núcleo motor do trigêmeo

nb - núcleo basal
np - núcleo da comissura posterior
OT - trato óptico
ot - tubérculo olfativo
oV - núcleo espinal do trigêmeo, parte oral
p - pirâmide
pa - núcleo reticular parvocelular
pac - núcleo pré-tectal anterior, parte compacta
par - núcleo pré-tectal anterior, parte reticular
pb - área parabraquial
pc - núcleo reticular caudal da ponte
pl - área pré-óptica lateral
pm - área pré-óptica medial
pn - núcleos pontinos
po - núcleo reticular oral da ponte
prcm - área pré-central medial
prcl - área pré-central lateral
pV - núcleo sensitivo principal do trigêmeo
r - núcleo reticular do tálamo
rm - núcleo rubro, parte magnocelular
rp - núcleo rubro, parte parvocelular
rtp - núcleo reticular tegmental da ponte
rv - núcleo reticular ventral
s - núcleo subtalâmico de Luys
sc - colículo superior
SM - estria medular do tálamo
snc - substância negra, parte compacta
snr - substância negra, parte reticular

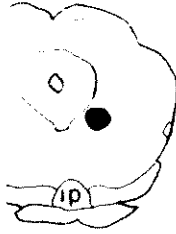
SO - estrato óptico
st - núcleo do trato solitário
t - núcleo tegmental pedunculopontino, parte compacta
TB - corpo trapezoidal
tdl - núcleo tegmental dorsolateral
tv - complexo talâmico ventral
v - núcleo vestibular medial
vd - núcleo vestibular descendente (inferior)
vh - corno ventral
vl - núcleo vestibular lateral
vm - núcleo talâmico ventromedial
vo - área orbital ventral
zi - zona incerta
VII - núcleo motor do nervo facial
XII - núcleo do hipoglosso

Fig. 1 - Representação semi-esquemática dos depósitos das injeções de HRP nos 15 animais nos quais as injeções se apresentaram praticamente completamente confinadas à formação reticular mesencefálica.

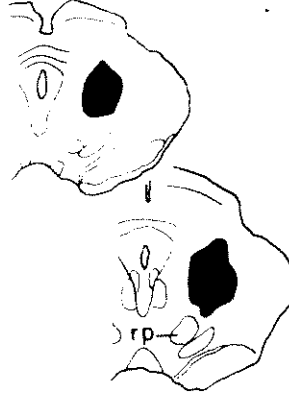
R 7



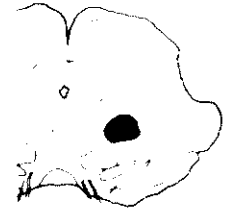
R 8



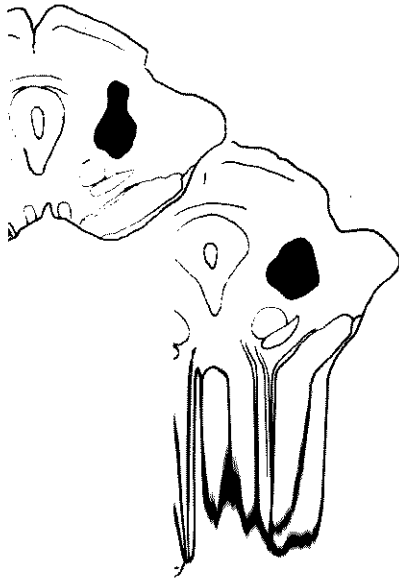
R 9



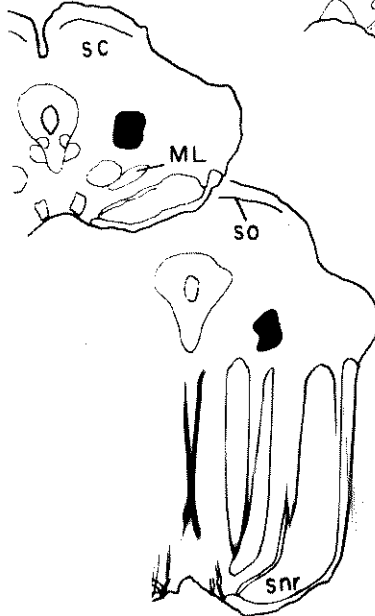
R 10



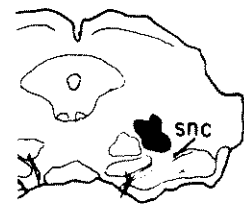
R 15



R 16



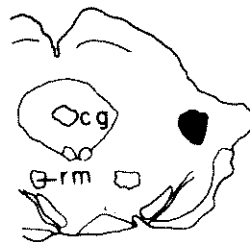
R 20



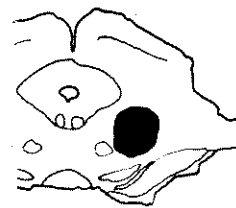
R 22



R 27



R 28



R 29



R 35



R 44



R 30

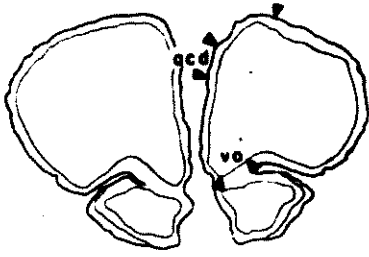


R 34

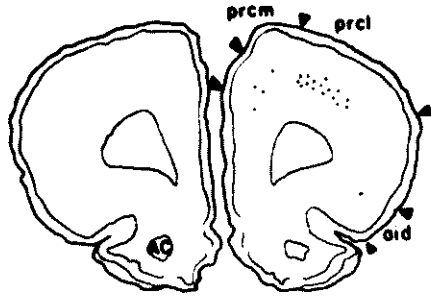


Fig. 2 - Representação semi-esquemática de cortes frontais selecionados mostrando a distribuição de neurônios retrogradamente marcados no caso R-22; uma fotografia do local da injeção neste caso está mostrada na Fig. 3B. Cada ponto representa um neurônio marcado.

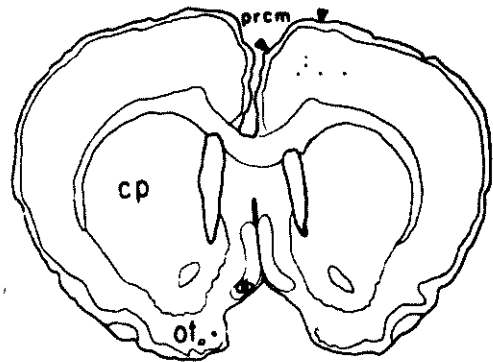
R 22



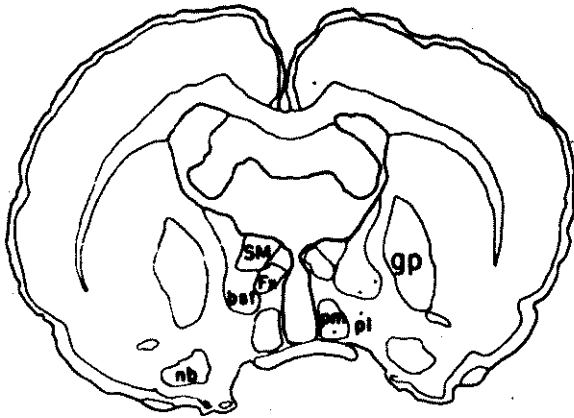
A



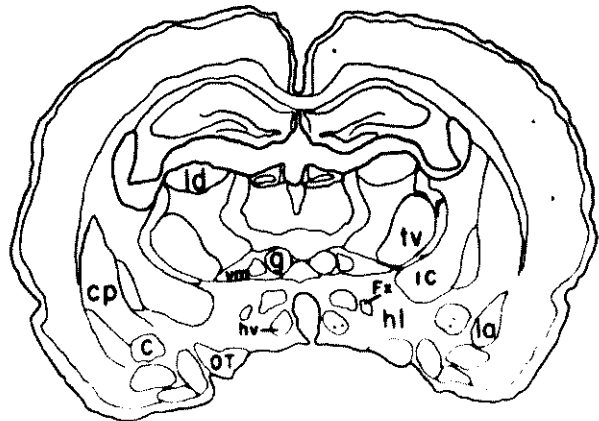
B



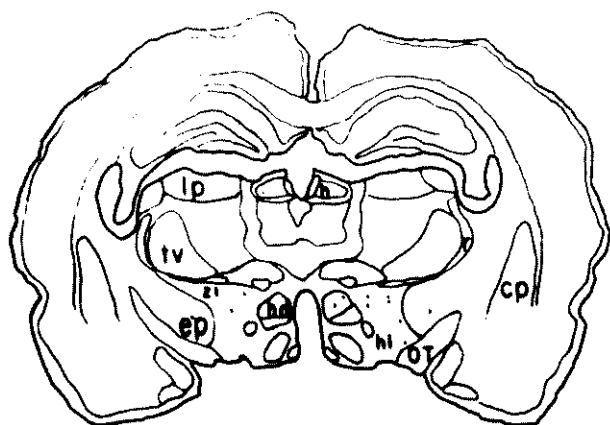
C



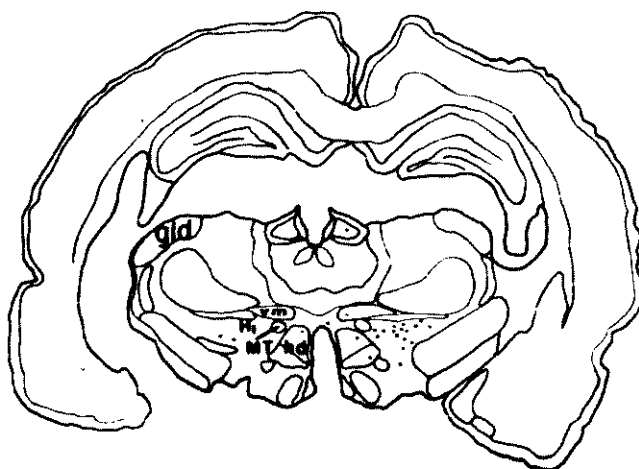
D



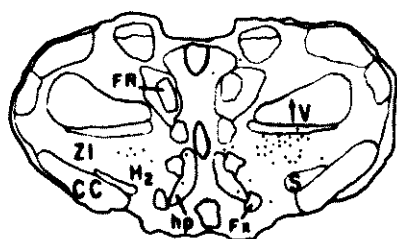
E



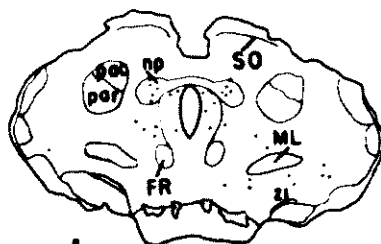
F



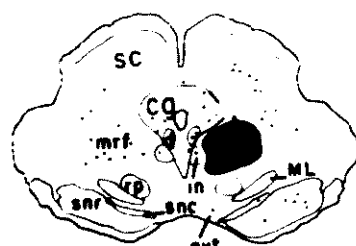
G



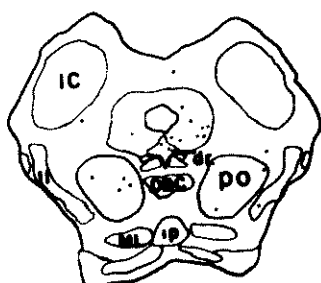
H



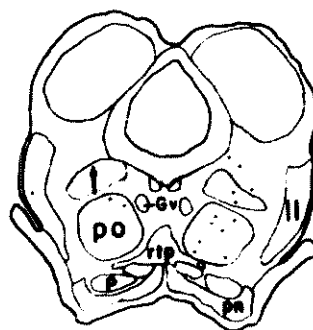
I



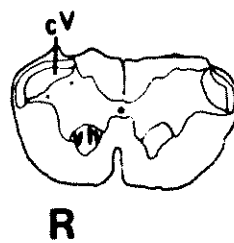
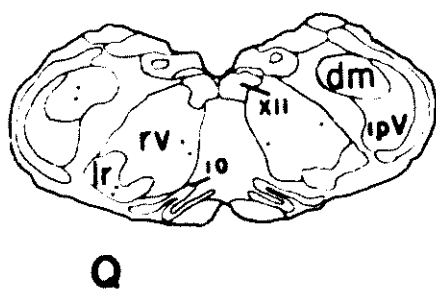
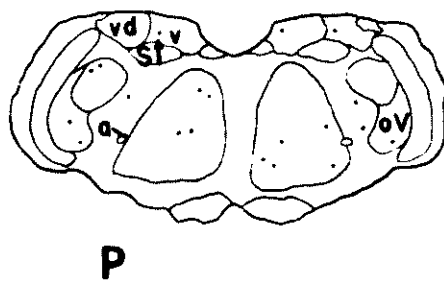
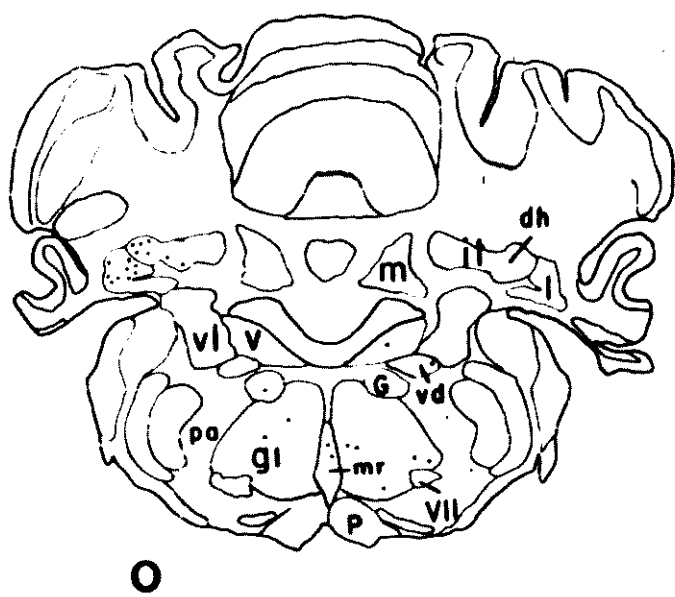
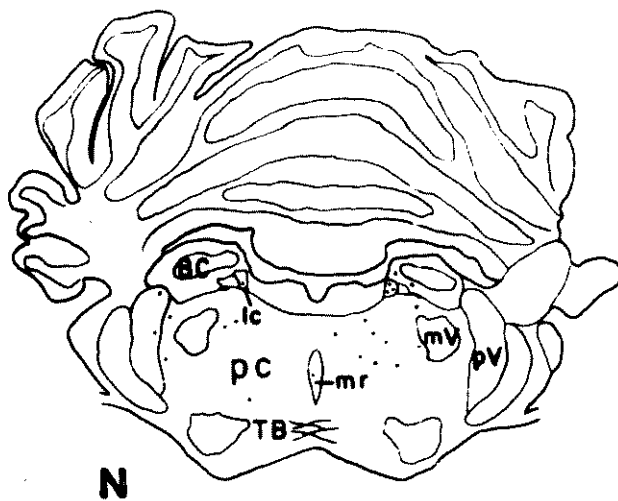
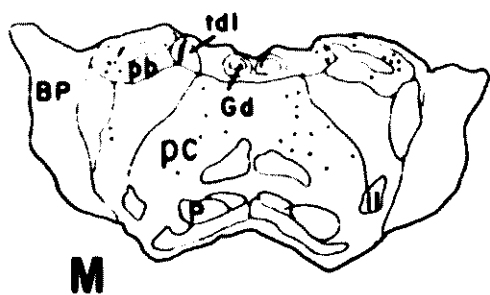
J



K



L



cários marcados puderam ser consistentemente observados em regiões do córtex cingulado caudais à área pré-frontal. A maioria dos pericários corticais marcados apresentava forma piramidal, intensa marcação, e situava-se na camada Va (ROSE, 1931) (Fig. 3H). Apenas muito ocasionalmente foram vistos neurônios marcados nas regiões corticais contralaterais correspondentes.

Ao compararmos as injeções de HRP de intensidade semelhante feitas em áreas rostrais (R-9, R-15) e caudais (R-28, R-34, R-44) da formação reticular mesencefálica (ver Figs. 1 e 3A, C), observamos que as primeiras acarretavam um grau maior de marcação cortical (por exemplo, o número total de células no córtex foi de 492 no caso R-9 e de apenas 31 no caso R-44), sugerindo uma organização topográfica da projeção corticorreticular. Além disso, nos casos em que a injeção foi caudal não encontramos praticamente nenhum neurônio marcado na área somatossensorial (SmI). Ao contrário, em casos de pequenas injeções de HRP localizadas na região lateral da formação reticular mesencefálica (R-27, R-29) (ver Figs. 1 e 3D), cerca de dois terços dos poucos pericários corticais marcados se localizavam na área somatossensorial (SmI).

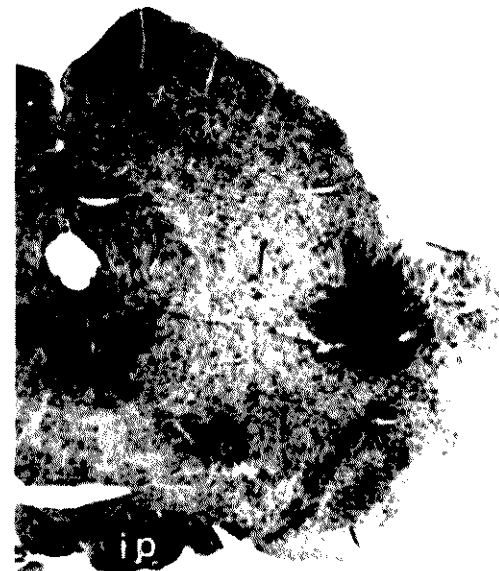
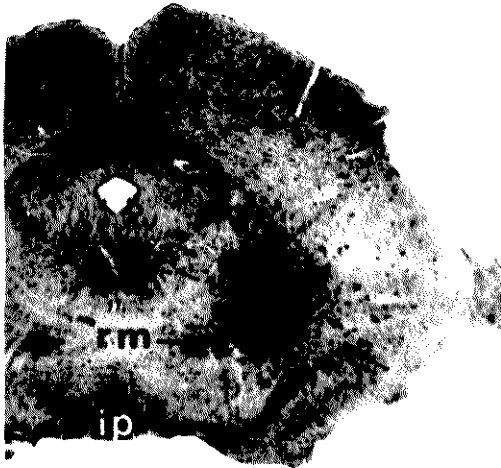
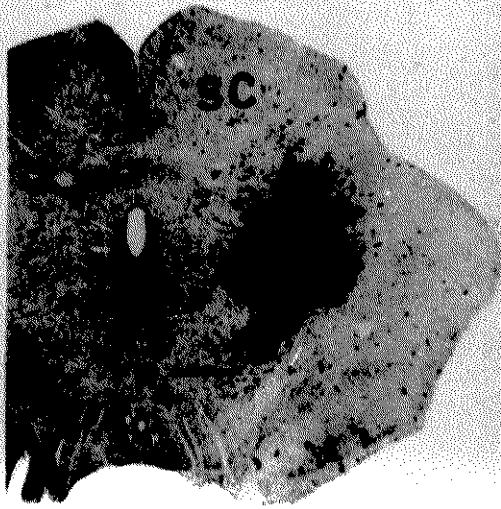
Complexo Amigdalóide e Núcleo Entopeduncular -

Uns poucos neurônios marcados foram consistentemente observados ipsilateralmente no núcleo central do complexo amigdalóide (Fig. 2E) e no núcleo entopeduncular (Fig. 2F). Em alguns poucos casos, encontramos esporádicos pericários marcados na área amigdalóide anterior ipsilateral e no núcleo entopeduncular contralateral.

Outras Estruturas - Em alguns casos observamos

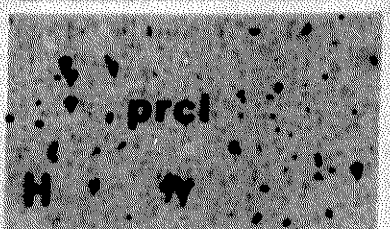
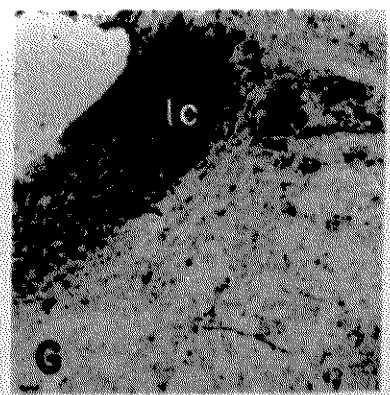
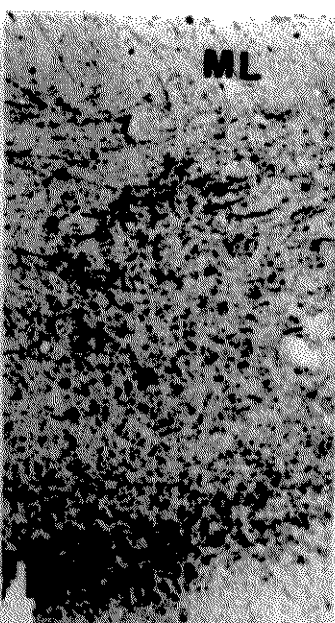
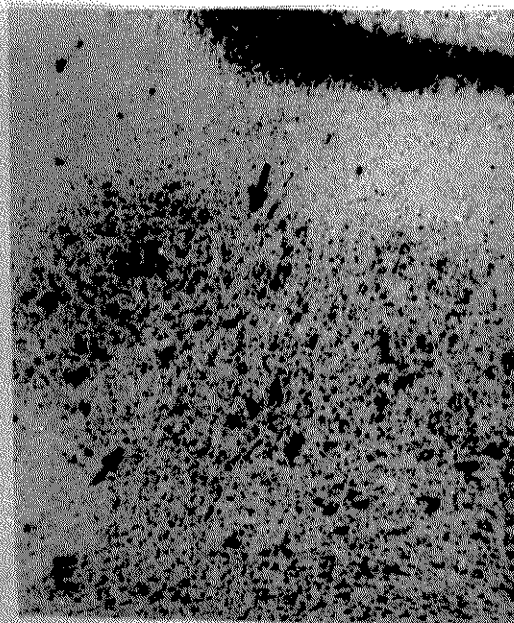
Fig. 3 - Fotomicrografia em campo claro dos locais de injeção de HRP (A-D) e de neurônios retrogradamente marcados (E-H).

A: caso R-9. B: caso R-22. C: caso R-28. D: caso R-27. E: núcleos cerebelares lateral e interpósito; as setas indicam o limite entre esses núcleos. F: região subtalâmica. G: locus coeruleus. H: área pré-central lateral do córtex cerebral.



C

ip



um número bastante pequeno de neurônios marcados bilateralmente na parte ventral do núcleo intersticial da estria terminal (Fig. 2D) e ipsolateralmente no tubérculo olfativo.

DIENCEFALO

Região subtalâmica - De longe o maior número de neurônios diencefálicos marcados foi visto na zona incerta e nos campos de Forel (número total de células no caso R-22: 193) (Figs. 2F - I e 3F) ipsolateralmente ao local de injeção. Na zona incerta, as células marcadas se distribuíam principalmente pelos distritos caudais, dorsais e mediais dessa estrutura subtalâmica, sendo particularmente numerosos no nível rostro-caudal do núcleo subtalâmico de Luys (Fig. 2H). Os neurônios marcados na zona incerta, juntamente com os do campo H_1 (o mais intensamente marcado dos campos de Forel), formavam uma faixa médio-lateral praticamente contínua que ocupava os aproximadamente dois terços mediais da região subtalâmica (Fig. 2G-H). Um número bem menor de neurônios marcados foi consistentemente observado nas estruturas contralaterais correspondentes (Fig. 2F-I). Nenhuma célula marcada foi encontrada no núcleo subtalâmico de Luys.

Área Pré-Óptica e Hipotálamo - Uns poucos neurônios marcados apareceram consistentemente nos núcleos pré-ópticos lateral e medial ipsolaterais (Fig. 2D); o mesmo sucedeu no caso dos seguintes núcleos hipotalâmicos ipsolaterais: lateral, anterior, ventromedial, dorsomedial e posterior (Fig. 2E-H). Em uns poucos casos observamos esporádicos neurônios marcados nos núcleos arqueado e pré-mamilar

dorsal ipsolaterais, e ocasionalmente tais células apareceram nos núcleos dorsomedial, lateral e posterior contralaterais.

Tálamo - A única estrutura talâmica na qual uns poucos neurônios marcados foram consistentemente observados foi o núcleo ventromedial ipsolateral (Fig. 2G). Em alguns casos, uns poucos pericários marcados foram vistos no núcleo habenu-lar lateral (Fig. 2F, G) e, muito esporadicamente, nos núcleos parafascicular e reuniens do tálamo. A marcação habenu-lar foi bilateral, ao passo que em todas as outras regiões ta-lâmicas as células marcadas situavam-se ipsolateralmente ao local de injeção. Não encontramos nunca nenhuma marcação neu-ronal no núcleo reticular talâmico.

MESENCÉFALO E REGIÃO DO ISTMO DO ROMBENCÉFALO

Núcleo Pré-tectal Anterior - Ocasionalmente de-tectamos, bilateralmente, uns poucos neurônios marcados na par-te reticular desse núcleo.

Substância Cinzenta Central - Muitos neurônios marcados foram encontrados nessa estrutura (número total de células ipsolaterais no caso R-22: 101), sobretudo ipsolateral-mente entre o nível rostro-caudal da transição mesodiencefálica (Fig. 2I) e o da decussação do braço conjuntivo (Fig. 2K).

Colículo Superior - Numerosas células marcadas ipsolaterais e poucas contralaterais apareceram no colículo su-perior, ocupando principalmente os dois terços laterais do es-trato cinzento profundo (número total de células ipsolaterais no caso R-22: 74) (Fig. 2J).

Núcleos Oculomotores Acessórios - Um número modesto de neurônios marcados foi consistentemente observado nos núcleos oculomotores acessórios, bilateralmente nos núcleos da comissura posterior (Fig. 2I) e no núcleo intersticial de Cajal (Fig. 2J), e sobretudo ipsolateralmente no núcleo de Darkschewitsch (Fig. 2J).

Núcleo Dorsal da Rafe - Uns poucos neurônios marcados foram consistentemente observados no distrito ipsolateral desse núcleo, enquanto células marcadas ocasionais apareceram na porção contralateral desse mesmo núcleo (Fig. 2K).

Substância Negra - Na maior parte dos casos encontramos nessa estrutura numerosos pericários marcados ipsolateralmente (Fig. 2J). De longe o maior número de tais células marcadas situava-se na parte reticular (número total de células no caso R-22: 51), mas uns poucos neurônios marcados foram consistentemente observados na parte compacta. Devemos salientar que algumas das poucas células marcadas aqui descritas como situadas na parte reticular poderiam também ser consideradas como pertencentes ao distrito designado como "parte lateral" por HANAWAY et alii (1970). A parte reticular contralateral apresentou, em alguns casos, esporádicas células marcadas.

Área Tegmental Ventral de Tsai - Essa estrutura mesencefálica apresentou consistentemente uns poucos neurônios marcados ipsolateralmente (Fig. 2J).

Formação Reticular Mesencefálica - Muitos neurônios marcados apareceram na formação reticular mesencefálica contralateral ao local de injeção (número total de células no

caso R-22: 103)(Fig.2J). O distrito ipsolateral da estrutura em ~~parte~~ apresentou também numerosas células marcadas, mas o seu número exato é de significado questionável, em função da possibilidade de captação somática direta da enzima a partir do local de injeção.

Núcleo Tegmental Pedunculopontino, parte compacta - Esse núcleo é nítido em material corado pelas técnicas de Nissl apenas em primatas. A região da formação reticular do rato que parece ser homóloga a esse núcleo (ver BECKSTEAD et alii, 1979; JACKSON & CROSSMAN, 1981) apresentou marcação celular ipsolateral escassa mas consistente (Fig. 2L), enquanto neurônios marcados foram detectados apenas ocasionalmente nessa região no lado contralateral.

Área Parabraquial - Neurônios marcados relativamente numerosos foram observados na área parabraquial ipsolateral (número total de células no caso R-22: 41), tanto na subdivisão medial como na lateral (Fig. 2M, N). No território contralateral correspondente observamos consistentemente um número menor de células marcadas.

Locus Coeruleus e Núcleo Tegmental Dorsolateral - Um pequeno número de células marcadas foi consistentemente observado ipsolateralmente nessas duas estruturas, mas apenas no locus coeruleus observamos ocasionalmente uns poucos neurônios marcados também no lado contralateral (Figs. 2M, N e 3G).

PONTE

Núcleos Reticulares Oral e Caudal da Ponte - Qua

se todos os neurônios marcados na ponte apareceram distribuídos bilateralmente por praticamente toda a extensão desses dois núcleos reticulares (o parcelamento e a terminologia gerais de BRODAL, 1957, e de VALVERDE, 1962, foram seguidos nesta tese no que diz respeito ao cerne da formação reticular) (Fig. 2K-N). Uma impressão quantitativa grosseira pode ser dada pelos números totais de células no caso R-22: núcleo reticular oral da ponte, 66 e 31 (ipso e contralateralmente, respectivamente); núcleo reticular caudal da ponte, 90 e 65.

Núcleo Sensitivo Principal do Trigêmeo e Núcleos do Lemnisco Lateral - Um número muito pequeno de neurônios marcados foi consistentemente observado bilateralmente nos núcleos do lemnisco lateral (Fig. 2K, L) e contralateralmente no núcleo sensitivo principal do trigêmeo (Fig. 2N); neste último, observamos ocasionalmente um número muito reduzido de células marcadas no lado ipsolateral ao local de injeção.

Núcleo Magno da Rafe - Uns poucos pericários marcados foram consistentemente vistos nesse núcleo, bilateralmente (Fig. 2N, O) (a nomenclatura aqui adotada para os núcleos pontobulbares da rafe corresponde à terminologia de VALVERDE, 1962).

Núcleo Reticular Tegmental da ponte - Nesse núcleo observamos, ocasionalmente, um número muito pequeno de células marcadas (Fig. 2L), em ambos os lados do tronco cerebral.

CEREBELO

Uma conspícua marcação neuronal foi consistentemente observada nos núcleos cerebelares profundos contralate-

rais ao sítio de injeção da HRP. De longe o maior número de células marcadas foi encontrado nos núcleos lateral e interpósito; neste último, a marcação neuronal ocorreu sobretudo na região denominada "dorsolateral hump" por GOODMAN et alii (1963) (Figs. 20 e 3E). Em uns poucos casos observamos um número muito pequeno de neurônios marcados no núcleo interpósito ipsolateral ao sítio de injeção; nenhuma marcação ipsolateral foi vista no núcleo denteado.

Ao compararmos os resultados de injeções de HRP de intensidade semelhante situadas em áreas rostrais (R-9, R-15) e caudais (R-28, R-34, R-44) da formação reticular mesencefálica, notamos, no caso das primeiras, um número maior de células marcadas nos núcleos lateral e interpósito (por exemplo, o número total de células nesses dois núcleos juntos foi de 82 no caso R-9 e de 7 no caso R-44), sugerindo algum grau de organização topográfica das projeções cerebelorreticulares cruzadas.

MEDULA OBLONGA

Núcleos Reticulares Gigantocelular, Ventral e Parvocelular - Observamos marcação neuronal bilateral distribuída por praticamente toda a extensão dessas três estruturas (Fig. 20-Q), principalmente no núcleo reticular gigantocelular, no qual o número total de células no caso R-22 foi de 42 e de 38 nos lados ipso e contralateral, respectivamente.

Núcleo Espinal do Trigêmeo - Em todos os casos foi vista marcação celular na porção caudal da parte oral do núcleo espinal do trigêmeo contralateral ao local de injeção

(nomenclatura de TORVIK, 1956) (Fig. 2P). Entretanto, observamos diferenças quantitativas entre os casos de injeções de HRP de intensidade semelhante rostrais (R-9, R-15) e caudais (R-28, R-34, R-44). Assim, nos casos rostrais o número de neurônios marcados na porção caudal contralateral da parte oral do núcleo espinal do trigêmeo foi maior do que o constatado nos casos caudais (por exemplo, o número total de células no território em questão foi de 71 no caso R-9 e de 3 no caso R-44). Um número muito reduzido de células marcadas foi consistentemente observado na parte oral do núcleo espinal do trigêmeo ipsilateral. Finalmente, o núcleo dorsomedial de ÅSTRÖM continha ocasionais neurônios marcados em ambos os lados do tronco cerebral (Fig. 2P, Q).

Complexo Nuclear Vestibular - Um número muito pequeno de neurônios marcados foi consistentemente observado nos núcleos vestibulares medial e descendente ipsolaterais (Fig. 20, P). Em uns poucos casos houve marcação esporádica nos núcleos vestibulares superior e lateral ipsolaterais, e, contralateralmente, nos quatro núcleos vestibulares principais.

Núcleos da Coluna Dorsal - Um número extremamente pequeno de neurônios marcados apareceu no núcleo cuneiforme contralateral na maioria dos casos, e no núcleo grácil contralateral em uns poucos animais.

Outras Estruturas - Um número muito pequeno de neurônios marcados foi ocasionalmente visto bilateralmente no núcleo obscuro da rafe e na porção rostral do núcleo do trato solitário, ipsilateralmente no núcleo pálido da rafe, e contralateralmente no núcleo reticular lateral.

Medula Espinal - Um número extremamente pequeno de neurônios marcados foi detectado na medula espinal, quase sempre na substância cinzenta contralateral de segmentos cervicais (Fig. 2R).

DISCUSSÃO

CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS

Provavelmente a fonte mais séria de incerteza na interpretação de nossos resultados é a possibilidade de que pelo menos parte da marcação neuronal retrógrada seja decorrente da captação de HRP por axônios que simplesmente trafegam pela formação reticular mesencefálica sem emitir terminais para essa estrutura. Várias observações sugerem que apenas axônios lesados captariam a enzima; por isso, supõe-se com frequência que as fibras de passagem não representam uma fonte de erro importante quando a injeção de HRP é feita com cânulas finas (ver, por exemplo, BRODAL, 1981). Entretanto, HERKENHAM & NAUTA (1977) indicaram que, pelo menos em alguns sistemas neurais, a técnica microeletroforética de aplicação da enzima utilizada no presente trabalho pode levar a uma captação axonal de HRP por mecanismos ainda não bem esclarecidos (lesão térmica? eletrolítica? química?). Como mencionaremos adiante, a maioria das fontes de aferências para a formação reticular mesencefálica aqui observadas já tinha sido identificada em estudos de rastreamento anterógrado. Entretanto, a interpretação de dados anterógrados também pode ser duvidosa, mormente quando se trata de um território como formação reticular. Assim, já está estabelecido que a técnica de marcação auto-radiográfica frequentemente não permite a distinção entre fibras marcadas e campos terminais marcados. Mesmo com a aplicação de métodos de impregnação pela prata a caracterização precisa de presumíveis campos terminais pode ser difícil em regiões atravessadas por um grande número de

fibras em degeneração.

Finalmente, deve-se ressaltar que grande cautela é requerida no estabelecimento de conclusões acerca da possível organização topográfica de projeções com base em diferenças quantitativas observadas em experimentos com a HRP. De fato, o número de neurônios marcados varia com a quantidade de HRP injetada e também em casos com injeções de intensidade semelhante, como enfatizam, recentemente, MORRELL et alii (1981). Por isso, no presente trabalho sugerimos a existência de diferenças topográficas reais apenas quando as cifras pertinentes eram pronunciadamente diferentes em casos com depósitos de HRP aparentemente semelhantes quanto ao tamanho e à intensidade avaliados à microscopia óptica.

É importante ressaltar ainda que nem todas as aferências para uma região estudada podem ser sempre demonstradas pelo método da HRP, por razões ainda incertas, entre as quais talvez se contem a incapacidade de um terminal para captar essa enzima, a diluição, pelo fluxo axoplásmico retrógrado de colaterais, do material captado, e o contacto insuficiente do terminal com a enzima (NAUTA et alii, 1974) (já se observou que o grau de concentração da HRP transportada de maneira retrógrada depende da densidade do campo axonal terminal disponível para a captação da enzima - JONES, 1975).

FONTES DE PROJEÇÕES PARA A FORMAÇÃO RETICULAR MESENCEFÁLICA

Os resultados experimentais acima relatados sugerem que, no rato, a porção rostral da formação reticular mesencefálica recebe suas principais aferências de neurônios situados no córtex cerebral, na zona incerta e nos campos de Forel,

na substância cinzenta central, nos núcleos reticulares oral e caudal da ponte e em núcleos cerebelares profundos. Substanciais projeções para o mesmo território da formação reticular mesencefálica parecem provir do colículo superior, da substância negra, da área parabraqiual, do núcleo espinal do trigêmeo e do núcleo reticular gigantocelular, enquanto muitas outras estruturas cerebrais, entre as quais o locus coeruleus e o complexo nuclear da rafe, parecem representar fontes modestas mas consistentes de projeções para a porção rostral da formação reticular mesencefálica. Quanto a porções mais caudais da formação reticular mesencefálica, pudemos observar que o padrão geral de suas aferências se assemelha ao delineado acima, com apenas três exceções: o córtex cerebral, os núcleos cerebelares profundos e o núcleo espinal do trigêmeo parecem representar fontes relativamente modestas de projeções para esses distritos mais caudais da formação reticular mesencefálica.

PROSENCEFALO

A importância fisiológica das projeções prosencefálicas descendentes ipsolaterais para a formação reticular mesencefálica é dramaticamente ilustrada pelos resultados obtidos no gato com a preparação "mesencéfalo isolado" (ZERNICKI et alii, 1970). De fato, esses autores mostraram que em gatos nos quais o mesencéfalo tinha sido caudalmente isolado do resto do tronco cerebral por uma transecção pré-trigeminal, uma transecção adicional pré-mesencefálica levava a uma ausência quase total de atividade de fundo na porção ipsolateral da for

mação reticular mesencefálica. Nossos resultados indicam que, de longe, as principais fontes de aferências prosencefálicas descendentes para a formação reticular mesencefálica correspondem a certos distritos ipsolaterais do córtex cerebral e da região subtalâmica.

Córtex cerebral - O maior número de neurônios marcados no córtex cerebral foi encontrado na área pré-central lateral, que parece corresponder basicamente à área 10 de KRIEG (1946); as conexões eferentes dessa região do cérebro do rato não foram ainda, ao que saibamos, sistematicamente estudadas com técnicas de mapeamento anterógrado. Após grandes injeções de substâncias marcadoras fluorescentes na medula espinhal e em uma região mesencefálica que incluía a formação reticular mesencefálica, CATSMAN-BERREVOETS & KUYPERS (1981) observaram que, no rato, a camada V da área pré-central lateral apresentava muitos neurônios duplamente marcados. Esse fato sugere a possibilidade de que pelo menos parte da conexão corticorreticular em questão possa ser estabelecida por colaterais de neurônios corticoespinais. De um ponto de vista funcional, é interessante notar que parte da área pré-central lateral foi identificada por HALL & LINDHOLM (1974), em estudos fisiológicos no rato, como uma área motora envolvida particularmente em movimentos do focinho, da mandíbula, dos lábios, da língua e das vibrissas. Em conjunto, essas observações morfológicas e fisiológicas sugerem a interessante possibilidade de que quando comandos motores deixam o córtex para iniciar ou modificar movimentos do focinho e das vibrissas, de grande importância no comportamento exploratório do rato (consultar WELKER, 1964), parte dos impulsos descendentes seja canalizada para a forma-

ção reticular mesencefálica e mobilize o "sistema ativador ascendente".

A área cortical que recebe projeções do núcleo talâmico mediodorsal, o chamado córtex pré-frontal (consultar KRETEK & PRICE, 1977; BECKSTEAD, 1979), é, segundo nossos resultados, o local de origem de uma projeção apenas moderadamente densa para a formação reticular mesencefálica, observação essa que está em consonância com estudos auto-radiográficos anteriores realizados em ratos (BECKSTEAD, 1979). Deve-se notar que pelo menos algumas das lesões descritas por VALVERDE (1962) como abrangendo a "área motora" no rato parecem ter envolvido a parte medial do córtex pré-frontal (consultar a Figura 17 de VALVERDE, 1962). Entretanto, em contraste com nossas observações e com os resultados de BECKSTEAD (1979), VALVERDE (1962), utilizando o método de NAUTA, relata uma projeção predominantemente contralateral para a formação reticular mesencefálica; as razões dessa discrepância não são inteiramente claras.

As presentes observações segundo as quais apenas uns poucos neurônios situados na área cortical que parece corresponder à área somatossensorial (SmI) definida por WELKER (1971, 1976) se projetam para a formação reticular mesencefálica estão de acordo com dados de um estudo recente em que CATSMAN-BERREVOETS & KUYPERS (1981) investigaram, com marcadores fluorescentes, a projeção corticomeseencefálica no rato. É importante ressaltar que nos dois únicos casos da presente tese em que o maior contingente dos neurônios corticais marcados situava-se na área SmI (R-27 e R-29) a injeção de HRP se restringiu a porções laterais da formação reticular mesencefálica; essa observação se coaduna com dados de VALVERDE (1962), que ob-

servou, com a técnica de Nauta, degeneração na parte lateral, ipsolateral, da formação reticular mesencefálica, após lesão aparentemente centrada na área SmI.

A projeção um tanto esparsa para a formação reticular mesencefálica que provém de regiões do córtex cingula do caudais à área pré-frontal, sugerida por nossas observações, já foram descritas no rato com o auxílio de técnicas de impregnação argêntea (DOMESICK, 1969).

Os presentes dados sugerem que as projeções corticais terminam principalmente na porção rostral da formação reticular mesencefálica, o que se coaduna com o estudo de MIZUNO et alii (1968) sobre as projeções do giro orbital no gato com a técnica de Nauta.

Região subtalâmica - Nossos resultados indicam que a zona incerta e os campos de Forel são fontes de aferências maciças para a formação reticular mesencefálica. Tal projeção já foi descrita em trabalhos nos quais se utilizou a degeneração anterógrada de fibras no rato (HUANG & MOGENSON, 1972) e no gato (KAELBER & SMITH, 1979), em estudos com métodos auto-radiográficos no rato (RICARDO, 1981), e em experimentos eletrofisiológicos em gatos (STERIADE et alii, 1980; ROBERT & STERIADE, 1981). A ausência de marcação retrógrada nos neurônios do núcleo subtalâmico de Luys, constatada em nosso trabalho, está em acordo com resultados auto-radiográficos obtidos por RICARDO (1980), que sugerem que, no rato, se essas projeções existem, devem ser bastante escassas.

Hipotálamo e região pré-óptica - Estudos auto-radiográficos recentes no rato (SAPER et alii, 1979; HOSOYA & MATSUSHITA, 1981), assim como trabalhos nos quais se utilizou

a técnica de degeneração anterógrada (NAUTA, 1958), indicaram uma projeção para a formação reticular mesencefálica oriunda da área hipotalâmica lateral. Nossos resultados confirmam a existência de tal projeção, mas sugerem que ela é provavelmente relativamente modesta e se origina em todos os níveis rostro-caudais do hipotálamo lateral.

O nosso material sugere que projeções bastante escassas para a formação reticular mesencefálica se originam em pericários situados nas áreas pré-ópticas lateral e medial e nos núcleos hipotalâmicos anterior, ventromedial, dorsomedial e posterior. Estudos auto-radiográficos no rato das eferências das áreas pré-ópticas lateral e medial (CONRAD & PFAFF, 1976a; SWANSON, 1976), da área hipotalâmica anterior (CONRAD & PFAFF, 1976b; SAPER *et alii*, 1978), e do núcleo hipotalâmico ventromedial (SAPER *et alii*, 1976; KRIEGER *et alii*, 1979), ou são inteiramente negativos, ou indicam apenas a existência de projeções bastante escassas para a formação reticular mesencefálica.

Vê-se, portanto, que nossos dados, considerados em conjunto com os citados resultados da literatura, sugerem que o complexo pré-óptico-hipotalâmico no rato é fonte de projeções diretas razoavelmente escassas para a formação reticular mesencefálica. A situação talvez seja algo diversa no gato, uma vez que, nessa espécie, PARENT & STERIADE (1981) encontraram um número significativo de neurônios marcados nos territórios periventricular e medial do complexo pré-óptico-hipotalâmico após injeções de HRP na formação reticular mesencefálica. De qualquer forma, entretanto, não podemos esquecer que o complexo pré-óptico-hipotalâmico tem, quase certamente, amplo

acesso à formação reticular mesencefálica mediado, por exemplo, pelas maciças projeções de núcleos desse complexo para a substância cinzenta periaquedutal (consultar, por exemplo, NAUTA, 1958; NAUTA & HAYMAKER, 1969; CONRAD & PFAFF, 1976a; SAPER et alii, 1976), que, por sua vez, se projeta extensamente para a formação reticular mesencefálica. (ver adiante).

Tálamo - A única estrutura talâmica que foi consistentemente indicada pelos presentes dados como fonte de uma (modesta) projeção para formação reticular mesencefálica é o núcleo ventromedial. Em um estudo auto-radiográfico recente, HERKENHAM (1979) relata a presença de alguma marcação na formação reticular mesencefálica após maciças injeções de aminoácidos triciados no núcleo ventromedial do tálamo. Observamos ocasionalmente em nosso material, bilateralmente, células marcadas no núcleo habenular lateral; HERKENHAM & NAUTA (1979) descreveram, em um estudo auto-radiográfico no rato, uma projeção bilateral esparsa desse núcleo para a formação reticular mesencefálica. Um achado negativo desta tese merece alguma ênfase. De fato, reforçando dados anteriores obtidos com o método de Golgi por SCHEIBEL & SCHEIBEL (1966), GROFOVÁ et alii (1978) relataram recentemente resultados com a HRP no gato que sugerem a existência de uma projeção do núcleo reticular do tálamo para a formação reticular mesencefálica. Não se pôde, no presente material, obter nenhuma evidência da existência de uma tal projeção. Essa discrepância poderia, é claro, refletir uma diferença interespecífica, mais é digno de nota o fato de que JONES (1975) não conseguiu demonstrar essa possível projeção em um estudo auto-radiográfico cuidadoso no gato e no macaco.

Complexo Amigdalóide e Núcleo Entopeduncular -

A primeira descrição de uma projeção do complexo amigdalóide para o tronco cerebral foi feita por HOPKINS (1975), após injeções maciças de HRP que incluíam o tegmento mesencefálico. Mais recentemente, em um estudo auto-radiográfico no rato, KRETTEK & PRICE (1978) sugeriram a existência de uma projeção esparsa do núcleo central do complexo amigdalóide para a formação reticular mesencefálica. Com base em material auto-radiográfico, NAUTA (1979) indicou a possível existência de uma projeção escassa do núcleo ventopeduncular para a formação reticular mesencefálica no gato. Os nossos dados estão de acordo com ambas as sugestões; uma vez que marcação neuronal retrógrada muito pouco pronunciada mas consistente pôde ser observada nos dois núcleos telencefálicos em pauta após injeções de HRP na formação reticular mesencefálica.

MESENCÉFALO

Os resultados da presente tese indicam três estruturas mesencefálicas como fontes importantes de aferências para a formação reticular mesencefálica: a substância cinzenta central, o colículo superior e a substância negra. A existência dessas conexões é fortemente sugerida também por pesquisas anteriores encontradas na literatura.

Assim, estudos de degeneração anterógrada em ratos (CHI, 1970) e em gatos (NAUTA, 1958; CHI, 1970; HAMILTON, 1973) revelaram a existência de um grande número de fibras que se irradiam a partir da substância central para a formação reticular mesencefálica como componentes da clássica "radiatio grisea tegmenti" de WEISSCHEDEL. Dados auto-radiográficos

cos mais recentes, em gatos, confirmam a existência dessa projeção (RUDA, 1975). Em boa concordância com as observações de CHI (1970), os nossos dados indicam que apenas a porção periaquedutal da substância cinzenta central é fonte de uma projeção maciça para a formação reticular mesencefálica. De fato, muito poucos neurônios marcados foram encontrados na substância cinzenta periventricular diencefálica caudal, observação essa que está em desacordo com os resultados de PARENT & STERIADE (1981), que injetaram HRP na formação reticular mesencefálica de gatos; essa discrepância pode, talvez, refletir uma diferença interespecífica.

Os achados de KAWAMURA et alii (1974) com degeneração anterógrada no gato já tinham indicado a existência de uma considerável projeção das camadas profundas do colículo superior para a formação reticular mesencefálica. Essa conexão foi posteriormente confirmada, na mesma espécie, por estudos auto-radiográficos de GRAHAM (1977), que apontou especificamente o estrato cinzento central como a principal fonte da projeção em pauta, o que está de acordo com as presentes observações com HRP no rato. É interessante ressaltar aqui que EDWARDS e seus colaboradores propuseram recentemente a idéia de que as camadas celulares profundas do colículo superior deveriam ser consideradas, mais precisamente, como parte da formação reticular, em vez de serem encaradas como um território do colículo superior propriamente dito (EDWARDS et alii, 1979; EDWARDS, 1980). Essa sugestão é reforçada ao compararmos o quadro geral das aferências da formação reticular mesencefálica a que chegamos na presente tese com o revelado por EDWARDS et alii, (1979) em seu estudo com HRP das proje-

ções das camadas profundas do colículo superior do gato. Assim, ambos os territórios parecem receber aferências de um conjunto grande e diversificado de estruturas cerebrais, e muitas das fontes de fibras parecem ser compartilhadas pela formação reticular mesencefálica e pelas camadas profundas do colículo superior; as muitas diferenças que, por outro lado, existem entre os dois conjuntos de fontes de aferências, poderiam ser encaradas à luz do fato de que diferentes estruturas do cerne reticular do tronco cerebral sabidamente exibem claras especificidades hodológicas (ver, por exemplo, BRODAL, 1981; HOBSON & BRAZIER, 1980).

Uma projeção da substância negra para a formação reticular mesencefálica foi descrita em estudos com HRP no gato (RINVIK et alii, 1976) e com a técnica auto-radiográfica no rato (BECKSTEAD et alii, 1979). De acordo com os resultados de RINVIK et alii (1976) apenas a parte reticular en via tais projeções, mas BECKSTEAD et alii (1979) apresentaram evidências de que tanto a parte compacta como a reticular são fontes de projeções para a formação reticular mesencefálica. Nossos resultados com a HRP sugerem que a parte reticular é, de longe, a principal fonte da projeção em questão, mas que a parte compacta parece, por sua vez, emitir uma projeção bastante escassa para a formação reticular mesencefálica. Devemos salientar que, enquanto os neurônios nigrotectais tendem a se situar na porção ventral da parte reticular (FAULL & MEHLER, 1978; BENTIVOGLIO et alii, 1979), os neurônios nigroreticulares marcados no presente trabalho não se restringem a nenhuma região específica da parte reticular. Estudos fisiológicos recentes indicaram que a formação reticular mesencefáli

ca dorsal e as camadas profundas adjacentes do colículo superior constituem uma área essencial para a expressão de comportamentos motores eliciados a partir da substância negra (IMPERATO et alii, 1981), e é possível que esse mecanismo dependa da projeção em questão. BECKSTEAD et alii (1979) descreveram, com base em material auto-radiográfico no rato, uma projeção da área tegmental ventral de TSAI para a formação reticular mesencefálica. A existência de tal projeção é apoiada por nossos resultados com a HRP; deve-se notar, entretanto, que essa conexão parece ser muito menos densa do que a projeção da parte reticular da substância negra para a formação reticular mesencefálica.

Nossos resultados indicam a existência de uma projeção conspícua para a formação reticular mesencefálica oriunda do distrito contralateral dessa mesma estrutura, o que está de acordo com o trabalho auto-radiográfico em que WALBERG (1974) descreveu projeções reticulorreticulares cruzadas na formação reticular mesencefálica do gato.

Entre os territórios celulares do mesencéfalo que, de acordo com os presentes dados, enviam projeções escasas para a formação reticular mesencefálica, o núcleo dorsal da rafe merece ênfase. Deve-se notar que observações auto-radiográficas anteriores no rato (AZMITIA & SEGAL, 1978) são compatíveis com a existência de uma projeção do núcleo dorsal da rafe para a formação reticular mesencefálica.

PROJEÇÕES ASCENDENTES PARA A FORMAÇÃO RETICULAR MESENCEFÁLICA

REGIÃO DO ISTMO

De acordo com os nossos resultados, o maior contingente, de longe, de projeções que, a partir dessa região, se dirigem para a formação reticular mesencefálica, parece originar-se nas divisões medial e lateral da área parabraquial. Essa conclusão é compatível com os resultados de recentes estudos auto-radiográficos das conexões eferentes da área parabraquial no rato (NORGREN, 1976; SAPER & LOEWY, 1980).

Os resultados de estudos histoquímicos (LINDVALL & BJÖRKLUND, 1974) e auto-radiográficos (JONES & MOORE, 1977) em ratos, assim como os obtidos pelo método de Fink-Heimer em gatos (McBRIDE & SUTIN, 1976), sugerem a existência de uma projeção do locus coeruleus para a formação reticular mesencefálica; essa sugestão é consentânea com as presentes observações.

ESTRUTURAS RETICULARES

Nossos resultados indicam que todas as estruturas pertencentes ao cerne da formação reticular pontina e bulbar enviam projeções ascendentes para a formação reticular mesencefálica, e que as projeções (bilaterais) oriundas dos núcleos reticulares oral e caudal da ponte parecem ser particularmente proeminentes. Uma projeção ainda considerável, embora menos densa, parece originar-se no núcleo reticular gigantocelular, enquanto projeções bastante escassas parecem pro-

vir dos núcleos reticulares ventral e parvocelular. A existência de tais conexões longitudinais ascendentes reticulorreticulares foi evidenciada em experimentos de degeneração anterógrada por NAUTA & KUYPERS (1958) no gato. De fato, esses autores relataram a ocorrência de degeneração terminal na formação reticular mesencefálica após lesões dos núcleos reticulares oral e caudal da ponte, gigantocelular, e ventral. Mais recentemente, GRAYBIEL (1977), em trabalho autoradiográfico no gato, também descreveu conexões reticuloreticulares longitudinais ascendentes envolvendo o tegmento paramediano. Consentâneo com as observações anatômicas acima mencionadas é o fato de MANCIA et alii (1974), em experimentos eletrofisiológicos no gato, terem registrado efeitos de curta latência em unidades isoladas na formação reticular mesencefálica após estimulação elétrica de uma região reticular caudal que abarcava sobretudo o núcleo reticular gigantocelular; também significativo é o fato de que muitos dos neurônios reticulares bulbares registrados por esses autores puderam ser ativados antidromicamente a partir da formação reticular mesencefálica.

CEREBELO

Os resultados que obtivemos caracterizam os núcleos cerebelares profundos contralaterais (principalmente os núcleos lateral e interpósito) como fontes importantes de aferências para a região rostral da formação reticular mesencefálica. Essa conclusão é concordante com trabalhos previamente publicados nos quais se observou degeneração anteró

grada terminal na formação reticular mesencefálica após lesões do braço conjuntivo no rato (FAULL & CARMAN, 1978) e no macaco (MILLER & STROMINGER, 1977) e também após lesões restritas aos núcleos cerebelares profundos em gatos (COHEN et alii, 1958) e em macacos (MILLER & STROMINGER, 1977; STANTON, 1980).

AGRUPAMENTOS CELULARES SENSORIAIS

O único agrupamento de neurônios sensoriais secundários que, de acordo com nossas observações, parece projetar-se significativamente para a formação reticular mesencefálica é o núcleo espinal do trigêmeo, e essa projeção parece originar-se quase que exclusivamente da porção caudal da parte oral desse núcleo. NAUTA & KUYPERS (1958), em um estudo baseado em degeneração anterógrada no gato, já haviam descrito uma projeção para a formação reticular mesencefálica oriunda do núcleo espinal do trigêmeo.

O núcleo sensitivo principal do trigêmeo, os núcleos do lemnisco lateral, os núcleos vestibulares medial e descendente, o núcleo cuneiforme e a substância cinzenta dos segmentos cervicais da medula espinal parecem, a julgar pelos presentes dados com HRP, emitir projeções extremamente escassas para a formação reticular mesencefálica. Correspondentemente, trabalhos baseados em técnica de rastreamento anterógrado das conexões eferentes dessas estruturas são ou totalmente negativos, ou sugerem a existência de projeções bastante escassas para a formação reticular mesencefálica (consultar, por exemplo, NAUTA & KUYPERS, 1958; MEHLER, 1969; SMITH, 1973;

FELDMAN & KRUGER, 1980; KUDO, 1981).

COMPLEXO DA RAFE

Além da projeção oriunda do núcleo dorsal da ra fe à qual já nos referimos, verificamos, no presente trabalho, que núcleos mais caudais do complexo da rafe, principalmente o núcleo magno, também parecem projetar-se escassamente para a formação reticular mesencefálica. Embora estudos experimen - tais das projeções dos núcleos caudais da rafe com técnicas de degeneração anterógrada sejam de difícil execução, PETROV VICKY et alii (1981), em um trabalho dessa natureza no rato, indicaram recentemente a existência de uma projeção dos núcleos em pauta para a formação reticular mesencefálica.

ALGUMAS POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES FUNCIONAIS

Como se poderia prever a partir do conhecimento da ampla distribuição das conexões eferentes ascendentes e descendentes da formação reticular mesencefálica (EDWARDS , 1975; EDWARDS & de OLMOS, 1976; VEAZEY & SEVERIN, 1980 a, b), essa estrutura já foi implicada em um grande número de domínios fisiológicos. Entretanto, é provavelmente correto afirmar-se que os mecanismos neurais envolvidos no ciclo vigília-sono constituem o campo de pesquisa mais amplamente explorado no qual a formação reticular mesencefálica é encarada como uma estrutura crítica (consultar, para revisões, MORUZZI, 1972 ; HOBSON & BRAZIER, 1980). De fato, uma longa série de experimentos indica fortemente que os neurônios da formação reticu

lar mesencefálica dão origem a um sistema ascendente de projeções crucialmente envolvidas na iniciação e na manutenção do estado de vigília e do quadro de dessincronização eletrocor-ticográfica normalmente associado a esse estado. Uma conclusão bastante importante sugerida por várias observações experimentais é a de que a atividade dos neurônios da formação reticular mesencefálica presumivelmente vinculados ao chamado "sistema ativador ascendente" não é uma propriedade intrínseca desses neurônios, mas depende fundamentalmente de impulsos que vão ter à formação reticular mesencefálica a partir de variadas estruturas neurais (ver MORUZZI, 1972).

Os breves comentários que faremos adiante pretendem indicar, no contexto acima delineado, a possível importância funcional de algumas das conexões descritas na presente tese. É interessante ressaltar, neste ponto, que a região da formação reticular mesencefálica a partir da qual se podem classicamente eliciar fenômenos de ativação com particular facilidade no gato parece, em termos topográficos, corresponder de perto à área injetada em alguns dos presentes experimentos com a HRP (compare-se, por exemplo, a Fig.4B do trabalho de MORUZZI & MAGOUN, 1949, com a Fig.3B desta tese).

Com relação às vias que poderiam possivelmente conduzir informações sensoriais para a formação reticular mesencefálica, nossos resultados indicam que o único agrupamento de neurônios sensoriais de segunda ordem que parece ter um acesso direto importante à formação reticular mesencefálica é o núcleo espinal do trigêmeo. Parece significativo nesse contexto lembrar que em experimentos fisiológicos no gato ROGER et alii (1956) verificaram que, para a manutenção tônica de

um estado de vigília, as aferências trigeminais parecem ser mais importantes do que as olfativas, visuais, acústicas, vestibulares ou vagais. Entretanto, não há dúvida de que canais sensoriais outros que não o trigeminal também são capazes de modular o "sistema ativador ascendente" ao nível da formação reticular mesencefálica. Estudos eletrofisiológicos mostraram que neurônios reticulares mesencefálicos respondem a estímulos visuais, auditivos, proprioceptivos, somatossensoriais e olfativos (GROVES et alii, 1973; MOTOKIZAWA, 1974; TAMÁSY et alii, 1980; FUKUSHIMA et alii, 1981). Nesse contexto, é interessante notar que já está bem estabelecido (consultar, por exemplo, BRODAL, 1981) o acesso razoavelmente direto que muitas modalidades de informações sensoriais extero, próprio e interoceptivas têm a diferentes estruturas caracterizadas nesta tese como fontes importantes de projeções para a formação reticular mesencefálica; entre tais estruturas devem ser enfatizados os núcleos reticulares bulbopontinos mediais, o colículo superior e a área parabraquial.

É particularmente interessante o fato de que muitas das estruturas cerebrais descritas em nosso trabalho como fontes de projeção direta para a formação reticular mesencefálica já foram, em estudos fisiológicos, implicadas nos mecanismos altamente complexos de regulação do ciclo vigília-sono. Entre essas estruturas poderíamos mencionar: os núcleos reticulares oral da ponte (FAVALE et alii, 1961), caudal da ponte (DAVID & GREWAL, 1972) e gigantocelular (MANCIA et alii, 1974), a região subtalâmica (STARZL et alii, 1951; ADEY & LINDSLEY, 1959; NAQUET et alii, 1966), o córtex cerebral (BREMER & TERZUOLO, 1954; SEGUNDO et alii, 1955), o cerebelo (de ANDRÉS & REINOSO-SUÁREZ, 1979), a área parabraquial (SAITO

et alii, 1977), o complexo da rafe (JOUVET, 1972; PUIZILLOUT & TERNAUX, 1974) e o locus coeruleus (JOUVET, 1972). É importante observar que em quase todos esses trabalhos fisiológicos os respectivos autores admitem que a participação das estruturas que estudaram na regulação do ciclo vigília-sono envolve provavelmente uma modulação da atividade dos neurônios reticulares mesencefálicos associados ao "sistema ativador ascendente". É claro que muitas das conexões aferentes da formação reticular mesencefálica indicadas pelos presentes achados representam vias diretas por meio das quais uma tal modulação poderia ser exercida.

SUMÁRIO

Uma longa série de experimentos fisiológicos indica fortemente que os neurônios da formação reticular mesencefálica dão origem a um "sistema ativador ascendente" que se projeta difusamente sobre o córtex cerebral e está conspicuamente envolvido no controle do ciclo vigília-sono e de praticamente todos os outros aspectos da chamada "atividade nervosa superior". Parece claro também que grande parte da atividade espontânea dos neurônios da formação reticular mesencefálica não é autóctone, e depende fundamentalmente de projeções que vêm ter a esses neurônios a partir de estruturas rostrais ou caudais ao mesencéfalo. Do exposto pode-se inferir que um conhecimento preciso das conexões aferentes da formação reticular mesencefálica é, sem dúvida, vital para o progresso das idéias em múltiplos domínios funcionais de grande importância.

As conexões aferentes da formação reticular mesencefálica foram estudadas experimentalmente no rato com o auxílio da técnica de rastreamento retrógrado com a peroxidase do rábano silvestre (HRP). Os resultados sugerem que as principais aferências à porção rostral da formação reticular mesencefálica provêm do córtex cerebral, da zona incerta e dos campos de Forel, da substância cinzenta central, dos núcleos reticulares oral e caudal da ponte e de núcleos cerebrelares profundos. Aferências substanciais ao mesmo território da formação reticular mesencefálica parecem provir do colículo superior, da substância negra, da área parabraquial, do nú

cleo espinal do trigêmeo e do núcleo reticular gigantocelular, enquanto várias outras estruturas cerebrais, entre as quais o locus coeruleus e o complexo da rafe, parecem representar fontes adicionais modestas mas consistentes de projeções para o distrito em pauta da formação reticular mesencefálica. As conexões aferentes de porções mais caudais da formação reticular mesencefálica obedecem, aparentemente, ao padrão geral acima descrito, com apenas três exceções: o córtex cerebral, núcleos cerebelares profundos e o núcleo espinal do trigêmeo parecem representar fontes relativamente apenas modestas de projeções para esses níveis caudais da formação reticular mesencefálica.

Os resultados desta tese, confirmando e aprofundando os de muitos outros investigadores, caracterizam um conjunto de vias nervosas que parece constituir uma parte importante do substrato anatômico do ciclo vigília-sono e de muitas outras funções neurais ditas "superiores".

APÊNDICE

CONSIDERAÇÕES METODOLÓGICAS

Vários métodos têm sido utilizados para o estudo da organização intrínseca e da hodologia da formação reticular. A descoberta, feita por Nissl em 1884, de que os corpos celulares dos neurônios tinham afinidade pelo azul de metileno, foi o primeiro passo para identificar os pericários neuronais e se proceder ao parcelamento citoarquitetônico de regiões cerebrais em agrupamentos circunscritos de células que possuísem características citológicas comuns ("núcleos"). Essa técnica, entretanto, não permitia a visualização dos prolongamentos celulares e de suas conexões. Ao mesmo tempo, Golgi desenvolvia seu método de impregnação neuronal com sais de prata; essa técnica, apesar da vantagem de permitir a visualização dos prolongamentos celulares, podia levar a uma concepção distorcida da organização neural por ser um método seletivo, ou seja, por promover a visualização de apenas algumas células de uma determinada região. A técnica de Golgi fornece, entretanto, valiosas informações quanto à forma e ao arranjo dos processos neuronais, sendo, ainda, a única de que dispomos até hoje para o exame das conexões intrínsecas (curtas) de um determinado território.

As técnicas experimentais de rastreamento anterógrado de conexões nervosas surgiram a partir da descoberta (devida a WALLER, no século passado) de que à transecção de um axônio seguia-se a degeneração definitiva de sua porção distal, isolada do pericário. MARCHI, em torno de 1890, desenvolveu um método para demonstrar histologicamente, por meio do ácido ôs-

mico, a degeneração de bainhas de mielina. No início dos anos 50, NAUTA, modificando a técnica de BIELSCHOWSKY de impregnação por sais de prata, conseguiu chegar a um método que possibilitava a identificação histológica do axoplasma em processo de degeneração "Walleriana", o que representou, evidentemente, um enorme avanço no campo da Neuroanatomia Experimental, já que permitia o mapeamento de vias tanto mielínicas como amielínicas. Tendo-se em mente, entretanto, que a degeneração anterógrada de um axônio pode ser provocada também pela destruição do corpo celular que emite esse mesmo axônio, compreende-se facilmente que, se a estrutura cujas eferências se está estudando albergar tanto corpos celulares como fibras de passagem, problemas sérios de interpretação surgem com frequência quando se tenta identificar o local de origem das fibras em degeneração observadas no material experimental.

Em 1948, WEISS & HISCOE, em um trabalho bastante significativo, sugeriram que, em condições normais, o corpo celular de um neurônio sintetiza continuamente substâncias que, por meio de um fluxo axoplasmático anterógrado, atingem os terminais do axônio. A existência de tal fluxo está amplamente confirmada, embora seus mecanismos moleculares e biofísicos sejam ainda discutidos. É possível que esse fluxo esteja envolvido nos processos de influência trófica do neurônio sobre células com as quais mantêm contacto. Outro fato fundamental foi a descoberta, por DROZ & LEBLOND (1963), de que os pericários de neurônios do sistema nervoso central são capazes de captar aminoácidos radioativos que lhes sejam ofertados, incorporar esses mesmos aminoácidos a proteínas, e, a seguir, "exportar" essas proteínas, por meio de fluxo axoplasmático anterógrado, a-

tê as terminações dos axônios. Em 1972, COWAN et alii utilizaram os fenômenos acima descritos para, em um trabalho de crucial importância para a investigação neuroanatômica, introduzir uma nova técnica de rastreamento anterógrado, a técnica auto-radiográfica. De acordo com esse método, pode-se rastrear as conexões eferentes de uma determinada estrutura injetando-se nela aminoácidos radioativos que, captados pelos pericários, são, a seguir, transportados pela célula nervosa até seus terminais axônicos, sendo esse processo visualizado pela auto-radiografia.

O método auto-radiográfico oferece inúmeras vantagens quando comparado às técnicas clássicas de degeneração anterógrada (ver GRAYBIEL, 1975); a maior dessas vantagens é representada pelo fato de que os resultados obtidos com a auto-radiografia não parecem ser influenciados pelas fibras de passagem que porventura transitem pela região na qual se procede à injeção de aminoácidos radioativos. Além disso, a técnica auto-radiográfica é freqüentemente bem mais sensível que os métodos clássicos, mormente quando se trata de rastrear axônios de pequeno calibre.

Quando seccionamos um axônio, além da degeneração anterógrada acima referida, ocorre também, em muitos casos, uma degeneração temporária ou definitiva do corpo celular vinculado ao axônio em apreço; tal degeneração é conhecida como degeneração celular retrógrada, e já foi bastante usada no passado para se determinar a origem de inúmeras projeções (ver BRODAL, 1981). Entre os vários inconvenientes da técnica de degeneração retrógrada para estudos hodológicos, talvez o mais importante seja a grande freqüência com que a técnica em

questão leva a resultados falsamente negativos.

Uma técnica de rastreamento retrógrado de conexões neurais recentemente introduzida e já solidamente incorporada à literatura especializada é a que se baseia no fluxo axoplasmático retrógrado. Foi demonstrado, inicialmente, que proteínas como a peroxidase do rábano silvestre (em inglês, "horseradish peroxidase" - HRP), quando injetadas na musculatura esquelética, eram captadas pelos terminais do axônio motor e subsequentemente transportadas para o pericário do motoneurônio correspondente, onde a HRP podia ser visualizada histoquimicamente (KRISTENSSON, 1970; KRISTENSSON *et alii*, 1971). Em 1972, La VAIL & La VAIL verificaram que o mesmo processo ocorre no sistema nervoso central.

Quando confrontada com o método clássico de mapeamento retrógrado de conexões neurais, a técnica que utiliza a HRP apresenta as vantagens de se basear em um fenômeno fisiológico natural (o fluxo axoplasmático retrógrado), de ser muito menos trabalhosa e caprichosa do que o método clássico, e de fornecer um número muito menor de resultados falsamente negativos, podendo ainda ser utilizada em animais de qualquer idade (o método clássico fornece resultados satisfatórios apenas em animais muito jovens) (ver NAUTA *et alii*, 1974).

Os estágios sucessivos do método da HRP consistem na injeção intracerebral da enzima na área a ser estudada, na sua captação pelos terminais axonais e transporte para os corpos celulares dos neurônios, e, finalmente, na visualização histoquímica da enzima.

A injeção intracerebral pode levar a uma lesão tissular indesejável na medida

em que já se sabe que nos axônios lesados a enzima é captada por difusão passiva e transportada em sentido celulípeto e celulífugo. O aperfeiçoamento metodológico que levou à ejeção microeletroforética da HRP a partir de micropipetas com um calibre - de 10 a 20 μ m (GRAYBIEL & DEVOR, 1974), procedimento esse que apresenta a vantagem de permitir depósitos restritos e concentrados de HRP, embora tenha diminuído sobremaneira a possibilidade de lesão tissular direta, parece não ter resolvido completamente o problema da captação da enzima por fibras de passagem, pelo menos em certos sistemas neurais (HERKENHAM & NAUTA, 1977).

Parece bem estabelecido que a captação de macromoléculas pelo processo de endocitose no terminal do axônio ocorre de maneira seletiva, envolvendo carga, composição de glicocalix, tamanho molecular etc. (KRISTENSSON, 1978); entretanto, discute-se ainda que organelas citoplasmáticas estariam envolvidas no transporte retrógrado do material captado, tendo alguns autores relatado a presença de enzimas exógenas nos túbulos do retículo endoplasmático liso e em vesículas intracitoplasmáticas (KRISTENSSON & OLSSON, 1976), enquanto outros contestam a participação dessas organelas no processo de transporte (La VAIL et alii, 1980); já foram observados também quatro diferentes tipos de "organelas envolvidas por membranas tanto em axônios mielínicos como em amielínicos" contendo o material enzimático (La VAIL & La VAIL, 1975).

Para a visualização histoquímica da enzima já existem várias técnicas propostas, que incluem diferentes procedimentos e cromógenos variados (MESULAM & ROSENE, 1979); parece haver consenso no sentido de que, de todos os procedimentos

propostos até agora, o mais sensível seria o de MESULAM et alii (1980), utilizado na presente tese.

Nenhuma das técnicas acima discutidas nos dá qual quer indicação acerca da natureza do mediador químico utilizado nas vias anatômicas investigadas. Nas duas últimas décadas, porém, foram introduzidas inúmeras técnicas histoquímicas que permitem a visualização seletiva de vias neurais presumivelmente colinérgicas, noradrenérgicas, adrenérgicas, dopaminérgicas e serotoninérgicas (ver LINDVALL & BJÖRKLUND, 1974; NAUTA & EBBES - SON, 1970). Por enquanto, entretanto, esses métodos se restringem a apenas uma fração dos possíveis mediadores centrais, e freqüentemente não é fácil a determinação precisa dos locais de origem das projeções estudadas.

Finalmente, é importante mencionar que apenas a microscopia eletrônica permite a confirmação da existência de uma projeção sugerida pela microscopia óptica e a realização de uma análise acurada dos padrões de articulação sináptica em um determinado território neural; entretanto, as imensas limitações de uma tal abordagem para o estudo da hodologia do sistema nervoso central são por demais óbvias, e é claro que estudos pormenorizados por meio de microscopia óptica são um pré-requisito para investigações eletromicroscópicas.

De tudo o que se viu acima resulta evidente o fato de que a elucidação da organização anatômica de uma região como a formação reticular, em que existe abundante mescla de pericários e fibras de passagem, é tarefa longa e árdua, que demanda o acoplamento judicioso de grande número de métodos de pesquisa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEY, W.R. & LINDSLEY, D.F. On the role of subthalamic areas in the maintenance of brain-stem reticular excitability. Exp. Neurol., 1: 407-26, 1959.
- ANDRÉS, I. de & REINOSO-SUÁREZ, F. Participation of the cerebellum in the regulation of the sleep-wakefulness cycle through the superior cerebellar peduncle. Arch. ital. Biol., 117: 140-63, 1979.
- ANDREZIK, J.A.; CHAN-PALAY, V. & PALAY, S.L. The nucleus paragigantorellularis lateralis in the rat. Demonstration of afferents by the retrograde transport of horseradish peroxidase. Anat. Embryol., 161: 373-95, 1981.
- AZMITIA, E.C. & SEGAL, M. An autoradiographic analysis of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. J. comp. Neurol., 179: 641-68, 1978.
- BASBAUM, A.J.; CLANTON, C.H. & FIELDS, H.L. Three bulbospinal pathways from the rostral medulla of the cat: an autoradiographic study of pain modulating systems. J. comp. Neurol. 178: 209-24, 1978.
- & FIELDS, H.L. The origin of descending pathways in the dorsolateral funicular of the spinal cord of the cat and rat: further studies on the anatomy of pain modulation.

J. comp. Neurol., 187: 513-32, 1979.

BATINI, C.; BUISSERET-DELMAS, C.; CORVISIER, J.; HARDY, O. & JASSIK-GERSCHENFELD, D. Brain stem nuclei giving fibers to lobules VI and VII of the cerebellar vermis. Brain Res., 153: 241-61, 1978.

BECKSTEAD, R.M. An autoradiographic examination of cortico-cortical and subcortical projections of the mediodorsal projection (prefrontal) cortex in the rat. J. comp. Neurol., 184: 43-62, 1979.

————— ; DOMESICK, V.B. & NAUTA, W.J.H. Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. Brain Res., 175: 191-217, 1979.

BENTIVOGLIO, M., Van der KOOY, D. & KUYPERS, H.G.J.M. The organization of the efferent projections of the substantia nigra in the rat. A retrograde fluorescent double labeling study. Brain Res., 174: 1-17, 1979.

BREMER, F. & TERZUOLO, C. Contribution a l'étude des mécanismes physiologiques du maintien de l'activité vigile du cerveau. Interaction de la formation réticulée et de l'écorce cérébrale dans le processus du réveil. Archs int. Physiol., 62: 157-78, 1954.

BRODAL, A. The reticular formation of the brain stem. Anatomical aspects and functional correlations. Oliver and

Boyd, Edinburgh, 1957.

———. Neurological Anatomy in Relation to clinical medicine. New York, Oxford University, 1981.

CARPENTER, M.B. Human neuroanatomy. 7.ed. Baltimore, Williams & Wilkins, 1976.

CATSMAN-BERREVOETS, C.E. & KUYPERS, H.G.J.M. A search for corticospinal collaterals to thalamus and mesencephalon by means of multiple retrograde fluorescent tracers in cat and rat. Brain Res., 218: 15-33, 1981.

CHI, C.C. An experimental silver study of the ascending projections of the central gray substance and adjacent tegmentum in the rat with observation in the cat. J. comp. Neurol., 139: 259-72, 1970.

COHEN, D.; CHAMBERS, W.W. & SPRAGUE, J.M. Experimental study of the efferent projections from the cerebellar nuclei to the brainstem of the cat. J. comp. Neurol., 109: 233-59, 1958.

CONRAD, L.C.A.; LEONARD, C.M. & PFAFF, D.W. Connections of the median and dorsal raphe nuclei in the rat: an autoradiographic and degeneration study. J. comp. Neurol., 156: 179-206, 1974.

——— & PFAFF, D.W. Efferents from medial basal forebrain

and hypothalamus in the rat. I - An autoradiographic study of the medial preoptic area. J. comp. Neurol., 169: 185-220, 1976a.

_____ & _____. Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. II - An autoradiographic study of the anterior hypothalamus. J. comp. Neurol., 169: 221- 62, 1976b.

COWAN, W.M.; GOTTLIEB, D.I.; HENDRICKSON, A.E.; PRICE, J.L. & WOOLSEY, T.A. The autoradiographic demonstration of axonal connections in the central nervous system. Brain Res., 37: 21-51, 1972.

DAVID, J. & GREVAL, R.S. The effect of selective inactivation of the nucleus reticularis pontis caudalis (nRPC) on reticulocortical EEG activation and evoked potentials in the cat. J. Neurol. Soc. India., 20(suppl.2): 190-7, 1972.

DOMESICK, V.B. Projections from the cingulate cortex in the rat. Brain Res., 12: 296-320, 1969.

DROZ, B. & LEBLON, C.P. Axonal migration of proteins in the central nervous system and peripheral nerves as shown by radioautography. J. comp. Neurol., 121: 325-46, 1963.

EDWARDS, S.B. Autoradiographic studies of the midbrain reticular formation descending projection of nucleus cuneiformis. J. comp. Neurol., 161: 341-58, 1975.

——— & de OLMOS, J.S. Autoradiographic studies of the projections of the midbrain reticular formation: ascending projections of nucleus cuneiformis. J. comp. Neurol., 165: 417-32, 1976.

———; GINSBURGH, C.L.; HENKEL, C.K. & STEIN, B.E. Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the cat. J. comp. Neurol., 184: 309-30, 1979.

———. The deep layers of the superior colliculus: Their reticular characteristics and structural organization. In: Hobson, J.A. & Brazier, M.A.B., ed. The Reticular Formation Revisited; specifying Function for a Nonspecific System. New York, Raven, 1980. p. 193-209.

ELLER, T. & CHAN-PALAY, V. Afferents to the cerebellar lateral nucleus. Evidence from retrograde transport of horseradish peroxidase after pressure injections through micropipettes. J. comp. Neurol., 166: 285-302, 1976.

FAULL, R.L.M. The cerebellofugal projections in the brachium conjunctivum of the rat. II - The ipsilateral and contralateral descending pathways. J. comp. Neurol., 178: 519-36, 1978.

——— & CARMAN, J.B. The cerebellofugal projections in the brachium conjunctivum of the rat. I. The contralateral ascending pathways. J. comp. Neurol., 178: 495-518, 1978.

_____ & MEHLER, W.R. The cells of origin of nigrotectal, nigrothalamic and nigrostriatal projections in the rat. Neuroscience., 3: 989-1002, 1978.

FAVALE, E.; LOEB, C.; ROSSI, G.F. & SACCO, G. EEG synchro - nization and behavioral signs of sleep following low frequency stimulation of the brain stem reticular formation. Archs. ital. Biol., 99: 1-22, 1961.

FELDMAN, S.G. & KRUGER, L. An axonal transport study of the ascending projection- of medial lemniscal neurons in the rat. J. comp. Neurol., 192: 427-54, 1980.

FUKUSHIMA, K; OHNO, M. & KATO, M. Responses of cat mesencephalic reticulospinal neurons to stimulation of superior colliculus, pericruciate cortex and neck muscle afferents. Expl. Brain Res., 44: 441-44, 1981.

GOODMAN, D.C.; HALLETT, R.E. & WELCH, R.B. Patterns of localization in the cerebellar corticonuclear projections of the albino rat. J. comp. Neurol., 121: 51-67, 1963.

GRAHM, J. An autoradiographic study of the efferent connections of the superior colliculus in the cat. J. comp. Neurol., 173: 629-54, 1977.

GRAYBIEL, A.M. & DEVOR, M. A microelectrophoretic delivery technique for use with horseradish peroxidase. Brain Res., 68: 167- 73, 1974.

- . Wallerian degeneration and anterograde tracing methods. In: Cowan, W.M. & Cuénod, M., eds. The use of axonal transport for studies of neuronal connectivity. Amsterdam, Elsevier, 1975. p. 173-216.
- . Direct and indirect preoculomotor pathways of the brainstem: an autoradiographic study of the pontine reticular formation in the cat. J. comp. Neurol., 175: 37-78, 1977.
- GROFOVÁ, I.; OTTERSEN, O.P. & RINVIK, E. Mesencephalic and diencephalic afferents to the superior colliculus and periaqueductal gray substance demonstrated by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in the cat. Brain Res., 146: 205-20, 1978.
- GROVES, P.M.; MILLER, S.W.; PARKER, M.V. & REBEC, G.V. Organization by sensory modality in the reticular formation of the rat. Brain Res., 54: 207-24, 1973.
- HALL, R.D. & LINDHOLM, E.P. Organization of motor and somatosensory neocortex in the albino rat. Brain Res., 66: 23-38, 1974.
- HAMILTON, B.L. Projections of the nuclei of the periaqueductal gray matter in the cat. J. comp. Neurol., 152: 45-58, 1973.
- HANAWAY, J.; McCONNELL, J.A. & NETSKY, M.G. Cytoarchitecture of the substantia nigra in the rat. Amer. J. Anat., 129: 417-38, 1970.

HERKENHAM, M. & NAUTA, W.J.H. Afferent connections of the habenular nuclei in the rat. A horseradish peroxidase study, with a note on the fiber-of-passage, problem. J. comp. Neurol., 173: 123-46, 1977.

———. The afferent and efferent connections of the ventromedial thalamic nucleus in the rat. J. comp. Neurol., 183: 487-518, 1979.

——— & NAUTA, W.J.H. Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. J. comp. Neurol., 187: 19-48, 1979.

———. Laminar organization of thalamic projections to the rat neocortex. Science, 207: 532-35, 1980.

HOBSON, J.A. & BRAZIER, M.A.B., eds. The reticular formation revisited: specifying function for a nonspecific system. New York, Raven, 1980.

HOLSTEGE, G.; KUYPERS, H.G.J.M. & BOER, R.C. Anatomical evidence for direct brain projections to the somatic motoneural cell groups and autonomic preganglionic cell groups in cat spinal cord. Brain Res., 171: 329-33, 1979.

HOPKINS, D.A. Amygdalotegmental projections in the rat, cat and rhesus monkey. Neurosci. Lett., 1: 263-70, 1975.

HOSOYA, Y. & MATSUSHITA, M. Brainstem projections from the lateral hypothalamic area in the rat, as studied with auto

radiography. Neurosci. Lett., 24: 111-16, 1981.

HUANG, Y.H. & MOGENSEN, G.J. Neural pathways mediating drinking and feeding in rats. Exp. Neurol., 37: 269-86, 1972.

IMPERATO, A.; PORCEDDU, M.L.; MORELLI, M.; FAA, G. & DI CHIARA, G. Role of dorsal mesencephalic reticular formation and deep layers of the superior colliculus as out-put stations for turning behavior elicited from the substantia nigra pars reticulata. Brain Res., 216: 437-43, 1981.

JACKSON, A. & CROSSMAN, A.R. Basal ganglia and other afferent projections to the peribrachial region in the rat: a study using retrograde and anterograde transport of horseradish peroxidase. Neuroscience, 6: 1537-549, 1981.

JONES, B.E. & MOORE, R.Y. Ascending projections of the locus coeruleus in the rat. II - Autoradiographic study. Brain Res., 127: 23-53, 1977.

JONES, E.G. Some aspects of the organization of the thalamic reticular complex. J. comp. Neurol., 162: 285-308, 1975.

———— & LEAVITT, R.Y. Retrograde axonal transport and the demonstration of non-specific projections to the cerebral cortex and striatum from the thalamic intralaminar nuclei in the rat, cat and monkey. J. comp. Neurol., 154: 349-78, 1974.

- JOUVET, M. The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. Ergebn. Physiol., 64: 166-307, 1972.
- KAELBER, W.W. & SMITH, T.B. Projections of the zona incerta in the cat, with stimulation controls. Exp. Neurol., 63: 177-200, 1979.
- KAWAMURA, K.; BRODAL, A. & HODDEVIK, G. The projections of the superior colliculus onto the reticular formation of the brain stem. An experimental anatomical study in the cat. Expl. Brain Res., 19: 1-19, 1974.
- KELLAR, K.J.; BROWN, P.A.; MADRID, J.; BERNSTEIN, M.; VERNIKOS DANELLIS, J. & MEHLER, W.R. Origins of serotonin in innervation of forebrain structures. Exp. Neurol., 56: 52-62, 1977.
- KITSIKIS, A. & STERIADE, M. Immediate behavioral effects of kainic acid injections into the midbrain reticular core. Behav. Brain Res., 3: 361-80, 1981.
- KOH, E.T. & RICARDO, J.A. Afferents and efferents of the parabrachial region in the rat: evidence for parallel ascending gustatory versus viscerosensitive systems arising from the nucleus of the solitary tract. Anat. Rec., 190: 449- , 1978.
- KÖNIG, J.F.R. & KLIPPEL, R.A. The rat brain; a stereotaxic

atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem.

Huntington, New York, Robert E. Krieger, 1967.

KRETTEK, J.E. & PRICE, J.L. The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. J. comp. Neurol., 171: 157-92, 1977.

———— & ————. Amygdaloid projections to subcortical structure within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. J. comp. Neurol., 178: 225-54, 1978.

KRIEG, W.J.S. Connections of the cerebral cortex. I - The albino rat. A. Topography of the cortical areas. J. comp. Neurol., 84: 221-75, 1946.

KRIEGER, M.S.; CONRAD, L.C.A. & PFAFF, D.W. An autoradiographic study of the efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. J. comp. Neurol., 183: 785-816, 1979.

KRISTENSSON, K. Transport of fluorescent protein tracer in peripheral nerves. Acta neuropathol., 16: 293-300, 1970.

————; OLSSON, Y. & SJÖSTRAND, J. Axonal uptake and retrograde transport of exogenous proteins in the hypoglossal nerve. Brain Res., 32: 399-406, 1971.

———— & OLSSON, Y. Retrograde transport of horseradish peroxidase in transected axons. 3-entry into injured

axons and sub-sequent localization in perikaryon. Brain Res., 115: 201-13, 1976.

———. Retrograde transport of macromolecules in axons. A. Rev. Pharmacol. Toxicol., 18: 97-110, 1978.

KUDO, M. Projections of the nuclei of the lateral lemniscus in the cat: an autoradiographic study. Brain Res., 221: 57-69, 1981.

La VAIL, J.H. & La VAIL, M.M. Retrograde axonal transport in the central nervous system. Science, 176: 1416-417, 1972.

La VAIL, M.M. & La VAIL, J.H. Retrograde intraxonal transport of horseradish peroxidase in retinal ganglion cells of the chick. Brain Res., 85: 273-89, 1975.

La VAIL, J.H.; RAPISARDI, S. & SUGINO, I.K. Evidence against the smooth endoplasmic reticulum as a continuous channel for the retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. Brain Res., 191: 3-20, 1980.

LIDBRINK, P. The effect of lesions of ascending noradrenaline pathways on sleep and waking in the rat. Brain Res., 74: 19-40, 1974.

LINDSLEY, D.B. Attention, consciousness, sleep and wakefulness. In: FIELD, J. ed. Handbook of Physiology. Washington, D.C., American Physiological Society, 1960. Section 1, pt.3 ,

p. 1553-1593.

LINDVALL, O. & BJÖRKLUND, A. The organization of the ascending catecholamine neuron system in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. Acta physiol. Scand., (Suppl. 412:) 1-48, 1974.

LURIA, A.R. Fundamentos de Neuropsicologia. (Trad. de J.A. Ricardo), Rio de Janeiro. Livros Técnicos e Científicos, 1981 (publ. 1973) 346 p. São Paulo, EDUSP, 1981: 346 p.

MANCIA, M.; MARIOTTI, M. & SPREAFICO, R. Caudo-rostral brain stem reciprocal influences in the cat. Brain Res., 80: 41-51, 1974.

MCBRIDE, R.L. & SUTIN, J. Projections of the locus coeruleus and adjacent pontine tegmentum in the cat. J. comp. Neurol., 165: 265-84, 1976.

MEHLER, W.R; FEFERMAN, M.E. & NAUTA, W.J.H. Ascending axon degeneration following anterolateral cordotomy. An experimental study in the monkey. Brain Res., 83: 718-50, 1960.

———. Some neurological species differences a posteriori. Ann. N.Y. Acad. Sci., 167: 429-68, 1969.

MESULAM, M.M. The blue reaction product in horseradish peroxidase neurohistochemistry: incubation parameters and visibility. J. Histochem. 24(12): 1273-280, 1976.

MESULAM, M.M. Tetramethyl benzidine for horseradish peroxidase neurohistochemistry: A non - carcinogenic blue reaction - product with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents. J. Histochem. Cytochem., 26(2): pp. 106-117, 1978.

————— & ROSENE, D.L. Sensitivity in horseradish peroxidase neurohistochemistry: A comparative and quantitative study of nine methods. J. Histochem. Cytochem., 27(3): 763-73, 1979.

—————; HEGARTY, E. BARBAS, H.; CARSON, K.A.; GOWER, E.C.; KNAPP, A.G.; MOSS, M.B. & MUFSON, E.J. Additional factors influencing sensitivity in the tetramethyl benzidine method for horseradish peroxidase neurohistochemistry. J. Histochem. Cytochem., 28: 1255-259, 1980.

MILLER, R.A. & STROMINGER, N.L. An experimental study of the efferent connections of the superior cerebellar peduncle in the rhesus monkey. Brain Res., 133: 237-50, 1977.

MIZUNO, N.; SAVERLAND, E.K. & CLEMENTE, C.D. Projections from the orbital gyrus in the cat. I - To brain stem structures. J. comp. Neurol., 133: 463-76, 1968.

MORGANE, P.J. & STERN, W.C. Chemical anatomy of brain circuits in relation to sleep and wakefulness. Adv. sleep Res., 1: 1-131, 1974.

MORRELL, J.I.; GREENBERGER, L.M. & PFAFF, D.W. Hypothalamic other diencephalic, and telencephalic neurons that project to the dorsal midbrain. J. comp. Neurol., 201: 589-620, 1981.

MORUZZI, G. & MAGOUN, H.W. Brain stem reticular formation and activation of the EEG. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 1: 455-73, 1949.

———. The sleep-waking cycle. Ergebn. physiol., 64: 1-165, 1972.

MOTOKIZAWA, F. Electrophysiological studies of olfactory projection to the mesencephalic reticular formation. Exp. Neurol., 44: 135-44, 1974.

NAQUET, R.; DENAVIT, M. & ALBE-FESSARD, D. Comparison entre le rôle du subthalamus et celui des différentes structures bulbo-mésencéphaliques dans le maintien de la vigilance. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 20: 149-64, 1966.

NAUTA, W.J.H. Hippocampal projections and related neural pathways to the mid-brain in the cat. Brain, 81: 319-40, 1958.

——— & KUYPERS, H.G.J.M. Some ascending pathways in the brain stem reticular formation. In: JASPER, H.H. et alii, ed. Reticular Formation of the Brain. Boston, Little-Brown, 1958, p. 3-30.

- & HAYMAKER, W. Hypothalamic nuclei and fiber connection. In: HAYMAKER, W. et alii, ed. The hypothalamus. Springfield, Charles C. Thomas, 1969. p. 136-209.
- & EBBESSON, S.D.E. eds. Contemporary research methods in neuroanatomy. New York, Springer. Verlag, 1970. 366p.
- ; PRITZ, M.B. & LASEK, R.J. Afferents to the rat caudo-putamen studied with horseradish peroxidase. An evaluation of a retrograde neuroanatomical research method. Brain Res., 67: 219-38, 1974.
- . Projections of the pallidal complex: an autoradiographic study in the cat. Neuroscience, 4: 1853-873, 1979.
- & DOMESICK, V.B. The anatomy of the extrapyramidal system. In: FUXE, K. & CALNE, D.B., eds. Dopaminergic ergot derivatives and motor function. Oxford, Pergamon, 1979. p.3-22.
- NORGREN, R. & LEONARD, C.M. Ascending central gustatory pathways. J. comp. Neurol., 150: 217-38, 1973.
- . Taste pathways to hypothalamus and amygdala. J. comp. Neurol., 166: 17-30, 1976.
- NYGREN, L.C. & OLSON, L. A new major projection from locus coeruleus: the main source of noradrenergic nerve terminals in the ventral and dorsal columns of the spinal cord. Brain. Res., 132: 85-93, 1977.

- OLSZEWSKI, J. The cytoarchitecture of the human reticular formation. In: Delafresnaye, J. F. ed. Brain mechanisms and consciousness. Oxford, Blackwell, 1954.
- PARENT, A. & STERIADE, M. Afferents from the periaqueductal gray, medial hypothalamus and medial thalamus to the mid-brain reticular core. Brain Res. Bull., 7: 411-18, 1981.
- PETROVICKÝ, P.; KADLECOVÁ, O. & MASEK, K. Mutual connections of the raphe system and hypothalamus in relation to fever. Brain Res. Bull., 7: 131-49, 1981.
- PICKEL, V.M.; SEGAL, M. & BLOOM, F.E. A radioautographic study of the efferent pathways of the nucleus locus coeruleus. J. comp. Neurol., 155: 15-42, 1974.
- PUIZILLOUT, J.J. & TERNAUX, J.P. Endormement vago-aortique après section sagittale médiane du tronc cérébral et après administration de p-chlorophénylalanine, ou destruction des noyaux du raphé. Brain Res., 70: 19-42, 1974.
- RAMÓN-MOLINER, E. & NAUTA, W.J.H. The isodendritic core of the brain stem. J. comp. Neurol., 126: 311-35, 1966.
- RICARDO, J.A. & KOH, E.T. Anatomical evidences of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. Brain Res., 153: 1-26, 1978.

- . Efferent connections of the subthalamic region in the rat. I - The subthalamic nucleus of Luys. Brain Res., 202: 257-71, 1980.
- ; NEGRÃO, N. & PEREIRA, J.S.C. Electrocorticographic activity of the prepyriform cortex during the sleep-wakefulness cycle of the freely-behaving rat. Archs. ital. Biol., 118: 358-74, 1980.
- . Efferent connections of the subthalamic region in the rat. II - The zona incerta. Brain Res., 214: 43-60, 1981.
- RINVIK, E.; GROFOVÁ, I. & OTTERSEN, O.P. Demonstration of the nigrotectal and nigroreticular projections in the cat by axonal transport of proteins. Brain Res., 112: 388-94, 1976.
- ROGER, A.; ROSSI, G.F. & ZIRONDOLI, A. Le rôle des afférences des nerfs craniens dans le maintien de l'état vigile de la préparation "encéphale isolé". Electroenceph. clin. Neurophysiol., 8: 1-13, 1956.
- ROPERT, N. STERIADE, M. Input-output organization of midbrain reticular core. J. Neurophysiol., 46: 17-31, 1981.
- ROSE, M. Cytoarchitektonischer Atlas der Grosshirnrinde des Kaninchens. J. Psychol. Neurol. (Leipzig), 43: 353-440, 1931.
- ROSENE, D.L. & MESULAM, M.M. Fixation variables in horseradish

peroxidase neurohistochemistry - I. The effects of fixation time and perfusion procedures upon enzyme activity. J. Histochem. Cytochem., 26: 28-39, 1978.

ROSSI, G.F. & BRODAL, A. Cortifugal fibers to the brain stem reticular formation. An experimental study in the cat. J. Anat. (Lond), 90: 42-62, 1956.

_____ & _____. Terminal distribution of spinoreticular fibers in the rat. Archs. Neurol. Psychiat., Chicago, 78: 439-53, 1957.

RUDA, M.A. An autoradiographic study of the efferent connections of the midbrain central gray in the cat. Anat. Rec. 181: 468-69, 1975.

SAITO, H.; SAKAY, K. & JOUVET, M. Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. Brain Res., 134: 59-72, 1977.

SAPER, C.B. SWANSON, L.W. & COWAN, W.M. The efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat. J. comp. Neurol., 160: 409-42, 1976.

_____; _____ & _____. The efferent connections of the anterior hypothalamic area of the rat, cat and monkey. J. comp. Neurol., 182: 575-600, 1978.

_____; _____ & _____. An autoradiographic study of

the efferent connections of the lateral hypothalamic area in the rat. J. comp. Neurol., 183: 689-706, 1979.

SAPER, C.B. & LOEWY, A.D. Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. Brain Res., 197: 291-317, 1980.

SCHEIBELL, M.E. & SCHEIBELL, A.B. Structural substrates for integrative patterns in the brain stem reticular core. In: JASPER, H.H. et alii, eds. Reticular formation of the brain. Boston, Little, Brown, 1958, p.31-55.

————— & —————. The organization of the nucleus reticularis thalami: a Golgi study. Brain Res., 1: 43-62, 1966.

SEGUNDO, J.P.; NAQUET, R. & BUSER, P. Effects of cortical stimulation on electrocortical activity in monkeys. J. Neurophysiol., 18: 236-45, 1955.

SHUTE, C.C.D. & LEWIS, P.R. The ascending cholinergic reticular system: neocortical, olfactory and subcortical projections. Brain, 90: 497-520, 1967.

SJÖSTRAND, J. & FRIZELL, M. Retrograde axonal transport of rapidly migrating proteins in peripheral nerves. Brain Res., 85: 325-30, 1975.

SMITH, R.L. The ascending fiber projections from the principal sensory trigeminal nucleus in the rat. J. comp.

Neurol., 148: 423-46, 1973.

SOMANA, R. & WALBERG, F. The cerebellar projections from the parabrahmial nucleus in the cat. Brain Res., 172: 144-49, 1979.

STANTON, G.B. Topographical organization of ascending cerebellar projections from the dentate and interposed nuclei in macaca mulatta: an anterograde degeneration study. J. comp. Neurol., 190: 699-731, 1980.

STARZL, T.E.; TAYLOR, C.W. & MAGOUN, H.W. Ascending conduction in reticular activating system, with special reference to the diencephalon. J. Neurophysiol., 14: 461-77, 1951.

STERIADE, M.; ROBERT, N.; KITSIKIS, A. & OAKSON, G. Ascending activating neuronal networks in midbrain reticular core and related rostral systems. In: HOBSON, J.A. & BRAZIER, M.A.B. Specifying Function for a Nonspecific System. New York, Raven, 1980, p. 125-67.

SWANSON, L.W. An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. J. comp. Neurol., 167: 227-56, 1976.

TAMÁSY, V.; KORÁNYI, L. & LISSÁK, K. The developing mesencephalic reticular formation: changes in responsiveness during ontogeny of the rat. Acta physiol. hung., 56: 187-201, 1980.

TIMO-IARIA, C.; NEGRÃO, N.; SCHMIDEK, W.R.; HOSHINO, K.;

MENEZES, C.E.L. de & ROCHA, T.L. da. Phases and states of sleep in the rat. Physiol. Behav., 5: 1057-62, 1970.

TOHYAMA, M.; SAKAI, K.; SALVERT, D.; TOURET, M. & JOUVET, M.

Spinal projections from the lower brain stem in the cat as demonstrated by the horseradish peroxidase technique. I. Origins of the reticulospinal tracts and their funicular trajectoris. Brain Res., 173: 383-403, 1979.

TORVIK, A. Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract and adjacent structure. An experimental study in the rat: J. comp. Neurol., 106: 51-142, 1956.

VALVERDE, F. Reticular formation of the pons and medulla oblongata. A Golgi study. J. comp. Neurol., 116: 71-99, 1961.

———. Reticular formation of the albino rat's brain stem: cytoarchitecture and corticofugal connections. J. comp. Neurol., 119: 25-53, 1962.

VEAZEY, R.B. & SEVERIN, C.M. Efferent projections of the deep mesencephalic nucleus (pars lateralis) in the rat. J. comp. Neurol., 190: 231-44, 1980a.

——— & ———. Efferent projections of the deep mesencephalic nucleus (pars medialis) in the rat. J. comp.

Neurol., 190: 245-58, 1980b.

WALBERG, F. Crossed reticulo-reticular projections in the medulla, pons and mesencephalon. An autoradiographic study in the cat. Z. Anat. Entw. Gesch., 143: 127-34, 1974.

WEISS, P. & HISCOE, H.B. Experiments on the mechanism of nerve growth. J. Exp. Zool., 107: 315-96, 1948.

WELKER, C. Microelectrode delineation of fine grain somatotopic organization of SmI cerebral neocortex in albino rat. Brain Res., 26: 259-75, 1971.

———. Receptive fields of barrels in the somatosensory neocortex of the rat. J. comp. Neurol., 166: 173-90, 1976.

WELKER, W.I. Analysis of sniffing of the albino rat. Behaviour, 22: 223-44, 1964.

ZEMLAN, F.P. & PFAFF, D.W. Topographical organization in medullary reticulospinal systems as demonstrated by the horseradish peroxidase technique. Brain Res., 174: 161-66, 1979.

ZERNICKI, B.; DOTY, R.W. & SANTIBAÑEZ, H.G. Isolated mid-brain in cats. Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 28: 221-35, 1970.