

ERNESTO JOSÉ DOTTAVIANO

LOCALIZAÇÃO ANATÔMICA DAS AFERÊNCIAS
RESPONSÁVEIS PELO REFLEXO EJETOLÁCTEO,
NO TRONCO CEREBRAL DA RATA.

Tese apresentada à Universidade
Estadual de Campinas, para a ob
tenção do título de Livre-Docen
te em Fisiologia e Biofísica

CAMPINAS
1973

À NORMA E FILHOS,

ESTÍMULOS DE SEMPRE.

AOS MEUS PAIS,

COM ESPECIAL CARINHO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Negreiros de Paiva, chefe do Departamento de Fisiologia e Biofísica, do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, que ao convidar-nos para integrar o departamento, honrou-nos com sua confiança e amizade e pelo apoio que nos deu no decorrer destes anos.

Aos Drs. Juan H. Tramezzani e Luis M. Voloschin, do Instituto de Neurobiologia de Buenos Aires, Argentina, onde o presente trabalho foi iniciado, por todas as facilidades proporcionadas na consecussão do mesmo.

A Srta. Sara Glinski pela assistência técnica e ao Sr. Luis Millara pelo trabalho fotográfico.

As Srtas. Eliane Maria Mingatto e Maria Elídia dos Santos pela mecanografia.

A Diretoria de Serviços Gerais da Unicamp, que além do serviço de impressão, ilustrou este trabalho através do seu setor de documentação científica.

A Ford Foundation pelo auxílio concedido e ao Laboratório Sandoz pelo provimento da ocitocina.

E a todos os que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Pag.
INTRODUÇÃO	04
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS	44
DISCUSSÃO	78
RESUMO E CONCLUSÕES	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

I N T R O D U Ç Ã O

Os conhecimentos atuais sobre a fisiologia da lactação, sofreram em sua evolução interpretações controvertidas, por não - se fazer a distinção necessária entre a lactogênese e sua descarga ou extração do leite existente nas mamas.

A lactação deve ser dividida em três etapas características que são:

- a) síntese do leite pelas células do epitélio alveolar;
- b) passagem do leite desde o citoplasma das células epiteliais para a luz dos alvéolos. Estes dois fenômenos constituem a secreção láctea e,
- c) descarga ou ejeção do leite da glândula mamária.

Embora sejam etapas intimamente relacionadas e que ocorrem em sequência, neste trabalho nos ocuparemos somente da última fase ou seja a remoção do leite do interior da mama. Este processo não se resume apenas no simples relaxamento do esfíncter da - glândula mamária, mas é um complexo psico-fisiológico, cujos detalhes principais se obtiveram ao ser estudada a ordenha com fins - industriais e comerciais.

O rendimento total do leite das glândulas mamárias não é obtido com a simples colocação de cânulas ou por palpação, mas depende que o estímulo de ordenha ou sucção, produza após breve intervalo, um súbito aumento da pressão intramamária, que promove a descida do leite (let down), evidente pelo maior fluxo de leite - pela cânula.

A pequena parte obtida por simples canulação consiste na retirada passiva do leite e sua quantidade em relação ao total é variável com a espécie animal considerada, enquanto o processo - ativo responsável pelo aumento da pressão intramamária consiste - na ejeção láctea e resulta na drenagem de uma muito maior quantidade de leite.

A observação que a sucção, a ordenha ou estímulos associados, como a lavagem da mama e o ruído dos baldes, aos quais o animal se condiciona, produzem a ejeção láctea e que a mesma podia

ser inibida, por estímulos desfavoráveis como o medo, ruídos súbi-
tos ou a presença de estranhos, criou o conceito de ser este um
ato reflexo.

A participação do sistema nervoso na remoção do leite a-
cumulado nas glândulas mamárias foi postulado há muito tempo. As-
sim Schäfer (1913) atribuiu este fenômeno a intervenção de um re-
flexo nervoso segmentar e Ingelbrecht (1935) demonstrou que a sec-
ção medular levava as crias à morte, quando eram impedidas de su-
garem as glândulas acima da secção, embora sugassem as situadas a
baixo da mesma.

Gaines (1915) observou que anestesiando-se a mãe se ini-
bia o reflexo ejetolácteo e Ely e Petersen (1941), combinando re-
sultados experimentais e conhecimentos fisiológicos propuseram -
uma teoria coerente na qual, os hormônios da neurohipófise libera-
dos durante a sucção, expulsavam o leite dos ácinos mamários ou
seja os impulsos nervosos desencadeados pela sucção dos mamilos,
via medula espinal e mesencéfalo, iam aos centros superiores onde
alcançavam o sistema neurosecretor hipotálamo-hipofisário, libera-
ndo um hormônio, provavelmente a ocitocina.

O hormônio circulante causaria a contração das células -
mioepiteliais que circundam os alvéolos, e o leite seria ejetado
para os dutos maiores ou cisternas dependendo da espécie, sendo
obtido pelas crias após vencerem a resistência do esfíncter. Se-
ria um reflexo neuroendócrino.

Vários anos foram necessários, para que se acumulassem -
suficientes evidências experimentais fundamentando este conceito
de Ely e Petersen, o que serviu para incrementar a pesquisa do re-
flexo de ejeção láctea e proporcionar novos conhecimentos sobre
o sistema hipotálamo-hipofisário.

Assim, Bargmann (1949 a) usando a técnica de Gomori demons-
trou que a neurohipófise contém grânulos de neurosecreção e Schar-
rer e Scharrer (1954), empregando a mesma técnica localizaram os
grânulos de neurosecreção nos núcleos supraóptico e paraventricu-
lar, nos tratos supraóptico-hipofisário e paraventricular-hipofi-
sário, e finalmente sua liberação nas terminações axônicas da neu-

rohipófise.

Gomez (1949, 1950) demonstrou que a lactação cessa imediatamente após a hipofisectomia total em ratas lactantes e que a injeção de extratos de hipófise anterior mantém a lactação, mas as crias morrem de inanição 2 a 3 dias depois. A ejeção láctea se restabelece somente quando extratos de neurohipófise são injetados à mãe.

As experiências de Harris e Jacobsohn (1951) com enxertos funcionais de hipófise, debaixo da eminência média de ratos hipofisectomizados, permitiu ver que a adenóhipófise enxertada era revascularizada pelos vasos porta hipofisários e funcionava normalmente, enquanto o tecido neurohipofisário degenerava. Quando estas ratas subsequentemente apoiavam, as glândulas mamárias bem desenvolvidas, continham leite, mas os filhotes não podiam obtê-lo apesar da vigorosa sucção e somente sobreviviam quando se injetava ocitocina na mãe.

Por outro lado Cowie (1952) e Benson e Cowie (1956) mostraram que depois da neurohipofisectomia em ratas lactantes, as crias só podiam ser amamentadas, se as mães recebessem injeções diárias de ocitocina.

O efeito do extrato neurohipofisário na glândula mamária já havia sido descrito por Ott e Scott (1910) que verificaram que a injeção intravenosa do mesmo aumentava o fluxo de leite na mama canulada da cabra lactante.

Inúmeros outros autores demonstraram efeito similar em outras espécies, incluindo a humana (Mackenzie, 1911; Schäfer e Mackenzie, 1912; Gavin, 1913; Heaney, 1913; Schäfer, 1913, 1915; Simpson e Hill, 1915), mas tinham pontos de vista opostos a respeito do mecanismo de ação do extrato.

Porém, Schäfer (1915), conseguiu obter fotomicrografias mostrando que depois da injeção endovenosa do extrato neurohipofisário na gata, os alvéolos da mama que possuía o mamilo íntegro, se distendiam, esvaziando-se na glândula adjacente onde o mamilo fora excisado para permitir a livre saída do leite, sugerindo que o extrato tem ação contrátil sobre as paredes alveolares.

Coube a Richardson (1949) demonstrar que as células mioepiteliais da glândula mamária se dispõem ao redor dos alvéolos e dos dutos, em sentido longitudinal e sugerir que sua contração expulsaria o leite dos alvéolos.

Linzell (1954, 1959) observou que não havia suprimento nervoso para as células mioepiteliais, o que estava de acordo com a teoria neurohumoral do reflexo e concordava com a observação de que mamas desnervadas ou transplantadas podem ser reflexamente estimuladas.

Medindo a pressão intramamária, Whittlestone (1950) sugeriu que quando o hormônio ejetolácteo atua, causa contração das células mioepiteliais que circundam os alvéolos e pequenos dutos, como resultado aumenta a pressão alveolar e abrem-se os pequenos dutos, e cisternas.

A evidência direta deste mecanismo de ação foi comprovada por Linzell (1955 a, b) e Levitskaya (1955), com a aplicação -tópica de ocitocina sobre glândulas mamárias "in situ" sob microscópio e a observação da contração alveolar e dilatação dos dutos menores em várias espécies. Posteriormente novas evidências da função contrátil destas células foram obtidas a nível ultramicroscópico por Langer e Muhn (1958).

A idéia do sistema nervoso central governar a ejeção láctea, partiu da observação de que as crias eram inábeis em obter -leite, quando se anestesiava a mãe, mas conseguiam obtê-lo facilmente quando se administrava extrato de neurohipófise à mãe anestesiada, (Gaines, 1915).

Outra evidência deste trabalho foi a demonstração que o reflexo iniciado pela cria em uma glândula, aumenta a pressão e o fluxo de leite no lado oposto, permitindo concluir que o reflexo se inicia por estimulação sensitiva da mama e que o sistema nervoso central está envolvido no reflexo, porém interrompido pela anestesia.

Havendo similaridade de respostas entre o extrato neurohipofisário e o estímulo natural da sucção, faltava demonstrar -que o hormônio existente no extrato neurohipofisário e o fator hu

moral liberado pela sucção eram iguais ou semelhantes.

Kamm et alii (1928) separaram 2 frações ativas dos extra^{tos} de hipófise posterior - vasopressina e ocitocina, as quais foram ensaiadas quanto à sua ação na glândula mamária por Ely e Petersen (1941), que concluíram ser a ocitocina a responsável pelo aumento da pressão intramamária resultante da contração das células mioepiteliais. Sugeriram então, que a sucção iniciava impulsos aferentes, os quais atingem o sistema nervoso central liberando ocitocina no sangue.

Petersen, Shaw e Viisscher (1939, 1941) desenvolveram uma técnica de perfusão da mama isolada com sangue aquecido, oxigenado e sob pressão constante; e medindo o fluxo de leite em uma mama canulada demonstraram que um fator humoral capaz de promover a ejeção láctea era liberado na circulação durante a sucção ou ordenha.

Petersen e Ludwick (1942) trabalhando com vacas, perfundiram mamas com sangue retirado de animais onde o reflexo ejeto-lácteo tinha sido desencadeado e obtiveram drenagem de leite em 15 segundos. O fator que causava esse efeito, desaparecia em 30 minutos e não estava presente numa amostra de sangue controle.

A evidência positiva que o fator humoral liberado para o sangue durante a sucção era a ocitocina, foi obtido por Fitzpatrick (1961) e por Tindal e Yokoyama (1962).

A intensa pesquisa na comprovação desse reflexo neuroendócrino, deve-se ao fato de que, quando são cortadas as vias aferentes da glândula mamária não se produz nenhuma alteração sobre o reflexo ejeto-lácteo (Ely e Petersen, 1941) e portanto, exclui-se que seja um simples arco segmentar.

Outras provas se acumularam no sentido de provar a participação da ocitocina na ejeção láctea, assim Ferguson (1941), - Harris (1947), Van Demark e Hays (1951) e Cross (1958), observaram que o coito e o parto, também liberam ocitocina e Harris e Pickles (1953) e Campbell e Petersen (1953), que o coito pode se associar a ejeção láctea em humanos, sem que haja manipulação das mamas.

Hays e Van Demark (1953) e Debackere e Peeters (1960 a) na vaca, Debackere e Peeters (1960 b,c) e Debackere e Tuytens (1961) na ovelha e Peeters e Debackere (1962) na cabra, relatam - aumento da pressão intramamária após a manipulação da vulva, vagina e colo uterino.

Gunther (1948) observou ejeção láctea durante o parto de uma mulher, que ainda lactava de prenhez anterior, coincidindo a expulsão do leite com as dores do parto. E para corroborar a participação do sistema nervoso central na liberação de ocitocina, após esses estímulos, Barraclough (1959) e Barraclough e Cross (1963) na rata; Porter, Cavanaugh, Critchlow e Sawyer (1957) e Brooks, Ushiyama e Lange (1962) na gata, registraram a atividade elétrica em várias áreas cerebrais e obtiveram um aumento da mesma, principalmente no hipotálamo lateral.

Por outro lado, esses estudos permitiram verificar que - este reflexo neurohumoral, não é essencial para a remoção do leite em todas as espécies. Assim, constatou-se que para a cabra e a ovelha, as mamas podem ser virtualmente esvaziadas sem intervenção deste reflexo, isto seria devido a arquitetura anatômica das glândulas mamárias destas espécies, o que facilitaria a drenagem do leite dos alvéolos para os grandes dutos e cisternas (Denamur e Martinet, 1954, 1959 a, b, c, 1960; Tverskoi, 1958 e Linzell, 1960, 1963).

Estabelecido dessa forma que o reflexo ejeto-lácteo é um arco neurohumoral, os autores tentaram individualizar os componentes aferentes que levavam a informação ao sistema nervoso central, sua interação com os núcleos hipotalâmicos e os componentes eferentes desse reflexo.

Componentes Aferentes - Nervos mamários e tratos espinais ascendentes.

Uma descrição detalhada da inervação sensitiva da glândula mamária pode ser encontrada na revisão feita por Cross (1961) e em outros trabalhos, como o de Dabelow (1957) para a mulher,

Linzell (1953) para pequenos animais de laboratório, Saint-Clair (1942), Magda (1950), Turner (1952), Elishev e Pavlov (1955) e Niggli-Stokar (1961) para a vaca, e a revisão de Denamur e Martinet (1959), para pequenos ruminantes.

Os nervos mamários compreendem fibras sensitivas e fibras motoras simpáticas, não havendo inervação parassimpática (Peeters, Coussens e Sierens, 1949; Linzell, 1959; Denamur e Martinet (1959) e Cross, 1961).

As paredes das mamas (segundo autores russos, apud Linzell, 1959 e Cross 1961) possuem plexos nervosos com numerosas terminações encapsuladas contendo corpúsculos de Merkel e Pacini e, como nervos motores, fibras mielínicas e amielínicas que constituem o ponto de partida, para o reflexo neuroendócrino da ejeção láctea.

Findlay (1968) demonstrou que a anestesia dos mamilos reduz significativamente a quantidade de leite, postulando que o anestésico abole a descarga dos nervos mamários estimulados pela sucção, uma vez que a administração de ocitocina restaura totalmente o reflexo.

Denamur e Martinet (1954, 1959 a,b,c, 1960) estudaram na ovelha e na cabra, as relações entre o reflexo ejeto-lácteo e as seguintes desnervações:-

- a) ablação do sistema simpático lombosacral,
- b) secção uni e bilateral das raízes sensitivas de T₁₂ a L₅ e do nervo perineal,
- c) associação de a e b,
- d) transplantes mamários e
- e) secção parcial ou total da medula e ressecção medular associada a simpatectomia lombar, concluindo que a principal via ascendente deste reflexo não é cruzada e que a hemissecção suprime o reflexo ipsilateralmente, enquanto excitações contralaterais desencadeiam o reflexo bilateralmente. É mais, que o sistema simpático sendo excisado não tem qualquer efeito sobre a ejeção láctea.

O passo seguinte foi tentar através de secções parciais

da medula, localizar qual ou quais os tratos envolvidos na transmissão dos impulsos oriundos das mamas e através de experimentos eletrofisiológicos detectar quais as estruturas do sistema nervoso central que apresentavam alterações de sua atividade elétrica após a estimulação das glândulas mamárias.

Eayrs e Baddeley (1956) observaram na rata que a hemiseção medular bloqueia a ejeção láctea ipsilateralmente, que são as raízes espinais dorsais as envolvidas na transmissão dos estímulos e que os tratos importantes na condução desses estímulos, - estão situados nos funículos ventrolaterais do mesmo lado.

Resultados similares foram obtidos por Grosvenor (1964) na rata, Tsakhaev (1953) e Popovici (1963) na cabra, Mena e Beyer (1968) na coelha, Richard, Urban e Denamur (1970) na ovelha, sugerindo que os tratos espinotalâmicos ventral e lateral, por sua situação anatômica seriam as vias de transmissão dos impulsos iniciados nos mamilos.

Para onde são levados esses impulsos? Que estruturas do sistema nervoso central são influenciadas pela estimulação mamária?

Estudos eletroencefalográficos na coelha de Holland e Cross, (1961) mostraram que a manipulação da mama e a sucção, evocam clara atividade elétrica no hipotálamo, sistema límbico, área septal, hipocampo e neocortex ou seja uma ativação difusa, que também pode ser provocada por uma série de outros estímulos, advindos de outras regiões do organismo.

Portanto, os impulsos mamários induzem a modificações elétricas inespecíficas, provavelmente devido ao fato de ser constituído por excitações táteis, térmicas e outras, que se distribuem difusamente no tronco cerebral.

Procurou-se então, depois de secções parciais ou totais de medula, identificar as vias ascendentes deste reflexo, através de lesões eletrolíticas, estímulos com implante de eletrodos permanentes e estudos de fenômenos degenerativos no tronco cerebral.

Eayrs et al. (1956) utilizando o método de Marchi(1885), encontraram em alguns casos no mesencéfalo, degeneração do lemnis

co medial, porém, como os resultados não foram consistentes sugeriram que a transmissão a esse nível, far-se-ia por fibras amielínicas ou seria multisináptica, razão pela qual a metodologia empregada falhou em localizar as aferências interessadas na ejeção láctea.

Lesões do mesencéfalo caudal envolvendo o lemnisco medial na gata, não modificam o reflexo ejeto-lácteo, porém a destruição da substância cinzenta central a esse nível o abole (Beyer et alii, 1962).

O estímulo do lemnisco medial na cabra (Andersson, 1951) produz ejeção láctea e segundo Feldman (1962) evoca potenciais - após pequeno tempo de latência no hipotálamo posterolateral da gata, Cross e Silver (1961) traçaram na coelha a via aferente através de estimulação elétrica e encontraram como locais positivos o lemnisco medial, a substância cinzenta central, a formação reticular, subtálamo, área supramamilar, e os pedúnculos mamilares, propondo 2 sistemas aferentes, um lemniscal e outro reticular.

Green (1956) propõe que a maioria das aferências são extralemniscais e como a estimulação da substância cinzenta central, evoca potenciais nos núcleos supraóptico e paraventricular após pequeno tempo de latência, Beyer, Tindal e Sawyer (1962) sugerem que sejam mediados por fibras diretas, provavelmente o fascículo longitudinal de Schutz.

Por outro lado (Richard et alii, 1970) observaram que o trato espino-cervico-talâmico, desempenha importante papel na ejeção láctea da ovelha e pertence ao sistema lemniscal. As divergências entre os vários autores, adviria do fato que o mesmo ocupa diferentes posições a nível medular e bulbar. Acima do mesencéfalo, as aferências já não pertenceriam ao sistema lemniscal e sim estariam difusamente incluídas na formação reticular mesencefálica, - uma vez que lesões do lemnismo (Beyer et alii, 1962) não perturbam o reflexo, enquanto lesões da formação reticular bloqueiam os impulsos partidos da glândula mamária para o sistema hipotálamo-hipofisário (Tindal et alii, 1967, 1969; Aulsebrook e Holland, 1969 a, b; Richard, 1970).

Porém, Starzl, Taylor e Magoun (1951), sugerem que a nível mesencefálico exista uma emissão de colaterais, a qual permitiria uma interação das vias intra e extra lemniscais, à semelhança do que observaram na medula, Cajal (1911) e Mallart e Petit (1963), o que torna possível interpretar esses resultados experimentais.

Edinger (1889) e Anderson e Barry (1959) estudando as alterações degenerativas no tronco cerebral, após a hemissecção cervical ou a transsecção torácica, observaram ao nível da protuberância e do mesencéfalo que as fibras espinotalâmicas e do lemnisco medial estão entrecruzadas e enviam projeções ventrais ao subtálamo e ao hipotálamo posterolateral.

Nauta (1958) investigando as projeções mesencefálicas, verificou que os tratos espinotalâmicos terminam próximo aos núcleos tegmentais de Gudden, onde se originam aferências diretas - ao hipotálamo e à área septal. Estas fibras tem uma direção ventral, cruzam com o lemnisco medial na junção mesodiencefálica e vão terminar nos núcleos mamilares mediais e laterais e na região tuberal, constituindo provavelmente o trato transverso peduncular de Craigie (1925).

Recentemente, Denavit (1968) observou também colaterais que se dirigem ao subtálamo, campos de Forel e hipotálamo posterior, numa região rica de fascículos que alcançam e cruzam a formação reticular mesencefálica.

Tindal et alii (1967, 1969, 1971) estudando a via aferente deste reflexo na cobaia e na coelha, através de estímulos elétricos e considerando como resposta positiva o aumento da pressão intramamária, concluem que as aferências estão no mesencéfalo compactamente reunidas no tegmento lateral. No diencéfalo a via se bifurca em 2: uma dorsal, que alcança o núcleo parafascicular do tálamo, região periventricular, hipotálamo medial e dorsal, através do fascículo prosencefálico medial e outra ventral, mais importante que vai ao subtálamo e hipotálamo lateral. Ambas se reuniriam no hipotálamo posterior e daí passariam à haste hipotálamo-hipofisária.

Anderson et al (1957) citam observações não publicadas de Nauta e Kuypers que relatam não terem jamais encontrado fibras degeneradas no hipotálamo, após fazerem lesões pontinas ou bulbares. Somente as observavam quando a lesão era mesencefálica, concluindo que é o mesencéfalo o único a inervar o hipotálamo. Todas as aferências ascendentes fazem sinapse a esse nível.

As vias anatômicas conhecidas que ligam o mesencéfalo ao hipotálamo são:

- 1) fascículo longitudinal dorsal de Schutz
- 2) fascículo prosencefálico medial
- 3) pedúnculo mamilar
- 4) trato transverso peduncular ou pedúnculo tegmentar

Do exposto até agora, vemos que os vários autores divergem quanto à via aferente dos estímulos desencadeados pela sucção no seu trajeto pelo tronco cerebral. Isso porque cada autor ou grupo de pesquisadores, trabalhou com espécies animais diferentes e principalmente com métodos de estudo também diferentes (estimulação elétrica, lesões eletrolíticas ou de radiofrequência, preparações descerebradas, estudos das degenerações ascendentes após secções prévias, etc.).

Componente Eferente

O papel da neurohipófise no reflexo ejeto-lácteo foi estabelecido através das clássicas experiências de Cross e Harris (1950 a, b, 1951, 1952 a, b e 1958), sobre os efeitos da estimulação elétrica e das lesões do trato supraóptico-hipofisário em coelhas lactantes.

Para registro da ejeção láctea, canularam um duto mamário e a haste pituitária foi estimulada com eletrodos colocados - estereotáxicamente em animais conscientes. Todos os estímulos situaram-se dentro do trato supraóptico-hipofisário e após um período de latência de 25 a 90 segundos, ocorreu ejeção láctea. A resposta era imitada pela injeção endovenosa de 50 a 200 mU de extrato neurohipofisário.

As lesões eletrolíticas da eminência média e da haste infundibular, que interrompiam esse trato, interferiam com o reflexo. As crias conseguiam obter apenas 30% do total de leite existente e uma injeção de 50 a 200 mU do extrato mencionado, permitia esvaziar completamente as mamas.

Na presença destas lesões, a estimulação do trato supraóptico-hipofisário falhou em desencadear este reflexo. Por outro lado, lesões envolvendo outras áreas hipotalâmicas, que não interessavam o trato supraóptico-hipofisário não tiveram qualquer interferência.

A secção da haste pituitária na cabra (Tverskoi, 1960; - Cowie, Daniel, Knaggs, Prichard e Tindal, 1964) e na ovelha (Dennur e Martinet, 1961) inibe o reflexo ejeto-lácteo.

Porém, Dempsey e Uotila (1940) haviam observado que se a secção for feita 2 a 3 meses antes da fertilização não afeta o reflexo. Mas, se é feita no fim da gestação ou durante a lactação (Herold, 1939; Desclin, 1940; Jacobsohn, 1949), impede que a mesma se mantenha.

Estes resultados aparentemente contraditórios são explicados por Adams, Daniel e Prichard (1963) pela sobrevivência de 22% do volume da adenohipófise, a qual mesmo separada da hipófise secreta prolactina em quantidades suficientes para manter a atividade mamária (Everett, 1954, 1956; Desclin, 1956; Cowie, Tindal e Benson, 1960 e Rothchild, 1960). E pela regeneração dos tratos nervosos seccionados como observaram na cabra (1968).

Lesões eletrolíticas na eminência média da rata (Gale, Taleisnik, Friedman e McCann, 1961) e radiolesões na hipófise, - eminência média e haste pituitária da cabra (Gale e Larsson, 1963) abolem o reflexo ejeto-lácteo. A estimulação da hipófise na vaca - com eletrodos permanentes implantados através do esfenoide, também produz ejeção láctea, como observaram Hynek, Bilek e Lis (1965).

A neurohipófise representa a via final comum para os neurônios oriundos dos núcleos supraóptico e paraventricular. Isto levanta a questão de qual dos dois núcleos produz ocitocina ou vasopressina? Existem ambos hormônios nos dois núcleos?

Lesões experimentais localizadas ora em um, ora em outro núcleo, feita por Fisher, Ingram e Ranson (1938), Olivecrona (1954, 1957), Duggan e Reed (1958) e Nibbelink (1961) sugerem que o núcleo supraóptico está relacionado com a secreção de vasopressina e o paraventricular com a de ocitocina. Embora outros autores como Andersson (1951) e Andersson e McCann (1955) postulem que ambos os núcleos elaboram os dois hormônios.

Sokol (1970), após destruir eletroliticamente os núcleos paraventriculares em ratas portadoras de diabetes insípido hereditário, observou existir ainda neurosecreção na neurohipófise e conclui que os núcleos paraventriculares não são os únicos produtores de ocitocina.

O enfoque mais direto é a medida de ocitocina e vasopressina em amostras de sangue durante a estimulação. Hawker, Walmsley, Roberts e Robertson (1959), encontraram um aumento da concentração sanguínea de ocitocina em ratas após a estimulação elétrica do núcleo paraventricular. Bisset, Hilton e Poisner (1963, 1967) observaram na gata que o estímulo do supraóptico ou do trato supraóptico-hipofisário, aumenta significativamente a concentração sanguínea de vasopressina com pouca ou nenhuma alteração da concentração de ocitocina.

A liberação de moderadas quantidades de vasopressina, - sem quantidades detectáveis de ocitocina foi obtida pela estimulação da parte rostral do núcleo paraventricular cinereo por Greving (1926) e Bargmann (1949 b), sugerindo que o paraventricular também controla a liberação de vasopressina seja direta ou indiretamente estimulando o núcleo supraóptico.

A evidência de estar o núcleo paraventricular envolvido no reflexo ejeto-lácteo foi obtida por Brooks, Ishikawa, Koizumi e Lu (1966), que demonstraram durante a sucção do mamilo na gata, - um aumento dos potenciais neste núcleo, registrados com microeletrodos implantados.

Se como parece, a sucção leva a uma descarga de ocitocina da neurohipófise, é de interesse perguntar se durante a sucção:

1) há depleção do material neurosecretor no sistema hipó-

tálamo-hipofisário,

- 2) há diminuição da ocitocina na neurohipófise,
- 3) aumenta a ocitocinemia,
- 4) ocorrem outras reações neurohipofisárias, como anti-diurese, e
- 5) como os impulsos nervosos ascendentes da mama liberam esse hormônio?

Respostas definidas a todas essas perguntas não existem, porém as evidências existentes são:-

1) A quantidade de material neurosecretor diminui no hipotálamo e na neurohipófise durante a lactação na rata (Stutinsky, 1953; Malandra, 1956; Rennels, 1958 e Rinne, 1960), na cobaia (Collin e Racadot, 1953), na camundonga (Brightman, 1955) e na gata (Racadot, 1957). Porém na cadela, van Dyke, Adamsons e Engel (1955) não encontraram alterações.

Por outro lado, Amin, Crawford e Gaddum (1954), Eliasson, Lie e Pernow (1956), Lederis (1961) e Hawker, Blackshaw, Roberts e Goodricke (1962), enfatizaram a necessidade de purificar os extratos hipotalâmicos antes das determinações biológicas, porque soem estarem contaminados com catecolaminas, substância P, acetilcolina e outras substâncias ocitocicas que podem falsear os resultados.

2) As mensurações do conteúdo hormonal da neurohipófise antes e depois da sucção ou ordenha, tem dado resultados variáveis nas diferentes espécies. Na rata, Dicker e Tyler (1953 b), Acher, Chuvet e Olivry (1956), Acher e Fromageot (1957), Rennels (1958) e Heller (1959), observaram um declínio no conteúdo de ocitocina da neurohipófise durante a lactação. Resultados idênticos relatam Dicker e Tyler (1953 a) e van Dyke et alii (1955, 1957) para a cadela e Dicker e Tyler (1953 b) para a cobaia e a gata.

Mas, Macaulay (1950, 1952) na cabra, Whittlestone, Bisset e Turner (1952) e Landgrebe (1957) na vaca e Barer, Heller e Lederis (1963) na coelha, referem não haver alterações significantes.

Entretanto, Folley (1956) crê que esse fato não é impor-

tante, porque a quantidade de ocitocina necessária para desencadear a ejeção láctea é mínima, quando comparada com o total existente na glândula, que é compatível com várias descargas para a circulação como provaram os trabalhos de Macaulay (1950, 1952), - Wittlestone (1951), Wittlestone et alii (1952), Fuchs e Wagner (1963) e Denamur, Stoliaroff e Desclin (1965) na cabra, na vaca e na coelha. Além disso, segundo Heller (1959) e Heller e Lederis (1959) esses resultados discordantes são devidos aos processos de extração do hormônio que utilizam acetona.

A neurohipófise da cabra possui 10 a 15 U. l. de ocitocina, enquanto a resposta máxima do reflexo é obtida com a injeção endovenosa de uma milésima parte desse total (Denamur e Martinet, 1953). Donovan e Harris (1958) calculam que na rata e na coelha, a sucção libere uma trigésima parte do total da ocitocina existente na neurohipófise. Logo, não se observam alterações evidentes - no conteúdo total.

3) Existem vários procedimentos nos quais os efeitos da sucção ou ordenha, são comparados com aqueles produzidos por quantidades conhecidas de ocitocina, como o aumento da pressão intramamária, o volume de leite ejetado ou como no caso de Fuchs et al (1963) a motilidade uterina. Porém, a quantidade de ocitocina liberada e calculada por esses métodos indiretos, é suscetível de dúvidas, razão pela qual se preferiu a estimativa direta no sangue. E mesmo assim, os resultados encontrados na literatura são controversos.

Nos intervalos entre a sucção e a ordenha, Fitzpatrick (1961) na ovelha, Hawker e Roberts (1957) na cabra e na vaca e Knaggs (1963) na vaca, não detectaram ocitocina no sangue.

Durante a sucção, Fitzpatrick (1961) na ovelha, Folley e Knaggs (1965) na vaca, Hawker e Roberts (1957) na cabra e Hawker e Robertson (1957) na mulher, obtiveram um aumento considerável da ocitocinemia, quando comparada aos níveis de pré-sucção.

Paradoxalmente, Hawker (1958) na mulher e Folley e Knaggs (1965) na cabra, não encontraram alterações do nível sanguíneo de ocitocina.

A explicação mais provável para essas controvérsias é se gundo Walker (1961), consequência das várias técnicas de extração, purificação e estimação biológica usadas pelos vários autores. Tentou-se também vários tipos de cromatografias com resultados si milares. (Acher, Chuvet e Lenci, 1958; Arimura e Dingman, 1959; Porath e Flodin, 1959; Weinstein, Berne e Sachs, 1960; Fitzpatrick, 1961; Porath e Schally, 1962; Fitzpatrick e Walmsley, 1962; Knaggs, 1963; Yamashiro, 1964; e Folley e Knaggs, 1965).

Outro problema criado foi na escolha do melhor efetor para a ocitocina "in vitro", contrações uterinas (Fitzpatrick, 1961; Chan, O'Connell e Pomeroy, 1963; e Follett e Bentley, 1964) ou contração das células mioepiteliais da glândula mamária seja "in vivo" ou "in vitro" (Cross e van Dyke, 1953; van Dyke et alii, 1955; Berde e Cerletti, 1957; Méndez-Bauer e Carballo, 1957; Méndez-Bauer, Cabot e Caldeyro-Barcia, 1960; González-Panizza, Sica-Blanco e Méndez-Bauer, 1961; Smith, 1961; Tindal e Yokoyama, 1962; Manunta e Albergoni, 1962 a, b; Sjöholm e Rydén, 1962 e Rydén e Sjöholm, 1962).

4) A sucção ou a ordenha tem moderado efeito antidiurético na coelha (Cross, 1950, 1951), na cadela (Kalliala, Karvonen e Leppänen, 1952 e Pickford, 1960), na vaca (Peeters, Coussens, Bouckaert e Oyaert, 1949; Peeters, Storkmorken e Vanschoubrock, 1960), na cabra (Kaveshnikova, 1956) e na mulher (Kalliala e Karvonen, 1951 e Theobald, 1959), comparável ao causado pela injeção de 0,5 a 1 mU de HAD.

5) Como os impulsos causam a liberação do hormônio não se conhece, mas o encontro de pequenas vesículas - 300 Å, por Palay (1957) e Green e Maxwell (1959), que foram consideradas vesículas sinápticas colinérgicas por Palay e Palade (1954), Hartmann (1958) e Holmes e Knowles (1960) fez com que um mecanismo colinérgico fosse invocado por Pasetto (1952), Koelle (1955), Abrahams, Koelle e Smart (1957), Koelle e Koelle (1959), Gerschenfeld, Tramezzani e de Robertis (1960), Koelle e Geesey (1961), Kiernon (1964) e Lederis e Livingston (1966).

Daniel e Lederis (1966) observaram que a acetilcolina só

liberava os hormônios, se o hipotálamo fosse incubado com a haste pituitária e a glândula juntas, pois a glândula sozinha em presença da acetilcolina não liberava os hormônios e concluíram que o mediador está envolvido no processo de liberação a nível dos núcleos hipotalâmicos, não havendo evidência direta de sua ação sobre as terminais nervosas da neurohipófise. Isto é questionável, pois trata-se de experiência "in vitro", que não pode ser comparada com a eventual liberação do mediador dentro dos terminais.

Chang, Chia, Hsu e Lim (1937 a, b, c, 1938) e Huang (1938) obtiveram evidências que a estimulação do cabo central da vago no cão produzia liberação reflexa de vasopressina da neurohipófise, associada com a liberação de acetilcolina na circulação cerebral. Este trabalho, junto com a demonstração de Dikshit (1934, 1935) que os efeitos centrais podem ser produzidos no gato, injetando-se acetilcolina no hipotálamo ou nos ventrículos cerebrais, levou Pickford a sugerir que a acetilcolina podia ser o mediador químico entre os impulsos nervosos e o núcleo supraóptico.

Pickford (1939), primeiro demonstrou que a acetilcolina tinha ação antidiurética no cão consciente, que era abolida pela hipofisectomia. A seguir, que a injeção intracarotídea era mais efetiva que a intravenosa (Pickford e Watt, 1951) e que se podia inibir a diurese por uma injeção direta da acetilcolina (Pickford, 1947) ou de diisopropil fluorfosfato (DFP) no núcleo supraóptico (Duke, Pickford e Watt, 1950), mostrando que a acetilcolina estimula a liberação de vasopressina por este núcleo.

Para testar se a ocitocina também era liberada, injetavam eserina ou DFP diretamente no núcleo supraóptico de cães anestesiados e tratados com stilbestrol, e observaram um aumento da atividade uterina espontânea. (Abrahams e Pickford, 1956, b). Uma ejeção láctea similar a obtida com 20 mU de ocitocina, era conseguida na cadela lactante pela injeção intracarotídea de 200 ug de acetilcolina; enquanto a mesma dose era ineficaz dada intravenosamente (Pickford, 1960).

Estes resultados, concordam com a demonstração da presença de colina-acetilase (Feldberg e Vogt, 1948 e Feldberg, 1949)

e de acetilcolinesterase (Abrahms, Koelle e Smart, 1957) no núcleo supraóptico e reforçam as evidências que um mediador colinérgico é indiretamente responsável pela liberação de ocitocina e vasopressina.

Posteriormente, Brooks et alii (1966) demonstraram que a injeção intracarotídea de acetilcolina produz uma ejeção láctea, equivalente à produzida por 5 µl de ocitocina e que se acompanha de um aumento da atividade elétrica dos neurônios do núcleo paraventricular. A sucção do mamilo por 1 minuto desencadeia resposta similar e todos os neurônios excitados reflexamente pela sucção, são sensíveis a acetilcolina.

Estas respostas antidiurética, ocitócica e ejeto-láctea - eram obtidas na presença de atropina, dada para prevenir as ações periféricas de acetilcolina. Isto sugere uma ação central, tipo nicotínica e que a nicotina por si só liberaria ocitocina e vasopressina. Burn, Truelove e Burn (1945) demonstraram em ratos, a ação antidiurética da nicotina, que era abolida pela hipofisectomia.

A atropina para bloquear o reflexo ejeto-lácteo tem que ser administrada sistemicamente em grandes doses - 350 a 700 mg por quilo de peso corporal ou implantada diretamente no núcleo paraventricular, eminência média e núcleo arqueado bilateralmente (Ôba, Ôta e Yokayama, 1971).

Por outro lado, foi também postulado um componente adrenérgico em adição ao colinérgico no reflexo ejeto-lácteo, baseando-se nas observações de Grosvenor e Turner (1957), onde drogas adrenolíticas bloqueiam o reflexo, o qual pode ser restabelecido pela injeção de ocitocina. Haveria um componente adrenérgico excitatório que se bloquearia com essas drogas.

Todavia, para outros pesquisadores o componente adrenérgico seria inibidor, uma vez que emoções ou stress não causam a antidiurese (O'Connor e Verney, 1945), uma vez que a adrenalina liberada bloquearia a liberação de vasopressina. Abrahms e Pickford (1956, a) demonstraram haver um antagonismo entre acetilcolina e adrenalina na transmissão de impulsos ao núcleo supraóptico.

tico.

Existem demonstrações histoquímicas da presença de altas concentrações de catecolaminas nesses núcleos (Shute e Lewis, 1966) e recentemente Cannata e Tramezzani (1969) demonstraram na rata, a nível ultramicroscópico a presença de 4 tipos de terminais nervosas (colinérgicas, adrenérgicas, peptidérgicas e tipo eminência média) na neurohipófise. Porém, todos os estudos feitos, ainda não conseguiram identificar sinapse no interior da glândula.

Outra hipótese aventada foi que os impulsos nervosos atuariam nos pituícitos, os quais controlariam a liberação dos hormônios da hipófise posterior. Stutinsky (1953), Rennels e Drager (1955) e Rennels (1958) na rata, Racadot (1957) na gata e Collin e Racadot (1953) na cabaia, observaram que os pituícitos das fêmeas lactantes eram mais numerosos e hipertrofiados que nos outros estados fisiológicos.

Os pituícitos podem se multiplicar e se hipertrofiarem - em várias condições experimentais levando a um aumento da liberação dos hormônios neurohipofisários, segundo Selye e Hall (1943), Chambers (1945), Ortmann (1951), Billestein e Leveque (1955), Rennels e Drager (1955), Leveque e Small (1959), Kuwabara (1961) e Duchon (1962).

Porém, não possuem vesículas neurosecretoras e não secretariam ocitocina e vasopressina, mas Bucy (1932), Fisher et alii (1938) e Gersh (1939) postularam que secretariam uma substância hipotética que atuando diretamente nos axônios liberariam a neurosecreção. Não foi demonstrada.

Outros autores como, Douglas e Poisner (1962 a, b, 1963, 1964 a, b) e Douglas (1963) sugerem que os impulsos nervosos permitem a entrada de ion Ca^{++} nos axônios da neurohipófise modificando o meio intracelular das vesículas neurosecretoras e promovendo a liberação dos hormônios.

Portanto, não se sabe como ocorre a interação entre os componentes aferente e eferente deste reflexo neuroendócrino e a liberação intrahipotalâmica de ocitocina. Ignora-se o que ocorre entre a chegada do estímulo ao hipotálamo e a liberação de

ocitocina pela neurohipófise.

Vários autores tentaram localizar o ponto de entrada dessas aferências no hipotálamo. Yokoyama e Ôta (1959), Beyer et al (1962), Stutinski e Terminn (1964) e Beyer e Mena (1965) conseguiram interromper a ejeção láctea, fazendo lesões eletrolíticas no hipotálamo caudal.

Por outro lado, a estimulação da região mamilar e supra-mamilar junto aos pedúnculos mamilares libera ocitocina na gata, demonstrada pelas contrações uterinas que provoca (Mena, Anguiano e Beyer, 1961).

Yokoyama, Halász e Sawyer (1967) utilizando um método - mais sofisticado, a desaferentação desenvolvida por Halász e Pupp (1965), observaram na rata, que secções postero ou anterobilaterais completas do hipotálamo impedem as crias de obterem leite, apesar de vigorosa sucção.

Voloschin e Tramezzani (1971) empregando uma técnica especial (Voloschin, Joseph e Knigge, 1968) fizeram secções pequenas e sistematizadas, seja da área hipotalâmica ou dos núcleos neurosecretores, independentes ou associadas e concluíram que:

1) o reflexo ejetolácteo só é interrompido, após a secção das aferências que penetram pelo hipotálamo caudal;

2) a secção das aferências que chegam por todos os outros lados (rostral, dorsal, paramedianas) isoladas ou associadas não tem efeito sobre a ejeção láctea;

3) a completa desaferentação do núcleo paraventricular - não interrompe este reflexo e

4) somente a secção posterior ao núcleo supraóptico abolir a ejeção láctea, as secções dos outros lados não.

Recentemente, Tindal e Knaggs (1971) demonstraram que na cobaia a remoção de todo telencéfalo, incluindo cortex cerebral, hipocampo, amígdala e todo o cérebro rostral ao hipotálamo, não afeta a ejeção láctea e concluem que a via aferente, é unicamente diencefálica.

Frente a esses resultados, conceitos e fatos, estudaremos com a mesma metodologia (desaferentações parciais e

totais), a provável localização anatômica das aferências do reflexo ejetolácteo no hipotálamo caudal, no mesencéfalo e na protuberância da rata.

Nosso objetivo será sistematizar topograficamente o trajeto dessas aferências, utilizando uma técnica que permite - desaferentações circunscritas, sem a necessidade de extirpar fragmentos de tecido cerebral, sem causar lesões em áreas adjacentes, como acontece com as lesões eletrolíticas ou ativar difusamente - todo o encéfalo, como ocorre nas experiências de estimulação elétrica.

MATERIAL E MÉTODOS

Na presente investigação, utilizamos 204 ratas adultas - lactantes (15^o a 18^o dia de lactação) da raça Wistar, com peso compreendido entre 180 a 230 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais com seus filhotes, à temperatura ambiente de $\pm 20^{\circ}\text{C}$, num regime de 14 horas de luz e 10 horas de obscuridade e alimentados com ração balanceada para animais de laboratório e água "ad libitum".

Os animais foram anestesiados com éter e operados em um aparelho estereotático (La Précision Cinematographique Française), utilizando-se como coordenadas as do atlas estereotático de König e Klippel (1963).

Após fixar a cabeça do animal nas coordenadas previamente escolhidas, fazia-se uma incisão sagital na pele, dissecção dos planos até o osso, o qual era raspado e efetuava-se perfuração da calota craniana sobre as regiões, onde desejávamos penetrar usando uma broca adequada ao tamanho do bisturi.

Bistuti Neurocirúrgico

O bistuti utilizado foi desenvolvido por Voloschin et al (1968) e consiste em um fio de aço flexível com 0,15 mm de diâmetro, fixado a um parafuso micrométrico que o faz deslizar dentro de um tubo guia de 0,55 mm de diâmetro externo.

O tubo guia tem sua abertura inferior angulada o que obriga o bistuti a sair num ângulo de 85 a 88^o de seu eixo. Por sua vez o tubo ~~guia~~ está fixado a uma base circular que gira 360^o e é acoplado ao aparelho estereotático através de uma cremalheira que possibilita sua movimentação vertical. (Fig. 1).

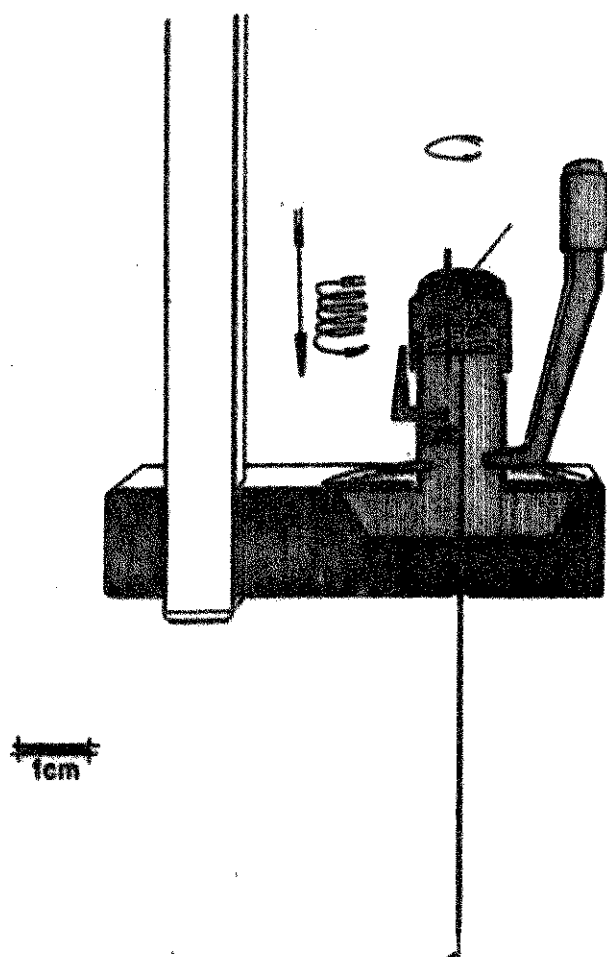


Figura 1: bisturi neurocirúrgico

A sequência operacional para o plano caudal do hipotálamo está representada esquematicamente na figura 2:

- 1 - Tubo acoplado no estereotáxico
- 2 - Deslocamento do tubo no sentido vertical até a coordenada estereotáxica previamente escolhida.
- 3 - A seguir com o parafuso micrométrico faz-se o bisturi deslizar para fora do tubo guia no comprimento desejado.
- 4 - Através de deslocamento vertical se secciona a área desejada (o deslocamento poderia ser lateral ou rotatório, dependendo da desafferentação desejada).
- 5 - Recolhe-se o bisturi para o interior do tubo guia.

6 - Retira-se o mesmo da crânio por meio da cre malheira mencionada. Repete-se a mesma operação do lado oposto quando necessário. (Fig. 2).

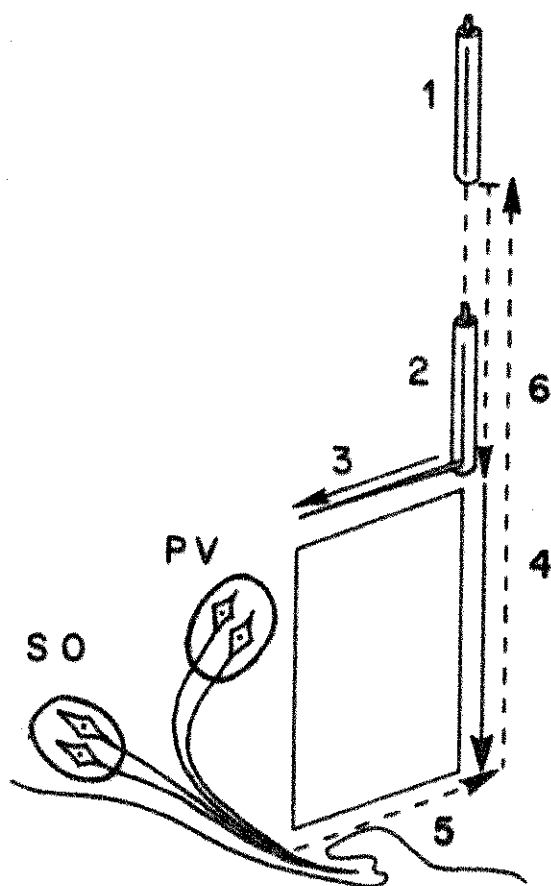


Figura 2: Esquema da sequência operacional

Grupos Experimentais:-

Os animais foram distribuídos em 15 grupos expe rimentais, de acordo com a seguinte sistematização topográfi - ca.

No limite posterior de cada nível - hipotálamo, mesencéfalo e ponte foram feitas:-

- a) secções completas
- b) " dorsais
- c) " ventrais
- d) " centroventrais
- e) " lateroventrais

Grupo 1:

Constituído por 27 animais, nos quais se praticou a desafferentação total do hipotálamo caudal (Fig. 3).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 3,0 a 4,0

V - +2 a base

L - 3,0

Comprimento do bisturi - 6 mm

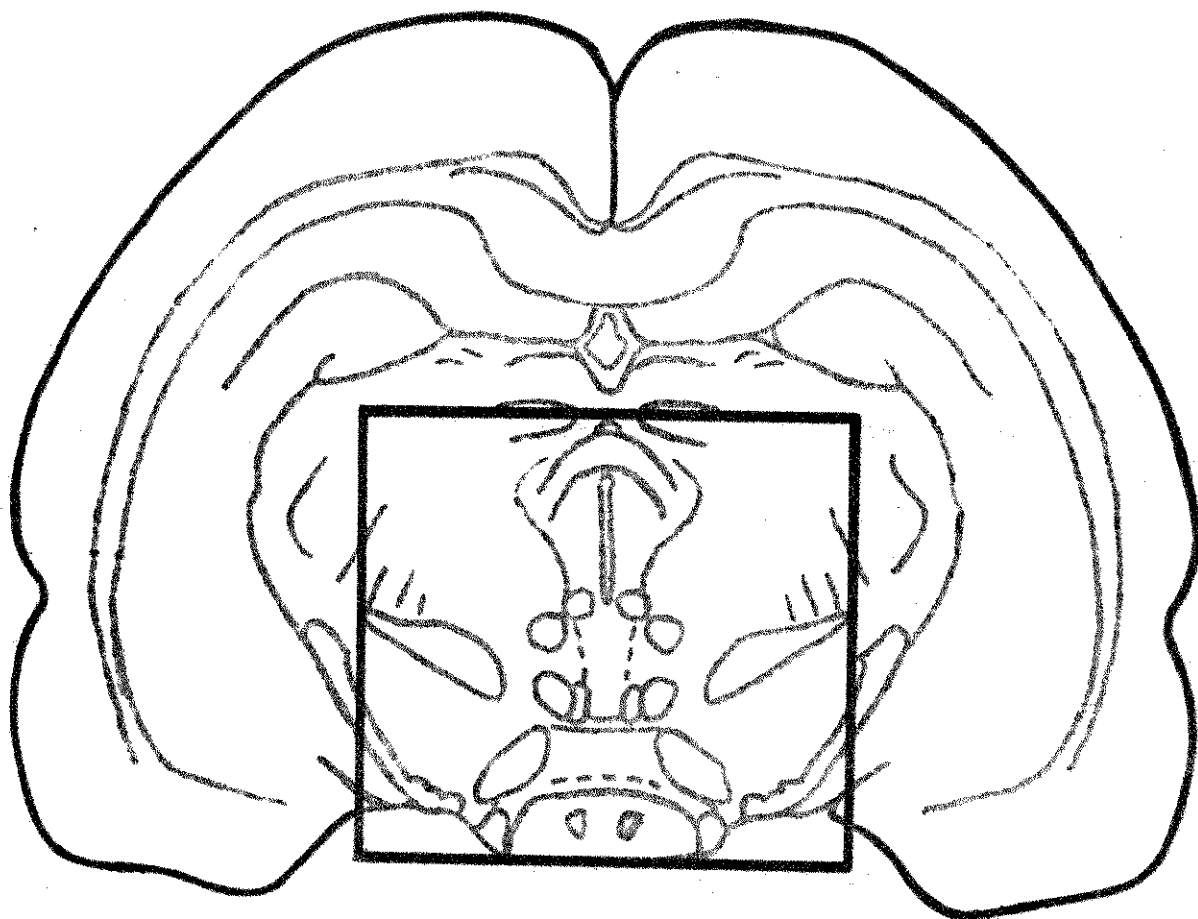


Figura 3: Esquema da área desafferentada

Grupo 2:

Constituído por 30 animais, nos quais se fez a desafferentação dorsal completa do hipotálamo caudal (Fig. 4).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 3,0 a 4,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - + 2,0 a - 2,0

L - 3,0

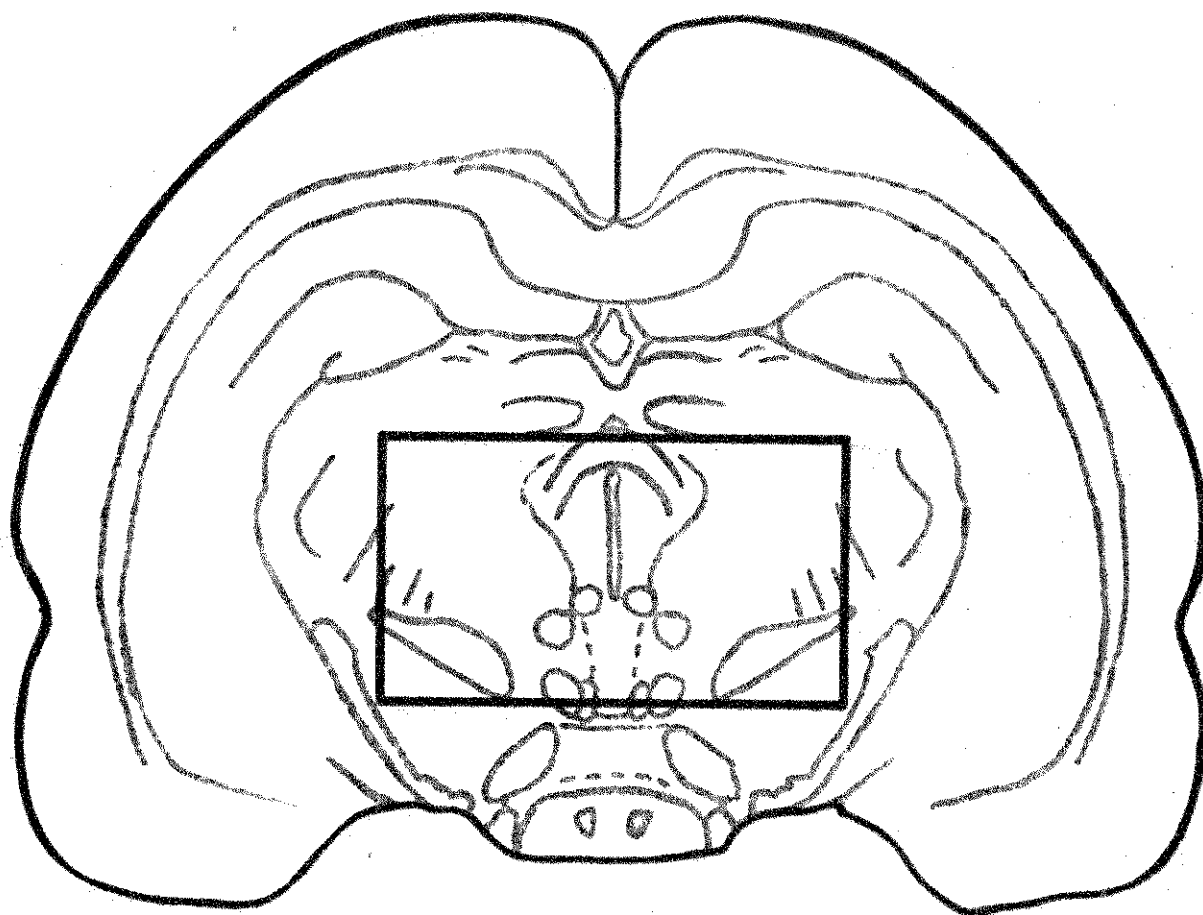


Figura 4: Esquema da área desafeferentada

Grupo 3:

Constituído por 10 animais, submetidos a desafe^{re}rentação ventral completa do hipotálamo caudal (Fig. 5).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 3,0 a 4,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - - 2,0 à base

L - 3,0

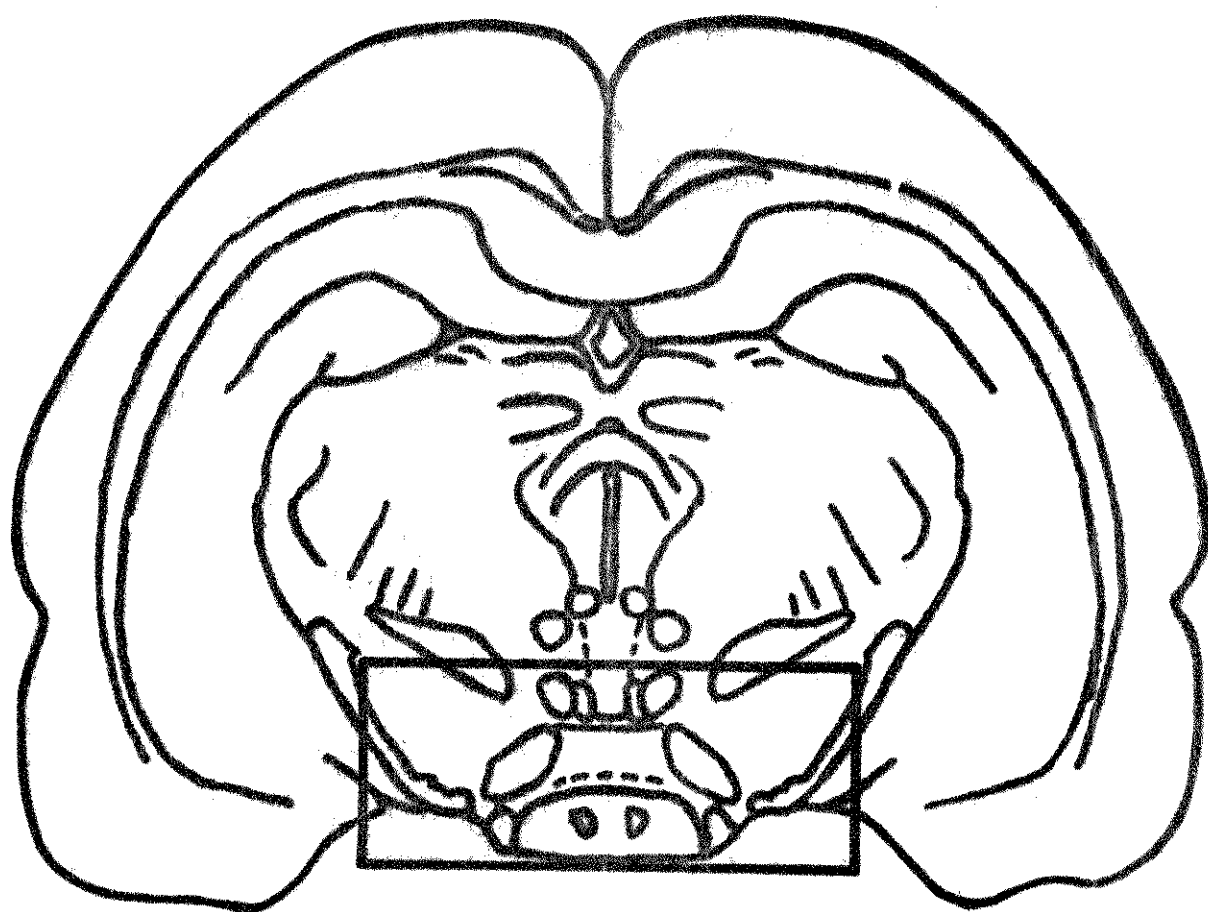


Figura 5: Esquema da área desaferentada

Grupo 4:-

Constituído por 20 animais que sofreram desaferentação látero-ventral do hipotálamo caudal (Fig. 6).

Coordenadas estereotáticas usadas:

A - 3,0 a 4,0 Comprimento do bisturi - 2 mm

V - - 2,0 à base com entrada bilateral

L - 3,0

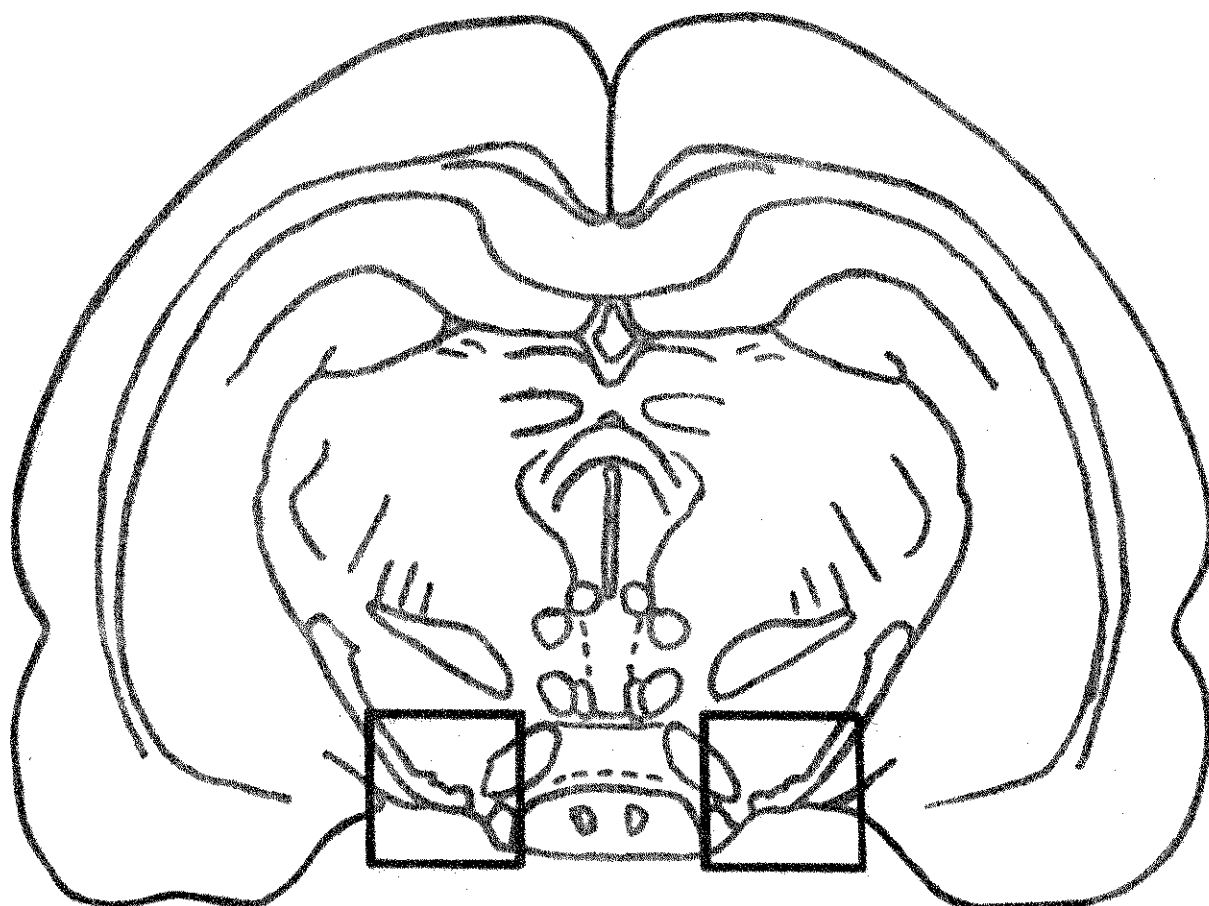


Figura 6: Esquema da área desferentada

Grupo 5:-

Constituído por 13 animais, nos quais se praticou a desferentação centroventral do hipotálamo caudal. (Fig. 7).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 3,0 a 4,0 Comprimento do bisturi - 2 mm

V - - 2,0 à base

L - 1,0

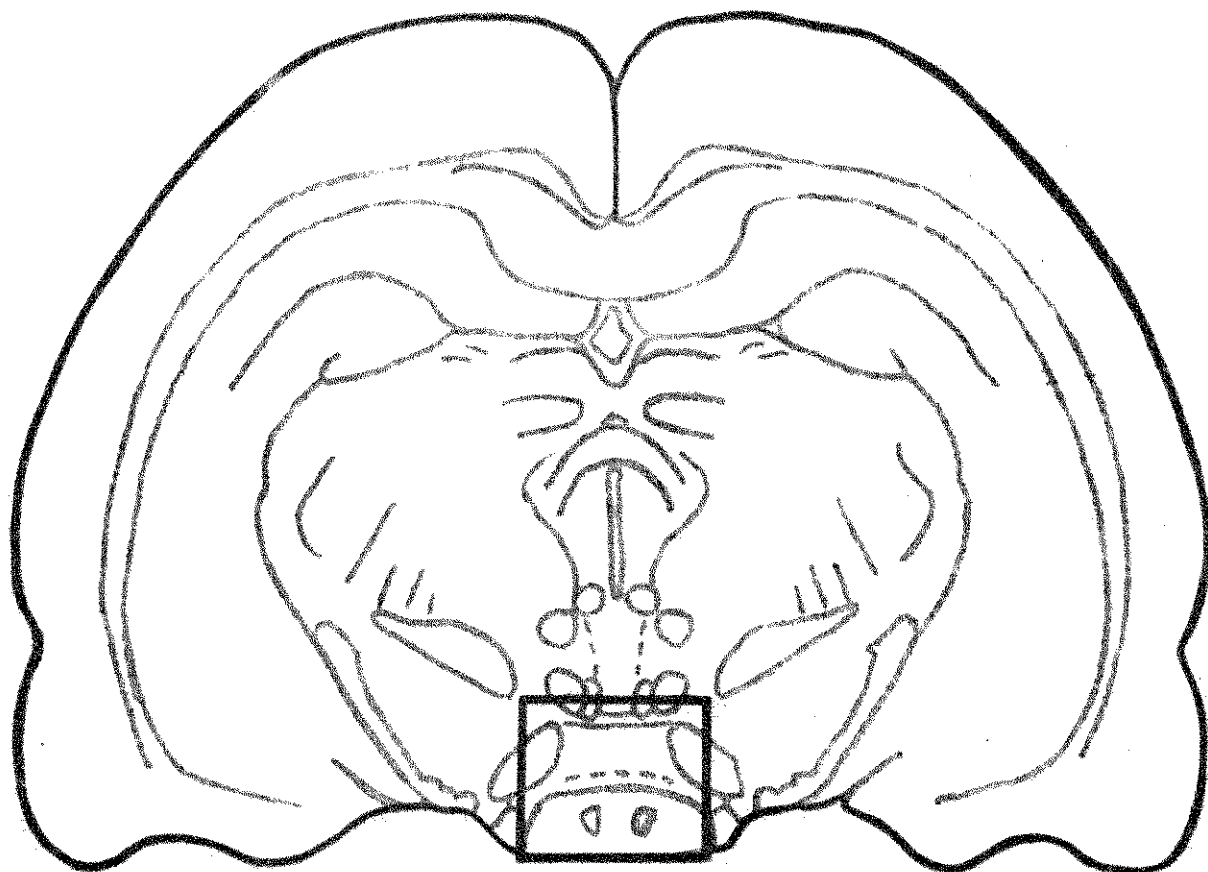


Figura 7: Esquema da área desferentada

Grupo 6:-

Constituído por 11 animais, com desferentação total do mesencéfalo. (Fig. 8).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 1,5 a 2,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - + 2,0 à base

L - 3,0

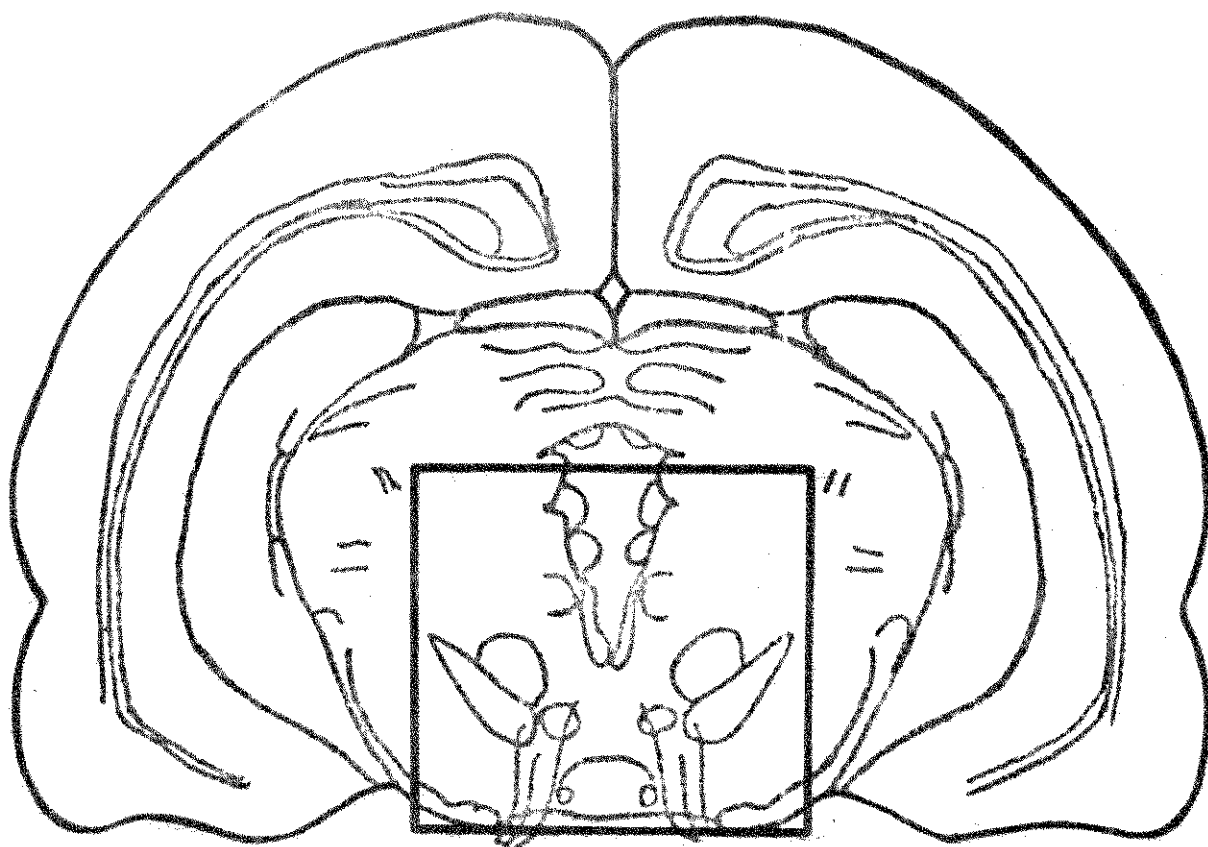


Figura 8: Esquema da área desferentada.

Grupo 7:-

Constituído por 9 animais, nos quais se praticou desferentação dorsal completa do mesencéfalo. (Fig. 9).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 1,5 a 2,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - + 2,0 a - 2,0

L - 3,0

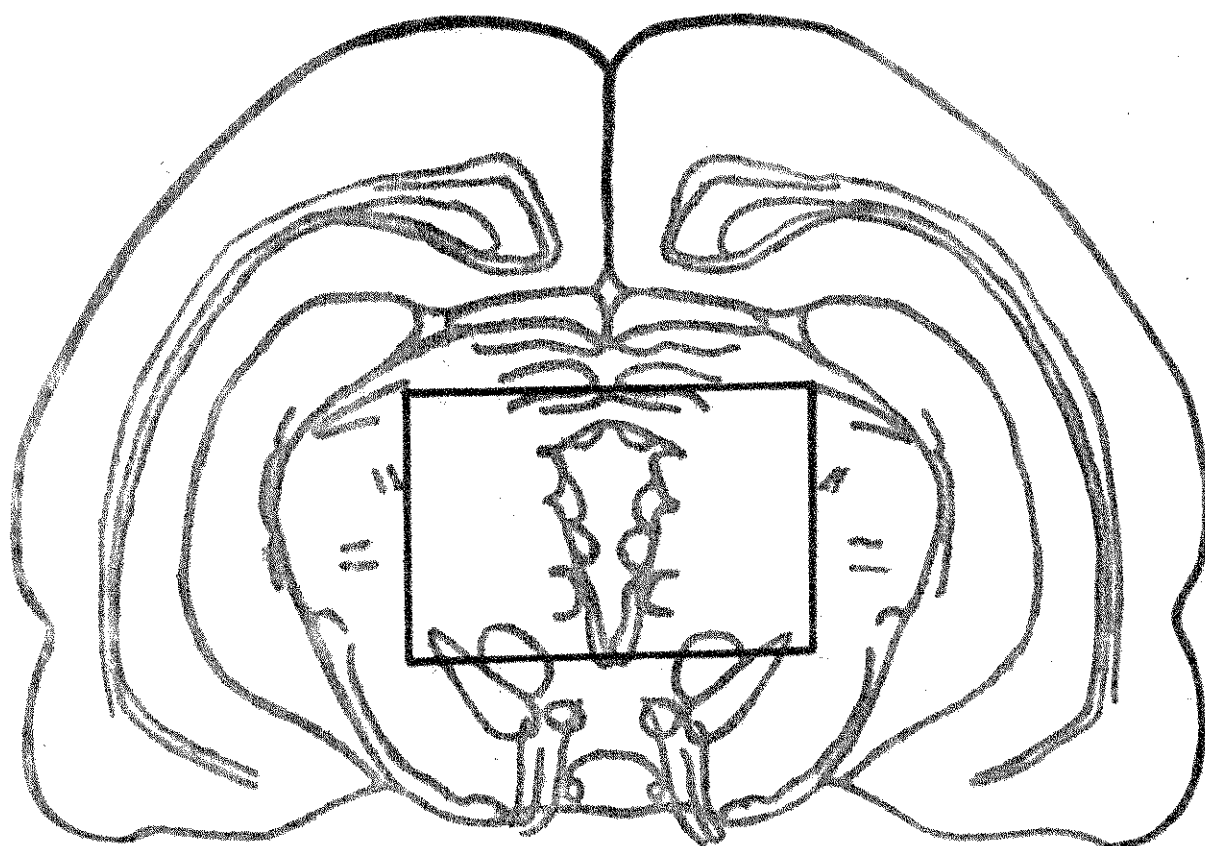


Figura 9: Esquema da área desaferentada.

Grupo 8:-

Constituído por 13 animais, com desaferentação ventral completa do mesencéfalo. (Fig. 10).

Coordenadas estereotáxicas usadas:-

A - 1,5 a 2,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - - 2,0 à base

L - 3,0

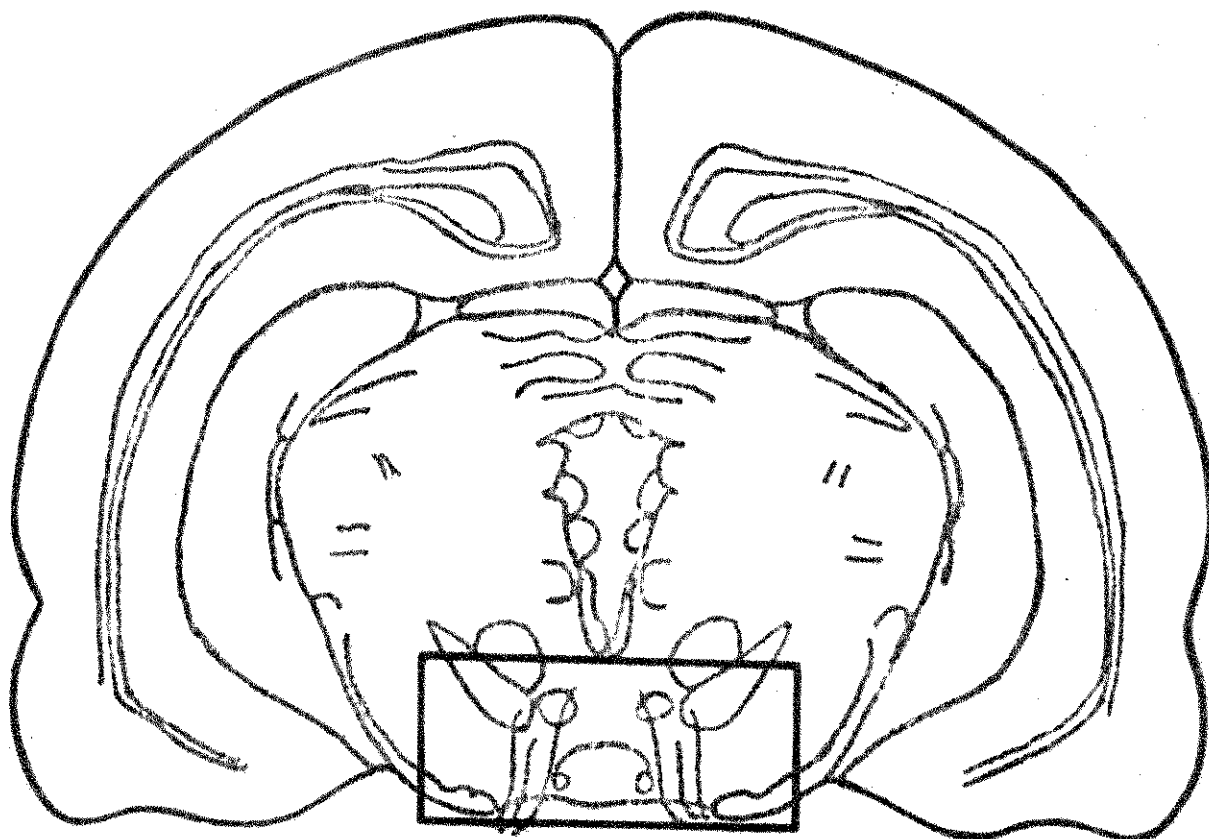


Figura 10: Esquema da área desafeferentada.

Grupo 9:-

Constituído por 12 animais, submetidos a desafe_{re}ntação látero-ventral do mesencéfalo. (Fig. 11).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 1,5 a 2,0 Comprimento do bisturi - 2 mm

V - - 2,0 à base com entrada bilateral.

L - 3,0

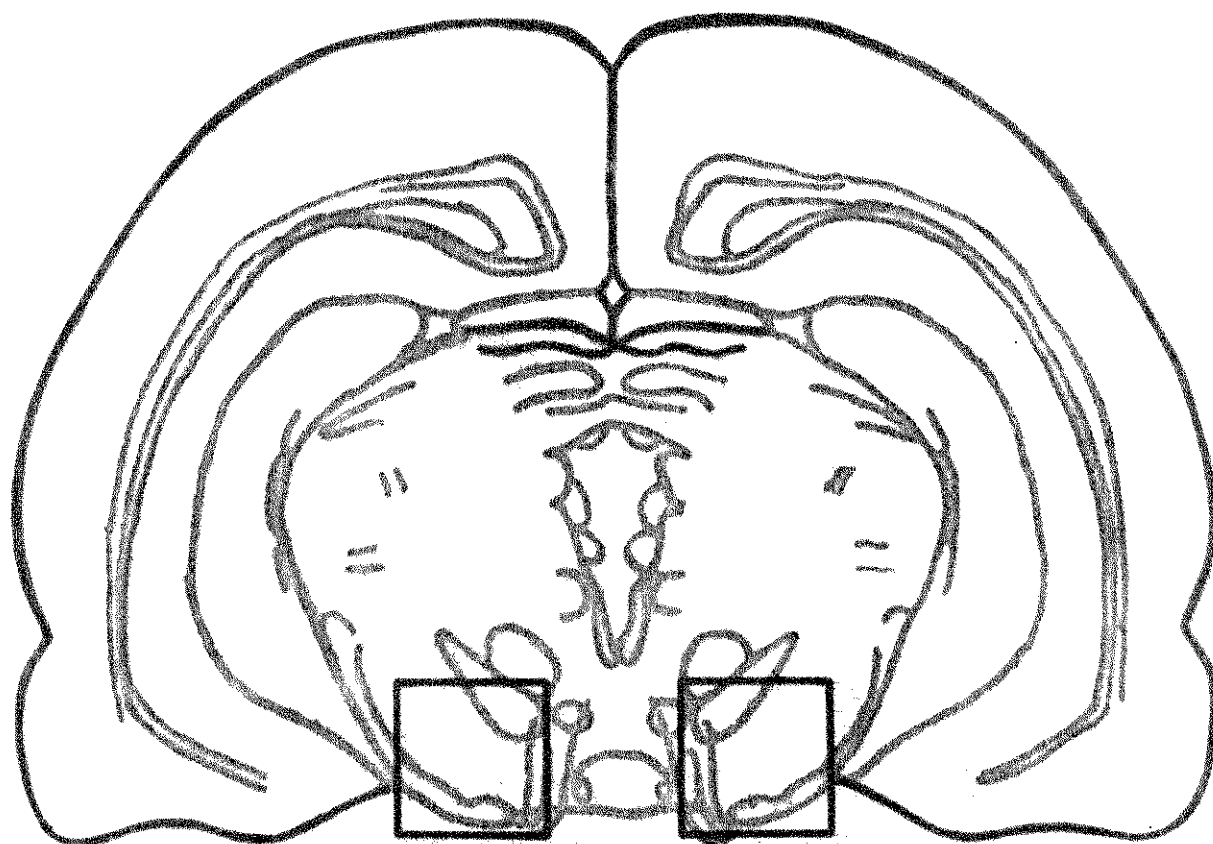


Figura 11: Esquema da área desaferentada.

Grupo 10:-

Constituído por 17 animais, com desaferentação centroventral do mesencéfalo. (Fig. 12).

Coordenadas estereotáxicas usadas:-

A - 1,5 a 2,0 Comprimento do bisturi - 2 mm

V - - 2,0 à base

L - 1,0

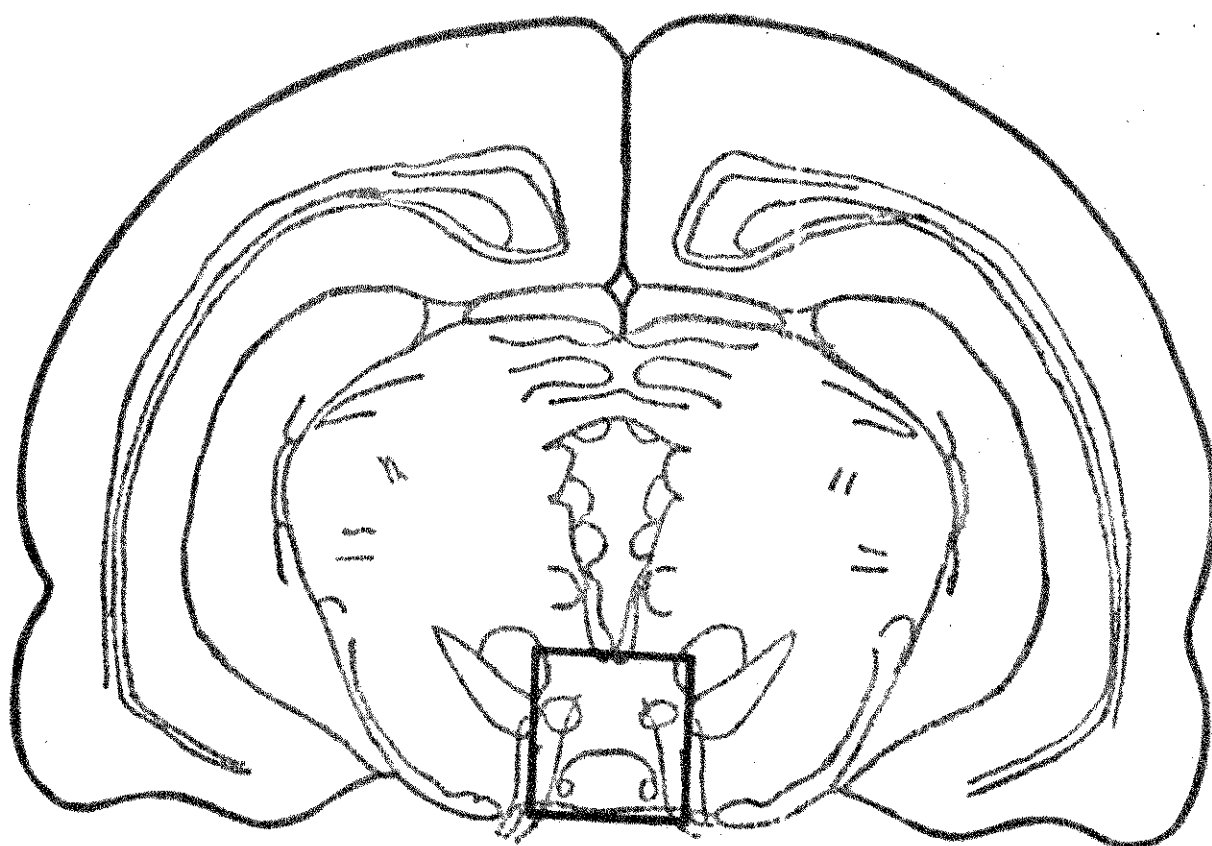


Figura 12: Esquema da área desaférentada.

Grupo II:-

Constituído por 9 animais, que sofreram desafe-
rentação total da ponte. (Fig. 13).

Coordenadas estereotáxicas usadas:-

A - 1,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - + 2,0 à base

L - 3,0

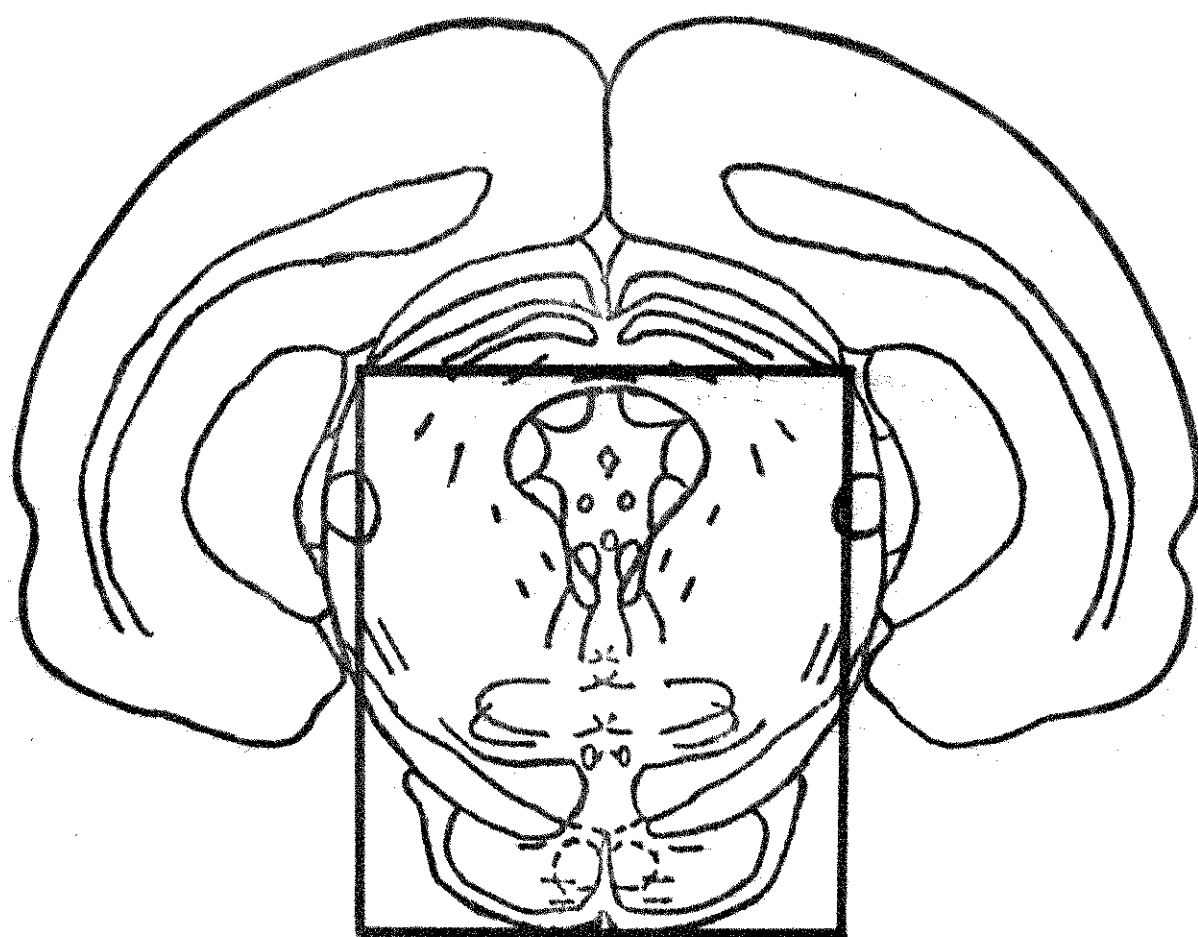


Figura 13: Esquema da área desafiada.

Grupo 12:-

Constituído por 8 animais, submetidos a desafiada dorsal completa da ponte. (Fig. 14).

Coordenadas estereotáxicas usadas:-

A - 1,0 Comprimento do bisturi - 6 mm

V - + 2,0 a - 2,0

L - 3,0

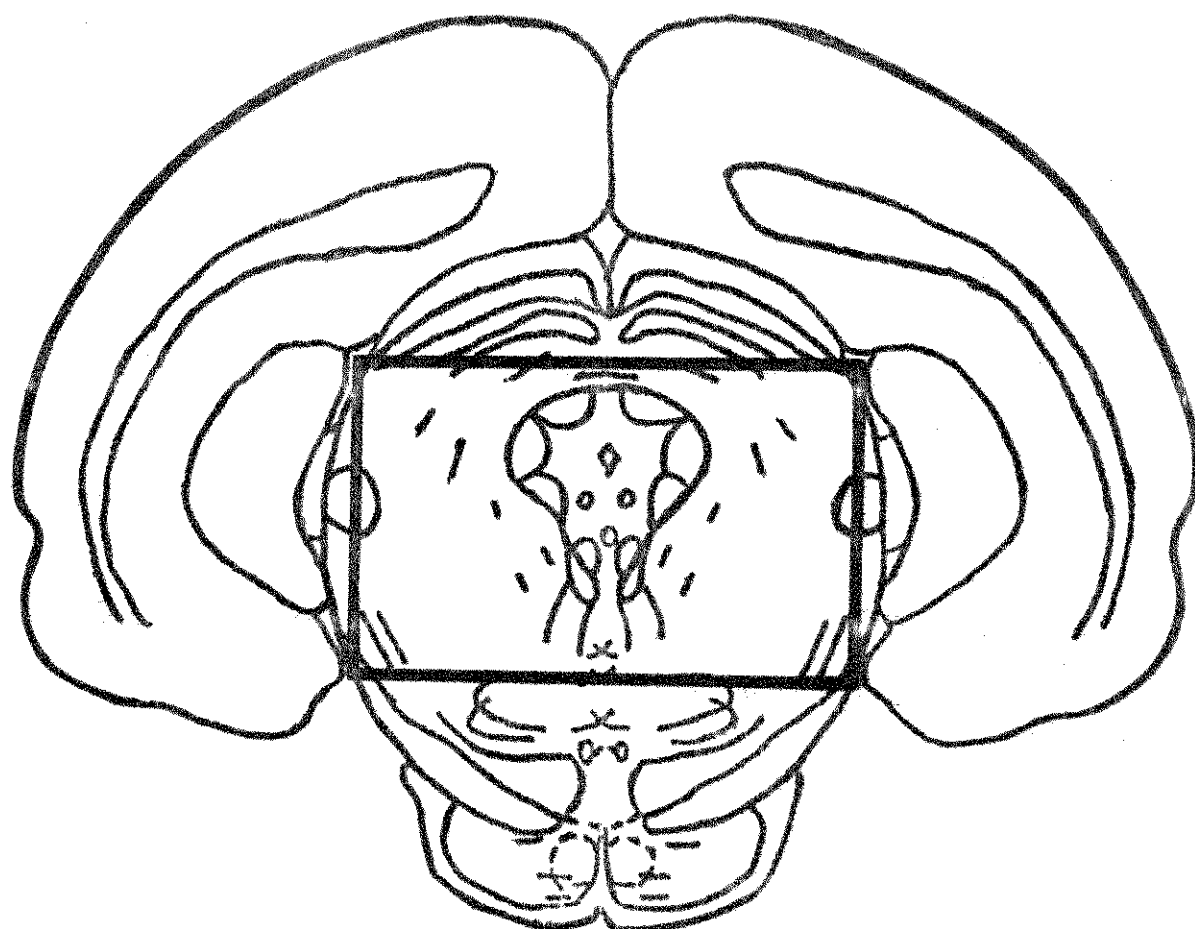


Figura 14: Esquema da área desafereentada.

Grupo 13:-

Constituído por 10 animais, com desafereentação ventral completa da ponte. (Fig. 15).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 1,0 Comprimento do bisturi - 6mm

V - - 2,0 à base

L - 3,0

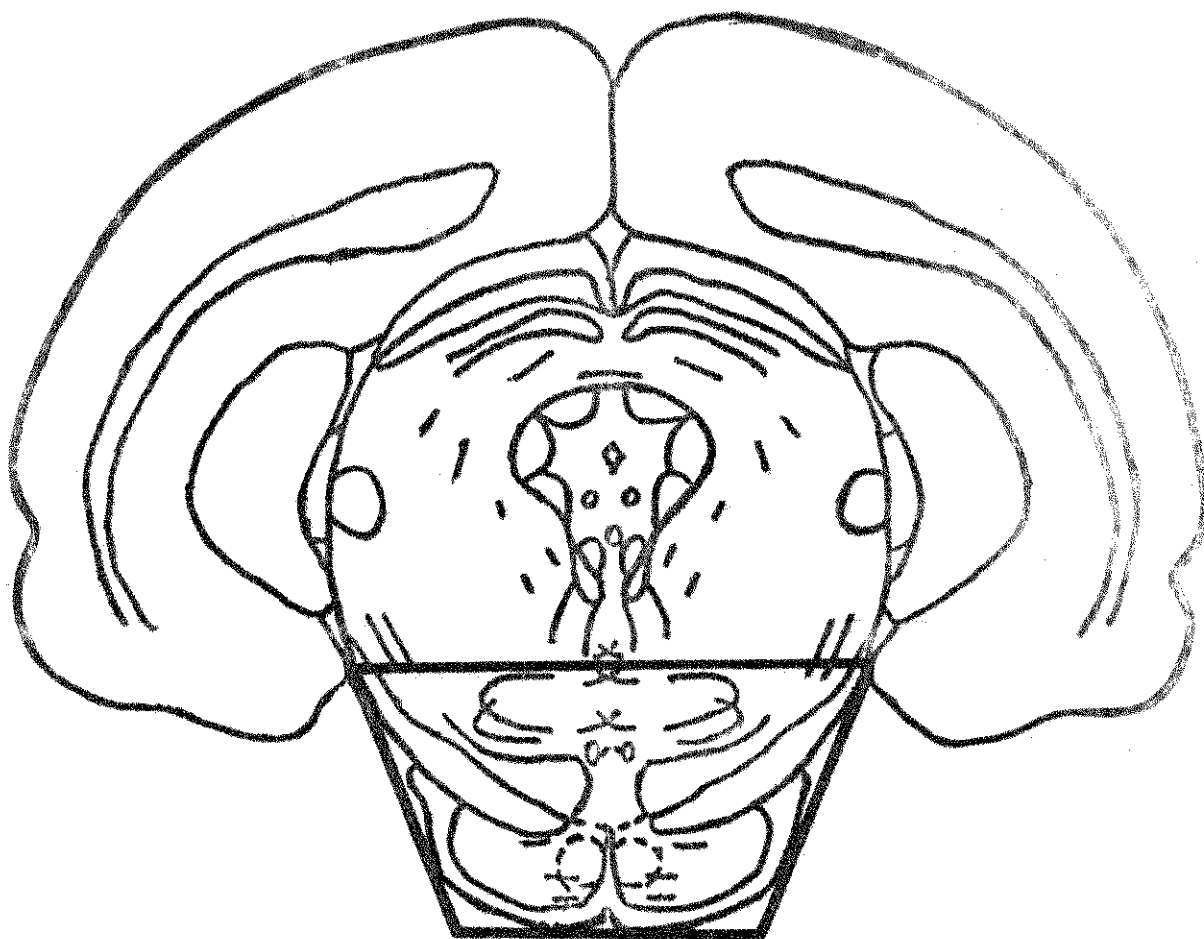


Figura 15: Esquema da área desafiada.

Grupo 14:-

Constituído por 8 animais submetidos a desafiamento lateroventral da ponte. (Fig. 16).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 1,0 Comprimento do bisturi - 2 mm com

V - - 2,0 à base entrada bilateral.

L - 3,0

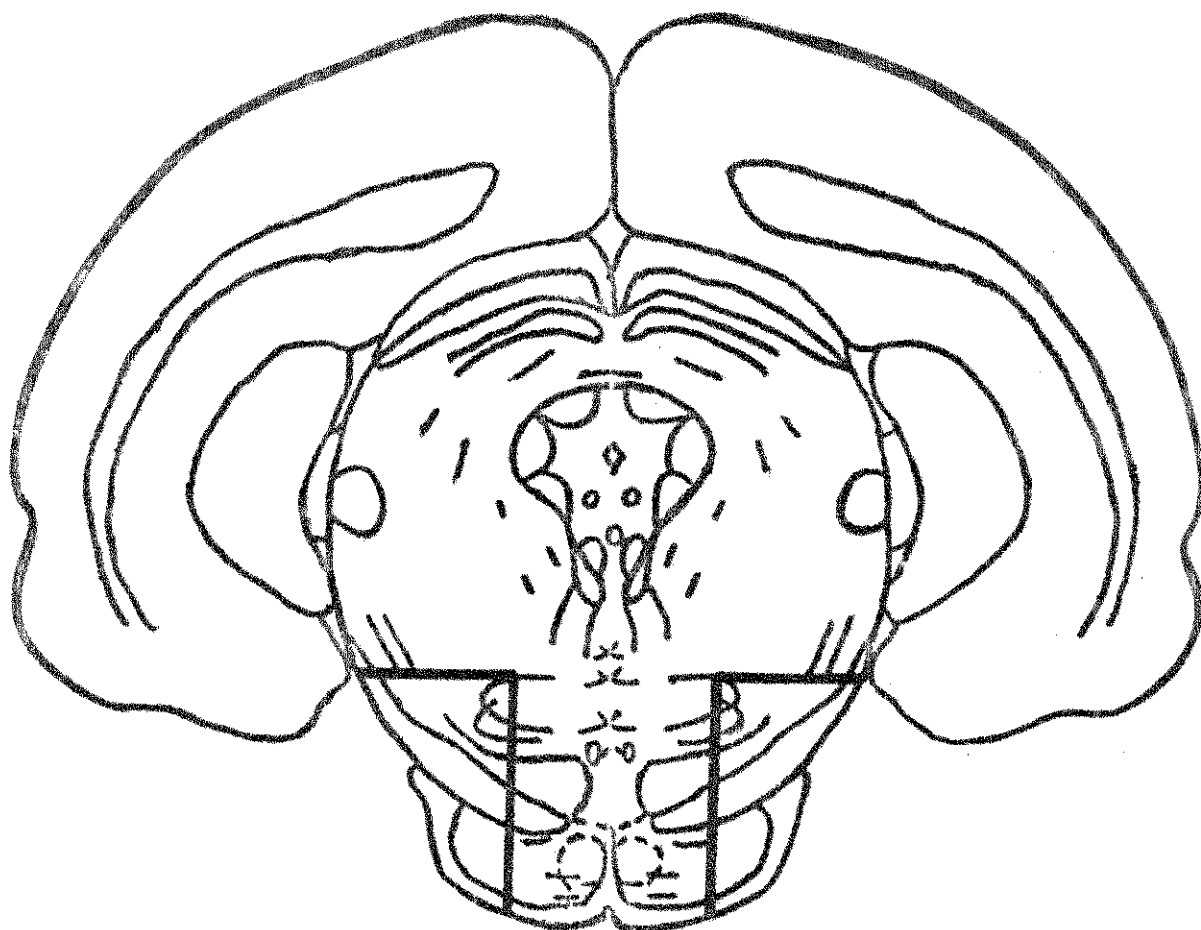


Figura 16: Esquema da área desferentada.

Grupo 15:-

Constituído por 7 animais, com desferentação centroventral da ponte. (Fig. 17).

Coordenadas estereotáticas usadas:-

A - 1,0 Comprimento do bisturi - 2 mm

V - 2,0 à base

L - 1,0

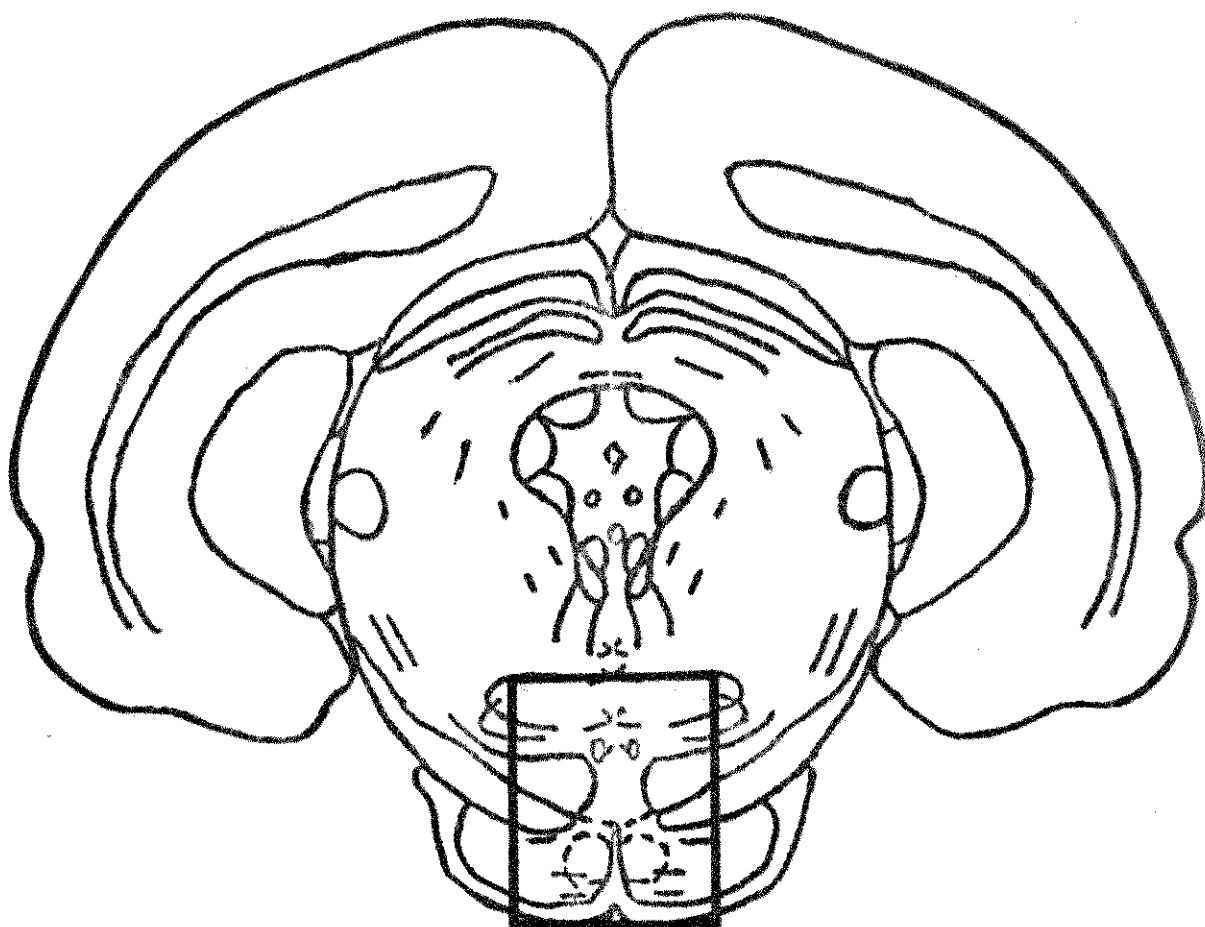


Figura 17: Esquema da área desaferentada.

TESTE DE EJEÇÃO LÁCTEA

A interrupção ou não do reflexo ejectolácteo foi avaliada por um teste de ejeção láctea, empregando-se para medir o leite ejetado, o procedimento de Grosvenor e Turner (1957) modificado, que consiste em:-

- 1) Na noite anterior da cirurgia, as crias são separadas da mãe, para permitir que as glândulas mamárias se encham de leite.
- 2) Na manhã seguinte opera-se a mãe.
- 3) Tres horas depois, recoloca-se as crias (meta de da ninhada).
- 4) Deixa-se as crias sugarem por 3 horas, ao final das quais, são sacrificadas, fazendo-se laparotomia para

verificar se há leite no estômago.

O leite encontrado no estômago de todos os filhotes desta metade da ninhada, é pesado e os resultados expressos em miligramas de leite ejetado pela mãe.

5) Se as crias não tomarem leite, injeta-se 5,0 U.I. de ocitocina intraperitoneal na mãe e se coloca a outra metade da ninhada.

6) Vinte minutos depois, repete-se o ítem 4.

A avaliação dos resultados, expressos em miligramas de leite encontrado no estômago da ninhada, torna fácil julgar a efetividade ou não da secção feita, uma vez que estudos prévios no Instituto de Neurobiologia de Buenos Aires (não publicados) demonstraram que a quantidade média de leite obtida normalmente pelas crias entre o 15º e o 18º dia de lactação é de 3.200 ± 455 miligramas de leite. Portanto, considerou-se que o reflexo estava presente, quando havia leite no estômago da primeira metade da ninhada em quantidade igual ou superior a 1.600 miligramas.

Considerou-se que o reflexo estava bloqueado toda vez que a quantidade de leite obtida era nula ou atingia no máximo 200 miligramas, sendo necessário injetar ocitocina à mãe, para que os filhotes do 2º lote obtivessem leite. Todos os outros casos, onde os valores foram intermediários (200 a 1.500 miligramas) foram desprezados, pois parece se tratar de bloqueios parciais.

Depois do teste, as ratas lactantes foram sacrificadas, seus cerebros retirados e fixados em formol a 10% por 48-72 horas.

A seguir desidratados em álcool a 70%, a 96% e a 100% - por 72 horas, e em álcool-éter (partes iguais) por mais 24 horas, logo incluídos em celoidina.

Cortados com micrótomo de deslizamento, corados com gallocianina e montados para o diagnóstico histológico das lesões. As lâminas de cada animal experimental foram colocadas num projetor Bausch e Lomb (Tri-Simplex) dando uma ampliação de 30 vezes, o que permitiu mapear a região estudada localizando, reconstituindo e medindo a extensão de cada lesão.

RESULTADOS

Desaferentações hipotalâmicas

1º Grupo:

No primeiro grupo - 27 animais - nos quais se praticou a desaferentação total do plano caudal (Fig. 18), houve bloqueio do reflexo ejetolácteo.

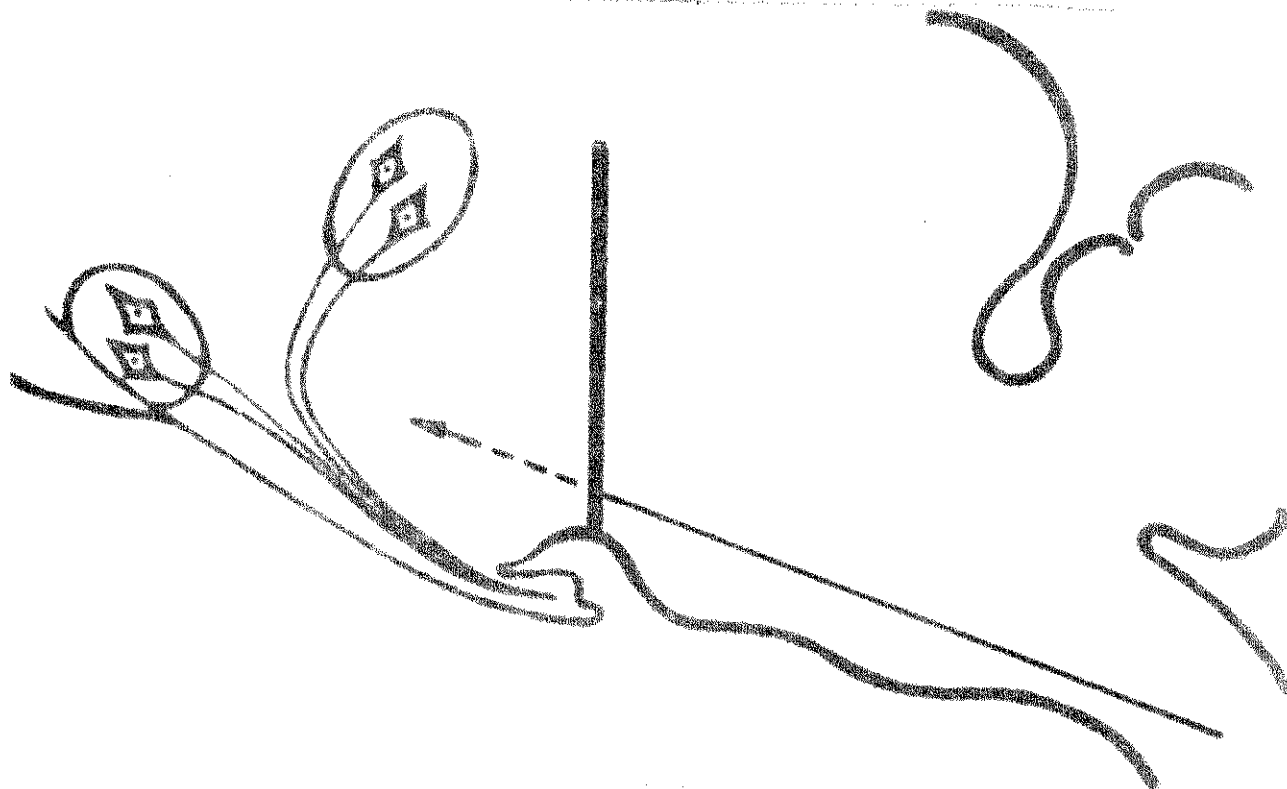


Figura 18

Como se observa no gráfico 1, os filhotes apesar de vigorosa sucção durante o teste, não obtiveram quase leite 175 ± 33 mg - e depois da injeção de ocitocina, conseguem obtê-lo em quantidade - 2761 ± 532 mg.

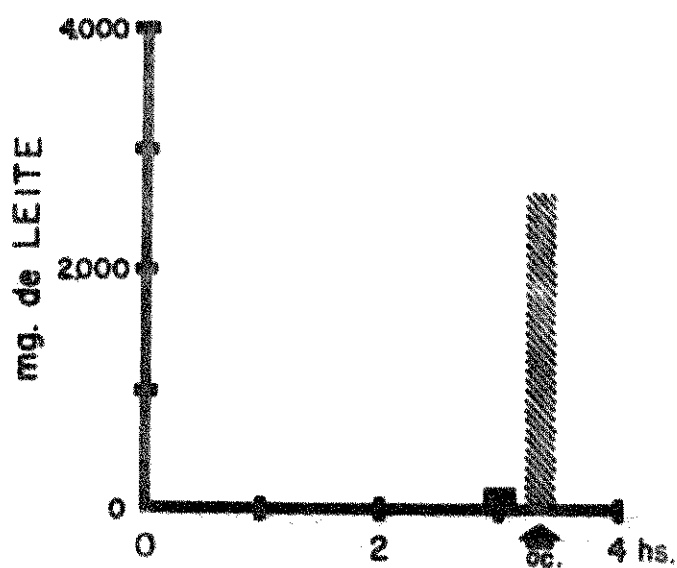


Gráfico 1

Portanto, esta secção bloqueia o reflexo, uma vez que sua extensão interrompe todas as aferências que chegam ao hipotálamo caudal. (Foto 1).

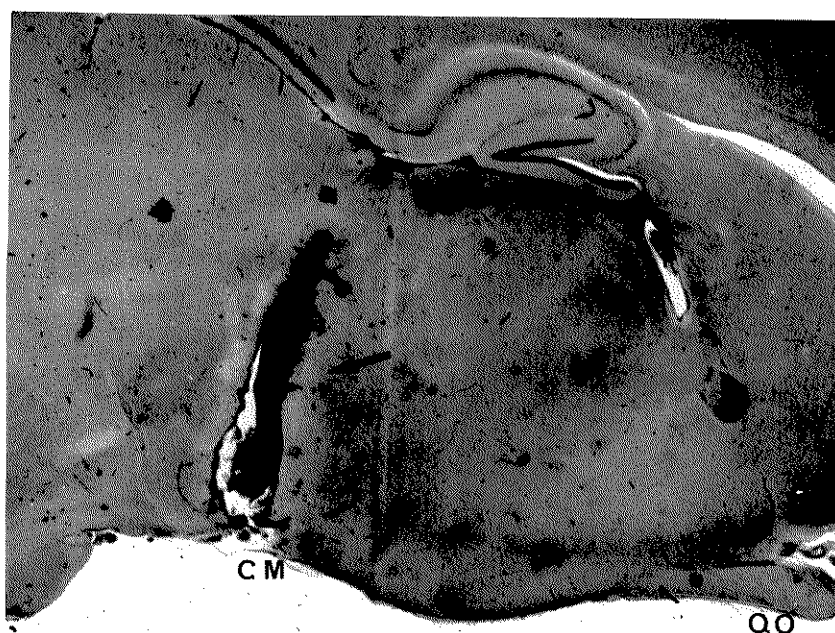


Foto 1: Indica local da secção. Q. O. - Quiasma óptico
C. M. - Corpo mamilar

Com a finalidade de se distinguir a região pela

qual penetram as aferências responsáveis por este reflexo, se dividiu o plano caudal do hipotálamo em 2 áreas: uma dorsal e outra ventral.

2º Grupo:

Desaferentação dorsal completa do hipotálamo caudal (Fig. 19).

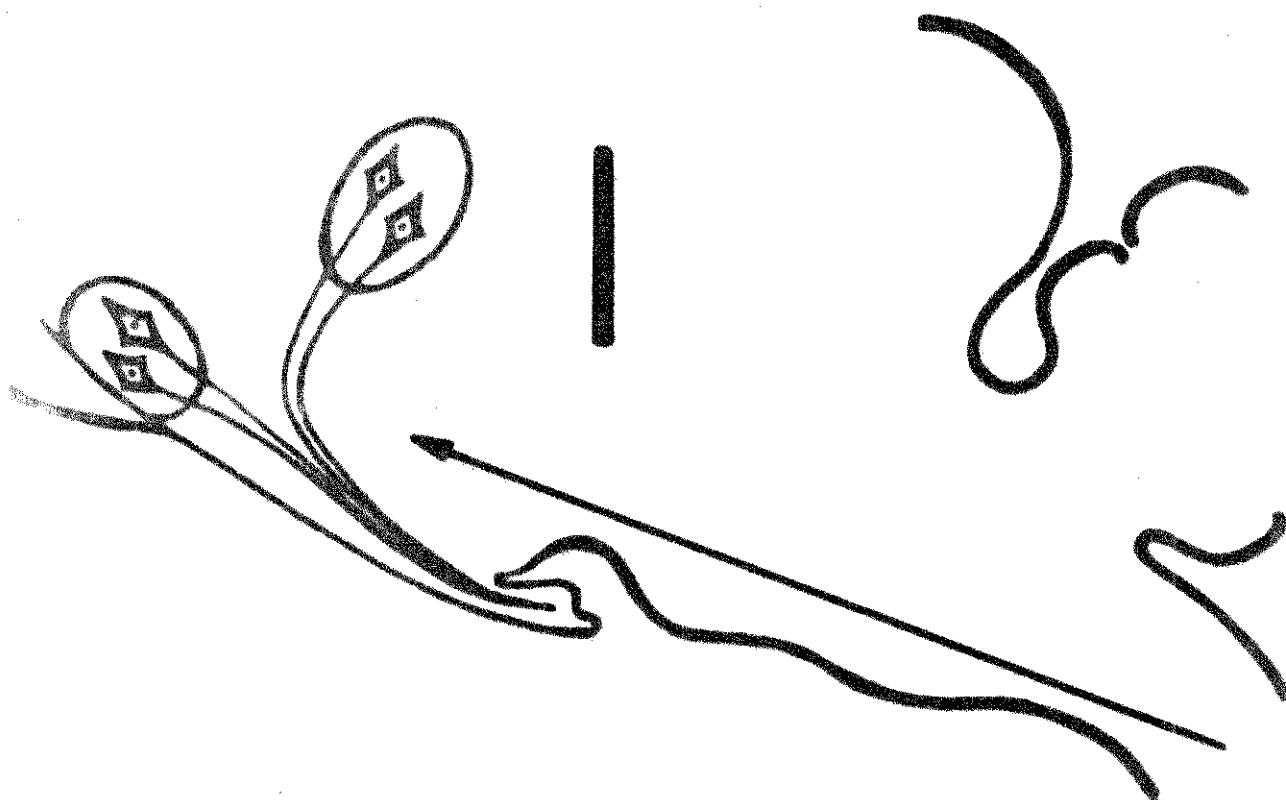


Figura 19

Neste grupo de 30 animais, não houve bloqueio como se pode verificar no exame do gráfico 2, onde os animais submetidos ao teste, tomaram em média 2.000 ± 365 mg de leite.

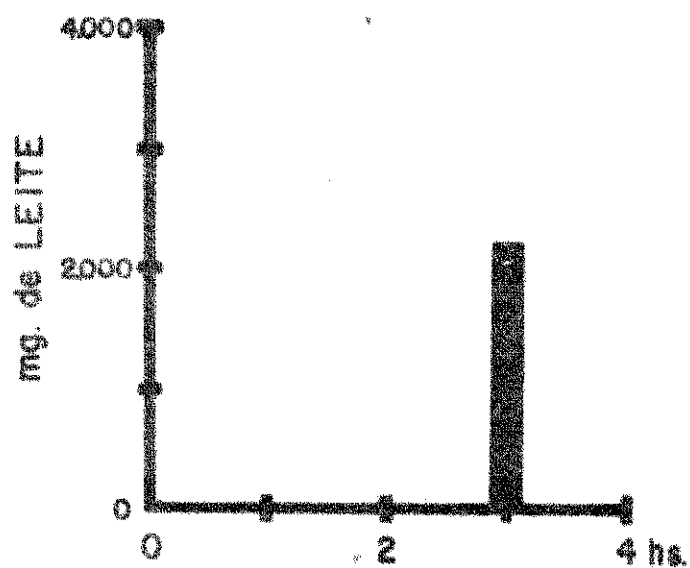


Gráfico 2

Logo, este tipo de desaferentação que secciona todas as aferências dorsais ao hipotálamo caudal, demonstra claramente que essas aferências não participam do reflexo ejetolácteo. (Foto 2).

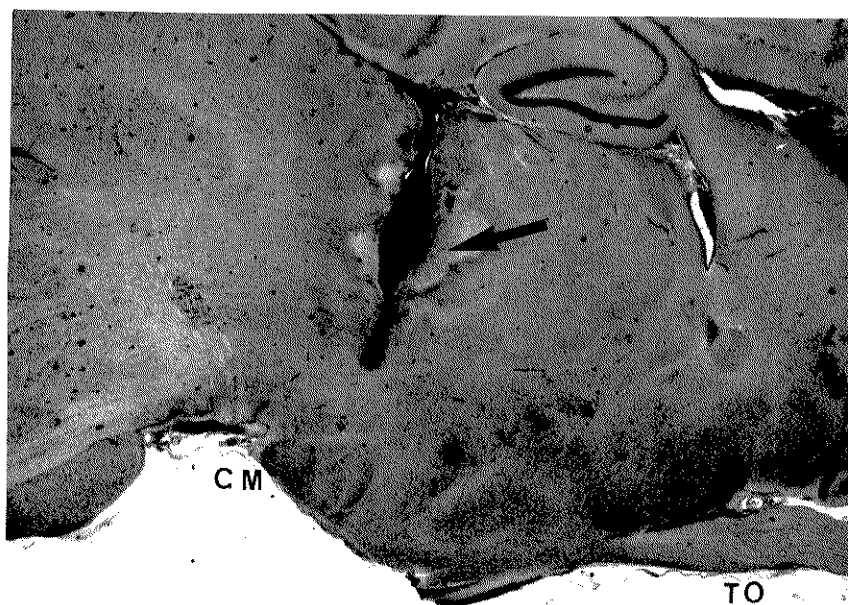


Foto 2: Indica local da secção. T. O. - Trato óptico
C. M. - Corpo mamilar

3º Grupo:

Desaferentação ventral completa do hipotálamo caudal. (Fig. 20).

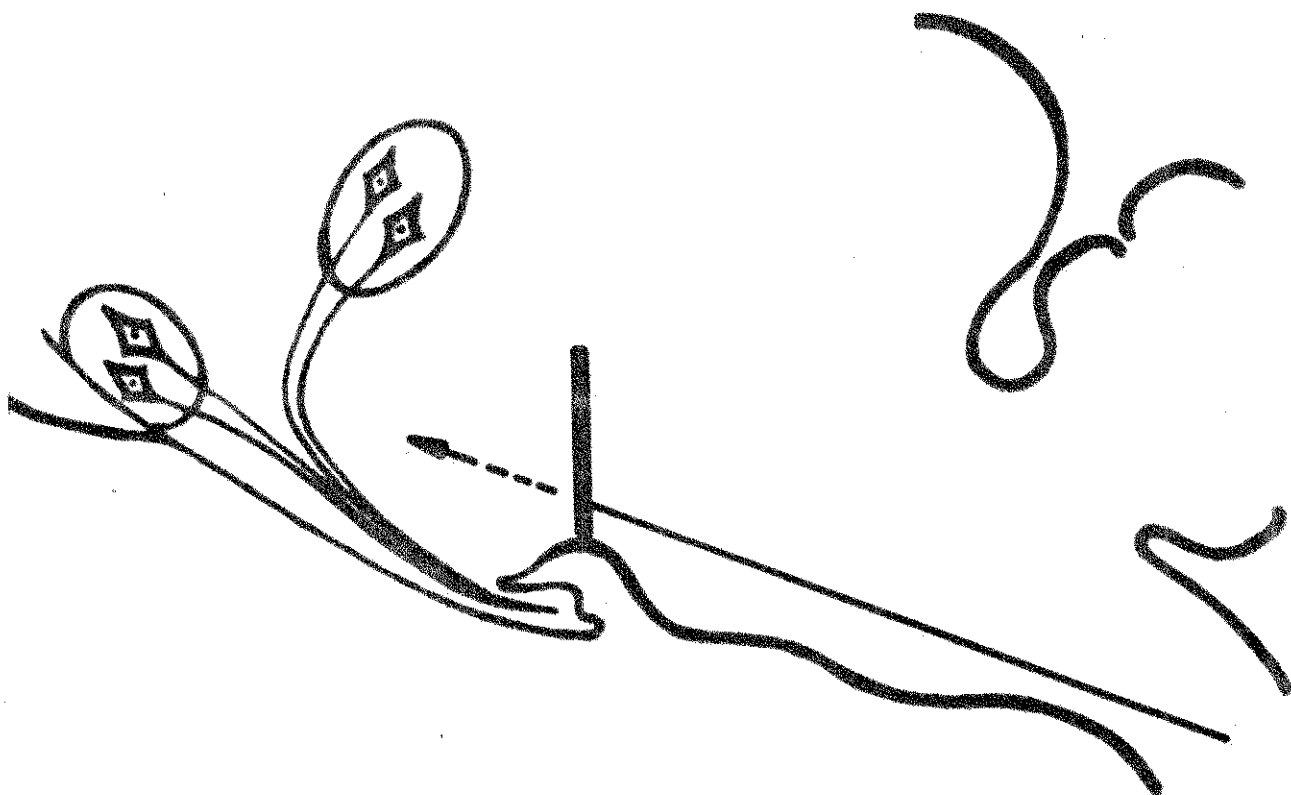


Figura 20

Este grupo, como era de esperar apresentou bloqueio da ejeção láctea, uma vez que no grupo precedente isso não ocorreu. As crias durante o teste conseguem tomar apenas 224 ± 70 mg de leite e, após a ocitocina, tomam $1,700 \pm 538$ mg. (Gráfico 3).

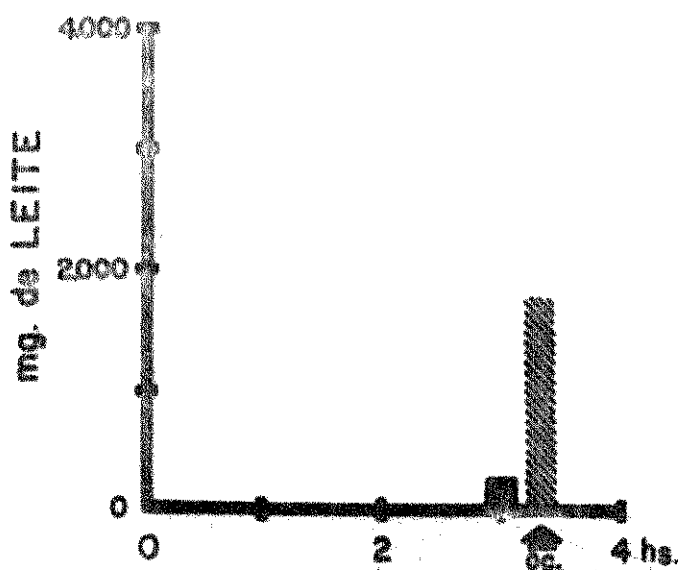


Gráfico 3

A existência do bloqueio evidencia que as aferências responsáveis pelo reflexo tem sua entrada na porção ventral do plano caudal hipotalâmico. (Foto 3).

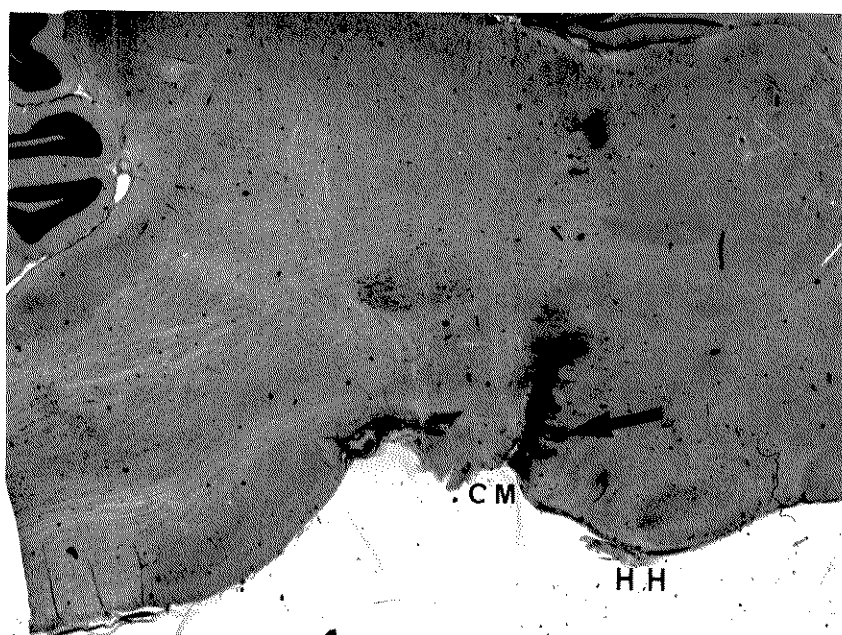


Foto 3: Indica local da sucção. C. M. - Corpo mamilar
H. H. - Haste hipotálamo-hipofisária

Em decorrência disso, voltou-se a dividir este plano ventral em 2: central e lateral, com a finalidade de se saber, se as aferências chegavam central ou lateralmente a ele.

4º Grupo:

Desaferentação lateroventral bilateral do hipotálamo caudal. (Fig. 21).

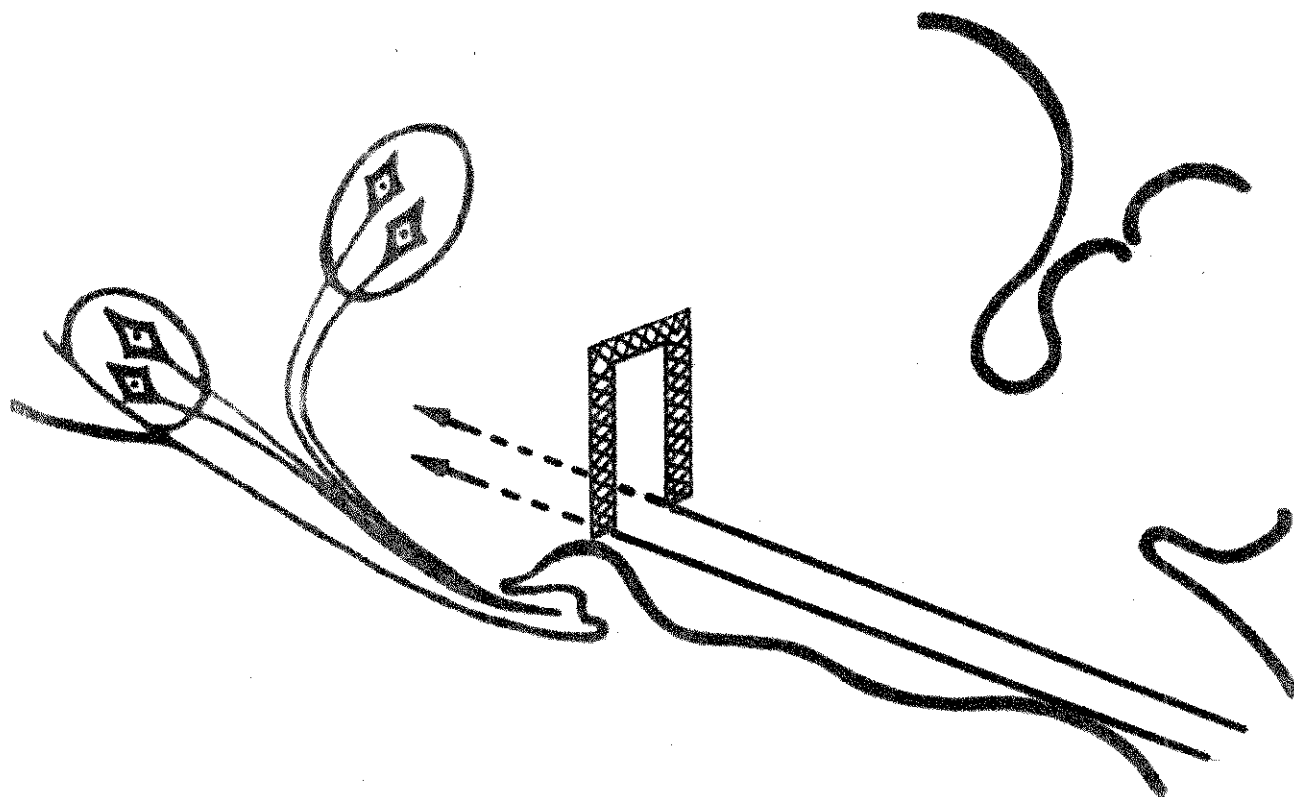


Figura 21

Os filhotes deste grupo como se observa no gráfico 4, conseguiram $50 \pm 20,8$ mg de leite apenas e com a administração de ocitocina à mãe, 2.185 ± 211 mg de leite.

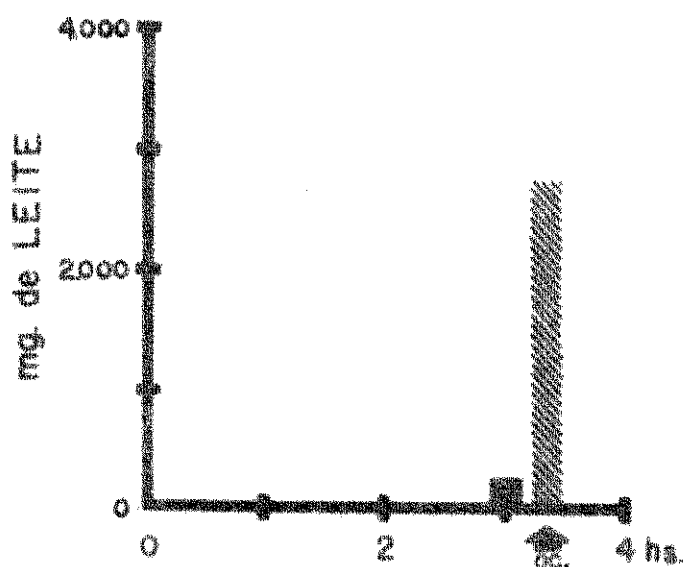


Gráfico 4

Há um evidente bloqueio do reflexo, logo há necessidade da integridade dos setores lateroventrais do hipotálamo caudal para a realização deste reflexo. A foto 4, mostra um preparado histológico deste grupo.



Foto 4: Indica local da lesão. S. O. - Núcleo supraóptico.

5º Grupo:

Desaferentação centroventral do hipotálamo caudal.(Fig. 22).

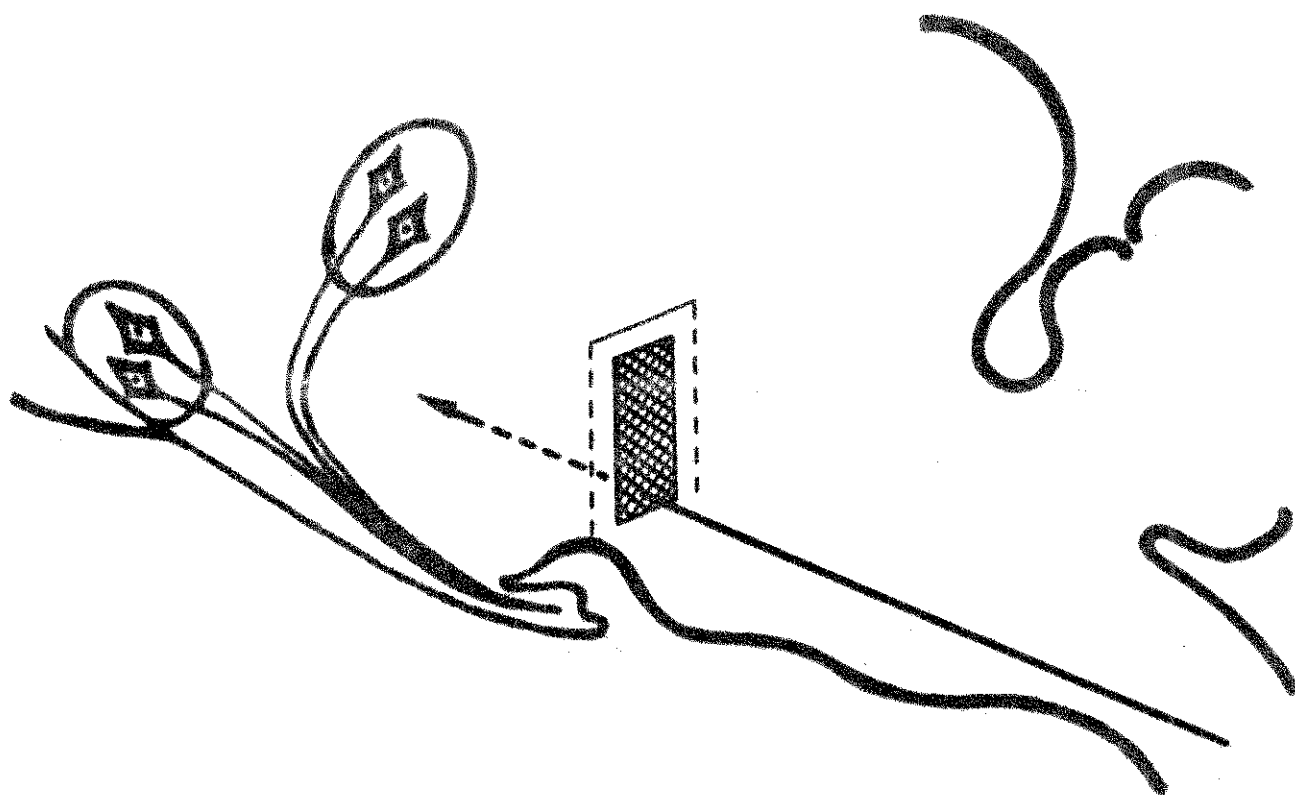


Figura 22

Os animais deste grupo não tiveram bloqueio de sua ejeção láctea. Os filhotes obtiveram durante o teste 2.185 ± 307 mg de leite como se vê no gráfico 5.

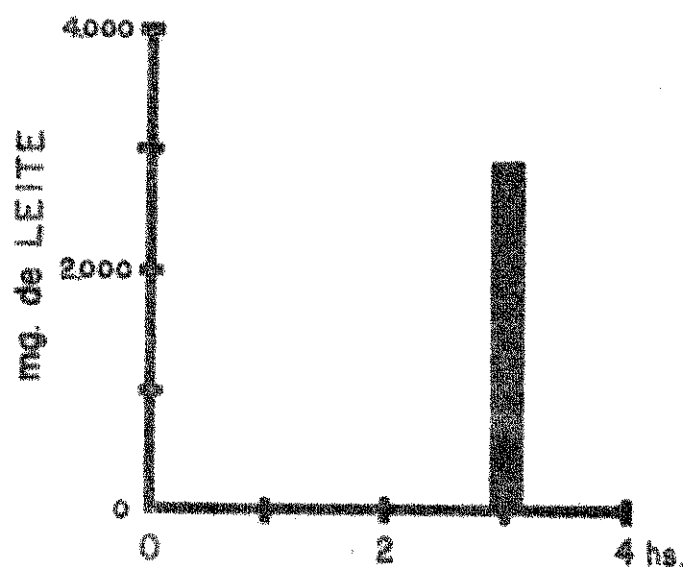


Gráfico 5

Portanto, as aferências que penetram no hipotálamo caudal por sua parte centroventral, não são necessárias para que o reflexo ejeto-lácteo ocorra. (Foto 5).

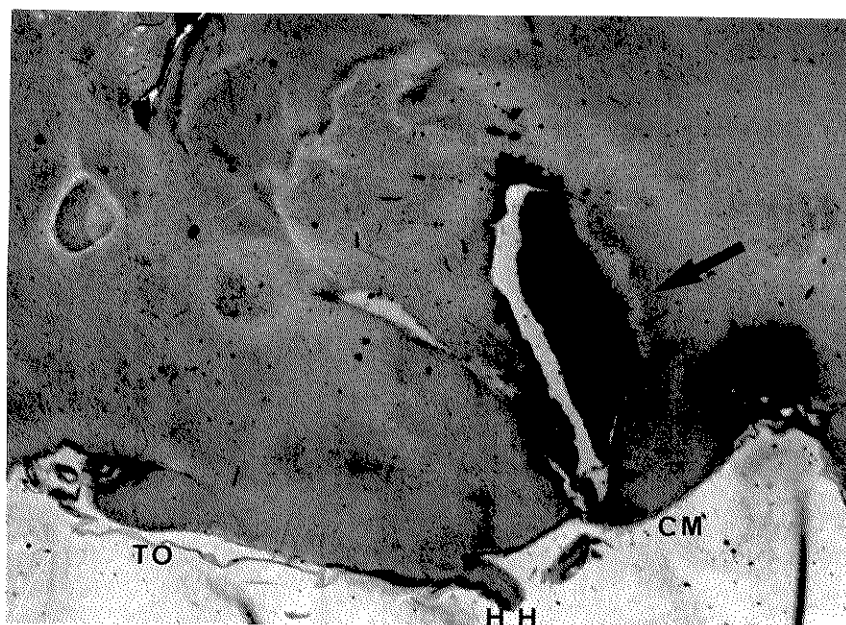


Foto 5: Indica local da lesão. T. O. - Trato óptico

H. H. - Haste hipotálamo-hipofisária

C. M. - Corpo mamilar

AREA	DESAFERENTIAÇÃO	GRUPO	n° de ANIMAIS	mg.de LEITE EJETADO *	mg.de LEITE EJETADO DEPOIS da OCITOCINA
HIPO TÁ L A M O CAUDAL	TOTAL		27	175 ± 33	2761 ± 532
	P A R C I A L	2	30	2000 ± 365	—
		3	10	224 ± 70	1700 ± 538
		4	20	50 ± 20,8	2185 ± 211
		5	13	2185 ± 387	—

TABELA 1:-- Ejeção láctea em animais com desafferentação total ou parcial do hipotálamo caudal
(*) Desvio padrão da média

Os resultados destas desaferentações ao nível do plano caudal do hipotálamo, deixam patente que as aferências responsáveis pelo reflexo ejetolácteo penetram nesta região lateroventralmente, como demonstra o esquema da figura 21.

Desaferentações Mesencefálicas

6º Grupo:

Desaferentação total do mesencéfalo. (Fig. 23).

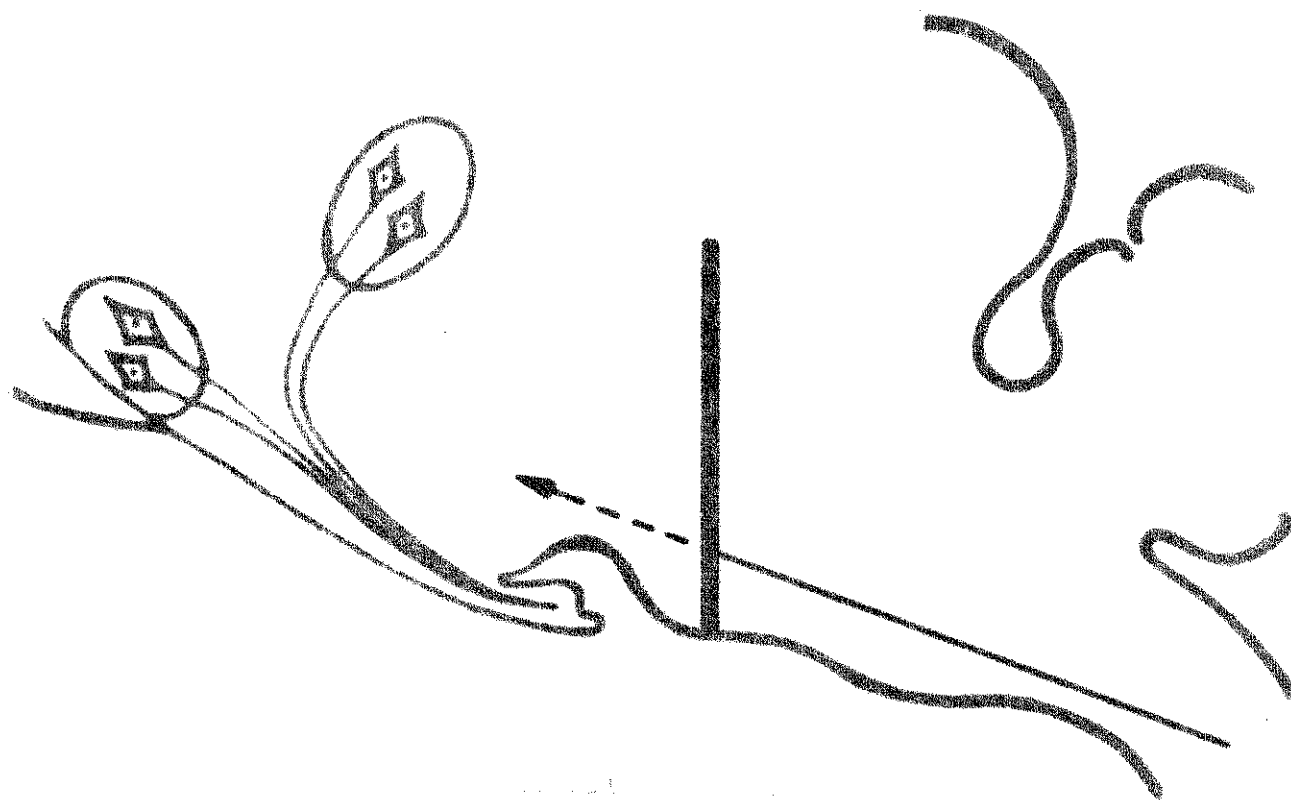


Figura 23

Estes 11 animais apresentaram bloqueio da ejeção láctea em todos os casos. As crias durante o teste, apesar de vigorosa sucção obtiveram somente 173 ± 51 mg de leite e depois da administração de ocitocina à mãe, 3.350 ± 1.008 mg (Gráfico 6).

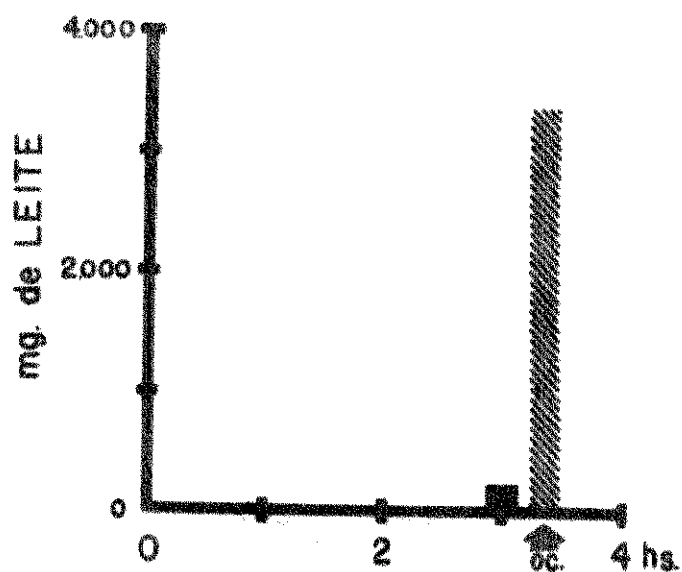


Gráfico 6

Este resultado era de se esperar, uma vez que este tipo de secção, interrompe todas as aferências ao mesencéfalo. (Foto 6).

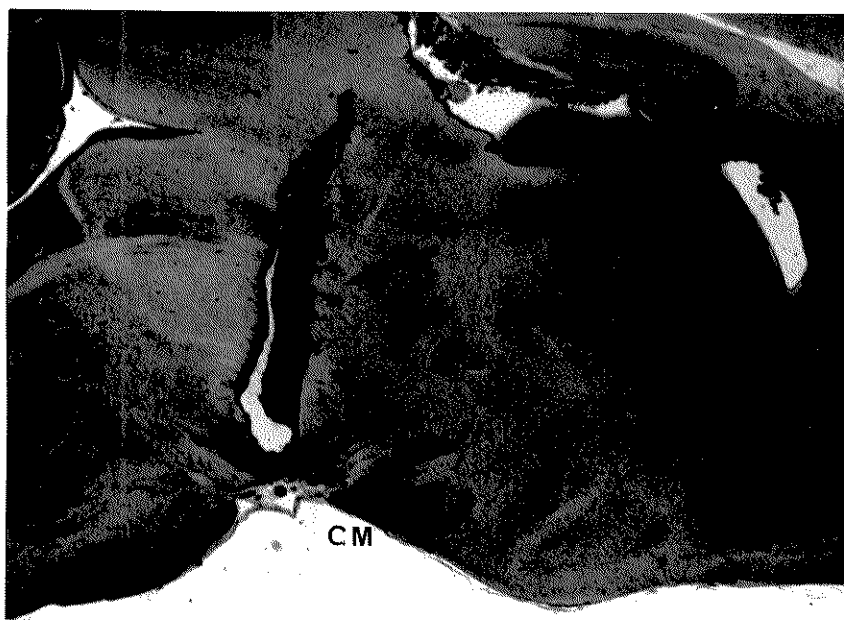


Foto 6: Indica local da secção. C. M. - Corpo Mamilar.

À semelhança da área hipotalâmica caudal, também este plano foi dividido em dorsal e ventral, com o objetivo de localizar o ponto de passagem das aferências interessadas neste reflexo.

7º Grupo:

Desaferentação dorsal completa do mesencéfalo.
(Fig. 24).

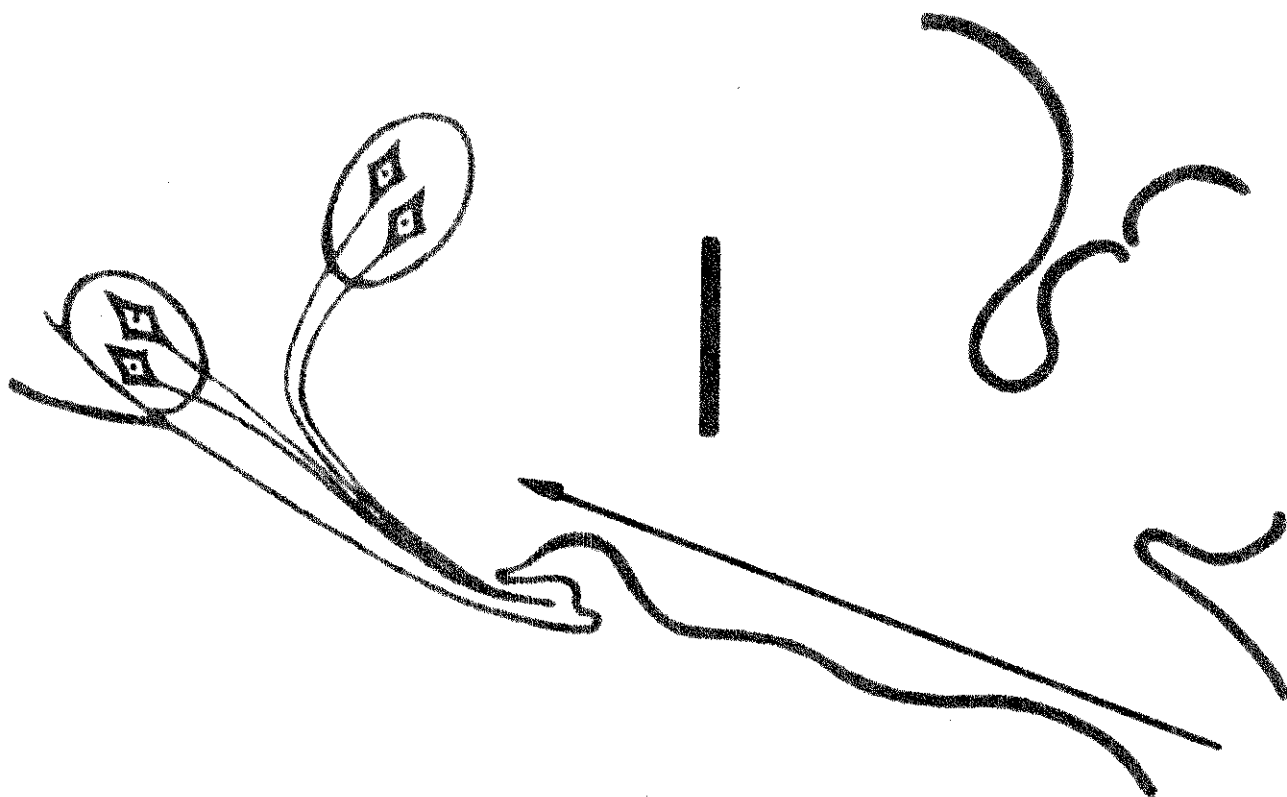


Figura 24

Neste grupo, como se pode observar no gráfico 7, não houve bloqueio, os filhotes após 3 horas de sucção, tomaram $2,711 \pm 383$ mg de leite.

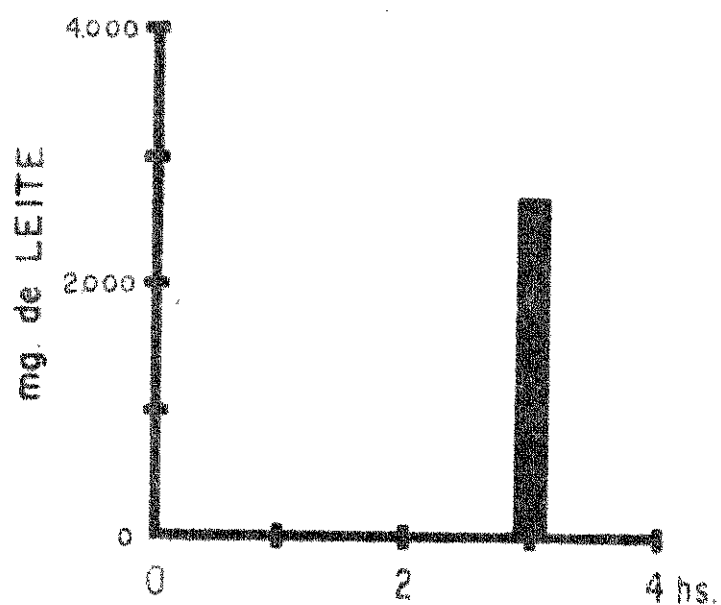


Gráfico 7

Portanto, as aferências dorsais do mesencéfalo, não participam do reflexo ejetolácteo, pois sua secção, como se vê na foto 7, não bloqueia o mesmo.

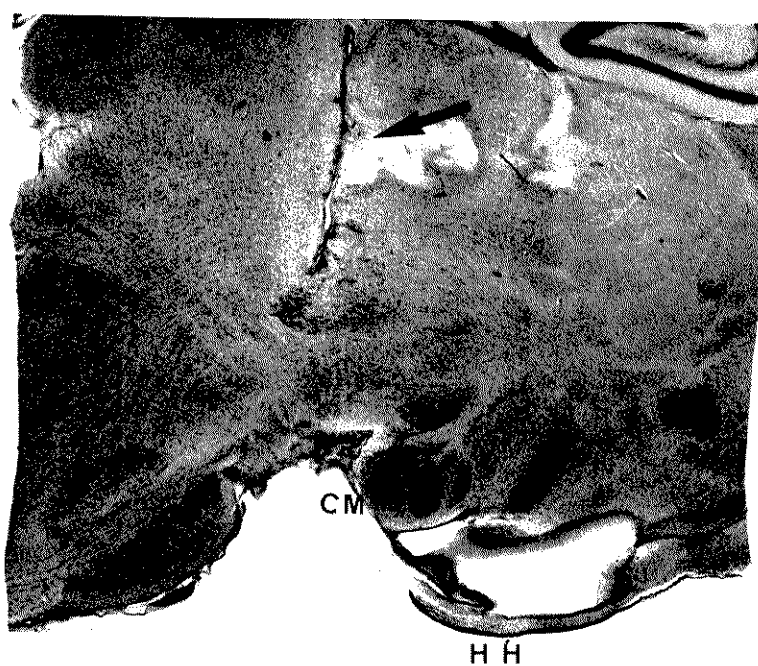


Foto 7: Indica local da secção. C. M. - Corpo mamilar

H. H. - Haste hipotálamo-hipofisária

8º Grupo:

Desaferentação ventral completa do mesencéfalo .

(Fig. 25)

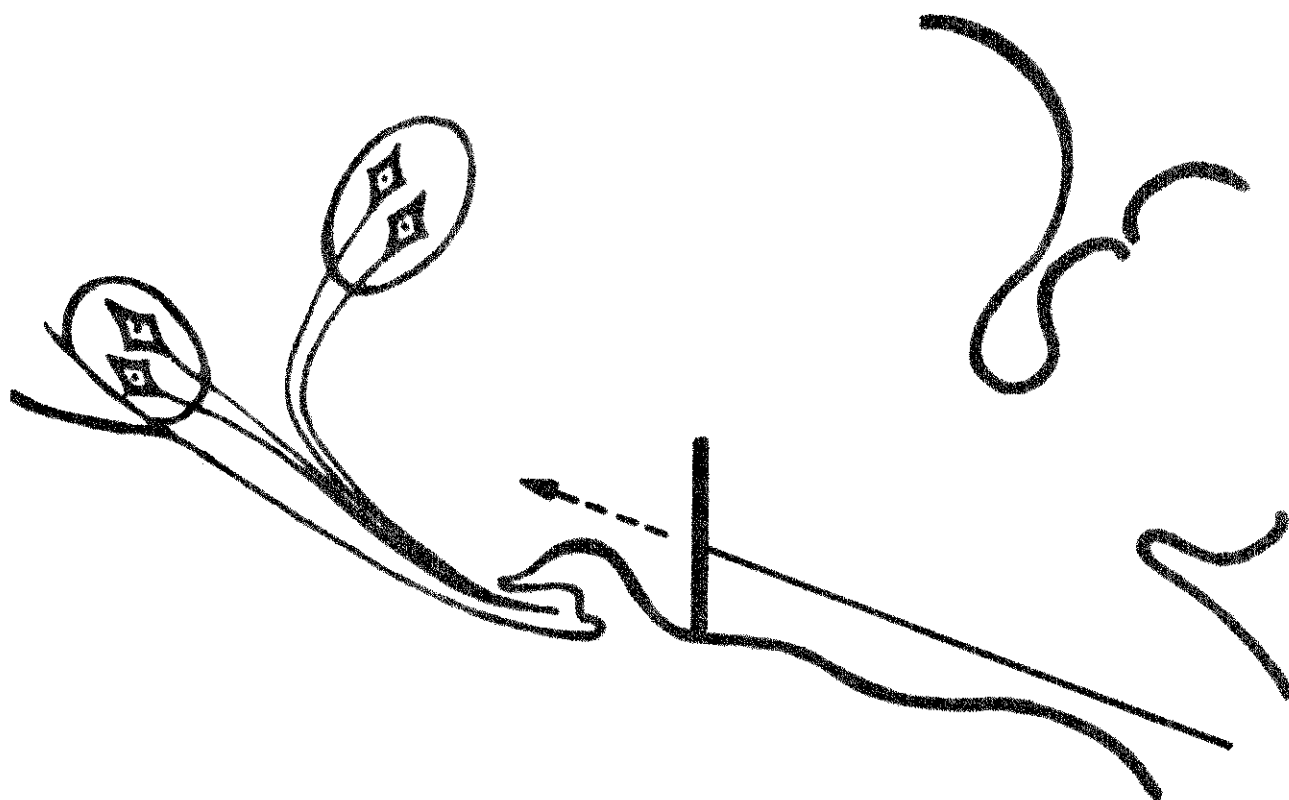


Figura 25

Este grupo de animais teve o reflexo bloqueado, como demonstra o gráfico 8. As crias conseguem somente 104 ± 56 mg de leite e posteriormente à injeção de ocitocina, 2.220 ± 785 mg de leite.

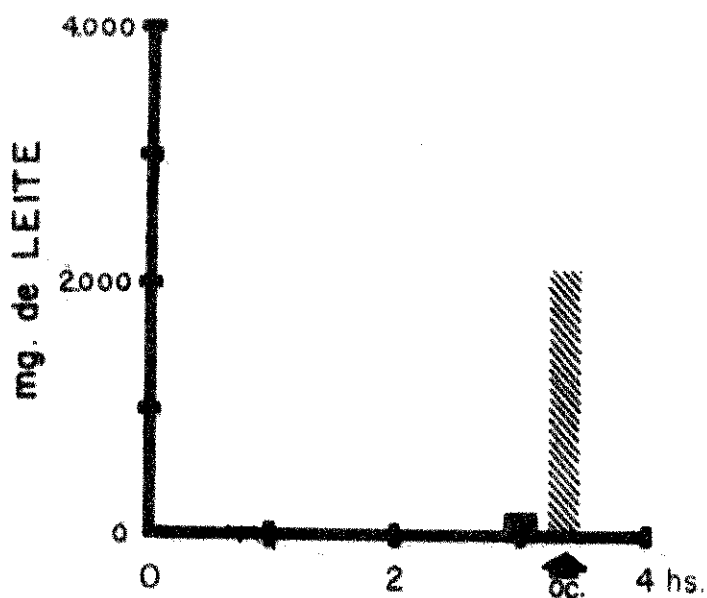


Gráfico 8

Como se observa, as aferências responsáveis por este reflexo penetram no mesencéfalo por sua porção ventral, à semelhança do que ocorre no hipotálamo caudal (Foto 8).

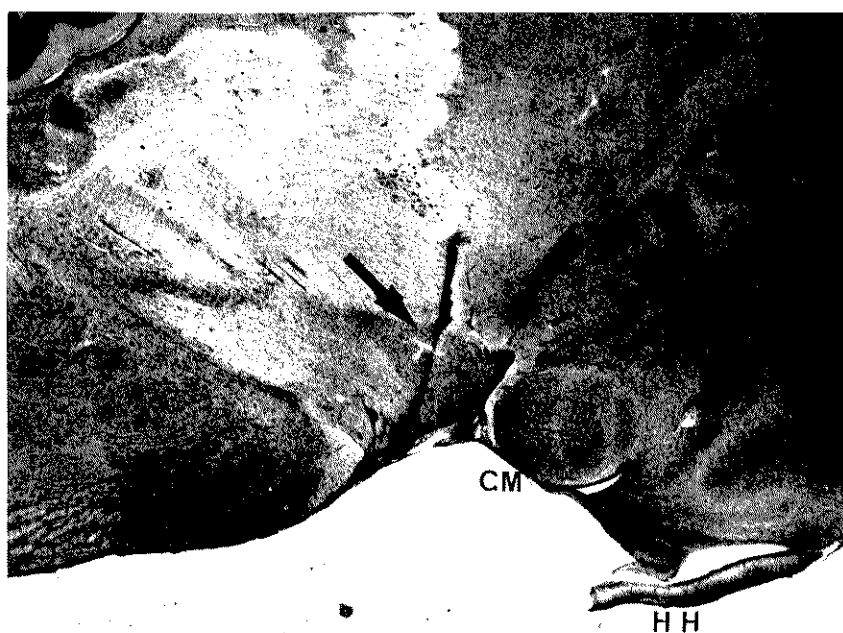


Foto 8: Indica local da secção. C. M. -Corpo mamilar

H. H. -Haste hipotálamo-hipofisária

Com este resultado, também o plano ventral do mesencéfalo voltou a ser dividido em porção central e porções laterais.

9º Grupo:

Desaferentação lateroventral do mesencéfalo.

(Fig. 26).

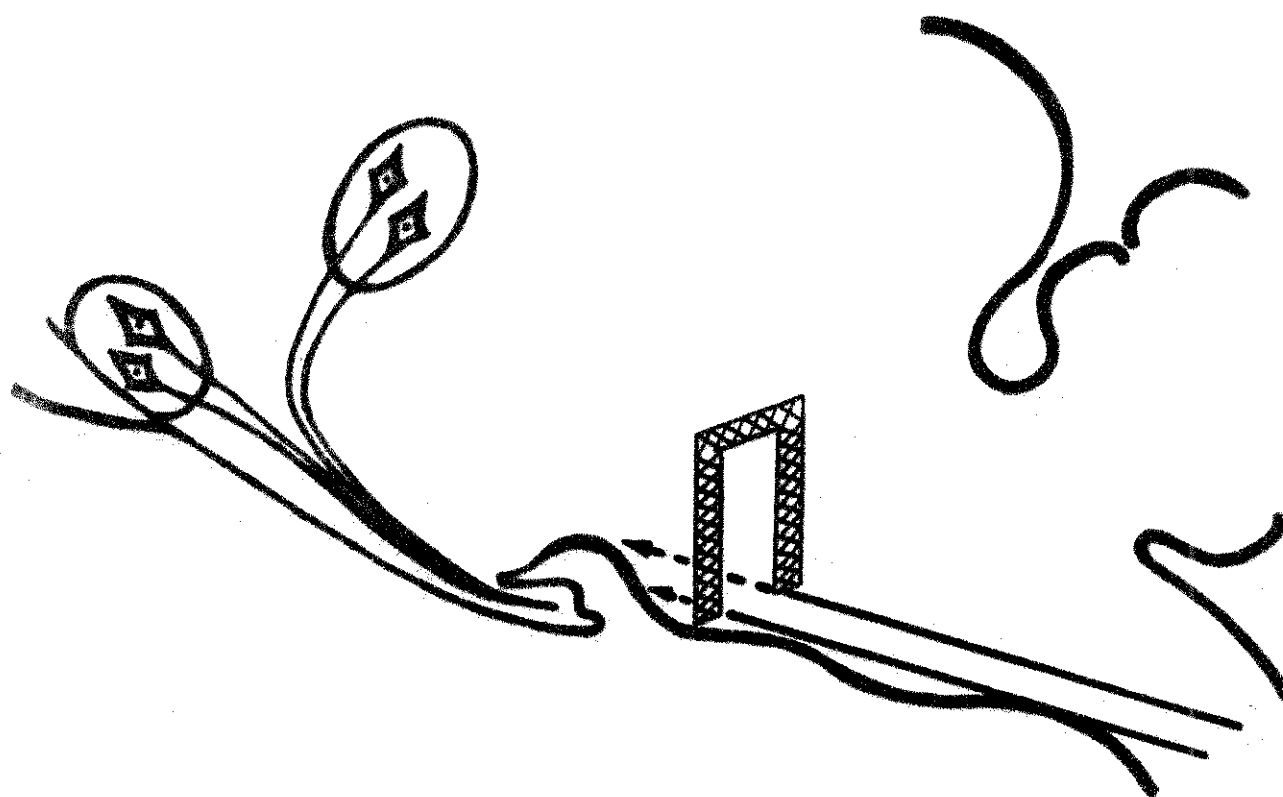


Figura 26

Estes animais apresentaram bloqueio do reflexo - ejeto-lácteo. Durante o teste os filhotes tomaram 60 ± 42 mg de leite apenas e 30 minutos após a administração de ocitocina conseguiram 1.980 ± 384 mg de leite (Gráfico 9).

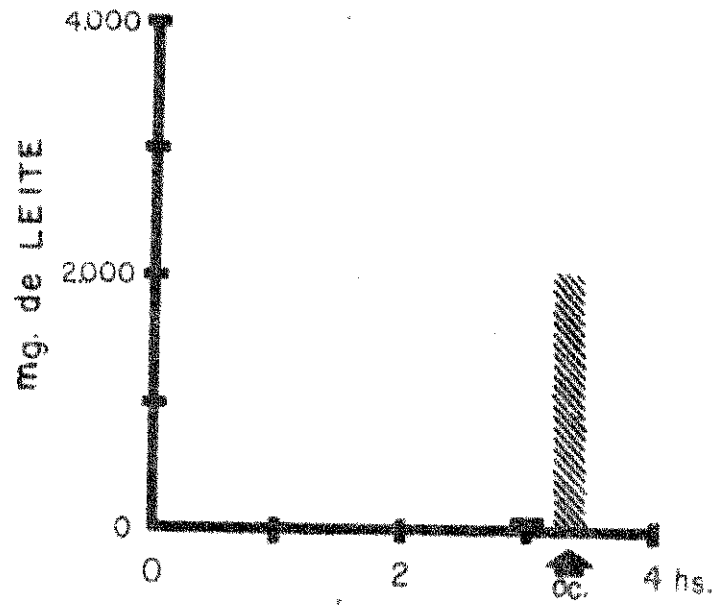


Gráfico 5

Como vemos, por este resultado no mesencéfalo ventral as alterações responsáveis por este reflexo penetram nas porções lateroventrais (Foto 9).



Foto 9: Indica local da secção. S. O. - núcleo supraóptico.

10º Grupo:

Desaferentação centroventral do mesencéfalo.

(Fig. 27)

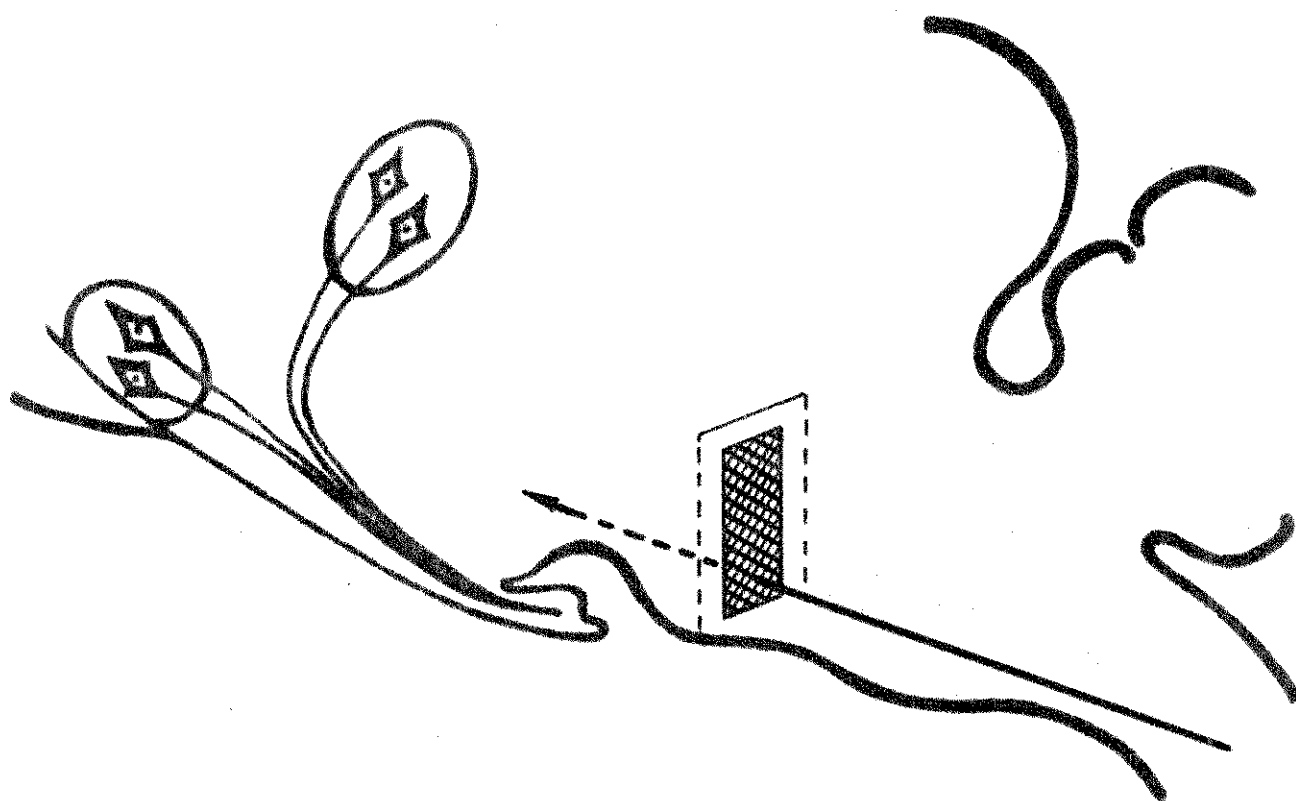


Figura 27

Não houve bloqueio neste grupo, como demonstra o gráfico 10. As crias obtiveram durante o teste 2.458 ± 296 mg de leite.

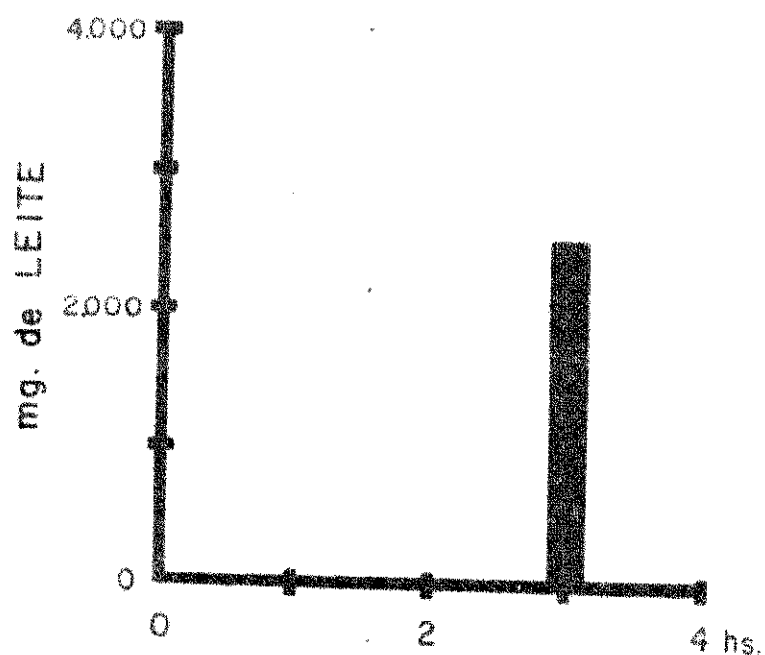


Gráfico 10

Pelo exposto, não há necessidade da integridade dos 2^{os} m^{os} centroventrals do mesencéfalo, para a realização de reflexo ejetolácteo (foto 10).

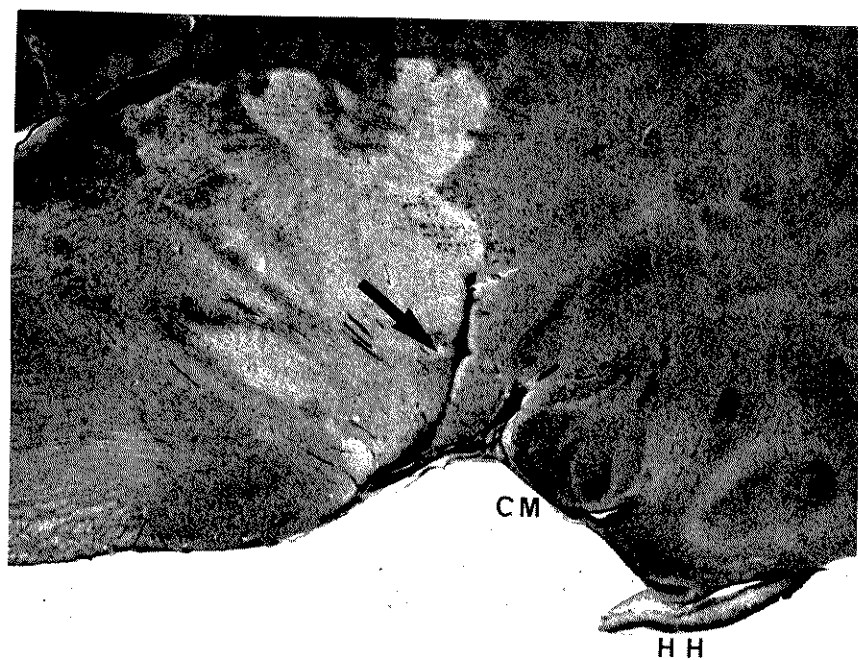


Foto 10: Indica local da secção. C. M. Corpo mamilar

H. H. Haste hipotálamo-hipofisária

AREA	DESAFERENTAO	GRUPO	nº de ANIMAIS	mg.de LEITE EJETADO	mg.de LEITE EJETADO DEPOIS da OCITOCINA
MESENCÉFALO	TOTAL	6	11	173 ± 51	3350 ± 1008
	P	7	9	2711 ± 383	—
	A				
	R	8	13	104 ± 56	2220 ± 785
	C				
I	LATERO - VENTRAL	9	12	60 ± 42	1980 ± 384
	CENTRO - VENTRAL	10	17	2458 ± 296	—

TABELA 2:- Ejeção láctea em animais com desaferentação total ou parcial do mesencéfalo
(*) Desvio padrão da média

Portanto, as desaferentações a nível mesencefálico nos mostram que a semelhança do que ocorre no hipotálamo caudal, as aferências responsáveis pela ejeção láctea, penetram também lteroventralmente como demonstra a Figura 26.

Desaferentações pontinas

IIº Grupo:-

Desaferentação total da ponte. (Fig. 28)

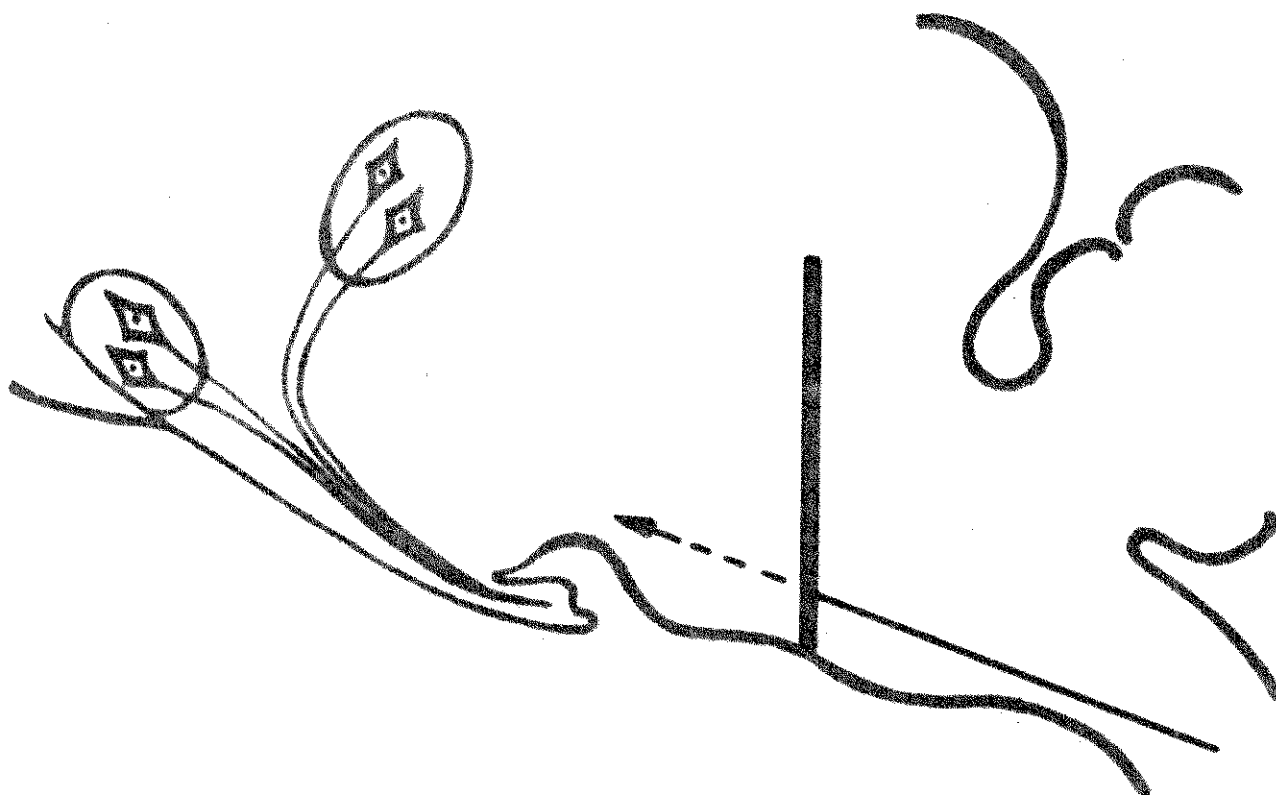


Figura 28

A secção total da protuberância, obviamente bloqueará a ejeção láctea, uma vez que interrompe todas as aferências ao tronco cerebral. No gráfico II, como podemos ver, durante o teste a ninhada obteve apenas 150 ± 28 mg de leite e a reposição de ocitocina permitiu obter 2.233 ± 210 mg.

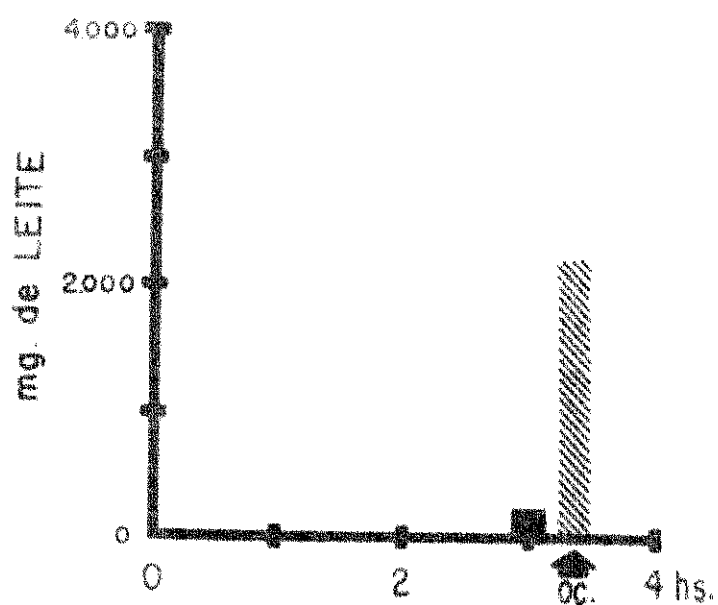


Gráfico II

A Foto II, mostra a extensão deste tipo de desfermentação.

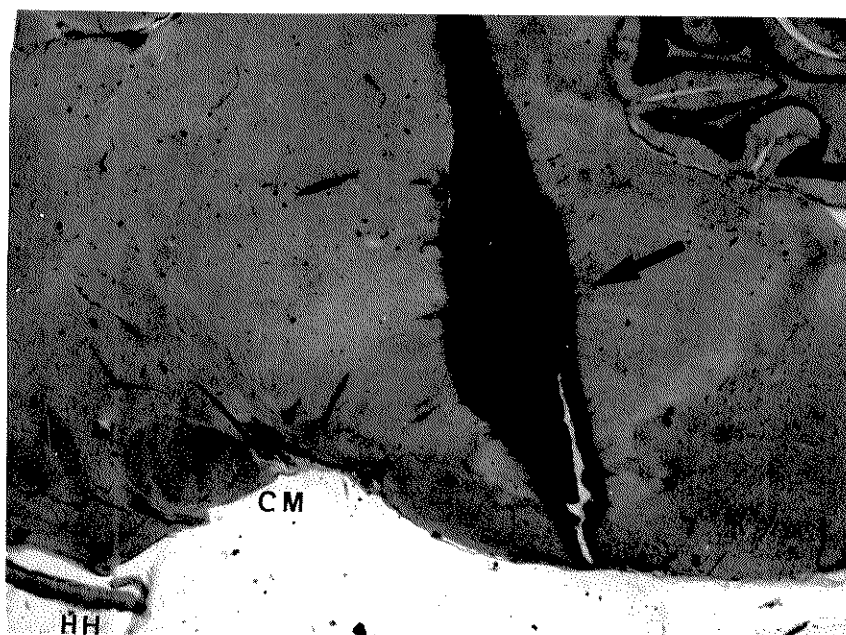


Foto II: Indica local da secção. C. M. - Corpo mamilar

H. H. - Haste hipocáloro-hipofisária

De acordo, com o planejamento experimental, este plano de tronco cerebral, também foi dividido em 2 metades:- uma dorsal e outra ventral.

12º Grupo:

Desaferentação dorsal completa da ponte (Fig.29).

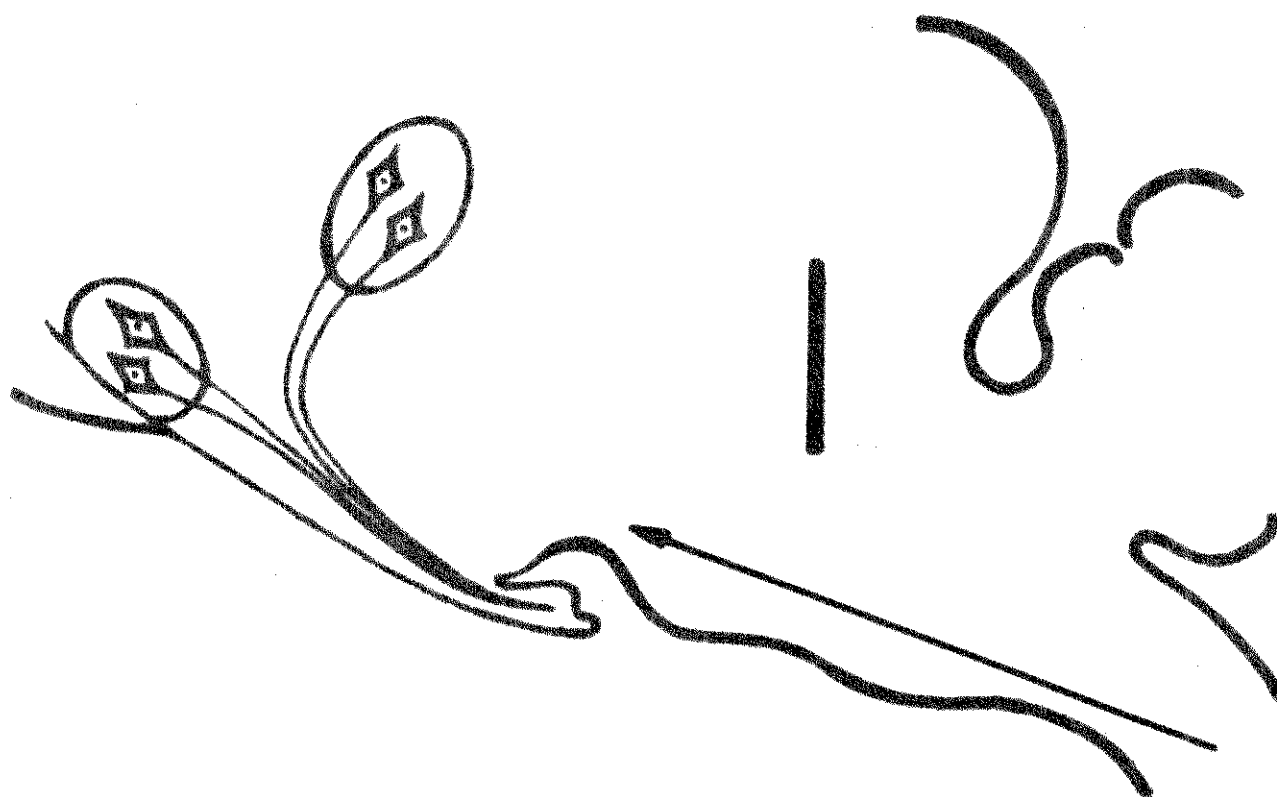


Figura 29

Este tipo de secção não interrompe o reflexo ejeto-lácteo, como demonstra o gráfico 12. As crias nas 3 horas que mamaram, conseguiram 2.625 ± 507 mg de leite.

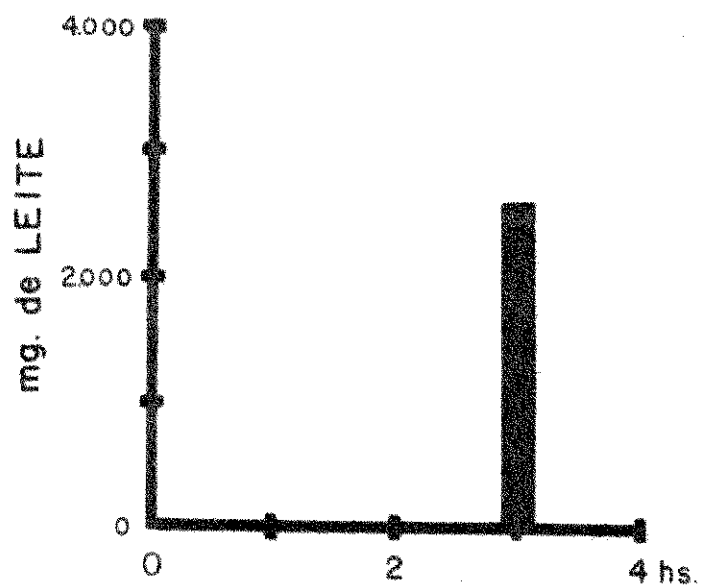


Gráfico 12

A exemplo do observado no hipotálamo caudal e no mesencéfalo, a desaferentação dorsal desta região não influe na ejeção láctea. (Foto 12).

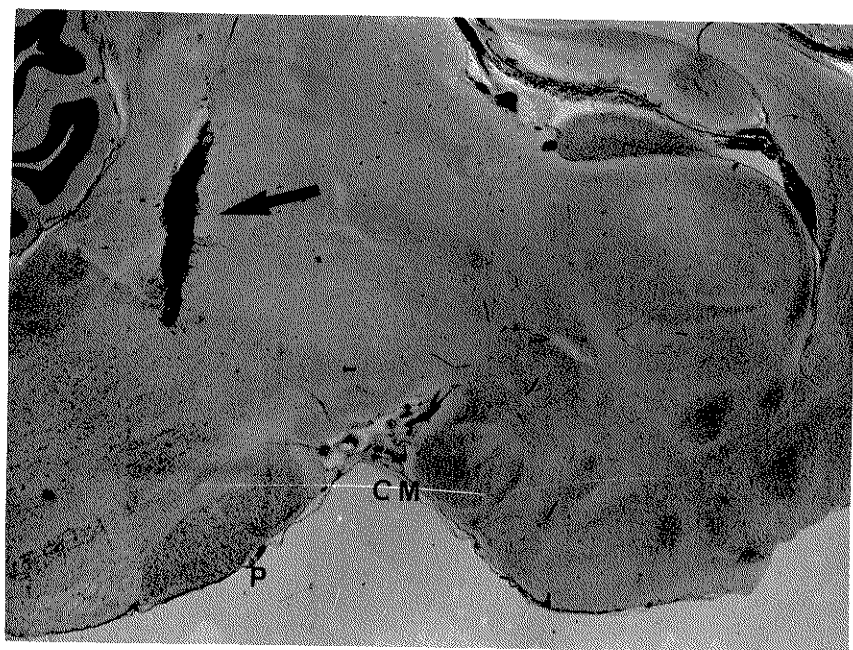


Foto 12: Indica local de lesão. C. M. - Corpo mamilar
P. - Protuberância

13º Grupo:-

Desaferentação ventral completa da ponte. (Fig. 30).

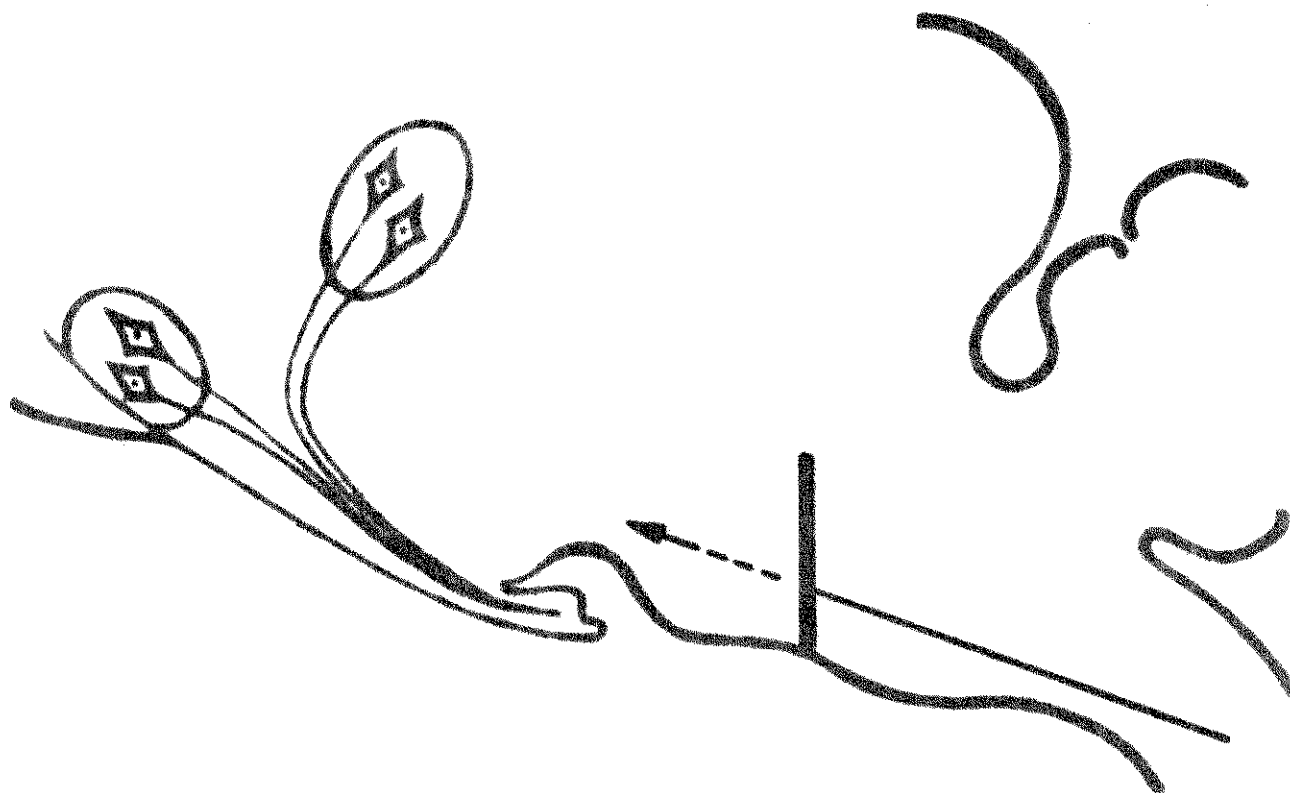


Figura 30

Neste grupo, encontramos bloqueio do reflexo. Ao exame do gráfico 13, vemos que os filhotes no teste tomaram apenas $20 \pm 4,5$ mg de leite e posteriormente à injeção de ocitocina obtiveram 1720 ± 517 mg de leite.

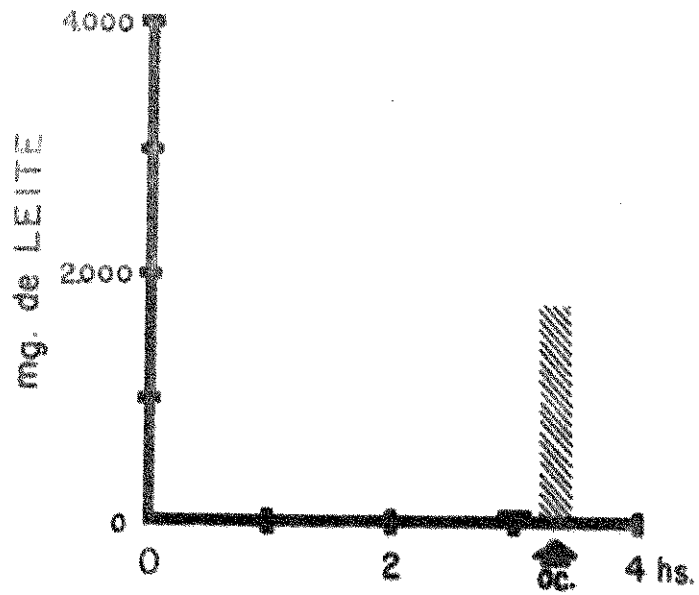


Gráfico 13

A foto 13, mostra uma preparação histológica correspondente a este tipo de secção.

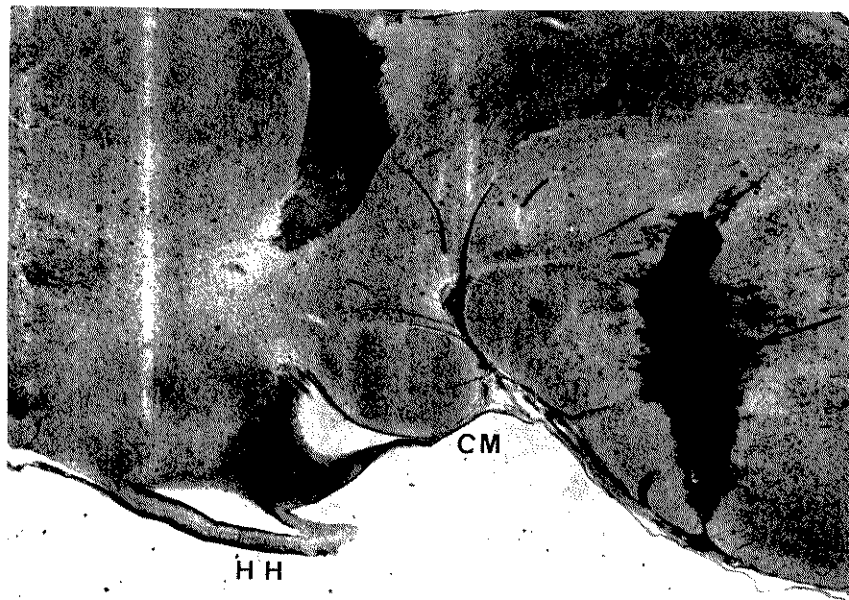


Foto 13: Indica local de lesão. C. M. - Corpo mamilar

H. H. - Haste hipotálamo-hipofisário

Uma vez estabelecido que ao nível da ponte, as aferências caminham ventralmente, dividiu-se também este plano em central e lateral, com a finalidade de localizar o local de passagem dessas aferências.

14º Grupo:-

Desaferentação lateroventral da ponte. (Fig. 31).

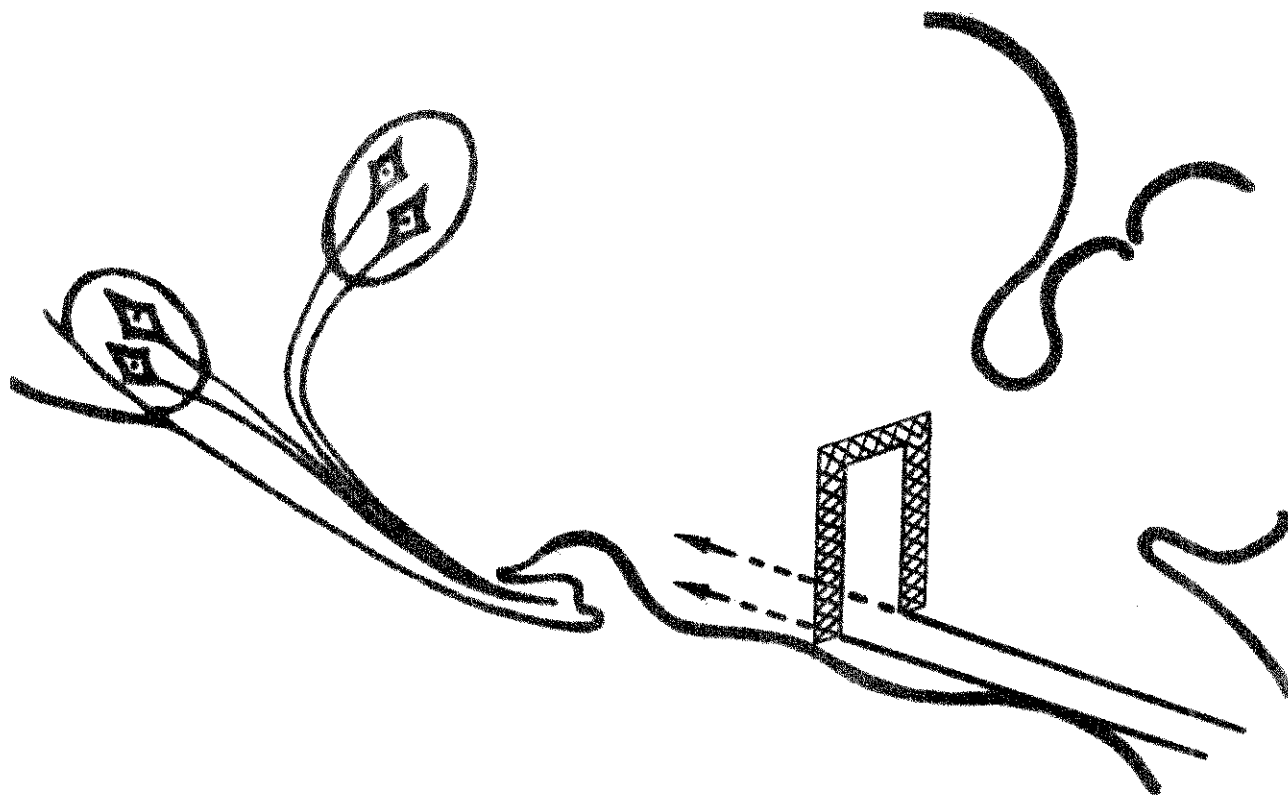


Figura 31

Nestes animais, como se pode notar no gráfico 14, não há bloqueio. Durante o teste as crias obtiveram pela sucção 2.075 ± 281 mg de leite.

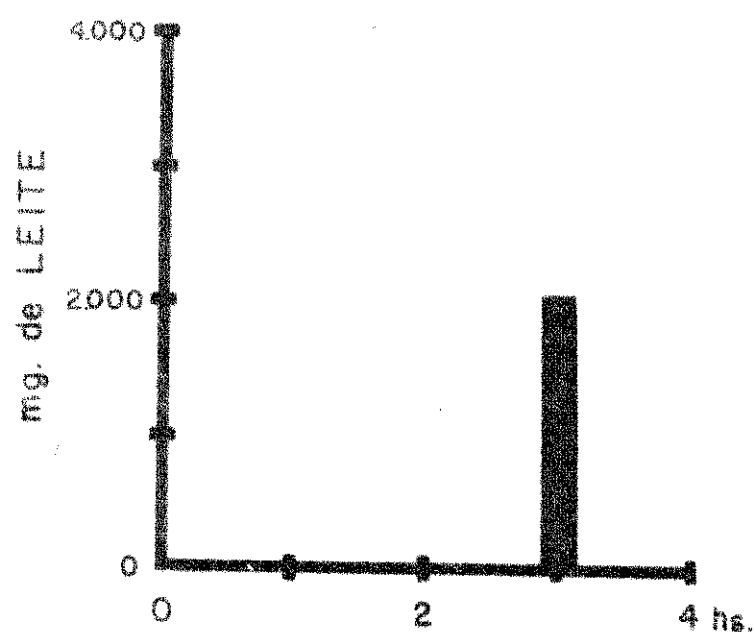


Gráfico 1.

Então, diferentemente do que ocorre nos animais com desafereciação hipotalâmica e mesencefálica, as porções lateroventrais da ponte ao serem seccionadas não tem qualquer influência no reflexo ejetolácteo. (Foto 1.).



Foto 1.; Indica local da secção. S. O. - Núcleo supraóptico

15º Grupo:

Desaferentação centroventral da ponte. (Fig. 32).

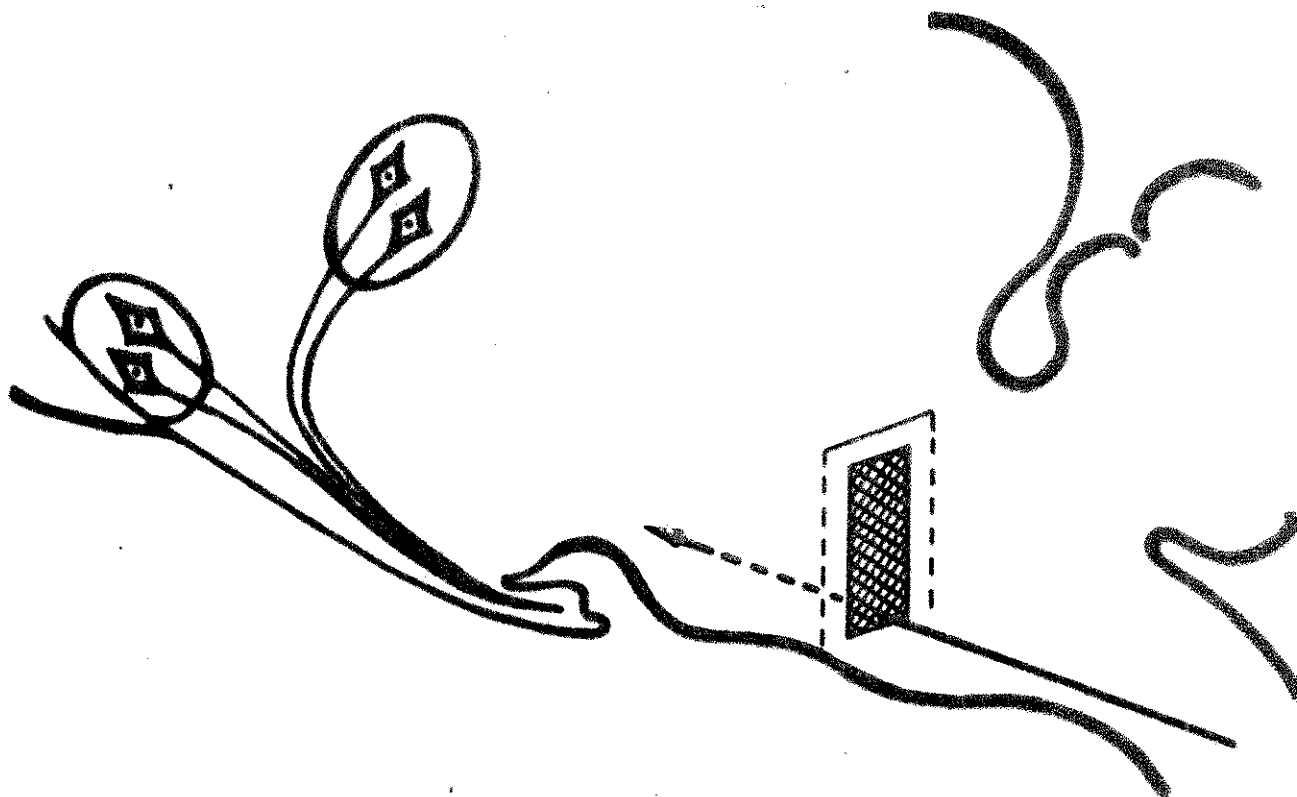


Figura 32

Estes animais apresentaram bloqueio do reflexo ejeto-lácteo. As ninhadas destas ratas lactantes tomeram 147 ± 77 mg de leite apenas durante as 3 horas de sucção e após a injeção de ocitocina, obtiveram 2.400 ± 389 mg de leite. (Gráfico 15).

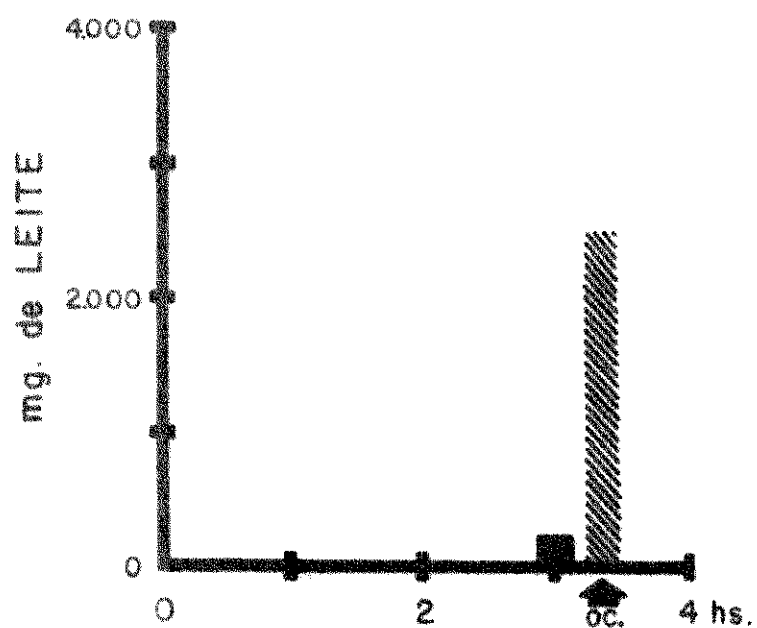


Gráfico 15

Logo, a nível da ponte as aferências responsáveis pelo reflexo ejectionalácteo tem seu ponto de entrada na porção centroventral da mesma. (Foto 15).



Foto 15: Indica local da lesão. C. M. - Corpo mamilar

AREA	DESAFERENTADA	DESAFERENTAO GRUPO	nº de ANIMAIS	mg.de LEITE EJETADO *	mg.de LEITE EJETADO DEPOIS da OCITOCINA
PONTE	TOTAL		11	9	150 ± 88
	P A R C I A L	DORSAL	12	8	2625 ± 507
		COMPLETA			
		VENTRAL	13	10	20 ± 45
		COMPLETA			1.720 ± 517
		LATERO - VENTRAL	14	8	2075 ± 281
		CENTRO - VENTRAL	15	7	147 ± 77
					2400 ± 389

TABELA 3:- Ejeção láctea em animais com desaferentação total ou segmentar da ponte

(*) Desvio padrão da média

Estes resultados demonstram claramente que para a produção deste reflexo, há necessidade de integridade anatômica dos 2 mm centroventrais da ponte, como se pode observar no esquema da figura 32.

D I S C U S S Ã O

Metodologia:

A técnica por nós empregada, permite obter secções de até 1 milímetro com o mínimo de traumatismo e tem inúmeras vantagens sobre as demais.

Nosso escopo é estudar uma aferência pura e sob o ponto de vista experimental, há nítida diferença entre os resultados obtidos por estimulação, através de eletrodos implantados e que pode se difundir a todo cérebro ativando ou inibindo vários circuitos nervosos, dos obtidos por lesões eletrolíticas que, embora forneçam resultados mais fáceis de analisar do que as estimulações, mesmo quando circunscritas, podem atingir áreas adjacentes ou pelo menos têm maior risco potencial de fazê-lo.

O método empregado contudo, apresenta uma limitação, devido ao fato de não ser possível desferências menores do que 1 milímetro, porém, mesmo assim é o que mais se aproxima das condições ideais, pois secciona topograficamente áreas específicas, sem os inconvenientes dos métodos acima referidos..

Por outro lado, o bisturi de Voloschin pode ser usado como se fosse um eletrodo ou seja em qualquer coordenada, enquanto que o original de Halász (1965), não tendo essa versatilidade, tem que penetrar sempre através de um dos ventrículos cerebrais.

Outro aspecto positivo da metodologia empregada por nós é a forma de avaliar a presença ou não do reflexo.

Muitos autores, usam a estimulação da via ou vias aferentes prováveis para desencadeá-lo e avaliam uma resposta positiva ou inibitória pelo aumento de pressão intramamária. Outros avaliam a efetividade da resposta baseados apenas no ganho de peso das crias.

Como critérios de avaliação são falhos, principalmente quando se usa ganho de peso como resposta positiva. Sabe-se que as

crias, após horas de jejum, apresentam retenção urinária, verda - deiro globo vesical, que pode falsear totalmente os resultados.

Por essas razões, o uso do estímulo fisiológico-sucção na tural pelas crias após um período de jejum pré-estabelecido e uniforme, e a laparotomia para verificar a presença ou não de leite no estômago, nos parece ser a melhor e mais real forma de verifi - car a existência ou não de bloqueio do reflexo ejetolácteo.

A avaliação dos resultados, expressos em miligramas de leite encontrados no estômago da ninhada, torna fácil julgar a efe tividade ou não da secção feita, uma vez que estudos prévios no Instituto de Neurobiologia (não publicados), demonstraram que a quantidade média de leite obtida neste teste pelas crias do 15º ao 18º dia de lactação é de 3.200 ± 455 mg. Portanto, considerou-se reflexo bloqueado toda vez que a quantidade de leite obtida foi de 200 mg. ou menos por ninhada, desprezando-se todos os casos que apresentaram valores entre 200 a 1.500 mg. (prováveis bloqueios parciais) e que o reflexo estava presente quando havia 1.600 mg ou mais de leite no estômago dos filhotes.

Desaferentações Pontinas:

A nível da ponte, as desaferentações praticadas permitem sugerir que as aferências responsáveis por este reflexo estão localizadas na parte centroventral, em uma área de mais ou menos 2 mm^2 e que corresponde na rata às seguintes estruturas anatómicas:-

- a) Duas terças partes do lemnisco medial
- b) Trato rubroespinal
- c) Núcleo interpeduncular
- d) Decussação dos pedúnculos cerebelares superiores
- e) Trato pedúnculo tegmental
- f) Fibras transversas da ponte
- g) Núcleos basais da ponte
- h) Parte da substância negra

Destas estruturas podemos excluir como participantes do

reflexo as seguintes:

- 1) as fibras transversas que vão formar o pedúnculo cerebelar médio;
- 2) os núcleos basais que associam a córtex ao cerebelo;
- 3) o trato rubroespinal, via descendente para a medula;
- 4) os pedúnculos cerebelares superiores que levam ao cerebelo inúmeras aferências;
- 5) a substância negra relacionada com o corpo estriado e motricidade;
- 6) o núcleo interpeduncular ligando a habenula e o mesencéfalo.

Assim sendo, resta-nos o trato pedunculotegmental e o lemnisco medial. O primeiro tem sua origem na transição pontomesencefálica e portanto não pode ser a via ascendente que traz os estímulos originados pela sucção.

Já, o lemnisco medial pela sua origem e constituição, reúne condições para conter a via responsável pelas aferências da ejeção láctea na ponte. Tem sua origem nas células dos núcleos grácil e cuneiforme do bulbo, as quais recebem os funículos lateroventrais da medula, que trazem as sensações de tacto e pressão. (Ferraro e Barrera, 1936).

Portanto, os estímulos originários dos mamilos caminham pelos funículos lateroventrais da medula até os núcleos grácil e cuneiforme do bulbo, onde passam a fazer parte do lemnisco medial. Este se situa dorsalmente até a altura das olivas bulbares, quando passa a uma situação ventromedial junto a linha mediana.

Na protuberância, o lemnisco medial está situado centroventralmente como trato de fibras longitudinais junto ao corpo trapezóide, dentro da formação reticular.

Nossos resultados demonstraram que o bloqueio do reflexo ejeto-lácteo ocorre quando se secciona essa porção centroventral, envolvendo portanto o lemnisco medial. O que está de acordo com os trabalhos de Eayrs et al (1956) e Grosvenor (1964) na rata; de Andersson (1951), Tsakhaev (1955) e Popovici (1963) na cabra; de Cross et al (1961) e Mena et al (1968) na coelha; e Andersson (

1951), e Richard et al (1970) na ovelha.

Desaferentações Mesencefálicas:-

Nossos resultados localizam as vias responsáveis pelo reflexo ejeto-lácteo nas regiões lateroventrais do mesencéfalo. As estruturas envolvidas por estas secções estão situadas em áreas de mais ou menos 2 mm² de cada lado.

Nestas regiões temos:

- a) lemnisco medial
- b) pedúnculo mamilar
- c) raízes do nervo ocular motor (III par)
- d) parte da substância negra
- e) crus cerebri
- f) parte do núcleo rubro
- g) núcleos tegmentais

A semelhança do que fizemos para a protuberância, podemos excluir de participarem do reflexo: o núcleo rubro, a crus cerebri, a substância negra e as raízes do III par, cujas funções estão bem estabelecidas.

Os núcleos tegmentais em número de 5, se situam na transição ponto-mesencefálica e nossas desaferentações envolvem apenas os tegmentais ventrais e os reticulo-tegmentais.

A importância destes núcleos reside no fato, que parte das fibras ascendentes do pedúnculo mamilar tem sua origem nos núcleos ventrais e na parte ventral dos núcleos dorsais.

Segundo Quensel (1911), Papez (1923, 1932), Tello (1936) Fox (1941), Bürgi e Bucher (1955, 1956) e Kimoto e Sakai (1959), a origem do pedúnculo mamilar está nos núcleos tegmentais ventrais.

Ban (1964) fazendo destruições localizadas no mesencéfalo e estudando o trajeto das fibras ascendentes que degeneram encontrou 3 grupos de fibras:-

- 1 - trato tegmentomamilar intermédio - fibras que vão da

parte dorsal do tegmento se incorporar ao pedúnculo mamilar, terminando no corpo mamilar do mesmo lado.

2 - trato tegmentomamilar medial - fibras que vão dos núcleos tegmentais ventrais ao pedúnculo mamilar.

3 - trato tegmentomamilar lateral - fibras do tegmento ventral, laterais ao lemnisco medial, no qual penetram parcialmente e ascendem no pedúnculo mamilar ventralmente, penetrando no corpo mamilar ipsilateral.

Estas fibras terminam em geral no núcleo mamilar lateral como demonstram os trabalhos de Ganser (1882), Economo e Karplus (1909) e Kimoto e Sakai (1959).

Probst (1902), Cajal (1911), Valkenburg (1912), Yamagata (1927), Krieg (1932), Koikegami (1938), Fox (1941), Morin (1950), Guillery (1956) e Nauta e Kuypers (1957), afirmam que estas fibras terminam principalmente no núcleo mamilar lateral e, em menor número no núcleo mamilar medial do mesmo lado. Fox (1941), Guillery (1956) e Nauta et al (1957) relatam que algumas dessas fibras vão ao núcleo mamilar medial contralateral.

Ainda entram na constituição do pedúnculo mamilar fibras do tuber cinereo, segundo Cajal (1911), Papez (1923), Gurdjian (1927) e Rioch (1931) e fibras do fascículo prosencefálico medial segundo Guillery (1956).

Ban (1964) observou algumas fibras no pedúnculo mamilar que passam dorsolateralmente ao corpo mamilar, se associam ao fascículo prosencefálico medial e vão desaparecer no núcleo hipotalâmico lateral, constituindo o trato tegmentohipotalâmico.

Finalmente, Wallenberg (1899) e Cajal (1911) referem que além das fibras acima referidas, há um contingente oriundo do lemnisco medial.

Estes estudos estão em concordância com as evidências experimentais obtidas por Andersson (1951), Cross e Silver (1961), Tindal et alii (1967, 1969), Aulsebrook e Holland (1969a, b) e Richard (1970), o que permite associar o lemnisco medial ao pedúnculo mamilar na via ascendente deste reflexo. E mais, corrobora os

trabalhos de Starzl et alii (1951), Nauta (1958), Mallart et al (1963 e Danavir (1968), sobre a existência de fibras colaterais que saem do sistema lemniscal e se dirigem ao subtálamo, campos de Forel e hipotálamo posterior, promovendo uma interação das vias intra e extralemniscais, antes do mesmo se dirigir aos núcleos ventrais postero-laterais do tálamo.

Portanto, a nível mesencefálico o lemnisco medial que traz as aferências desde a ponte se une em parte aos núcleos tegmentais ventrais, constituindo o trato tegmento-mamilar lateral que ascende pelo pedúnculo mamilar ipsilateral, indo penetrar nos núcleos mamilares laterais e mediais do hipotálamo.

Desaferentações hipotalâmicas:-

Finalmente no hipotálamo caudal, das secções topográficas feitas, somente as que atingem as regiões lateroventrais interrompem o reflexo. Nestas áreas de transição mesodiencefálica encontramos:

- a) pedúnculos mamilares
- b) crus cerebri
- c) substância negra
- d) fascículo prosencefálico medial
- e) núcleos mamilares laterais, que estão total ou parcialmente envolvidos por essas desaferentações.

Este mapeamento sistematizado permitiu inicialmente que excluíssemos, como provável via anatômica do reflexo ejeto-lácteo, ao fascículo longitudinal dorsal de Schütz como postulava Beyer et alii (1962), em estudos na gata. Isto porque tendo sua origem nos núcleos tegmentais dorsais de Gudden, não participaria da associação entre lemnisco medial, trato tegmento-mamilar lateral e pedúnculo mamilar como vimos anteriormente e, além disso penetra dorsalmente no hipotálamo no seu trajeto aos núcleos intralaminares do tálamo e dorsomediais do hipotálamo. As desaferentações dorsais completas que o atingem não bloqueiam este reflexo,

enquanto as que bloqueiam - ventrolaterais, o deixam indene.

A crus cerebri e a substância negra como já discutimos , não tem qualquer participação no reflexo ejeto-lácteo.

O fascículo prosencefálico medial foi originalmente considerado como via descendente , iniciando-se no tubérculo olfatório e na área septal, atravessando o hipotálamo lateral e terminando no tegmento mesencefálico. Inúmeros estudos foram feitos per Probst (1900), Wallenberg (1901), Tsai (1925), Gurdjian (1925 , 1927), Huber e Crosby (1929), Loo (1931), Rioch (1931), Krieg (1932), Young (1936), Fox (1940), Shimizu (1948), Morin (1950), Kurita, Chen e Matsumoto (1951), Nauta (1956, 1958), Guillery (1957), Sekino (1960), Ban e Zyo (1962) e Zyo, Ôki e Ban (1963), possibilitando determinar a existência de fibras ascendentes neste feixe.

Ban (1964) demonstrou que algumas fibras deste fascículo se originam no tegmento pontino, atravessam a parte ventromedial do tegmento mesencéfálico e alcançam o núcleo hipotalâmico lateral e área preóptica do mesmo lado ou seja tem sentido inverso do seu componente descendente. Porém, apesar de sua proximidade com o lemnisco medial e o pedúnculo mamilar, não encontrou fibras que fossem aos núcleos mamilares laterais.

Em geral, acredita-se pelos trabalhos de Ban, Shimizu e Kurotsu (1958), Shinoda, Ban e Kurotsu (1958), Kurotsu, Sakai, Megawa e Ban (1958), Sakai, Megawa, Shinoda, Tanimura, Shimizu e Ban (1958), Yokoyama, Ban e Kurotsu (1960), Sakai, Ban e Kurotsu (1960), Sakai, Momose, Ban e Kurotsu (1960) e Sakai, Ban e Kurotsu (1961), que o fascículo prosencefálico medial esteja intimamente relacionado com os reflexos alimentares, olfatórios e parassimpáticos, unindo o sistema área septal-hipotálamo lateral-mesencéfalo. Contudo, nossas desaferentações o lesam em sua passagem junto aos núcleos mamilares, razão pela qual não podemos excluí-lo definitivamente de participar do reflexo.

Se não participar até a chegada dos impulsos ao hipotálamo caudal, isso não quer dizer que não participe intrahipotalâmicamente, porque Woods e Bard (1960) obtiveram degenerações no núcleo

paraventricular, via fascículo prosencefálico medial quando fizeram lesões eletrolíticas no hipotálamo posterolateral.

Porém, as vias intrahipotalâmicas deste reflexo são controvertidas. Acredita-se que os impulsos aferentes alcançam os núcleos hipotalâmicos neurosecretores e destes partam a ordem para a liberação de ocitocina pela neurohipófise. Mas, até hoje não se sabe como ocorre a interação entre os componentes aferente e eferente dentro do hipotálamo.

Recentemente, Tindal et al (1971), postularam a importância da integridade das conexões entre o núcleo paraventricular e a neurohipófise para que este reflexo ocorra. Porém, ao observarmos seus estudos vemos que suas secções caudais ao núcleo e que bloqueiam a ejeção láctea, atingem também a haste hipotálamo-hipofisária. O bloqueio é decorrente da secção das aferências paraventriculares ou da secção do talo hipotálamo-hipofisário? Voloschin et al (1971), afirmam que a completa desaferentação do núcleo paraventricular não interfere com o reflexo, enquanto secções posteriores ao núcleo supraóptico e que atingem a haste hipotálamo-hipofisária, sim bloqueiam.

Estes resultados sugerem que ambos núcleos participam do reflexo e basta a integridade de um ou de outro para que a ejeção láctea se mantenha ou, que nenhum deles participa do processo de liberação dos hormônios armazenados na neurohipófise.

Então, temos várias indagações:-

1) A liberação de ocitocina ocorre devido a estímulos diretos dos núcleos supraóptico e paraventricular?

2) Ou estes núcleos são apenas produtores de ocitocina e não participam do mecanismo da liberação a nível da neurohipófise?

3) Existiriam 2 sistemas, relativamente independentes, um produtor (núcleos supraóptico e paraventricular) e outro liberador, situado em área diferente?

4) Se esta última alternativa for verdadeira, como seria que os estímulos oriundos da periferia, acionariam o sistema libe

rador?

Para estas perguntas, já se conhecem algumas respostas . Pelos trabalhos de Hawker et alii (1959) sabe-se que o estímulo elétrico do paraventricular aumenta a concentração circulante de ocitocina e segundo Bisset et alii (1963), o mesmo ocorre com o supraóptico, em relação a vasopressina.

A segunda alternativa, na qual estes núcleos não participariam da liberação, baseia-se em evidências experimentais (Tindal et alii, 1971 e Voloschin et al, 1971), onde as desaferentações de um ou de ambos núcleos não interferem com o reflexo em estudo.

O sistema liberador deveria então, estar em íntimo contato com a neurohipófise ou os grânulos de neurosecreção serem liberados diretamente para a circulação ou no 3º ventrículo (Tramezzani, Negreiros de Paiva e Sesso, 1956).

Pois bem, esta glândula é innervada por 2 tratos, o trato hipotálamo-hipofisário que se origina nos núcleos supraóptico e paraventricular segundo Greving (1925, 1926 e 1928), Pines (1926), Nicolesco e Nicolesco (1929), Laruelle (1934), Roussy e Mosinger (1934, 1935), Magoun e Ranson (1939), Bodian (1940), Laqueur (1954), e Arizono e Okamoto (1957) nas várias espécies estudadas e pelo trato tubero-hipofisário que se origina nos núcleos tuberais latero-ventrais.

Se a desaferentação dos núcleos supraóptico e paraventricular não bloqueia o reflexo, pode-se dizer que as aferências responsáveis pelo mesmo não atuam diretamente sobre o sistema liberador.

Por outro lado, secções que atingem a haste hipotálamo-hipofisária, sempre bloqueiam a ejeção láctea, (Cross e Harris , 1950; Gale et alii, 1961; Gale e Larsson, 1963; Tindal et alii , 1971; Voloschin et al, 1971).

Então poderíamos postular que as aferências responsáveis por este reflexo iriam ter a neurohipófise pelo talo hipotálamo-hipofisário, onde penetram pelo seu ramo posterior, através do

trato tubero-hipofisário.

Sugerimos esta hipótese, baseados nas seguintes evidências experimentais:-

- 1) A neurohipófise é fundamental para a ejeção láctea como demonstraram Gomez (1939, 1940) e Harris et al (1951).
- 2) Os grânulos de neurosecreção vão desde os núcleos supraóptico e paraventricular do hipotálamo até a neurohipófise (Bargmann, 1949 e Scharrer et al, 1954).
- 3) A ocitocina é o hormônio, liberado durante o reflexo ejetolácteo como provaram os trabalhos de Fitzpatrick (1961) e Tindal et al (1962).
- 4) Este reflexo neuroendócrino tem um componente aferente bem conhecido desde o mamilo até a transição bulbomedular (Eayrs et al, 1956).
- 5) Nossos estudos indicam que do bulbo até o mesencéfalo, as aferências caminham pelo lemnisco medial e do tegmento mesencefálico ao hipotálamo caudal pelo pedúnculo mamilar.
- 6) Voloschin et al (1971) e Tindal et al (1971) relatam que o reflexo se mantém após a desaferentação total dos núcleos paraventricular e supraóptico, respectivamente.
- 7) As lesões do talo hipotálamo-hipofisário bloqueiam o reflexo (Cross et al, 1950; Gale et al, 1963).
- 8) Trabalhos de Voloschin, Dottaviano e Tramezzani (1971), demonstram que se a secção total do hipotálamo caudal não tocar a base hipotalâmica, deixando indene mais ou menos 1 mm de tecido, o suficiente para que as fibras do trato tubero-hipofisário alcancem a glândula, o reflexo se mantém.
- 9) Brooks et alii (1966) demonstraram que durante a sucção dos mamilos, aumenta a atividade elétrica dos neurônios do núcleo paraventricular. E Yamashita, Koizumi e Brooks (1970) conseguiram provar a existência de condução antidrômica da neurohipófise para os núcleos neurosecretores. Haveria assim, a possibilidade de existir um "feed-back" entre a depleção de ocitocina na neurohipófise e o aumento da atividade elétrica dos neurônios paraventri-

culares.

Ishikawa, Koizumi e Brooks (1966) registraram potenciais evocados na haste hipotálamo-hipofisária da gata, após sucção dos mamilos e distensão uterina pós-parto.

Este conjunto de informações e os nossos resultados nos levaram a sugerir que:

a) as aferências responsáveis pelo reflexo ejetolácteo ascendem pelo tronco cerebral, através do lemnisco medial até os núcleos tegmentais ventrais do mesencéfalo.

b) a partir deste nível seguem pelo trato tegmento-mamilar lateral que se incorpora ao pedúnculo mamilar até alcançarem os núcleos mamilares laterais do hipotálamo.

c) dos núcleos mamilares podem seguir 2 vias: uma ventral, indispensável para o reflexo, que via trato tubero-hipofisário, vai a neurohipófise para liberar a ocitocina; e outra dorsal, via fascículo prosencefálico medial que vai aos núcleos supraóptico e paraventricular excitá-los para produzirem mais ocitocina e que não é indispensável para o reflexo.

d) existe ainda um sistema de condução antidrômica da neurohipófise para os núcleos supraópticos e paraventricular que serviria como "feed-back" informando que a glândula está sendo drenada do seu conteúdo hormonal.

Portanto, postulamos que:

1) somente a ocitocina armazenada na neurohipófise é liberada para a circulação durante o reflexo.

2) os núcleos supraóptico e paraventricular não participam do fenômeno agudo da liberação de ocitocina, porém, iniciam um fluxo de novas quantidades de hormônio para a glândula que dura em média, 1 a 2 horas até ocorrer a repleção da mesma (Monroe e Scott, 1966 e Jones e Pickering, 1970).

3) haja diminuição do material neurosecretado tanto no hipotálamo como na neurohipófise durante a ejeção láctea.

4) o aumento da atividade elétrica desses núcleos seria devido aos fenômenos de síntese de novas quantidades de hormônio,

em reposição ao liberado para o trato hipotálamo-hipofisário e que vão restaurar o conteúdo neurohipofisário.

RESUMO E CONCLUSÕES

O autor faz um mapeamento estereotáxico do tronco cerebral da rata lactante, usando um bisturi neurocirúrgico especial, com a finalidade de localizar a via anatômica responsável pelas aferências do reflexo ejetolácteo.

O método permite fazer secções topográficas específicas, sem atingir áreas adjacentes e sem a necessidade de aspirar ou retirar fragmentos de tecido nervoso.

O material é constituído por ratas adultas (15^a a 18^a dia de lactação), distribuídas em 15 grupos e submetidas a desaferentações totais ou parciais do hipotálamo caudal, mesencéfalo e ponte e nas quais posteriormente é feito um teste de ejeção láctea para verificar a existência ou não de bloqueio deste reflexo.

Os resultados obtidos permitem concluir que:

1 - Na ponte, as aferências responsáveis pelo reflexo ejetolácteo, são interrompidas quando se secciona as áreas centroventrals, numa extensão de 2 mm^2 (1 mm^2 de cada lado da linha mediana).

2 - Das estruturas situadas nessas áreas, apenas o lemnisco medial é um fascículo constituído por fibras sensitivas ascendentes, razão pela qual é identificado como a via anatômica a este nível.

3 - No mesencéfalo, a via anatômica está localizada nas regiões lateroventrais bilaterais, numa extensão de mais ou menos 2 mm^2 .

4 - A nível mesencefálico, o lemnisco medial emite colaterais para os núcleos tegmentais ventrais e para o trato tegmento-mamilar lateral, que se incorpora aos pedúnculos mamilares..

5 - No hipotálamo caudal, as aferências responsáveis pela ejeção láctea estão situadas nas áreas lateroventrais também ou seja nas regiões onde o pedúnculo mamilar penetra em sua trajetória até os núcleos mamilares laterais e mediais do hipotálamo.

6 - Este mapeamento permite excluir o fascículo longitudinal dorsal de Schütz, como provável via anatômica deste reflexo, devido a sua origem e ao seu trajeto que são sempre dorsais.

7 - O fascículo prosencefálico medial parece participar intrahipotalamicamente, como via dorsal, levando informações ao núcleo paraventricular.

8 - No hipotálamo posterior ocorre uma bifurcação;

a) via dorsal - fascículo prosencefálico medial - - que vai aos núcleos neurosecretores e que não é indispensável ao reflexo, em nossas condições experimentais; e

b) via ventral - indispensável ao reflexo que participaria da liberação de ocitocina pela neurohipófise, via provavelmente trato tubero-hipofisário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 - ABRAHAMS, V. C. and M. PICKFORD - Observations on a central antagonism between adrenaline and acetylcholine. J. Physiol. (Lond.) 131: 712-718, 1956a.
- 02 - ABRAHAMS, V.C. and M. PICKFORD - The effect of anticholinesterases injected into the supraoptic nuclei of chloralosed dogs on the release of the oxytocic factor of the posterior pituitary. J. Physiol. (Lond) 133: 330-333, 1956b.
- 03 - ABRAHAMS, V.C.; G.B. KOELLE and P. SMART - Histochemical demonstration of cholinesterases in the hypothalamus of the dog. J. Physiol. (Lond) 139: 137-144, 1957.
- 04 - ACHER, R.; CHUVET and G. OLIVRY - Sur l'existence éventuelle d'une hormone unique neurohypophysaire. II - Variations des teneurs en activités ocitocique et vasopressique de la neurohypophyse du rat au cours de la croissance et de la reproduction. Biochem. Biophys. Acta 22: 421-427, 1956.
- 05 - ACHER, R. and C. FROMAGEOT - In "The Neurohypophysis" p.39 - Ed. by H. Heller, London; Butterworths, 1957.
- 06 - ACHER, R.; CHUVET and M.T. LENCI - L'ocytocine et la vasopressine du cheval. Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris) 40: 2005-2018, 1958.
- 07 - ADAMS, J.H.; P.M. DANIEL and M.M.L. PRICHARD - The effect of stalk section on the volume of the pituitary gland of sheep. Acta Endocr. (Copenhagen) 43: (suppl.81), 1963.
- 08 - ADAMS, J.H.; P.M. DANIEL and M.M.L. PRICHARD - Regrowth of nerve fibres in the neurohypophysis: Regeneration of a tract of the central nervous system. J. Physiol. (Lond.) 198: 4P-5P, 1968.
- 09 - AMIN, A.T.; T.B.B. CRAWFORD and J. GADDUM - Distribution of substance P and 5-hidroxytryptamine in central nervous system of dog. J. Physiol. (Lond.) 126: 596-618, 1954.

- 10 - ANDERSON, E.; R. BATES; E. HAWTHORNE; W. HAYMAKER; K. KNOWLTON; D. MCK RIOCH; W. T. SPENCE and H. WILSON - Central nervous system and metabolic processes. Recent Prog. Hormone Res. XII: 21-57, 1957.
- 11 - ANDERSON, F.D. and C.M. BERRY - Degeneration studies of long ascending fiber systems in the cat brain stem. J. Comp. Neurol. III: 195-229, 1959.
- 12 - ANDERSSON, B. - The effect and localization of electrical stimulation of certain parts of the brain stem in sheeps and goats. Acta Physiol. Scand. 23: 8-23, 1951.
- 13 - ANDERSSON, B. and S.M. McCANN - Drinking, antidiuresis and milk-ejection from electrical stimulation within the hypothalamus of the goat. Acta Physiol. Scand. 35: 191-201, 1955.
- 14 - ARIMURA, A. and J.F. DINGMAN - Specific and sensitive assay method for vasopressin and oxytocin using glass-paper chromatography. Nature (Lond) 184: 1874-1875, 1959.
- 15 - ARIZONO, H. and S. OKAMOTO - Comparative neurologic study on hypothalamo-hypophyseal neurosecretory system. Med. J. Osaka Univ. 8: 195-228, 1957.
- 16 - AULSEBROOK, L.H. and R.C. HOLLAND - Central regulation of oxytocin release with and without vasopressin release. Amer. J. Physiol. 216: 818-829, 1969a.
- 17 - AULSEBROOK, L.H. and R.C. HOLLAND - Central inhibition of oxytocin release. Amer. J. Physiol. 216: 830-842, 1969b.
- 18 - BAN, T. - The Hypothalamus, especially on its fiber connections and the septo-preoptico-hypothalamic system. Med. J. Osaka Univ. 15 (1): 1-83, 1964.
- 19 - BAN, T.; S. SHIMIZU and T. KUROTSU - Experimental studies on the relationship between the hypothalamus including area preoptica and lactation in rabbits. Med. J. Osaka Univ. 8: 345-370, 1958.

- 20 - BAN, T. and K. ZYO - Experimental studies on the fiber connections of the rhinencephalon. I - Albino rat. Med. J. Osaka Univ. 12: 385-424, 1962.
- 21 - BARER, R.; H. HELLER and K. LEDERIS - The isolation, identification and properties of the hormonal granules of the neurohypophysis. Proc. Roy Soc. B. 158: 388-416, 1963.
- 22 - BARGMANN, W. - Über die Neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. Z. Zellforsch Abt. Histochem. 34: 610-634, 1949a.
- 23 - BARGMANN, W. - Über die Neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Hypophyse. Klin. Wschr. 27: 617-622, 1949b.
- 24 - BARRACLOUGH, C.A. - In "Abstr. Commun. XXI Int. Physiol. Congr." Buenos Aires, p. 28, 1959.
- 25 - BARRACLOUGH, C.A. and B.A. CROSS - Unit activity in the hypothalamus of the cyclic female rat: effect of genital stimuli and progesterone. J. Endocr. 26: 339-359, 1963.
- 26 - BENSON, G.K. and A.T. COWIE - Lactation in the rat after hypophysial posterior lobectomy. J. Endocr. 14: 54-65, 1956.
- 27 - BERDE, B. and A. CERLETTI - Démonstration expérimentale de l'action de l'ocytocine sur la glande mammaire. Gynaecologia 144: 275-278, 1957.
- 28 - BEYER, C.; F. MENA; P. PACHECO and M. ALCARAZ - Blockage of lactation by brain-stem lesions in the cat. Amer J. Physiol. 202: 465-468, 1962.
- 29 - BEYER, C.; J.S. TINDAL and C.H. SAWYER - Electrophysiological study of projections from mesencephalic central gray matter to forebrain in the rabbit. Exp. Neurol. 6: 435-450, 1962.
- 30 - BEYER, C. and F. MENA - Blockage of milk removal in the cat by periventricular diencephalic lesions. Amer J. Physiol. 208: 585-588, 1965.
- 31 - BILLENSTEIN, D. and T.F. LEVEQUE - Reorganization of neurohy

- pophyseal stalk following hypophysectomy in rat. Endocrinology 56: 704-717, 1955.
- 32 - BISSET, G.W.; S.M. HILTON and A.M. POISNER - Parallel assays of vasopressin and oxytocin in blood on localized electrical stimulation of the hypothalamus. J. Physiol.(Lond.) 169: 40-41, 1963.
 - 33 - BISSET, G.W.; S.M. HILTON and A.M. POISNER - Hypothalamic pathways for independent release of vasopressin and oxytocin. Proc. Roy. Soc. B. 166: 422-442, 1967.
 - 34 - BODIAN, D. - Studies on the diencephalon of the virginia opossum. II - The fiber connections in normal and experimental material. J. Comp. Neurol. 72: 207-298, 1940.
 - 35 - BRIGHTMAN, M.W. (1955) - apud R. Denamur in "The Hypothalamo-neurohypophysial system and the milk-ejection reflex" - Part I - p. 196. Dairy Sci. Abstr. 27: 193-224, 1965.
 - 36 - BROOKS, C. McC.; J. USHIYAMA and J. LANGE - Reactions of neurons in or near the supraoptic nuclei. Amer. J. Physiol. 202: 487-490, 1962.
 - 37 - BROOKS, C. McC.; T. ISHIKAWA; K. KOIZUMI and H.H. LU - Activity of neurones in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and its control. J. Physiol. (Lond.) 182: 217-231, 1966.
 - 38 - BUCY, P.C. - In "The hypophysis cerebri in cytology and cellular pathology of the nervous system" p. 712. Ed. by W. Penfield. New York: P.B. Hoeber, 1932.
 - 39 - BURGI, S. M. and V.M. BUCHER - Über einige rhinencephale Verbindungen des Zwischen und Mittelhirns. Dtsch. Ztschr. Neuroenhlk. 174: 89-106, 1955.
 - 40 - BURGI, S.M. and V.M. BUCHER - Some fiber systems passing through the mesencephalic tegmentum in the cat. Prog. in Neurology. Proc. of First Inter. Meeting of Neurobiologists. Elsevier, Amsterdam - London - New York - Princeton. pp.256-263, 1956.

- 41 - BURN, J.H.; L.H. TRUELOVE and I. BURN - Antidiuretic action of nicotine and of smoking. Brit. Med. J. 1: 403-406, 1945.
- 42 - CAJAL, S.R. - Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés. Vol. 2. Ed. A. Maloine (Paris), 1911.
- 43 - CAMPBELL, B. and W.E. PETERSEN - Milk "let-down" and the orgasm in the human female. Human Biol. 25: 165-168, 1953.
- 44 - CANNATA, M.A. and J.H. TRAMEZZANI - The neural lobe of the neurohypophysis of the rat: several types of nerve endings. Experientia 25: 1281-1282, 1969.
- 45 - CHAMBERS, G.H. - Changes in rat's posterior pituitary following sodium chloride administration. Anat. Rec. 92: 391-399, 1945.
- 46 - CHAN, W.Y.; M. O'CONNELL and S. POMEROY - Effects of the estrous cycle on the sensitivity of rat uterus to oxytocin and desamino-oxytocin. Endocrinology 72: 279-282, 1963.
- 47 - CHANG, H.C.; K.F. CHIA; C.H. HSU and R.K.S. LIM - Humoral transmission of nerve impulses at central synapses. I - Sinus and vagus afferent nerves. Chin. J. Physiol. 12: 1-35, 1937a.
- 48 - CHANG, H.C.; K.F. CHIA; C.H. HSU and R.K.S. LIM - Vagus-post pituitary reflex. I - Pressor component. Chin. J. Physiol. 12: 309-326, 1937b.
- 49 - CHANG, H.C.; K.F. CHIA; C.H. HSU and R.K.S. LIM - Reflex secretion of the posterior pituitary elicited through the vagus. J. Physiol. (Lond.) 90: 87-89, 1937c.
- 50 - CHANG, H.C.; K.F. CHIA; C.H. HSU and R.K.S. LIM - Humoral transmission of nerve impulses at central synapses. II - Central vagus transmission after hypophysectomy in the dog. Chin. J. Physiol. 13: 13-32, 1938.
- 51 - COLLIN, R. and J. RACADOT - La chute du taux de la substance gomori positive neurohypophysaire dans le post partum chez le cobaye. Ann. Endocr. (Paris) 14: 546-549, 1953.

- 52 - COWIE, A.T. - apud S.J. Folley - In "Aspects of pituitary-mammary gland relationships". Recent Progr. Hormone Res. 7: 107, 1952.
- 53 - COWIE, A.T.; J.S. TINDAL and G.K. BENSON - Pituitary grafts and milk secretion in hypophysectomized rats. J. Endocr. 21: 115-123, 1960.
- 54 - COWIE, A.T.; P.M. DANIEL; G.S. KNAGGS; M.M.L. PRICHARD and J.S. TINDAL - Lactation in the goat after section of the pituitary stalk. J. Endocr. 28: 253-265, 1964.
- 55 - CRAIGIE, E.H. - Finer Anatomy of the Central Nervous System. Ed. Blakiston (Philadelphia), 1925.
- 56 - CROSS, B.A. - Suckling antidiuresis in rabbits. Nature (Lond.) 166: 612-613, 1950.
- 57 - CROSS, B.A. - Suckling antidiuresis in rabbits. J. Physiol. (Lond.) 114: 477, 1951.
- 58 - CROSS, B.A. - Nursing behaviour and the milk ejection reflex in rabbits. J. Endocr. 8: XIII, 1952.
- 59 - CROSS, B.A. - Milk ejection and neurohypophysial function. Endocrinology 9: IX, 1953.
- 60 - CROSS, B.A. - On the mechanism of labour in the rabbit. J. Endocr. 16: 261-276, 1958.
- 61 - CROSS, B.A. - In "Milk: The mammary gland and its secretion". Vol. 1, pg. 229. Ed. by S.K. Kon and A.T. Cowie. London: Academic Press, 1961.
- 62 - CROSS, B.A. and G.W. HARRIS - Milk ejection following electrical stimulation of the pituitary stalk in rabbits. Nature (Lond.) 166: 994-995, 1950a.
- 63 - CROSS, B.A. and G.W. HARRIS - Milk ejection following electrical stimulation of the pituitary stalk in rabbits. Colloq int. C.N.R.S. (Paris) n° 32: 157, 1950b.
- 64 - CROSS, B.A. and I.A. SILVER - apud B.A. Cross - In "Oxytocin"

- pp. 24-47. Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford Pergamon Press, 1961.
- 65 - CROSS, B.A. and H.B. van DYKE - The effects of highly purified posterior pituitary principles on the lactating mammary gland of the rabbit. J. Endocr. 9: 232-235, 1963.
 - 66 - DABLOW, A. - In "Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen" Vol. 3, p. 279. Ed. by W. von Moellendorf and W. Bargmann, Berlin: Springer, 1957.
 - 67 - DANIEL, A.R. and K. LEDERIS - Effects of acetylcholine on the release of neurohypophysial hormones in vitro. J. Endocr. 34: X-XI, 1966.
 - 68 - DEBACKERE, M. and G. PEETERS - The influence of vaginal distension on milk ejection and diuresis in the lactating cow. Arch. int. Pharmacodyn. 123: 462-471, 1960a.
 - 69 - DEBACKERE, M. and G. PEETERS - Le mécanisme de l'éjection du lait par distension vaginale chez le mouton. Arch. int. Pharmacodyn. 126: 486, 1960b.
 - 70 - DEBACKERE, M. and G. PEETERS - Milk ejection studied by means of a crossed-circulation technique on sheep. Naturwissenschaften 47: 189, 1960c.
 - 71 - DEBACKERE, M. and N. TUYTTENS - Reflex release of an ocytotic hormone by stimulation of genital organs in male and female sheep studied by a cross-circulation technique. J. Endocr. 22: 321-334, 1961.
 - 72 - DEMPSEY, E.W. and U.V. UOTILA - The effect of pituitary stalk section upon reproductive phenomena in the female rat. Endocrinology 27: 573-579, 1940.
 - 73 - DENAMUR, R. - The Hypothalamo-neurohypophysial system and the milk-ejection reflex - Part I e II - Dairy Sci. Abstr. 27(5): 193-224; (6) 263-280, 1965.
 - 74-- DENAMUR, R. and J. MARTINET - Sensibilité de la glande

- mammaire de la chèvre aux hormones posthypophysaires. C. R. Soc. Biol. (Paris) 47: 1217-1220, 1953.
- 75 - DENAMUR, R. and J. MARTINET - Enervation de la mamelle et lactation chez la brebis et la chèvre. C.R. Soc. Biol. (Paris) 148: 833-836, 1954.
- 76 - DENAMUR, R. and J. MARTINET - Le rôle du système nerveux de la glande mammaire dans l'entretien de la lactation. Arch. Sci. Physiol. 13: 271-352, 1959a.
- 77 - DENAMUR, R. and J. MARTINET - Les stimulus nerveux mammaires sont-ils nécessaires à l'entretien de la lactation chez la chèvre. C.R. Soc. Biol. (Paris) 248: 743-745, 1959b.
- 78 - DENAMUR, R. and J. MARTINET - Entretien de la lactation chez la chèvre après section de la moelle épinière et sympathectomie lombaire. C.R. Soc. Biol. (Paris) 248: 860-862, 1959c.
- 79 - DENAMUR, R. and J. MARTINET - Physiological mechanisms concerned in the maintenance of lactation in the goat and sheep. Nature (Lond.) 185: 252-253, 1960.
- 80 - DENAMUR, R. and J. MARTINET - Effects de l'hypophisectomie et de la section de la tige pituitaire sur la lactation de la brebis. Ann. Endocr. (Paris) 22: 760-767, 1961.
- 81 - DENAMUR, R.; M. STOLIAROFF and J. DESCLIN - Effects de la traite sur l'activité corticotrope hypophysaire des petits ruminants en lactation. C. R. Acad. Sci. (Paris) 260: 3175-3178, 1965.
- 82 - DENAVIT, M. - Zone subthalamique intervenant dans le comportement de veille et de sommeil. Etude des afférences sensorielles qui l'activent. Thèse Fac. Sci. Paris, 1968.
- 83 - DESCLIN, L. - Influence de la section de la tige hypophysaire sur la lactation chez le rat blanc. C.R. Soc. Biol. (Paris) 134: 267-269, 1940.
- 84 - DESCLIN, L. - Hypothalamus et libération d'hormone lutéotrophique. Expériences de greffe hypophysaire chez le rate

- hypophysectomisé: action luteotrophique de l'ocytocine. Ann. Endocr. (Paris) 17: 586-595, 1956.
- 85 - DICKER, S.E. and C. TYLER - Estimation of antidiuretic vasopressin and oxytocin hormones in pituitary gland of dogs and puppies. J. Physiol. (Lond.) 120: 141-145, 1953a.
- 86 - DICKER, S.E. and C. TYLER - Vasopressor and oxytocic activities of the pituitary glands of rats, guinea pigs and cats and of human fetuses. J. Physiol. (Lond.) 121: 206-214, 1953b.
- 87 - DIKSHIT, B.B. - The production of cardiac irregularities by excitation of the hypothalamic centres. J. Physiol. (Lond.) 81: 382-394, 1934.
- 88 - DIKSHIT, B.B. - Action of acetylcholine on the "sleep centre". J. Physiol. (Lond.) 83: 42P, 1935
- 89 - DONOVAN, B. T. and G.W. HARRIS - In "Marshall's physiology of reproduction". Vol. 1, Part 2. Chapter 13. External factors in sexual periodicity. Ed. by A.S. Parkes. Cambridge, 1958.
- 90 - DOUGLAS, W.W. - A possible mechanism of neurosecretion. Release of vasopressin by depolarization and its dependence on calcium. Nature (Lond.) 197: 81-82, 1963.
- 91 - DOUGLAS, W.W. and A.M. POISNER - On the mode of action of acetylcholine in evoking adrenal medullary secretion. Increased uptake of calcium during the secretory response. J. Physiol. (Lond.) 162: 385-392, 1962a.
- 92 - DOUGLAS, W.W. and A.M. POISNER - Importance of calcium for acetylcholine evoked salivary secretion. Nature (Lond.) 196: 379-380, 1962b.
- 93 - DOUGLAS, W.W. and A.M. POISNER - Release of vasopressin from the rat's neurohypophysis in vitro. J. Physiol. (Lond.) 167: 55P, 1963.
- 94 - DOUGLAS, W.W. and A.M. POISNER - Stimulus-secretion coupling in a neurosecretory organ. The role of calcium on the release vasopressin from the neurohypophysis. J. Physiol. (Lond.) 172: 1-18, 1964a.

- 95 - DOUGLAS, W.W. and A.M. POISNER - Calcium movement in the neurohypophysis of the rat and its relation to the release of vasopressin. J. Physiol. 172: 19-30, 1964b.
- 96 - DUCHEN, L.W. - The effects of ingestion of hypertonic saline on pituitary gland in the rat: morphological study of the pars intermedia and posterior lobe. J. Endocr. 25: 161-168, 1962.
- 97 - DUGGAN, A.W. and G.W. REED - Hypothalamus and oxytocin. Nature (Lond.) 181: 1278-1279, 1958.
- 98 - DUKE, H.N.; M. PICKFORD and J.A. WATT - The immediate and delayed effects of diisopropylfluorophosphate injected into the supraoptic nuclei of dogs. J. Physiol. (Lond.) 111: 81-88, 1950.
- 99 - van DYKE, H.B.; ADAMSONS and S.L. ENGEL - Aspects of the biochemistry and physiology of the neurohypophyseal hormones. Recent. Prog. Hormone Res. 11: 1-35, 1955.
- 100 - van DYKE, H.B.; K. ADAMSONS and S.L. ENGEL - In "The Neurohypophysis" p. 65. Ed. by H. Heller. London: Butterworths, 1957.
- 101 - EAYRS, J.T. and R.M. BADDELEY - Neural pathways in lactation. J. Anat. 90: 161-171, 1956.
- 102 - ECONOMO, C.J. and J.P. KARPLUS - Zur Physiologie und Anatomie des Mittelhirns. Arch. f. Psychiat. 46: 275-356; 377-429, 1909.
- 103 - EDINGER, L. - Vergleichend-entwicklungsgeschichtliche und anatomische studien im Bereiche des central-nerven systems. Anat. Anz. 4: 121-128, 1889.
- 104 - ELIASSON, R.; L. LIE and B. PERNOW - A comparative study of substance P from intestine and brain. Brit. J. Pharmacol. 11: 137-140, 1956.
- 105 - ELISEEV, A.P. and G.N. PAVLOV - Etude anatomique et histologique de l'innervation du pis chez la vache et la chèvre (En russe). Trudy Inst. Fiziol. I. P. Pavlova 4: 136-144, 1955.

- 106 - ELY, F. and W.E. PETERSEN - Factors involved in the ejection of milk. J. Dairy Sci. 24: 211-223, 1941.
- 107 - EVERETT, J.W. - Luteotrophic functions of autografts of the rat hypophysis. Endocrinology 54: 685-690, 1954.
- 108 - EVERETT, J.W. - Funcional corpora lutea maintained for months by autografts of rat hypophysis. Endocrinology 58: 786-796, 1956.
- 109 - FELDBERG, W. - The role of acetylcholine in the central nervous system. Brit. Med. Bull. 6: 312-321, 1949.
- 110 - FELDBERG, W. and M. VOGT - Acetylcholine synthesis in different region of the central nervous system. J. Physiol. (Lond.) 107: 372-381, 1948.
- 111 - FELDMAN, S. - Neurophysiological mechanisms modifying afferent hypothalamo-hippocampal conduction. Exp. Neurol. 5: 269-291, 1962.
- 112 - FERGUSON, J.K.W. - Study of motility of intact uterus at term. Surg. Gynec. Obstet. 73: 359-366, 1941.
- 113 - FERRARO, A. and S.E. BARRERA - Lamination of the medial Lemniscus in Macacus Rhesus. J. Comp. Neurol. 64: 313, 1936.
- 114 - FINDLAY, A.L.R. - The effect of teat anesthesia on the milk-ejection reflex in the rabbit. J. Endocr. 40: 127-128, 1968.
- 115 - FISHER, C.; W.R. INGRAM and S.W. RANSON - In "Diabetes Insipidus and the neuro-hormonal control of water balance" Ann. Arbor. Michigan: Edwards Bros. Inc., 1938.
- 116 - FITZPATRICK, R.J. - The estimation of small amounts of oxytocin in blood. In "Oxytocin" pp. 358-379, Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press. 1961.
- 117 - FITZPATRICK, R.J. and J.M. HUGHES - apud Fitzpatrick, R. J. In "The Neurohypophysis" Ed. by H. Heller. London. Butterworths, 1957.
- 118 - FITZPATRICK, R.J. and C.F. WALMSLEY - The concentration of

- oxytocin in bovine blood during parturition. J. Physiol. (Lond.) 163: 13P, 1962.
- 119 - FOLLET, B.K. and P.J. BENTLEY - The bioassay of oxytocin: increased sensitivity of the rat uterus in response to serial injections of stilboestrol. J. Endocr. 29: 277-282, 1964.
- 120 - FOLLEY, S.J. - The physiology of suckling and milking. In "Physiology and biochemistry of lactation". Ed. by Oliver and Boyd. Edinburg, 1956.
- 121 - FOLLEY, S.J. and G.S. KNAGGS - Oxytocin levels in the blood of ruminants with special reference to the milking stimulus. In "Advances in Oxytocin Research" p. 37-49. Ed. by J.H.M. Pinkerton. Oxford: Pergamon Press, 1965.
- 122 - FOX, C.A. - Certain basal telencephalic centers in the cat. J. Comp. Neurol. 72: 1-62, 1940.
- 123 - FOX, C.A. - The mamillary peduncle and the ventral tegmental nucleus in the cat. J. Comp. Neurol. 75: 411-425, 1941.
- 124 - FUCHS, A.R. and G. WAGNER - Quantitative aspects of release of oxytocin by suckling in unanaesthetized rabbits. Acta Endocr. 44: 581-592, 1963
- 125 - GAINES, W.L. - A contribution to the physiology of lactation. Amer. J. Physiol. 38: 285-312, 1915.
- 126 - GALE, C.C.; S. TALEISNIK; H. FRIEDMAN and S.M. McCANN - Hormonal basis for impairments in milk synthesis and milk ejection following hypothalamic lesions. J. Endocr. 23: 303-316, 1961.
- 127 - GALE, C.C. and B. LARSSON - Radiation induced hypophysectomy and hypothalamic lesions in lactating goats. Acta Physiol. Scand. 59: 299-318, 1963.
- 128 - GANSER, S. - Vergleichend-anatomische Studien uber das Gehirn des Maulwurfs. Morph. Jahrb. 7: 591-725, 1882.
- 129 - GAVIN, W. - On the effects of administration of extracts of

- pituitary body and corpus luteum to milch cows. Quart. J. Exp. Physiol. 6: 13-16, 1913.
- 130 - GERSCHENFELD, G.; J.H. TRAMEZZANI and E.D.P. de ROBERTIS - Ultrastructure and function in neurohypophysis of the toad. Endocrinology 66: 741-762, 1960.
- 131 - GERSH, I. - Structure and function of parenchymatous glandular cells in neurohypophysis of rat. Amer. J. Anat. 64: 407-443, 1939.
- 132 - GOMEZ, E.T. - The relation of the posterior hypophysis in the maintenance of lactation in hypophysectomized rats. J. Dairy Sci. 22: 488, 1939.
- 133 - GOMEZ, E.T. - The effect of post-hypophyseal extract on lactation in hypophysectomized post-gravid rats. J. Dairy Sci. 23: 537-538, 1940.
- 134 - GONZÁLEZ-PANIZZA, V.H.; Y. SICA-BLANCO and C. MÉNDEZ-BAUER - In "Oxytocin" p.347. Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford: Pergamon Press, 1961.
- 135 - GREEN, J.D. - In "Hypothalamic-hypophysial Interrelationships" p. 3. Ed. by W.S. Fields, R. Guillemin and C.A. Carton. Springfield, Ill: C.C.Thomas, 1956.
- 136 - GREEN, J.D. and D.S. MAXWELL - In "Comparative Endocrinology" p. 368. Ed. by A. Gorbman. New York: J. Willey and Sons, 1959.
- 137 - GREVING, R. - Beitrage zur Anatomie des Zwischenhirns und seiner Funktion. Zsch. f. d. ges Neurol. u. Psychiat. 99: 231-252, 1925.
- 138 - GREVING, R. - Beitrage zur Anatomie der Hypophyse und ihrer Funktion. I. Eine Faserverbindung Zwischen Hypophyse und Zwischenhirnbasis (Tr. Supraoptico-hypophysens). Dtsch. Z. Nervenheilk. 89: 179-195, 1926.
- 139 - GREVING, R. - Mollendorf's Hb. mikr. Anat. Menschen. Nerven system I. pp. 974-1060, 1928.

- 140 - GROSVENOR, C.E. - Lactation in rat mammary glands after spinal cord section. Endocrinology 74: 548-553, 1964.
- 141 - GROSVENOR, C. E. and C.W. TURNER - A method for evaluation of milk "let-down" in lactating rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 94: 816-817, 1957a.
- 142 - GROSVENOR, C.E. and C.W. TURNER - Evidence for adrenergic cholinergic components in milk let-down reflex in lactating rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 97: 719-722, 1957b.
- 143 - GUILLERY, R.W. - Degeneration in the postcommissural fornix and the mamillary peduncle of the rat. J. Anat. 90: 350-370, 1956.
- 144 - GUILLERY, R.W. - Degeneration in hypothalamic connections of the albino rat. J. Anat. 91: 91-115, 1957
- 145 - GUNTHER, M. - The posterior pituitary and labour. Brit. Med. J. 1: 567, 1948.
- 146 - GURDJIAN, E.S. - Olfactory connections in the albino rat with special reference to the stria medullaris and the anterior commissure. J. Comp. Neurol. 38: 127-163, 1925.
- 147 - GURDJIAN, E.S. - The diencephalon of the albino rat. J. Comp. Neurol. 43: 1-114, 1927.
- 148 - HALAŠZ, B. and L. PUPP - Hormone secretion of the anterior pituitary gland after physical interruption of all nervous pathways to the hypophysiotrophic area. Endocrinology 77: 553-562, 1965.
- 149 - HARRIS, G.W. - The innervation and actions of the neurohypophysis; an investigation using the method of remote control stimulation. Phil Trans. B. 232: 385-441, 1947.
- 150 - HARRIS, G.W. - The central nervous system, neurohypophysis and milk ejection. Proc. Roy Soc. B. 149: 336-353, 1958.
- 151 - HARRIS, G.W. and D. JACOBSON - Functional grafts of anterior pituitary. Proc. Roy. Soc. B. 139: 263-276, 1951.

- 152 - HARRIS, G.W. and V.R. PICKLES - Reflex stimulation of neurohypophysis (Posterior pituitary gland) and nature of posterior pituitary hormone (s). Nature (Lond.) 172: 1049, 1953.
- 153 - HARTMANN, J.F. - Electron microscope observations on the posterior lobe of the hypophysis. Verh. Anat. Ges. 58: 188-193, 1958.
- 154 - HAWKER, R.W. - Oxytocin in lactating and non lactating women. J. Clin. Endocr. 18: 54-60, 1958.
- 155 - HAWKER, R.W. and V.S. ROBERTS - Oxytocin in lactating cows and goats. Brit. Vet. J. 113: 459-464, 1957.
- 156 - HAWKER, R.W. and P.A. ROBERTSON - Oxytocin in human female blood. Endocrinology 60: 652-657, 1957.
- 157 - HAWKER, R.W.; C.F. WALMSLEY; V.S. ROBERTS and P.A. ROBERTSON - Oxytocin and oxytocic substance in blood extracts before and after hypothalamic stimulation in rats. Med. J. Aust. 2: 524-525, 1959.
- 158 - HAWKER, R.W.; J.K. BLACKSHAW; V.S. ROBERTS and B. GOODRICKE - Oxytocic activity of kitten hypothalamic extracts. Med. J. Aust. 20: 621-624, 1962.
- 159 - HAYS, R. L. and N.L. VAN DEMARK - Effect of stimulation of the reproductive organs of cow on release of oxytocin like substance. Endocrinology 52: 634-637, 1953.
- 160 - HEANEY, N.S. - A contribution to the study of pituitary. Surg. Gynec. Obstet. 17: 103-109, 1913.
- 161 - HELLER, H. - In "Recent Progress in the Endocrinology of Reproduction" p. 365. Ed. by C.W. Lloyd. New York: Academic Press, 1959.
- 162 - HELLER, H. and K. LEDERIS - Paper chromatography of small amounts of vasopressins and oxytocins. Nature (Lond.) 182: 1231-1232, 1958.
- 163 - HEROLD, L. - Einfluss der Hypophysenstieldurchtrennung auf die Laktation. Arch. Gynaek. 168: 534-538, 1939.

- 164 - HOLLAND, R.C. and B.A. CROSS - (não publicado) apud B.A. Cross. In "Oxytocin" p. 36. Ed. by R. Caldeyro-Barcia and H. Heller. Oxford. Pergamon Press, 1961.
- 165 - HOLMES, R.L. and F.G.W. KNOWLES - Synaptic vesicles in the neurohypophysis. Nature (Lond.) 185: 710-711, 1960
- 166 - HUANG, J.J. - A vagus post-pituitary reflex. Chin. J. Physiol. 13: 367-382, 1938.
- 167 - HUBER, G.C. and E.C. CROSBY - The nuclei and fiber paths of the avian diencephalon, with consideration of telencephalic and certain mesencephalic centers and connections. J. Comp. Neurol. 48: 1-225, 1929.
- 168 - HYNEK, B.; J. DILEK and M. LIS - Introduction of a permanent electrode into the pituitary gland of the cow. Influence of electrical stimulation on milk ejection. Nature (Lond.) 208: 690-691, 1965.
- 169 - INGELBRECHT, P. - Influence du système nerveux central sur la mamelle lactante chez le rat blanc. C.R. Soc. Biol. (Paris) 120: 1369-1371, 1935.
- 170 - ISHIKAWA, T.; K. KOIZUMI and C. McC. BROOKS - Electrical activity recorded from the pituitary stalk of the cat. J. Physiol. (Lond.) 210: 427-431, 1966.
- 171 - JACOBSON, D. - Effect of transection of hypophysial stalk on mammary glands of lactating rabbits. Acta Physiol. Scand. 19: 10-18, 1949.
- 172 - JONES, C.W. and B.T. PICKERING - Rapid transport of neurohypophysial hormones in the hypothalamo-neurohypophysial tract. J. Physiol. (Lond.) 208: 73-74P, 1970.
- 173 - KALLIALA, H. and M.J. KARVONEN - Antidiuresis during suckling in lactating women. Ann. Med. Exp. Fenn. 29: 233-241, 1951.
- 174 - KALLIALA, H.; M.J. KARVONEN and V. LEPPÄNEN - Release of

- antidiuretic hormone during nursing in the dog. Ann. Med. Exp. Fenn. 30: 96-107, 1952.
- 175 - KAMM, O.; T.B. ALDRICH; I.W. GROTE; L.W. ROWE and E.P. BUGBEE
The active principles of the posterior lobe of the pituitary gland. J. Amer. Chem. Soc. 50: 573-601, 1928.
- 176 - KAVESHNIKOVA, K.I. - Teziy Dokl. Nauchn. Konf. Sel'Skokhoz. Vuzov. Po. Fiziol. Zhivotn. p. 81, Leningrad, 1956.
- 177 - KIERNON, J. A. - Carboxylic esterases of the hypothalamus and neurohypophysis of the hedgehog. J. Roy. Micr. Soc. 83: 297-306, 1964.
- 178 - KIMOTO, A. and M. SAKAI - Experimental researches on the fiber connections of tegmental nuclei and ventral tegmental area of the midbrain. Acta Anat. Niigata. Sect. Anat. 49: 63-74, 1959.
- 179 - KNAGGS, G.S. - Blood oxytocin levels in the cow during milking and in the parturient goat. J. Endocr. 26: XXIV-XXV 1963.
- 180 - KOELLE, G.B. - Histochemical identification on acetylcholinesterase in cholinergic, adrenergic and sensory neurons. J. Pharmacol. 114: 167-184, 1955.
- 181 - KOELLE, G.B. and C.N. GEESEY - Localization of acetylcholinesterase in the neurohypophysis at its functional implications. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 106: 625-628, 1961.
- 182 - KOELLE, W.A. and KOELLE, G.B. - The localization of external or functional acetylcholinesterase at the synapse of autonomic ganglia. J. Pharmacol. 126: 1-8, 1959.
- 183 - KOIKEGAMI, H. - Die Kerne und Verbindungsbahnen des corpus mamillare der saugetierte. Zeitschr.f. Mikr. Anat. Forsch. 44: 131-162, 1938.
- 184 - KONIG, J.F.R. and R.A. KLIPPEL - The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Williams and Wilkins (Baltimore), 1963.

- 185 - KRIEG, W.J.S. - The hypothalamus of the albino rat. J. Comp. Neurol. 55: 19-89, 1932.
- 186 - KURITA, M.; J. CHEN and Y. MATSUMOTO - On fibers ascending from the pons to the Meynert's commissure and to the medial forebrain bundle in the rabbit. Brain and Nerve 3: 333-338, 1951.
- 187 - KUROTSU, T.; A. SAKAI; A. MEGAWA and T. BAN - The changes in blood pressure and gastric motility induced by electrical stimulation in the preoptic and septal areas. Med. J. Osaka Univ. 9: 201-226, 1958.
- 188 - KUWABARA, S. - Effects of ovariectomy and administration of gonadotropin on the serum antidiuretic activity in the female rat. Endocr. Jap. 8: 217-222, 1961.
- 189 - LANDGREBE, F.W. - In "Neurohypophysis" p. 49. Ed. by H. Heller London: Butterworths, 1957.
- 190 - LANGER, E. and S. HUHN - Der Submikroskopische Bau der Myoepithelzelle. Z. Zellforsch. Abt. Histochem. 47: 507-516, 1958.
- 191 - LAQUER, G.L. - Neurosecretory pathways between the hypothalamic paraventricular nucleus and the neurohypophysis. J. Comp. Neurol. 101: 543-561, 1954.
- 192 - LARUELLE, M.L. - Les centres végétatifs du diencephale médian. Rev. Neurol. 41: 808-848, 1934.
- 193 - LEDERIS, K. - Vasopressin and oxytocin in the mammalian hypothalamus. Gen. Comp. Endocr. 1: 80-89, 1961.
- 194 - LEDERIS, K. and A. LIVINGSTON - Acetylcholine content in the rabbit neurohypophysis. J. Physiol. (Lond.) 185: 37-38, 1966.
- 195 - LEVEQUE, T.F. and M. SMALL - The relationship of the pituicyte to the posterior lobe hormone. Endocrinology 65: 909-915, 1959.
- 196 - LEVITSKAYA, E.S. - Study of the functioning of the ejection

- mechanism in the living mammary gland of a white mouse. Tr. Inst. Fiziol. (Mosk.) 4: 58-62, 1955.
- 197 - LINZELL, J.L. - The silver staining of myoepithelial cells, particularly in the mammary gland and their relation to the ejection of milk. J. Anat. (Lond.) 86: 49-57, 1952.
- 198 - LINZELL, J.L. - The contractility of the alveoli of the mammary gland. J. Physiol. (Lond.) 123: 32P, 1954.
- 199 - LINZELL, J.L. - Some observations on the contractile tissue of the mammary glands. J. Physiol. (Lond.) 130: 257-267, 1955a.
- 200 - LINZELL, J.L. (1955b) apud R. Denamur in "The Hypothalamus neurohypophysial system and the milk-ejection reflex". Part I - p. 208 - Dairy Sci. Abstr. 27: 193-224, 1965.
- 201 - LINZELL, J.L. - Physiology of the mammary glands. Physiol. Rev. 39: 534-576, 1959.
- 202 - LINZELL, J.L. - Transplantation of mammary glands. Nature (Lond.) 182: 596-598, 1960.
- 203 - LINZELL, J.L. - Some effects of denervating and transplanting mammary glands. Quart. J. Exp. Physiol. 48: 34-60, 1963.
- 204 - LOO, Y.T. - The forebrain of the opossum, *Didelphis virginiana*. II. Histology. J. Comp. Neurol. 52: 1-148, 1931.
- 205 - MACAULAY, M.H.I. - Factors involved in the ejection of milk from the mammary gland. Coll. Int. C.N.R.S. (Strasbourg), 32: 145-155, 1950.
- 206 - MACAULAY, M.H.I. - apud S.J. Folley in "Aspects of pituitary mammary gland relationships". Recent Progr. Hormone Res. 7: 107-131, 1952.
- 207 - MACKENZIE, K. - An experimental investigation of the mechanism of milk secretion with special reference to the action of animal extracts. Quart. J. Exp. Physiol. 4: 305-330, 1911.
- 208 - MAGDA, I.I. (1950) - apud R. Denamur in "The Hypothalamo-neurohypophysial system and the milk ejection reflex". Part I - p. 208. Dairy Sci. Abstr. 27: 193-224, 1965.

- 209 - MAGOUN, H.W. and S.W. RANSON - Retrograde degeneration of the supraoptic nuclei after section of the infundibular stalk in the monkey. Anat. Rec. 75: 107-123, 1939.
- 210 - MALANDRA, B. (1956) - apud G.W. Harris in "The central nervous system, neurohypophysis and milk ejection". p.347 - Proc. Roy. Soc. B. (Lond.) 149: 336-353, 1958.
- 211 - MALLART, A. and D. PETIT - Afférences non spécifiques conduites par les collatérales spinales des voies longues des cordons postérieurs. J. Physiol. (Paris) 55: 291-292, 1963.
- 212 - MANUNTA, G. and V. ALBERGONI - Contraction in vitro of the mammary myoepithelium of the rabbit and oxytocin. Boll. Soc. Ital. Sper. 38: 1263-1265, 1962a.
- 213 - MANUNTA, G. and V. ALBERGONI - Contraction in vitro of the mammary myoepithelium of the horse, cow, donkey, goat, sheep, dog, cat, guinea pig and rat. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 38: 1266-1267, 1962b.
- 214 - MARCHI, V. - Sulle degenerazioni discendenti consecutive a lesioni della corteccia cerebrale. Riv. Sper. Frenatria, XI, 1885.
- 215 - MENA, F.; J.G. ANGUIANO and C. BEYER - Release of oxytocin by stimulation of the caudal part of the hypothalamus. Bol. Inst. Estud. Med. Biol. Univ. nac. Méx. 19: 119-124, 1961.
- 216 - MENA, F. and C. BEYER - Effect of spinal cord lesions on milk ejection in the rabbit. Endocrinology 83: 615-617, 1968.
- 217 - MÉNDEZ-BAUER, C. y M.A. CARBALLO - Método para la determinación cuantativa de la ocitocinasa. II Congr. Uruguayo de Ginecotocologia 2: 291-299, 1957.
- 218 - MÉNDEZ-BAUER, C.; H.M. CABOT and R. CALDEYRO-BARCIA - A new test for the biological assay of oxytocin. Science 132: 299-300, 1960.
- 219 - MONROE, B.G. and D.E. SCOTT - Ultrastructural changes in the neural lobe of the hypophysis of the rat during lactation

- and suckling. J. Ultrastruct. Res. 14: 497-517, 1966.
- 220 - MORIN, F. - An experimental study of the hypothalamic connections in the guinea pig. J. Comp. Neurol. 92: 193-213, 1950.
- 221 - NAUTA, W.J.H. - An experimental study of the fornix system in the rat. J. Comp. Neurol. 104: 247-272, 1956.
- 222 - NAUTA, W.J.H. - Hippocampal projections and related neural pathways to the mid-brain in the cat. Brain, 81: 319-340, 1958.
- 223 - NAUTA, W.J.H. and H.G.J.M. KUYPERS - Some ascending pathways in the brain stem reticular formation. Reticular Formation of the Brain, Henry Ford Hospital International Symposium, Little-Brown, Boston-Toronto. pp. 3-30, 1957.
- 224 - NIBBELINK, D.W. - Paraventricular nuclei, neurohypophysis and parturition. Amer. J. Physiol. 200: 1229-1232, 1961.
- 225 - NICOLESCO, I. and M. NICOLESCO - Quelques données sur les centres végétatifs de la région infundibulo-tubérienne. Rev. Neurol. 2: 289-317, 1929.
- 226 - NIGGLI-STOKAR, U. von - Analysis of fiber of the udder nerves endings formations in the mastoid skin of cattle. Acta Anat. 46: 104-126, 1961.
- 227 - ÔBA, T.; K. ÔTA and A. YOKOYAMA - Inhibition of milk-ejection reflex in lactating rats by systemic administration and intracerebral implantation of atropine. Neuroendocrinology 7: 116-126, 1971.
- 228 - O'CONNOR, W.J. and E.V. VERNEY - Effect of increased activity of sympathetic system in inhibition of water-diuresis by functional stress. Quart. J. Exp. Physiol. 33: 77-90, 1945.
- 229 - OLIVECRONA, H. - Relation of the paraventricular nucleus to the pituitary gland. Nature (Lond.) 173: 1001, 1954.
- 230 - OLIVECRONA, H. - Paraventricular nucleus and pituitary gland. Acta Physiol. Scand. 40, suppl. 136: 1-178, 1957.

- 231 - ORTMANN, R. - Über die Einformigkeit morphologischer Reaktionen der gangliazellen nach experimentellen Eingriffen. Deuts. Z. Nervenhe. 167: 431-441, 1952.
- 232 - OTT, I. and J.C. SCOTT - The action of infundibulin upon the mammary secretion. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 8: 48, 1910.
- 233 - PALAY, S.L. - In "Progress in Neurophysiology". II. Ultrastructure and cellular chemistry of neural tissue". p. 31 Ed. by S. Korey and J.T. Nurnberger. New York: Hoeber, 1957
- 234 - PALAY, S.L. and G.E. PALADE - Fine structure of neurons. J. Biophys. Biochem. Cytol. 1: 69-88, 1954.
- 235 - PASETTO, N. - Sul meccanismo colinergico delle ipotalamo postipofisarie. Arch. Fisiol. 52: 1-6, 1952.
- 236 - PAPEZ, J.W. - The mamillary peduncle, Marchi method. Anat. Rec. 25: 146, 1923.
- 237 - PAPEZ, J.W. - The nucleus of the mamillary peduncle. Anat. Rec. 52: 72-73, 1932.
- 238 - PEETERS, G.; R. COUSSENS and G. SIERENS - Physiology of the nerves in the bovine mammary gland. Arch. Int. Pharmacodyn. 79: 75-82, 1949.
- 239 - PEETERS, G.; R. COUSSENS; J.H. BOUCKAERT and W. OYAERT - L'influence de la traite sur la diurese de la vache gravide. Arch. Int. Pharmacodyn. 80: 355-358, 1949.
- 240 - PEETERS, G. and R. COUSSENS - The influence of the milking act on the diuresis of the lactating cow. Arch. Int. Pharmacodyn. 84: 209-220, 1950.
- 241 - PEETERS, G.; H. STORKMORKEN and F. VANSCHOUBROCK - The effect of different stimuli on milk ejection and diuresis in the lactating cow. J. Endocr. 20: 163-172, 1960.
- 242 - PEETERS, G. and M. DEBACKERE - Effect of atropine on the reflexes induced by vaginal distension in the goat. Arch. Int. Pharmacodyn. 140: 264-268, 1962

- 243 - PETERSEN, W.E.; J.C. SHAW and M.B. VISSCHER - Perfusion of the excised mammary gland as a method of studying milk secretion. J. Dairy Sci. 22: 439-440, 1939.
- 244 - PETERSEN, W.E.; J.C. SHAW and M.B. VISSCHER - A technique for perfusing excised bovine mammary glands. J. Dairy Sci. 24: 139-146, 1941.
- 245 - PETERSEN, W.E. and T.M. LUDWICK - The humoral nature of the factor causing the let down of milk. Fed. Proc. 1: 66-67, 1942.
- 246 - PICKFORD, M. - The inhibitory effect of acetylcholine on water diuresis in the dog and its pituitary transmission. J. Physiol. (Lond.) 95: 226-238, 1939.
- 247 - PICKFORD, M. - The action of acetylcholine on the supraoptic nucleus of the chloralosed dog. J. Physiol. (Lond.) 106: 264-270, 1947.
- 248 - PICKFORD, M. - Factors affecting milk release in the dog and the quantity of oxytocin liberated by suckling. J. Physiol. (Lond.) 152: 515-526, 1960.
- 249 - PICKFORD, M. and J.A. WATT - A comparison of the effect of intravenous and intracarotid injections of acetylcholine in the dog. J. Physiol. (Lond.) 114: 333-335, 1951.
- 250 - PINES, I.L. - Über die Innervation der Hypophysis cerebri. II - Über die Innervation des Mittel und Hinterlappens der Hypophyse. Zachr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat. 100: 123-128, 1926.
- 251 - POPOVICI, D.G. - The neurophysiology of the milk-ejection reflex. Revue Biol. (Bucarest) 8: 71-81, 1963.
- 252 - PORATH, J. and P. FLODIN - Gel filtration: a method for desalting and group separation. Nature (Lond.) 183: 1657-1659, 1959.
- 253 - PORATH, J. and A.V. SCHALLY - Gel filtration of posterior pituitary hormones. Endocrinology 70: 738-742, 1962.

- 254 - PORTER, R.W.; E.B. CAVANAUGH; B.V. CRITCHLOW and C.W. SAWYER
- Localized changes in electrical activity of hypothalamus
in estrous cats following of vaginal stimulation. Amer J.
Physiol. 189: 145-151, 1957.
- 255 - PROBST, M. - Zur Anatomie und Physiologie experimenteller
zwischenhirnverletzungen. Dtsch. Zschr. Nervenhlk. 17: 141-
168, 1900.
- 256 - PROBST, M. - Experimentelle Untersuchungen über die Anatomie
und Physiologie der Leitungsbahnen des Gehirnstammes. Arch.
f. Anat. u. Physiol. (Leipzig) 147-254, 1902.
- 257 - QUENSEL, F. - Untersuchungen über die Tektonik von Mittel
und Zwischenhirn des Kaninchens. Pflüg. Arch. f. ges. Physiol.
139: 47-92, 1911.
- 258 - RACADOT, J. - Neurosécrétion et activité thyroïdienne chez
la chatte au cours de la gestation et de l'allaitement. C.
R. Soc. Biol. (Paris) 151: 764-770, 1957.
- 259 - RENNELS, E.G. - Effects of lactation on the neurohypophysis
of the rat. Tex. Rep. Biol. Med. 16: 219-231, 1958.
- 260 - RENNELS, E.G. and G.A. DRAGER - The relationship of pituicy
tes to neurosecretion. Anat. Rec. 122: 193-203, 1955.
- 261 - RICHARD, P.H. - An electrophysiological study in the ewe of
the tracts which transmit impulses from the mammary glands
to the pituitary stalk. J. Endocr. 47: 37-44, 1970.
- 262 - RICHARD, P.H.; I. URBAN and R. DENAMUR - The role of the
dorsal tracts of the spinal cord and of the mesencephalic
and thalamic lemniscal system in the milk-ejection reflex
during milking in the ewe. J. Endocr. 47: 45-53, 1970.
- 263 - RICHARDSON, K.C. - Contractile tissues in the goat. Proc.
Roy. Soc. B. 136: 30-45, 1949.
- 264 - RINNE, U.K. - Neurosecretory material around the hypophysial
portal vessel in the median eminence of the rat. Studies on
its histological and histochemical properties and functional

- significance. Acta. Endocr. (Copenhagen) 35 (suppl. 57) 1-108, 1960.
- 265 - RIOCH, D.M. - Studies on the diencephalon of carnivora. III Certain myelinated-fiber connections of the diencephalon of the dog, cat and aevisa. J. Comp. Neurol. 53: 319-388, 1931.
- 266 - ROTHCHILD, I. - The corpus luteum-pituitary relationships: the association between the cause of luteotrophin secretion and the cause of follicular quiescence during lactation; the basis for a tentative theory of the corpus luteum-pituitary relationship in the rat. Endocrinology 67: 9-41, 1960.
- 267 - ROUSSY, G. and M. MOSINGER - Étude anatomique et physiologique de l'hypothalamus. Rev. Neurol. 41: 848-888, 1934.
- 268 - ROUSSY, G. and M. MOSINGER - L'hypothalamus chez l'homme et chez le chien. Rev. Neurol. 63: 1-35, 1935.
- 269 - RYDEN, G. and I. SJÖHOLM - Assay of oxytocin by rat mammary gland in vitro. Brit. J. Pharmacol. 19: 136-141, 1962.
- 270 - SAINT-CLAIR, L.E. (1942) - apud R. Denamur in "The Hypothalamo-neurohypophysial system and the milk ejection reflex". Part I - p. 208 - Dairy Sci. Abstr. 27: 193-224, 1965.
- 271 - SAKAI, A.; A. MEGAWA; H. SHINODA; H. TANIMURA; S. SHIMIZU and T. BAN - The autonomic reactions of the preoptic area and septal region. Nihon-Rinsho 16: 906-924, 1958.
- 272 - SAKAI, A.; T. BAN and T. KUROTSU - The limbic system and autonomic reaction. I. The changes in blood pressure and gastric motility induced by electrical stimulation in the anterior thalamic groups of nuclei and the hippocampal system. Med. J. Osaka Univ. 10: 327-349, 1960.
- 273 - SAKAI, A.; T. MOMOSE; T. BAN and T. KUROTSU - The limbic system and autonomic reaction. II - The changes in blood pressure and gastric motility induced by electrical stimulation in the epithalamus and the nucleus parataenialis. Med. J. Osaka Univ. 11: 69-84, 1960.

- 274 - SAKAI, A.; T. BAN and T. KUROTSU - Experimental studies on the autonomic reaction of the midline nuclei in the thalamus. Med. J. Osaka Univ. 11: 401-438, 1961.
- 275 - SCHAFER, E.A. - On the effect of pituitary and corpus luteum extracts on the mammary gland in the human subject. Quart. J. Exp. Physiol. 6: 17-19, 1913.
- 276 - SCHAFER, E.A. - In the paper by SIMPSON, S. and R.L. HILL - "The mode of action of pituitary extract on the mammary gland" Quart. J. Exp. Physiol. 8: 379-381, 1915.
- 277 - SCHAFER, E.A. and K. MACKENZIE - The action of animal extract on milk secretion. Proc. Roy. Soc. B. 84: 16-22, 1912.
- 278 - SCHARER, E. and B. SCHARER - Hormones produced by neurosecretory cells. Recent. Prog. Hormone Res. 10: 183-232, 1954.
- 279 - SEKINO, T. - On the fiber connections of the hypothalamus, especially with the medial forebrain bundle. Acta. Anat. Nippon 35: 723-734, 1960.
- 280 - SELYE, H. and C.E. HALL - Further studies concerning action of sodium chloride on pituitary. Anat. Rec. 86: 579-583, 1943.
- 281 - SHIMIZU, N. - The fiber connections in the autonomic centers. Brain Res. 2: 38-47, 1948.
- 282 - SHINODA, H.; T. BAN and T. KUROTSU - Respiratory reactions induced by electrical stimulation of the hypothalamus and preoptic area in rabbits. Med. J. Osaka Univ. 8: 851-921, 1958.
- 283 - SHUTE, C.C.O. and P.R. LEWIS - Cholinergic and monoaminergic pathways in the hypothalamus. Brit. Med. Bull. 22: 221-226, 1966.
- 284 - SIMPSON, S. and R.L. HILL - The mode of action of pituitary extract on the mammary gland. Quart. J. Exp. Physiol. 8: 379-381, 1915.
- 285 - SJÖHOLM, I. and G. RYDÉN - Improved method for quantitative estimation of oxytocin. Nature (Lond.) 193: 77-78, 1962.

- 286 - SMITH, M.W. - Some properties of rat mammary tissue. Nature (Lond.) 190: 541-542, 1961.
- 287 - SOKOL, H.W. - Evidence for oxytocin synthesis after electrolytic destruction of the paraventricular nucleus in rats with hereditary hypothalamic diabetes insipidus. Neuroendocrinology 6: 90-97, 1970.
- 288 - STARZL, T.E.; C.W. TAYLOR and H.W. MAGOUN - Collateral afferent excitation of reticular formation of brain stem. J. Neurophysiol. 14: 478-496, 1951.
- 289 - STUTINSKY, F. - La neurosécrétion au cours de la gestation et le post-partum chez la ratte. Ann. Endocr. (Paris) 14: 722-725, 1953.
- 290 - STUTINSKY, F. and Y. TERMINN - Effects des lésions hypothalamiques postérieures sur le réflexe d'éjection de lait chez la ratte. C.R. Soc. Biol. (Paris) 158: 833-835, 1964.
- 291 - TELLO, J.F. - Évolution, structure et connexions du corps mamillaire chez la souris blanche, avec des indications chez d'autre mammifères. Trab. Lab. Invest. Biol. Univ. (Madrid) 31: 77-142, 1936.
- 292 - THEOBALD, G.W. - The separate release of oxytocin and anti-diuretic hormone. J. Physiol. (Lond.) 149: 443-461, 1959.
- 293 - TINDAL, J.S. and A. YOKOYAMA - Assay of oxytocin by the milk-ejection response in the anaesthetized lactating guinea-pig. Endocrinology 71: 196-202, 1962.
- 294 - TINDAL, J.S.; G.S. KNAGGS and A. TURVEY - The afferent path of the milk-ejection reflex in the brain of the guinea-pig. J. Endocr. 38: 337-349, 1967.
- 295 - TINDAL, J.S.; G.S. KNAGGS and A. TURVEY - The afferent path of the milk-ejection reflex in the brain of the rabbit. J. Endocr. 43: 663-671, 1969.
- 296 - TINDAL, J.S. and G.S. KNAGGS - Determination of the detailed

- hypothalamic route of the milk-ejection reflex in the guinea-pig. J. Endocr. 50: 135-152, 1971.
- 297 - TRAMEZZANI, J.H.; NEGREIROS DE PAIVA, C.E. and A. SESSO - Oxytocin activity of the toad's brain. Acta Endocr. (Copenhagen) 23: 175-184, 1956.
- 298 - TSAI, C. - The descending tracts of the thalamus and mid-brain of the opossum, *Didelphis virginiana*. J. Comp. Neurol. 39: 217-284, 1925.
- 299 - TSAKHAEV, G.A. - Problem of reflex regulation of milk-ejection. Tr. Inst. Fiziol. (Mosk.) 4: 5-16, 1955.
- 300 - TURNER, C.W. - The mammary gland. Lucas Brothers Publ. Columbia, Missouri, 1952.
- 301 - TVERSKOI, G.B. - Secretion of milk in goats after complete severance of the spinal cord. Dokl. Akad. Nauk. SSSR 123: 1137-1139, 1958.
- 302 - TVERSKOI, G.B. - Influence of cervical sympatectomy and pituitary stalk section upon milk secretion in goats. Nature (Lond.) 186: 782-784, 1960.
- 303 - VALKENBURG, C.T. van - Caudal connections of the corpus mamilare. Koninkl. Akad. Wet. (Amsterdam) 14: 1118-1121, 1912.
- 304 - VAN DEMARK, N.L. and R.L. HAYS (1951) - apud G.W. Harris in "The central nervous system, neurohypophysis and milk-ejection". p.343. Proc. Roy. Soc. B. 149: 336-353, 1958.
- 305 - VOLOSCHIN, L.M.; S. JOSEPH and K. KNIGGE - Endocrine function in male rats following complete and partial isolations of the hypothalamus pituitary unit. Neuroendocrinology 3: 387-397, 1968.
- 306 - VOLOSCHIN, L.M. and J.H. TRAMEZZANI - Effects of deafferentation of hypothalamus and neurosecretory nuclei on the milk-ejection reflex. Proc. Int. Union Physiol. Sci. Vol. IX, Munich, 1971.

- 307 - VOLOSCHIN, L.M.; E.J. DOTTAVIANO and J.H. TRAMEZZANI - Intrahypothalamic neural paths of the milk-ejection reflex action. (não publicado), 1971.
- 308 - WALKER, J.M. - In "Hormones in blood" p. 149 Ed. by C.H. Gray and A.L. Bachrach. New York: Academic Press, 1961.
- 309 - WALLENBERG, A. - Notiz uber einen Schleifensprung des pedunculus corporis mamillaris beim kaninchen. Anat. Anz. 16: 156-158, 1899.
- 310 - WALLENBERG, A. - Das Basale Riechbündel des Kaninchens. Anat. Anz. 20: 175-187, 1901.
- 311 - WEINSTEIN, H.; R.M. BERNE and H. SACHS - Vasopressin in blood: effect of hemorrhage. Endocrinology 66: 712-718, 1960.
- 312 - WHITTLESTONE, W.G. - Nature of the milk-ejection process. Nature (Lond.) 166: 994, 1950.
- 313 - WHITTLESTONE, W.G. - Studies on milk-ejection in the dairy cow. N. Z. J. Sci. Tech. 32: 1-20, 1951.
- 314 - WHITTLESTONE, W.G.; E.G. BASSET and C.W. TURNER - Source of secretion of milk "let-down" hormone in domestic animals. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 80: 197-199, 1952.
- 315 - WOODS, J.W. and P. BARD (1960) - apud R. Denamur in " The hypothalamo-neurohypophysial system and the milk-ejection reflex". Part I- p.215 - Dairy Sci. Abstr. 27(5): 193-224, 1965.
- 316 - YAMAGATA, K. - Ueber die Verbindungsbahnen des corpus mamillare. Erste Mitteilung. Pedunculus corporis mamillaris. Okayama Igakkai - Zasshi, 448: 616-644, 1927.
- 317 - YAMASHIRO, D. - Partition chromatography of oxytocin on Sephadex. Nature (Lond.) 201: 76-77, 1964
- 318 - YAMASHITA, H.; K. KOIZUMI and C. McC. BROOKS - Electrophysiological studies of neurosecretion cells in the cat hypothalamus. Brain Res. 20: 462-466, 1960.

- 319 - YOKOYAMA, S.; T. BAN and T. KUROTSU - Urinary bladder responses to the electrical stimulation of the hypothalamus, preoptic and septal areas in rabbits. Med. J. Osaka Univ. 11: 191-232, 1960.
- 320 - YOKOYAMA, A.B. and K. ÔTA - The effect of hypothalamic lesions on litter growth in rats. Endocr. Jap. 6: 14-20, 1959.
- 321 - YOKOYAMA, A.B; B. HALÁSZ and C.H. SAWYER - Effect of hypothalamic deafferentation on lactation in rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 125: 623-626, 1967.
- 322 - YOUNG, M.W. - The nuclear pattern and fiber connections of the noncortical centres of the telencephalon of the rabbits. II - Fibers connections of the telencephalon. J. Comp. Neurol. 65: 259-401, 1936.
- 323 - ZYO, K.; T. ÔKI and T. BAN - Experimental studies on the medial forebrain bundle, medial longitudinal fasciculus and supraoptic decussations in the rabbit. Med. J. Osaka Univ. 13: 193-239, 1963.

