

# Estudo ultraestrutural de degeneração transneuronal dos elementos axonais do núcleo paratrigeminal de ratos com desnervação sino-aórtica

Ultrastructural transneuronal degeneration study of axonal elements within the paratrigeminal nucleus in sinoaortic deafferented rats

Cristofer André Caous<sup>1</sup>, Ricardo Luís Smith<sup>2</sup>, Edna Freymuller Haapalainen<sup>3</sup>, Charles Julian Lindsey<sup>2</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Estudo morfológico que buscou verificar, por meio de microscopia eletrônica, a presença de aferências de receptores sino-aórticos em núcleo localizado na região dorso-lateral bulbar.

**Métodos:** Após 5 dias de sobrevivência, 9 ratos com desnervação sino-aórtica anestesiados com equitesina foram submetidos à perfusão transcardíaca, e o encéfalo de cada um deles foi processado histologicamente. **Resultados:** A citoarquitetura neuronal do núcleo paratrigeminal compreende projeções aferentes de outros núcleos que apresentam uma característica distributiva em relação às funções viscerais e nociceptivas na integração do reflexo cardiovascular.

**Conclusão:** A porção medial do núcleo recebe projeções aferentes da região rostro-ventrolateral do troncoencefálico, confirmadas por meio de estudos com rastreadores neuronais. Os resultados indicam que a região medial do núcleo paratrigeminal contém o maior número de fibras axonais degeneradas.

**Descritores:** Degeneração neural; Núcleo espinal do trigêmeo; Barorreflexo; Desnervação; Microscopia eletrônica; Bulbo

## ABSTRACT

**Objective:** Morphological study that searched to authenticate the presence of sinoaortic baroreceptor inputs within the dorsolateral medullary nucleus under electron microscopy analysis. **Methods:** After a 5-day survival period, 9 baroreceptor-denervated rats deeply anaesthetized with equithesin were transcárdially perfused and their brains were histologically processed. **Results:** The neuronal cytoarchitecture of the paratrigeminal nucleus comprehends afferent projections from other nuclei that have a distributive character regarding visceral and nociceptive functions in the cardiovascular

reflex integration response. **Conclusion:** The medial portion of the nucleus receives afferent projections of the rostral ventrolateral medulla, as shown by retrograde neurotracing studies. The present results show that the medial extent of the paratrigeminal nucleus contains degenerated axoplasmic cellular components in sinoaortic deafferented rats. The number of degenerated axonal fibers was also larger in this area of the nucleus.

**Keywords:** Nerve degeneration; Trigeminal nucleus, spinal; Baroreflex; Denervation; Microscopy, electron; Medulla oblongata

## INTRODUÇÃO

A citoarquitetura do núcleo paratrigeminal (Pa5) caracteriza-se por uma coleção de neurônios fusiformes com distribuição característica em relação às funções viscerais e nociceptivas na integração do reflexo cardiovascular<sup>(1-3)</sup>. O Pa5, uma estrutura localizada na região dorso-lateral do bulbo que integra o complexo trigeminal espinal, foi estudado com ênfase nos aspectos morfológicos<sup>(4,5)</sup> e funcionais, sendo que esse último participa nos mecanismos reflexos cardiovasculares<sup>(6-8)</sup>, respiratórios<sup>(9,10)</sup> e termorregulatórios<sup>(11)</sup>.

O Pa5 foi fisiologicamente identificado em ratos por intermédio de microinjeções de bradicinina na região dorso-lateral do bulbo, o que aumenta significativamente a resposta da pressão arterial (PA)<sup>(12)</sup>. Os receptores B<sub>2</sub> de bradicinina foram consequentemente caracterizados e classificados por radioautografia e ex-

Estudo realizado na Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>1</sup> Instituto do Cérebro – InCe, Hospital Israelita Albert Einstein – HIAE, São Paulo (SP), Brasil; Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

<sup>3</sup> Centro de Microscopia Eletrônica, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP, São Paulo (SP), Brasil.

Correspondência: Cristofer André Caous – Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi – CEP: 05651-901 – São Paulo (SP), Brasil – Tel: (11) 2151-1366 – E-mail: cacaous@gmail.com

Data de submissão: 19/3/2012 – Data de aceite: 12/4/2012

Conflito de interesse: não há.

pressão gênica. A distribuição e a densidade foram cuidadosamente identificadas no trato trigeminal espinal, no Pa5 e no núcleo do trato solitário (NTS)<sup>(13,14)</sup>. Como se sabe, a modulação da PA é regulada fisiologicamente por *feedback* negativo no reflexo cardiovascular, por meio de barorreceptores localizados no seio carotídeo e no arco aórtico. Há mecanismos neurais subjacentes à regulação da PA pelo sistema nervoso simpático, e aqueles que se referem ao sistema nervoso periférico, incluindo os que vinculam o sistema nervoso simpático à PA<sup>(15)</sup>. Esses sensores biológicos são ativados a cada sístole cardíaca, produzindo potenciais de ação transmitidos pelo nervo vago (barorreceptores aórticos) e pelo nervo glossofaríngeo (barorreceptores carotídeos) ao NTS<sup>(16,17)</sup>. As fibras nervosas vagais e glossofaríngeas têm sinapses excitatórias no NTS, que é considerado o principal sítio bulbar ou terminal central das aferências dos barorreceptores<sup>(18-20)</sup>. As fibras excitatórias do NTS projetam-se para o núcleo caudal ventrolateral (CVL) e ativam os neurônios cardiovasculares inibitórios pré-ganglionares do núcleo reticular rostro-ventrolateral (RVL)<sup>(21)</sup>. Esse mecanismo regulatório reage à condição hipertensiva e sempre é ativado para promover a homeostase biológica, provocando uma queda da PA média<sup>(22,23)</sup>. Por outro lado, se ocorrer uma condição hipotensiva, o tônus simpático cardiovascular basal aumenta a PA, já que os barorreceptores não são ativados. Conseqüentemente, a atividade neuronal do NTS e do CVL é reduzida, e os neurônios do retículo rostro-ventrolateral atrelados ao ciclo cardíaco não são inibidos<sup>(24)</sup>, causando uma hipersensibilização (*up regulation*) do sistema fisiológico cardiovascular.

Estudos de rastreamento retrógrado do trato evidenciaram campos de projeção distintos no Pa5<sup>(2,5)</sup>. Microinjeções de microesferas de látex contendo substâncias fluorescentes revelaram conjuntos de neurônios marcados no Pa5, organizados ao longo do trato rostro-caudal. Um estudo ultraestrutural baseado na técnica de degeneração de fibras nervosas tem grande valor no rastreamento de conexões interneuronais. O objetivo do presente estudo foi verificar a existências de aferências de barorreceptores sino-aórticos no núcleo paratrigeminal de ratos deaferentados. A microscopia eletrônica foi utilizada para confirmar a identificação de terminações axônicas degeneradas, que se caracterizam por maior opacificação do axoplasma ao microscópio eletrônico. Foram analisadas a morfologia e a distribuição das sinapses degeneradas em locais distintos do núcleo alvo, embora não tenha sido realizada, neste estudo, a quantificação dos terminais visualizados nas amostras de diferentes partes do núcleo. Nossos resultados comprovaram a presença de elementos sinápticos

degenerados para descrever a distribuição das terminações no tocante ao corpo e aos dentritos proximais e distais das células-alvo.

## OBJETIVO

O objetivo deste estudo morfológico foi comprovar, por meio de microscopia eletrônica, a presença de aferências de barorreceptores sino-aórticos nesse núcleo localizado na região dorso-lateral bulbar.

## MÉTODOS

### Manejo dos animais de laboratório

O delineamento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP) e estava em conformidade com o guia de cuidados e utilização de animais de laboratório adotado e promulgado pelo *National Institutes of Health* dos Estados Unidos. Tomou-se muito cuidado para garantir que os animais não sofressem em nenhum estágio do procedimento experimental. Os animais foram alojados individualmente, com ciclo de claro-escuro de 12 horas. Disponibilizaram-se água e comida *ad libitum*.

### Desnervação dos barorreceptores sino-aórticos

Ratos machos de três meses de idade, normotensos, da linhagem Wistar EPM-1<sup>(25)</sup>, pesando de 290 a 320g, foram anestesiados com tiopental (20mg/kg) e hidrato de cloral (300mg/kg), i.p.<sup>(26)</sup>. Não foram utilizados os animais que não atingiram um nível adequado de anestesia até 10 minutos após a administração do anestésico. O nível de anestesia foi verificado por avaliação periódica do reflexo de retirada a estímulos dolorosos. A desnervação dos barorreceptores sino-aórticos<sup>(27)</sup> foi realizada em nove ratos. A região da bifurcação da carótida foi dissecada em ambos os lados da traqueia. O nervo aórtico, o nervo laríngeo superior e a cadeia cervical superior foram isolados e seccionados bilateralmente, utilizando-se um microscópio cirúrgico binocular (Carl Zeiss, Alemanha). Fez-se a excisão do tecido conjuntivo e das fibras da parede da artéria carótida, sendo-lhes aplicado algodão embebido em fenol alcoólico a 10%. A resposta barorreflexa foi testada após a desnervação sino-aórtica, injetando-se cloridrato de fenilefrina (10µg/kg, intravenoso) através de um cateter de polietileno posicionado na veia jugular externa. Esse cateter estava conectado a um transdutor de pressão (TP-1, Ampere Eletro-Eletrônica, São Paulo, SP, Brasil) e a um amplificador analógico (Axon 3080, Axon Instruments, Union City, CA, EUA) para monitoramento da PA. Uma única injeção de fenilefrina é o su-

ficiente para elevar a PA em pelo menos 28 a 32mmHg, sem ocorrência de bradicardia, nos ratos em que a desafferentação tenha sido bem-sucedida. Um antibiótico veterinário de amplo de espectro foi administrado por via intramuscular após a cirurgia.

### Procedimento histológico

No prazo de 2 a 4 dias de sobrevida, os ratos foram anestesiados com equitesina (4,5mL/kg, i.p.) e colocados em respirador para perfusão transcardíaca (pelo ápice do ventrículo esquerdo) com paraformaldeído a 2% e glutaraldeído a 2% em 0,1M de tampão de cacodilato em pH 7,35 a 7,45. A bomba de perfusão foi interrompida quando os membros superiores e inferiores ficaram rígidos. O tronco cerebral foi removido do crânio, sendo coletadas amostras das regiões caudal a rostral do Pa5, que foram secundariamente fixadas em tampão de tetróxido de ósmio a 1%, coradas com acetato de urânio, desidratadas em uma série progressiva de etanol seguida de uma transição de óxido de propileno e engastadas em uma mistura de resina Araldite®. O Pa5 foi identificado em cortes de 0,5µm corados com toluidina sob microscopia óptica. Efetuaram-se cortes ultrafinos, corados com prata, e coletaram-se amostras de diferentes campos de projeção do Pa5<sup>(2)</sup>, que foram montadas em grades de 300 quadrículas. Foram tiradas microfotografias eletrônicas de cortes transversais do Pa5, e as observações quantitativas se basearam nas contagens feitas em 20 campos de quadrículas aleatoriamente selecionadas de cada segmento de projeção. Todos os exames foram realizados em um microscópio eletrônico de transmissão 1.200 EXII Jeol (Peabody, MA).

### Padrões de degeneração

Vários padrões de degeneração, em nível de microscopia eletrônica, foram descritos nos estudos morfológicos. Diversos fatores químicos ou temporais podem interferir na análise dos elementos ultraestruturais, de modo que é muito importante descrever as principais variáveis que nela se aplicam. A degeneração axonal walleriana, também conhecida como degeneração elétron-densa, foi o modelo levado em consideração neste estudo.

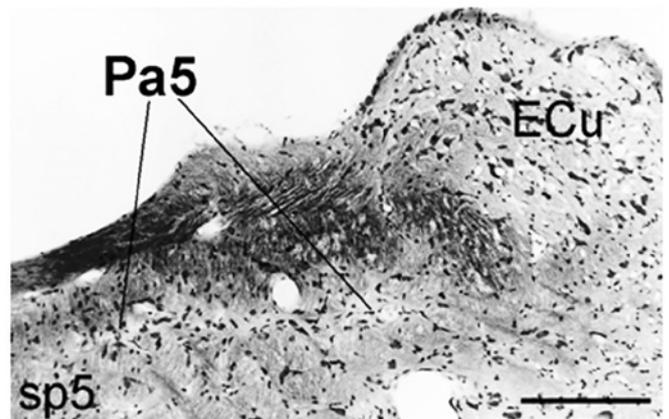
Esse tipo de degeneração caracteriza-se principalmente por maior opacidade do axoplasma na microscopia eletrônica. Vale lembrar que a opacidade depende da fixação e do manejo dos animais. Foram observados outros aspectos, tais como alterações de elementos celulares, durante a identificação da maior densidade eletrônica do axoplasma. Foram visualizadas alterações precoces principalmente em mitocôndrias, retículo en-

doplasmático e vesículas sinápticas. As mitocôndrias se tornam globoides, às vezes crenadas, com empilhamento de cristas mitocondriais. O retículo axoplasmático, com frequência, mostra-se entumescido, e as vesículas sinápticas se tornam maiores. Também se observa uma aparência flocosa do axoplasma que resulta no escurecimento perceptível em fases mais tardias. As fibras degeneradas geralmente perdem sua continuidade e seu arranjo de cadeias de fragmentos. Continua a haver botões sinápticos escuros nos elementos pós-sinápticos nos estágios iniciais da degeneração.

### RESULTADOS

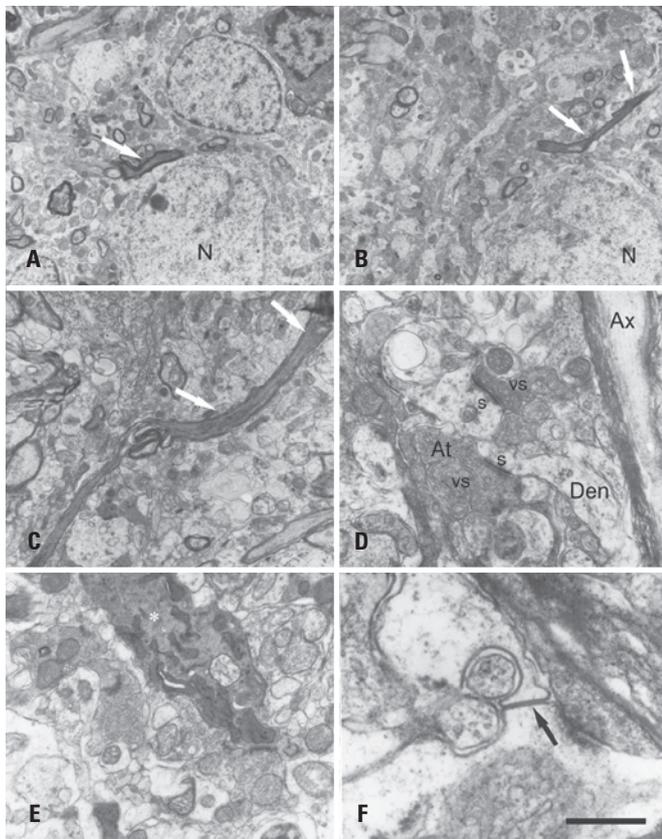
Utilizando-se um microscópio eletrônico de transmissão, examinou-se toda a ultraestrutura do Pa5, do qual foram coletados cortes ultrafinos. Dentro de um período de sobrevida de 2 a 4 dias, a microscopia eletrônica mostrou fibras com terminações axonais degeneradas e foram identificados elementos sinápticos na porção medial do núcleo paratrigeminal (Pa5, Figura 1), que se projetam para outros núcleos funcionalmente envolvidos no controle cardiovascular neuronal central. Os cortes transversais bilaterais do Pa5 revelaram que o número de fibras axonais degeneradas nas proximidades dos elementos sinápticos estava estritamente distribuído dentro das áreas que recebem fibras aferentes do NTS e o RVL, conforme descrito por Caous et al.<sup>(2)</sup>. Novamente, a região do Pa5, que é considerada a porção medial do núcleo, foi devidamente identificada de acordo com sua citoarquitetura morfológica, por microscopia óptica, em cortes de tecido corados pela técnica de Nissl, conforme estabelecido por estudos prévios.

Além dos achados principais do presente estudo – elementos axonais degenerados no sítio de inervação que recebe projeções do RVL ou do NTS – seguem-se



Pa5: núcleo paratrigeminal; ECu: cuneato externo; sp5: trato trigeminal espinal. Barra=100µm

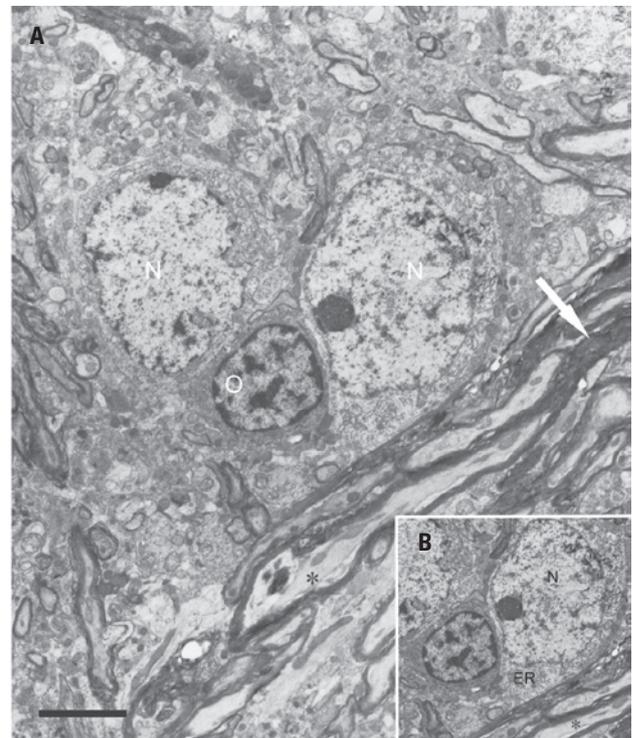
**Figura 1.** Fotomicrografia de corte transversal corado pela técnica de Nissl do núcleo paratrigeminal do trato trigeminal espinal de rato



N: núcleo; At: terminação axônica; s: sinapse; vs: vesículas sinápticas; Ax: axônio; Den: dendrito; as setas brancas mostram fibras axonais degeneradas (exceto na foto F). Barras=0,5µm

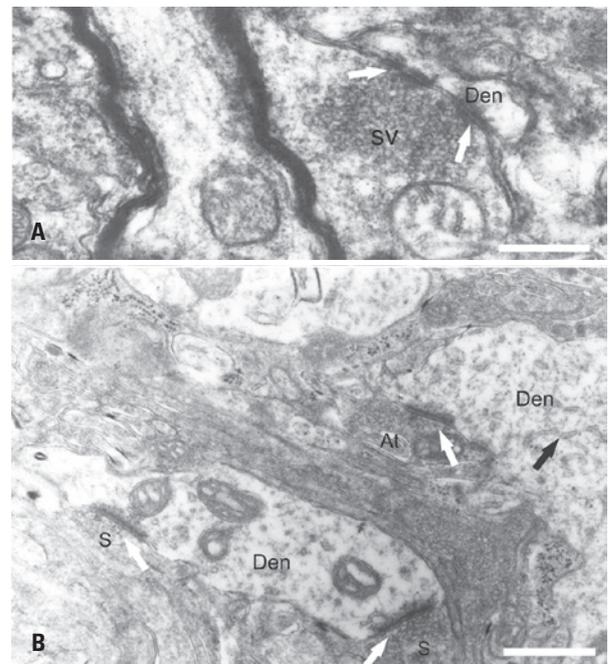
**Figura 2.** Eletromicrografias de cortes transversais do núcleo paratrigeminal (Pa5) do rato após a desnervação dos barorreceptores sino-aórticos. Em A e B, são observados axônios mielinizados degenerados no Pa5 contralateral. Em C, observa-se um axônio mielinizado degenerado no Pa5 ipsilateral. Em D e E, são mostrados o padrão de assimetria sináptica e uma terminação de axônio degenerado (\*). Em F, são mostrados elementos típicos, como junções comunicantes, no Pa5

outras observações detalhadas. Os cortes transversais do núcleo paratrigeminal (Figura 2) contêm uma região compacta do neurônio que constitui o núcleo e o citoplasma circunjacente, representado por um nucléolo bem visível e esférico, e, do alto do corpo celular, parte um grosso axônio mielinizado degenerado (A, B e C). A presença de junções comunicantes também pode ser observada entre os dendritos (F), e um oligodendrócito é mostrado entre os corpos celulares de dois neurônios proximais (pericário tipo 2) com nucléolo proeminente que aparecem envolvidos por fibras degeneradas e não degeneradas (Figura 3). Terminações axônicas (At) contendo vesículas claras pleomórficas formam sinapses assimétricas com dendritos, algumas intactas (D) e outras apresentando um escurecimento degenerativo característico (E). Os botões que contatam os dendritos maiores geralmente são de tamanho pequeno a médio, fazem contatos sinápticos do tipo assimétrico e contêm vesículas pleomórficas de tamanho médio a grande (Figura 4A).



N: núcleo; O: oligodendrócito; ER: retículo endoplasmático rugoso. Barra=4µm

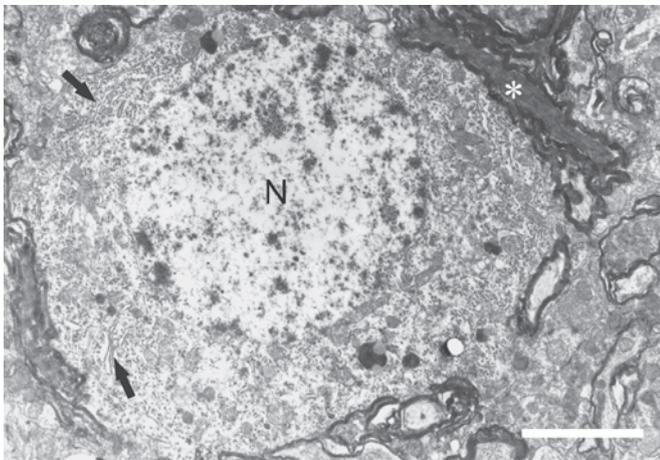
**Figura 3.** Achados típicos em eletromicrografias após desnervação dos barorreceptores sino-aórticos no núcleo paratrigeminal. A micrografia eletrônica (A) mostra um corpo celular de neurônio normal rodeado por fibras axonais mielinizadas (\*), B) e fibras degeneradas (seta branca)



sv: vesículas sinápticas; Den: dendrito; s: sinapse; At: terminação axônica. Barras=0,5µm

**Figura 4.** Eletromicrografia de botão redondo assimétrico posicionado na membrana pré-sináptica de uma sinapse dupla com perfil de dendrito pequeno (A) no núcleo paratrigeminal. Em B, zonas sinápticas ativas contendo vesículas pleomórficas agranulares (setas brancas) que fazem dois contatos sinápticos com um dendrito grande; terminação axônica contendo vesículas claras, redondas e agranulares que fazem sinapse com um dendrito e um retículo endoplasmático rugoso esparso interligado (seta preta)

Com base na polaridade sináptica, no tamanho das vesículas e na natureza dos elementos pré e pós-sinápticos, podem ser distinguidos os tipos fundamentalmente axodendríticos e axossomáticos. Foram observadas poucas ocorrências de sinapses axossomáticas, predominando as sinapses axodendríticas. Todas as sinapses com centro não elétron-denso eram redondas e assimétricas, com membrana pós-sináptica espessa. Foram identificadas mitocôndrias de vários formatos, e também um retículo endoplasmático rugoso disperso por todo o citoplasma. O contato sináptico no corpo celular dos neurônios do Pa5 era pequeno e cobria, em média, somente 4% da superfície do corpo celular. O aspecto mais marcante da estrutura sináptica do Pa5 é o de que mais de 90% das sinapses são axodendríticas (Figura 4B). Densas fibras axonais degeneradas com a mesma forma e os mesmos padrões (Figura 5) foram observadas em todo o núcleo alvo examinado. As espinhas dendríticas eram raras, e não foi identificada nenhuma sinapse entre duas estruturas contendo vesículas, tanto sinapses axo-axônicas quanto dendro-dendríticas.



N: núcleo. Barra=4µm

**Figura 5.** Eletromicrografia de um neurônio tipo-2 no núcleo paratrigeminal sem contatos sinápticos axossomáticos. Observar estrutura redonda oval, pilhas de retículo endoplasmático rugoso, aparelho de Golgi (setas pretas) e um axônio mielínico degenerado (\*)

## DISCUSSÃO

### Função cardiovascular e barorreceptora do Pa5

O Pa5 já foi confirmado como a única estrutura além do NTS no sistema nervoso central que recebe fibras aferentes primárias do nervo vago, do nervo trigêmeo e do nervo<sup>(28)</sup>. Apesar do fato de o núcleo não apresentar células interneuronais<sup>(4)</sup>, ele integra os reflexos cardiorrespiratório, termorregulatório e termosensitivo<sup>(29)</sup>, já que a lesão do Pa5 pela microinjeção de ácido ibotênico impede uma termorregulação eficiente nos

animais, em ambiente quente (observações não publicadas). O componente simpático e o componente barorreflexo cardíaco da excisão química realizada no NTS, em ratos não anestesiados, provocam uma redução inexorável da resposta da PA à indução pressórica por fenilefrina, com ou sem ablação bilateral do Pa5. Um resultado adicional mostrou que o PA5 medeia a resposta reflexa a pequenos incrementos de PA, ao passo que o NTS seria ativado por picos maiores que 40mmHg<sup>(30)</sup>.

### Inferências ultraestruturais e eletrofisiológicas

Os componentes celulares degenerados identificados neste estudo representam os neurônios barossensitivos identificados no Pa5 em estudos anteriores<sup>(9)</sup>. Essa via funcional entre o PA5 e o RVL foi evidenciada pela identificação de neurônios do RVL atrelados ao ciclo cardíaco, que respondem a microinjeções de bradicinina no Pa5<sup>(6,12)</sup>. Nossos achados levantam a hipótese de que a porção medial do Pa5, que contém componentes celulares axoplasmáticos degenerados após desnervação sino-aórtica, pode ser a mesma que recebe projeções aferentes da região rostro-ventrolateral do bulbo, como mostrado em estudos de rastreamento retrógrado, nos quais uma característica distributiva do Pa5 baseou-se na organização topográfica das conexões neuroanômicas primordialmente aferentes<sup>(2,5,31)</sup>. Contudo, essa informação relevante deve ser confirmada por rastreamento neuronal e estudos conjugados à microscopia eletrônica.

### Discussão geral

Após a desnervação do nodo sinoatrial e um exame ultraestrutural do núcleo paratrigeminal, as fibras e as terminações em degeneração descritas permitem dizer que esse núcleo tem as conexões necessárias para contribuir para os reflexos cardiovasculares. Além disso, pode-se afirmar que as terminações em questão estão confinadas a uma porção específica do núcleo paratrigeminal, que corresponde essencialmente à sua porção média. O nervo vago tem fibras sensitivas e motoras na região cervical e nos gânglios nodosos. Ambas ascendem a um nível medular através da região dorso-lateral do bulbo e das ilhas da neurópila do Pa5<sup>(32)</sup>, e os barorreceptores da aorta e da carótida foram inicialmente identificados no nervo vagal e no nervo glossofaríngeo, respectivamente<sup>(33)</sup>. Ambos os nervos têm aferências somáticas para o Pa5. As áreas de projeção aferente do NTS e do RVL inseridas na porção medial do núcleo contêm fibras axonais degeneradas elétron-densas. Este achado pode confirmar o componente barorreflexo caracterís-

tico do núcleo. Os presentes dados neuroanatômicos sugerem que o Pa5 pode ser considerado uma porta de entrada sensitiva de informações para reflexos viscerais.

## CONCLUSÃO

Essa via ou substrato neuroanatômico, que envolve elementos barorreceptores, pode estar associada à ativação simpática e seus efeitos cardiovasculares. Em conclusão, após a desnervação do nodo sinoatrial, o núcleo paratrigeminal foi investigado em nível de microscopia eletrônica, tendo sido identificadas fibras ou terminações axonais degeneradas na porção medial do núcleo. O presente resultado, além do estudo morfológico, complementa outros estudos realizados sobre o Pa5, no tocante à sua função como importante relé para informações pressóricas sensitivas para o arco reflexo cardiovascular.

## AGRADECIMENTOS

O presente estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Drs. Charles Lindsey, Ricardo Smith e Edna Freymuller receberam a “Bolsa de Produtividade em Pesquisa 1”, do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq). Dr. Cristófer Caous é neurocientista pesquisador do Hospital Israelita Albert Einstein.

## REFERÊNCIAS

- Alioto OE, Lindsey CJ, Koepf J, Caous CA. Sensory sciatic nerve afferent inputs to the dorsal lateral medulla in the rat. *Auton Neurosci*. 2008;140(1-2):80-7.
- Caous CA, de Sousa Buck H, Lindsey CJ. Neuronal connections of the paratrigeminal nucleus: a topographic analysis of neurons projecting to bulbar, pontine and thalamic nuclei related to cardiovascular, respiratory and sensory functions. *Auton Neurosci*. 2001;94(1-2):14-24.
- Caous CA, Koepf J, Couture R, Balan AC, Lindsey CJ. The role of the paratrigeminal nucleus in the pressor response to sciatic nerve stimulation in the rat. *Auton Neurosci*. 2008;140(1-2):72-9.
- Chan-Palay V. The paratrigeminal nucleus. I. Neurons and synaptic organization. *J Neurocytol*. 1978;7(4):405-18.
- Saxon DW, Hopkins DA. Efferent and collateral organization of paratrigeminal nucleus projections: an anterograde and retrograde fluorescent tracer study in the rat. *J Comp Neurol*. 1998;402(1):93-110.
- Caous CA, Balan A, Lindsey CJ. Bradykinin microinjection in the paratrigeminal nucleus triggers neuronal discharge in the rat rostroventrolateral reticular nucleus. *Can J Physiol Pharmacol*. 2004;82(7):485-92.
- Spyer KM. Neural organisation and control of the baroreceptor reflex. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 1981;88:24-124.
- Yu YG, Caous CA, Balan AC, Rae GA, Lindsey CJ. Cardiovascular responses to sciatic nerve stimulation are blocked by paratrigeminal nucleus lesion. *Auton Neurosci*. 2002;98(1-2):70-4.
- Balan Júnior A, Caous CA, Yu YG, Lindsey CJ. Barosensitive neurons in the rat tractus solitarius and paratrigeminal nucleus: a new model for medullary, cardiovascular reflex regulation. *Can J Physiol Pharmacol*. 2004;82(7):474-84.
- Dampney RA, Goodchild AK, Tan E. Identification of cardiovascular cell groups in the brain stem. *Clin Exp Hypertens A*. 1984;6(1-2):205-20.
- Amini-Sereshki L, Zarrindast MR. Brain stem tonic inhibition of thermoregulation in the rat. *Am J Physiol*. 1984;247(1Pt2):R154-9.
- Lindsey CJ, Buck HS, Fior-Chadi DR, Lapa RC. Pressor effect mediated by bradykinin in the paratrigeminal nucleus of the rat. *J Physiol*. 1997;502(Pt1):119-29.
- Campos MM, Ongali B, Thibault G, Neugebauer W, Couture R. Autoradiographic distribution and alterations of kinin B(2) receptors in the brain and spinal cord of streptozotocin-diabetic rats. *Synapse*. 2005;58(3):184-92.
- Couture R, Toma N, Barbot L. SR142801 behaves as a tachykinin NK-3 receptor agonist on a spinal nociceptive reflex in the rat. *Life Sci*. 2000;66(1):51-65.
- Guild SJ, Austin PC, Navakatikyan M, Ringwood JV, Malpas SC. Dynamic relationship between sympathetic nerve activity and renal blood flow: a frequency domain approach. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;281(1):R206-12.
- Panneton WM, Loewy AD. Projections of the carotid sinus nerve to the nucleus of the solitary tract in the cat. *Brain Res*. 1980;191(1):239-44.
- Ciriello J. Brainstem projections of aortic baroreceptor afferent fibers in the rat. *Neurosci Lett*. 1983;36(1):37-42.
- Seller H, Illert M. The localization of the first synapse in the carotid sinus baroreceptor reflex pathway and its alteration of the afferent input. *Pflugers Arch*. 1969;306(1):1-19.
- Schreihöfer AM, Guyenet PG. The baroreflex and beyond: control of sympathetic vasomotor tone by GABAergic neurons in the ventrolateral medulla. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2002;29(5-6):514-21.
- Schreihöfer AM, Sved AF. Nucleus tractus solitarius and control of blood pressure in chronic sinoaortic denervated rats. *Am J Physiol*. 1992;263(2Pt 2):R258-66.
- Granata AR, Numao Y, Kumada M, Reis DJ. A1 noradrenergic neurons tonically inhibit sympathoexcitatory neurons of C1 area in rat brainstem. *Brain Res*. 1986;377(1):127-46.
- Guertzenstein PG, Silver A. Fall in blood pressure produced from discrete regions of the ventral surface of the medulla by glycine and lesions. *J Physiol*. 1974;242(2):489-503.
- Urbanski RW, Sapru HN. Evidence for a sympathoexcitatory pathway from the nucleus tractus solitarii to the ventrolateral medullary pressor area. *J Auton Nerv Syst*. 1988;23(2):161-74.
- Yu YG, Lindsey CJ. Baroreceptor-sensitive neurons in the rat paratrigeminal nucleus. *Auton Neurosci*. 2003;105(1):25-34.
- Festing MF. The choice of animals in toxicological screening: inbred strains and the factorial design of experiment. *Acta Zool Pathol Antverp*. 1980;(75):117-31.
- Valenstein ES. A note on anaesthetizing rats and guinea pigs. *J Exp Anal Behav*. 1961;4:6.
- Krieger EM. Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res*. 1964;15:511-21.
- Ciriello J, Hryciyshyn AW, Calaresu FR. Glossopharyngeal and vagal afferent projections to the brain stem of the cat: a horseradish peroxidase study. *J Auton Nerv Syst*. 1981;4(1):63-79.
- Kilduff TS, Sharp FR, Heller HC. Progressive activation of paratrigeminal nucleus during entrance to hibernation. *Am J Physiol*. 1988;255(1Pt2):R178-81.
- Sousa LO, Lindsey CJ. Cardiovascular and baroreceptor functions of the paratrigeminal nucleus for pressor effects in non-anaesthetized rats. *Auton Neurosci*. 2009;147(1-2):27-32.
- de Sousa Buck H, Caous CA, Lindsey CJ. Projections of the paratrigeminal nucleus to the ambiguous, rostroventrolateral and lateral reticular nuclei, and the solitary tract. *Auton Neurosci*. 2001;87(2-3):187-200.
- Kalia M, Sullivan JM. Brainstem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat. *J Comp Neurol*. 1982;211(3):248-65.
- Panneton WM, Burton H. Projections from the paratrigeminal nucleus and the medullary and spinal dorsal horns to the peribrachial area in the cat. *Neuroscience*. 1985;15(3):779-97.