Débora Nunes Martins Bueno

Estudo das conexões da área incerto-hipotalâmica relacionadas ao controle neuroendócrino

Dissertação apresentada ao Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Ciências Morfofuncionais

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Valéria Sita

Versão original

São Paulo
2014

RESUMO

BUENO, D. N. M. **Estudo das conexões da área incerto-hipotalâmica relacionadas ao controle neuroendócrino**. 2014. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

A área incerto-hipotalâmica (IHy) é uma região diencefálica pouco estudada caracterizada pela presença de dois grupamentos neuroquímicos distintos, porém entremeados, sendo um deles dopaminérgico (grupamento A13) e o outro predominantemente GABAérgico colocalizado ou não com o hormônio concentrador de melanina (MCH) e/ou o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART). Os estudos funcionais sobre a IHy sugerem seu envolvimento no controle neuroendócrino de fêmeas, provavelmente atuando na regulação de funções reprodutivas em estados fisiológicos específicos mediados pelo Sistema MCH. Assim, nosso objetivo é estudar as conexões da IHy de ratos fêmeas com áreas relacionadas ao controle neuroendócrino reprodutivo de fêmeas usando traçador anterógrado Dextrana amina biotinilada (BDA) e retrógrado Flurogold (FG). Como resultado, observamos que, em fêmeas, os principais locais de projeção da IHy são a parte intermédia do núcleo septal lateral, o núcleo intersticial da estria terminal, o núcleo paraventricular do tálamo, núcleo *reuniens*, a área pré-óptica medial, o núcleo pré-óptico medial e lateral, o núcleo pré-óptico mediano, o núcleo periventricular do hipotálamo, o núcleo periventricular anteroventral, a área hipotalâmica anterior, posterior e lateral e o núcleo pré-comissural. No estudo retrógrado da IHy, observamos que os principais locais de aferência, em fêmeas, são a parte intermédia do núcleo septal lateral, o núcleo pré-optico mediano e o núcleo paraventricular do tálamo. Esses resultados sugerem um dimorfismo sexual das projeções da IHy, já que regiões neuroendócrinas são mais densamente inervadas pelas IHy em fêmeas do que em machos.

Palavras-chave: Hipotálamo. Área incerto-hipotalâmica. Hormônio Concentrador de Melanina.

ABSTRACT

BUENO, D. N. M. **Study of connections of incerto-hypothalamic área related neuroendocrine control**. 2014. 63 p. Masters thesis (Morphofunctional Science) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

The incerto-hypothalamic area (IHy) is a diencephalic region poorly studied which is characterized by two non-colocalized neurochemical groups composed by the A13 dopaminergic group intermingled with predominantly GABAergic cells co-expressing melanin-concentrating hormone (MCH) and/or cocaine and amphetamine regulated transcript (CART). Functional studies suggest that IHy is involved in the neuroendocrine control of female reproduction in specific metabolic states mediated by MCH. In this way, our aim is to study the IHy connections in female rats related to neuroendocrine control of female reproduction using neuronal anterograde Biotin Dextran Amine (BDA) and retrograde Flurogold (FG) tracers. As a result, we found that IHy projections are the lateral septal nucleus, bed nucleus of *stria terminalis*, paraventricular thalamic nucleus, *reuniens* thalamic nucleus, medial preoptic area, medial and lateral preoptic nucleus, median preoptic nucleus, periventricular hypothalamic nucleus, anteroventral periventricular nucleus, anterior, posterior and lateral hypothalamic area and precommissural nucleus. The main afferents to the IHy, in females, are the lateral septal nucleus, median preoptic nucleus and paraventricular thalamic nucleus. These results suggest sexually dimorphic projections from the IHy, since IHy more densely innervates neuroendocrine regions in female than in male rats.

Keywords: Hypothalamus. Incerto-hypothalamic area. Melanin-concentrating hormone.

hormone.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Área incerto-hipotalâmica

A área incerto-hipotalâmica (IHy) é uma região diencefálica pouco estudada localizada na junção entre o hipotálamo medial e a zona incerta (ZI). Com limites citoarquitetônicos pouco precisos e a carência de estudos hodológicos, a IHy foi até recentemente considerada uma parte da ZI, recebendo denominações diversas e atribuições funcionais confusas. Recentemente nosso grupo dedicou-se a esclarecer alguns aspectos citoarquitetônicos, neuroquímicos, hodológicos e funcionais da IHy (ELIAS et al., 2008; SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2003, 2007; SITA et al., em preparação), que serão descritos a seguir. Esses trabalhos culminaram na padronização da nomenclatura dessa região para área incerto-hipotalâmica (SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2007), denominação esta que já foi incorporada pelos pesquisadores que estudam essa região (BITTENCOURT; CELIS, 2008; ELIAS et al., 2008; LAGOS et al., 2009; NAKAMURA et al., 2009; TORTEROLO; SAMPOGNA; CHASE, 2009) e será utilizada nesse projeto.

1.2 Limites cito e quimioarquitetônicos

A delimitação da IHy faz-se principalmente por marcadores neuroquímicos. Esses marcadores determinam dois grupamentos neuroquímicos distintos. Um deles é caracterizado pela presença de dopamina, visualizada pela presença de tirosina hidroxilase (TH) e constituindo o grupamento dopaminérgico A13 (DAHLSTRÖM; FUXE, 1964; HÖKFELT et al., 1984). Entremeados ao grupamento A13, com aparente contato sináptico com células dopaminérgicas, mas sem colocalização com neurônios dopaminérgicos (OERTEL et al., 1982; SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2003), encontram-se células com maior diversidade neuroquímica, em geral GABAérgicas (OERTEL et al., 1982), mas também apresentando o hormônio concentrador de melanina (MCH) (BITTENCOURT et al., 1992; SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2003) e/ou o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART, ELIAS et al., 2001; VRANG et al., 1999).

Baseado na sobreposição parcial das células dopaminérgicas com a parte rostral da ZI, essa região foi por muito tempo considerada parte da ZI (KAWANA; WATANABE, 1981; MITROFANIS, 2005; PAXINOS; WATSON, 1998; SWANSON, 2004), inclusive por nosso grupo (BITTENCOURT; ELIAS, 1998; BITTENCOURT et al., 1992; CASATTI et al., 2002; ELIAS; BITTENCOURT, 1997; ELIAS et al., 2008; SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2003) e recebeu diversas denominações ao longo de sua história, incluindo ZI rostral (MITROFANIS, 2005), ZI medial (WAGNER et al., 1995) e ZI rostromedial (BITTENCOURT et al., 1992; SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2003). Entretanto, a IHy não pode ser definida como núcleo, já que não tem limites citoarquitetônicos nítidos (GAHR, 1997) e o uso de marcadores neuroquímicos (TH, MCH, CART) mostra que os neurônios da IHy coincidem com parte da ZI rostral e a parte mais rostral e medial da ZI dorsal, mas aproximadamente metade da área da IHy está fora dos limites citoarquitetônicos da ZI (SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2007).

Através de estudos de dupla hibridização *in situ* foi possível definir que GABA, MCH e CART estão amplamente co-expressos (ELIAS et al., 2001; ELIAS et al., 2008). O significado funcional dessa dicotomia neuroquímica não está bem definido, mas há indícios de que as células dopaminérgicas sofram uma inibição tônica GABAérgica, de modo a modular sua função na regulação da secreção hormonal (KALIA et al., 1999). Nesse sentido, o MCH pode agir como modulador da transmissão GABAérgica, já que estudos *in vitro* demonstram que o MCH promove uma redução na freqüência de correntes pós-sinápticas inibitórias em sinapses GABAérgicas (GAO; VAN DEN POL, 2001). Essa função modulatória GABAérgica poderia assumir importância nas funções neuroendócrinas do MCH, discutidas adiante.

1.3 Hodologia da IHy

Corroborando os dados citoarquitetônicos e hodológicos que distinguem a IHy da ZI, as eferências da IHy mostram que esta possui um padrão de projeções semelhante ao de núcleos do hipotálamo medial. Em machos, a IHy projeta-se principalmente para estruturas mediais do encéfalo desde os núcleos septais até a substância cinzenta da ponte, sendo suas principais projeções o núcleo septal lateral, núcleo *reuniens*, área hipotalâmica anterior, área hipotalâmica dorsal, núcleo pré-comissural, área

hipotalâmica posterior e substância cinzenta periaquedutal (SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2007). Regiões relevantes para a regulação neurendócrina como a área pré-óptica medial e o núcleo periventricular anteroventral (AVPV) recebem moderada inervação, porém a eminência mediana apresenta discreta e inconstante inervação (SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2007), mas devemos lembrar que esse estudo foi conduzido exclusivamente em ratos machos.

Ainda não foram realizados estudos com injeções de traçadores retrógrados na IHy em ratos machos ou fêmeas.

1.4 Funções da IHy

Trabalhos realizados com lesão nas décadas de 80 e 90 sugeriam que a IHy estivesse envolvida na regulação da liberação do hormônio luteinizante. Lesões eletrolíticas, com ácido ibotênico ou com 6-hidroxidopamina bilaterais da IHy abolem o pico ovulatório plasmático do hormônio luteinizante (LH) e induzem diestro (MACKENZIE et al., 1984; MACKENZIE; JAMES; WILSON, 1988; SANGHERA; ANSELMO-FRANCI; MCCANN, 1991). Essa função parece ser dependente das células dopaminérgicas do grupamento A13, já que a injeção de dopamina na IHy induz a um aumento na concentração plasmática de LH (MACKENZIE et al., 1984), porém o papel neuroendócrino das células MCH da IHy não está bem elucidado.

O MCH é um peptídeo orexígeno expresso principalmente na área hipotalâmica lateral e IHy (BITTENCOURT et al., 1992; QU et al., 1996; ROSSI et al., 1997). Entretanto, uma análise das projeções da IHy mostra que essa região não deve atuar diretamente no controle do comportamento alimentar como faz a área hipotalâmica lateral (SITA; ELIAS; BITTENCOURT, 2007). De fato, além do comportamento alimentar, o MCH está envolvido em diversas outras funções, como neuromodulador, incluindo alerta, comportamento exploratório, memória espacial, homeostase energética, regulação neuroendócrina, depressão, ansiedade e homeostase do sono (BITTENCOURT; ELIAS, 1998; BITTENCOURT et al., 1992; BOROWSKY et al., 2002; CASATTI et al., 2002; ELIAS; BITTENCOURT, 1997; ELIAS; FRIGO; BITTENCOURT, 1997; MCBRIDE et al., 1994; MONZON; DE BARIOGLIO, 1999; MONZON et al., 1999; MURRAY et al., 2000a; PEREIRA-DA-SILVA et al., 2003; TSUKAMURA et al., 2000; VERRET et al., 2003).

O MCH inerva de maneira significativa a eminência mediana (BITTENCOURT et al., 1992; KNOLLEMA et al., 1992) e injeções vasculares de traçador retrógrado resultam em neurônios retrogradamente marcados na IHy, que são imunorreativos a MCH, sugerindo projeções dos neurônios MCH da IHy para a eminência mediana (CVETKOVIC et al., 2003; KNOLLEMA et al., 1992). Além disso, células apresentando o hormônio liberador do hormônio luteinizante (hormônio liberador de gonadotrofinas, GnRH) no núcleo pré-óptico medial, núcleo periventricular anteroventral (AVPV) e órgão vascular da lâmina terminal (ATTADEMO et al., 2006; MURRAY et al., 2006; WILLIAMSON-HUGHES; GROVE; SMITH, 2005) são inervadas por fibras MCH e NEI-ir, cuja origem é desconhecida. O NEI é outro peptídeo codificado pelo mesmo precursor do MCH e coexpresso com o MCH (BITTENCOURT et al., 1992).

Essa distribuição de fibras MCH-ir na eminência mediana varia entre machos e fêmeas nos diferentes estágios do ciclo estral, sendo maior no diestro e ainda mais expressivo na fêmea lactante no final da lactação (GALLARDO; CHIOCCHIO; TRAMEZZANI, 2004; RONDINI et al., 2010). No proestro, o conteúdo do MCH na eminência mediana aumenta ao redor do meio dia (coincidindo com o aumento de GnRH na eminência mediana) e diminui à tarde precedendo a liberação de GnRH e o pico pré-ovulatório de LH no sangue (GALLARDO; CHIOCCHIO; TRAMEZZANI, 2004). O MCH também estimula a liberação do GnRH ao ser injetado, *in vitro*, na eminência mediana de ratas no proestro (CHIOCCHIO et al., 2001). Já a injeção de MCH na área pré-óptica medial ou na eminência mediana estimula a liberação de LH em ratas ovariectomizadas tratadas com estradiol, as quais apresentam diminuição dos níveis plasmáticos de LH (GONZALEZ; BAKER; WILSON, 1997; MURRAY et al., 2000a), mas não impede a liberação de LH originada pelo tratamento com benzoato de estradiol seguido de progesterona (GONZALEZ; BAKER; WILSON, 1997; MURRAY et al., 2006). Ratas ovariectomizadas sem tratamento hormonal apresentam altos níveis plasmáticos de LH devido a um aumento compensatório dos pulsos de GnRH hipotalâmicos diante da ausência de estrógeno (HAISENLEDER; DALKIN; MARSHALL, 1994) e a injeção de MCH nesses animais provoca uma diminuição dos níveis de LH (MURRAY et al., 2006). Também é interessante o fato de que a injeção de MCH na IHy de ratas ovariectomizadas tratadas com benzoato de estradiol seguido de progesterona provoca uma diminuição da liberação de LH, fato este que pode ser

explicado pela presença de autoreceptores nessa região de tal forma que o MCH exógeno inibiria a atividade do MCH endógeno (MURRAY et al., 2006), atividade esta provavelmente exercida a distância. Também foi observada uma diminuição nos níveis plasmáticos do LH após injeção de MCH no ventrículo lateral de ratas ovariectomizadas tratadas com estradiol (TSUKAMURA et al., 2000).

Algumas evidências apontam para um dimorfismo sexual das vias relacionadas ao MCH. Dessa forma, observamos células expressando MCH no núcleo laterodorsal do tegmento apenas em fêmeas, independente do ciclo estral (RONDINI et al., 2007). Além disso, células da área pré-óptica medial de fêmeas expressam MCH apenas no final do período de lactação (KNOLLEMA et al., 1992; RONDINI et al., 2010). Fêmeas ovariectomizadas com ou sem reposição de estrógeno apresentam uma diminuição no número e na intensidade do sinal de células expressando o RNAm do precursor do MCH somente na IHy, mas essa expressão ainda é maior do que a observada em machos (MURRAY et al., 2000b; ELIAS, comunicação pessoal). Por outro lado, fêmeas ovariectomizadas sem reposição de estrógeno apresentam um aumento no número de células imunorreativas ao neuropeptídeo ácido glutâmico-isoleucina (NEI) apenas na IHy (ATTADEMO et al., 2006).

Corroborando os resultados acima descritos para os estudos envolvendo o MCH, a injeção intracerebroventricular de NEI também resulta em aumento dos níveis plasmáticos de LH, tanto em machos quanto em fêmeas (ATTADEMO et al., 2004). Todos esses dados sugerem uma relação entre o sistema MCH e o LH, provavelmente dependente do estado fisiológico do animal e do seu local de ação, mas os sítios responsáveis por essa função precisam ser ainda investigados.

Contudo, todo o conhecimento sobre a regulação do LH sofreu uma revolução após a descoberta das kisspeptinas e a literatura atual tem atribuído papel preponderante a elas no controle neuroendócrino da ovulação. Kisspeptinas são uma família de peptídeos codificados pelo gene *Kiss1* (nomenclatura de acordo com GOTTSCH; CLIFTON; STEINER, 2009), com capacidade de se ligar e ativar o receptor GRP54, atualmente renomeado Kiss1r, e que desempenham um papel chave no controle neuroendócrino da ovulação (para uma revisão, veja OAKLEY; CLIFTON; STEINER, 2009; TENA-SEMPERE, 2010). Neurônios *Kiss1* estão localizados no núcleo arqueado (Arc) e AVPV. A kisspeptina produzida pelos neurônios do AVPV ativam os neurônios GnRH diretamente (DUMALSKA et al., 2008; HAN et al., 2005; PIELECKA-

FORTUNA; CHU; MOENTER, 2008), os quais amplamente expressam o receptor das kisspeptinas (Kiss1r; CLARKSON; HERBISON, 2006; IRWIG et al., 2004), aumentando a liberação de hormônios gonadotróficos pela hipófise e disparando uma cascata que é essencial para dar início à puberdade (SEMINARA et al., 2003) e manter a ovulação e fertilidade (CLARKSON et al., 2008). Além disso, as kisspeptinas também podem agir indiretamente, através de interneurônios GABAérgicos que influenciam a secreção do GnRH (PIELECKA-FORTUNA; CHU; MOENTER, 2008). *In vitro*, o MCH mostrou-se capaz de inibir diretamente neurônios GnRH septais que são seletivamente ativados pela kisspeptina, bloqueando seu efeito excitatório, o que poderia ser um provável elo entre balanço energético e reprodução (WU, 2009).

Por outro lado, dados mais recentes provenientes de estudos com modelos genéticos múltiplos sugerem que as kisspeptinas não exercem um efeito exclusivo no controle da ovulação. Camundongos transgênicos com deleção do gene para a leptina (*ob/ob*) ou seu receptor LepR (*db/db*) desenvolvem obesidade por hiperfagia e são inférteis por apresentarem baixos níveis de LH (TARTAGLIA et al., 1995; ZHANG et al., 1994), pois a leptina é um hormônio produzindo pelo tecido adiposo branco que sinaliza os estoques de energia para o eixo reprodutor. Surpreendentemente, a deleção seletiva do LepR dos neurônios *Kiss1* não afetam a fertilidade, sugerindo que a kisspeptina não está relacionada ao controle reprodutivo exercido pela leptina (DONATO et al., 2011). Além disso, esses autores mostraram que o núcleo pré-mamilar ventral (PMv) é o núcleo chave para a ação da leptina na reprodução, a qual atua de maneira dissociada no controle do metabolismo e da reprodução (DONATO et al., 2011). É interessante informar que lesões no PMv além de interromperem o ciclo estral, provocam diminuição da concentração plasmática de estrógeno e LH, além de diminuição da presença de proteína Fos (secundário ao proestro) no núcleo periventricular anteroventral (DONATO et al., 2009) e também na IHy de fêmeas (ELIAS, comunicação pessoal).

Dessa forma, ainda que as kisspeptinas exerçam papel direto na regulação da liberação do hormônio luteinizante, sistemas alternativos podem atuar em situações metabólicas específicas de maneira dependente ou independente das kisspeptinas.

7 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos com o estudo hodológico, concluímos que:

1. As principais projeções da IHy são: a parte intermédia do núcleo septal lateral, o núcleo intersticial da estria terminal, o núcleo paraventricular do tálamo, núcleo reuniens, a área pré-óptica medial, o núcleo pré-óptico medial e lateral, o núcleo pré-óptico mediano, o núcleo periventricular do hipotálamo, o núcleo periventricular anteroventral, a área hipotalâmica anterior, posterior e lateral, o núcleo ventromedial e dorsomedial e o núcleo pré-comissural.

2. As principais aferências da IHy são: a parte intermédia do núcleo septal lateral, o núcleo pré-optico mediano e o núcleo paraventricular do tálamo.

3. Várias regiões conectam-se de maneira expressiva reciprocamente com a IHy, a saber, a parte intermédia do núcleo septal lateral, o núcleo paraventricular do tálamo, o núcleo pré-optico mediano, a área e núcleo pré-óptico medial, o núcleo periventricular anteroventral, o núcleo periventricular, a área hipotalâmica anterior e posterior e o núcleo ventromedial do hipotálamo.

4. As conexões da IHy em fêmeas diferem das previamente descritas em machos, apresentando uma densidade mais evidente de conexões, em fêmeas, com áreas relacionadas com o controle neuroendócrino. Esse fato sugere que esta área esteja relacionada com o controle neuroendócrino.

REFERÊNCIAS*

ABRAHAMSON, E. E.; MOORE, R. Y. The posterior hypothalamic area: chemoarchitecture and afferent connections. **Brain Res.**, v. 889, n. 1-2, p. 1-22, 2001.

ATTADEMO, A. M.; RONDINI, T. A.; RODRIGUES, B. C.; BITTENCOURT, J. C.; CELIS, M. E.; ELIAS, C. F. Neuropeptide Glutamic Acid-Isoleucine May Induce Luteinizing Hormone Secretion via Multiple Pathways. **Neuroendocrinology**, v. 83, n. 5-6, p. 313-324, 2006.

ATTADEMO, A. M.; SANCHEZ-BORZONE, M.; LASAGA, M.; CELIS, M. E. Intracerebroventricular injection of neuropeptide EI increases serum LH in male and female rats. **Peptides**, v. 25, n. 11, p. 1995-1999, 2004.

BITTENCOURT, J.; CELIS, M. E. Anatomy, function and regulation of neuropeptide EI (NEI). **Peptides**, v. 29, n. 8, p. 1441-1450, 2008.

BITTENCOURT, J. C.; ELIAS, C. F. Melanin-concentrating hormone and neuropeptide EI projections from the lateral hypothalamic area and zona incerta to the medial septal nucleus and spinal cord: a study using multiple neuronal tracers. **Brain Res.**, v. 805, n. 1-2, p. 1-19, 1998.

BITTENCOURT, J. C.; PRESSE, F.; ARIAS, C.; PETO, C.; VAUGHAN, J.; NAHON, J. L; VALE, W.; SAWCHENKO, P. E. The melanin-concentrating hormone system of the rat brain: an immuno- and hybridization histochemical characterization. **J. Comp. Neurol.**, v. 319, n. 2, p. 218-245, 1992.

BOROWSKY, B.; DURKIN, M. M.; OGOZALEK, K.; MARZABADI, M. R.; DELEON, J.; LAGU, B.; HEURICH, R.; LICHTBLAU, H.; SHAPOSHNIK, Z,; DANIEWSKA, I.;, BLACKBURN, T. P.; BRANCHEK, T. A.; GERALD, C.; VAYSSE, P. J.; FORRAY, C. Antidepressant, anxiolytic and anorectic effects of a melanin-concentrating hormone-1 receptor antagonist. **Nat. Med.**, v. 8, n. 8, p. 825-830, 2002.

BRANDT, H. M.; APKARIAN, A. V. Biotin-dextran: a sensitive anterograde tracer for neuroanatomic studies In rat and monkey. **J. Neurosci. Methods**, v. 45, n. 1-2, p. 35-40, 1992.

CANTERAS, N. S.; GOTO, M. Connections of the precommissural nucleus. **J. Comp. Neurol.**, v. 408, n. 1, p. 23-45, 1999.

CANTERAS, N. S. The medial hypothalamic defensive system: hodological organization and functional implications. **Pharmacol. Biochem. Behav.,** v. 71, n. 3, p. 481-491, 2002.

---

*De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

CASATTI, C. A.; ELIAS, C. F.; SITA, L. V.; FRIGO, L.; FURLANI, V. C.; BAUER, J. A.; BITTENCOURT, J. C. Distribution of melanin-concentrating hormone neurons projecting to the medial mammillary nucleus. **Neuroscience**, v. 115, n. 3, p. 899-915, 2002.

CHIOCCHIO, S. R.; GALLARDO, M. G.; LOUZAN, P.; GUTNISKY, V.; TRAMEZZANI, J. H. Melanin-concentrating hormone stimulates the release of luteinizing hormone-releasing hormone and gonadotropins in the female rat acting at both median eminence and pituitary levels. **Biol. Reprod.**, v. 64, n. 5, p.1466-1472, 2001.

CLARKSON, J.; D'ANGLEMONT DE TASSIGNY, X.; MORENO, A. S.; COLLEDGE, W. H.; HERBISON, A. E. Kisspeptin-GPR54 signaling is essential for preovulatory gonadotropin-releasing hormone neuron activation and the luteinizing hormone surge. **J. Neurosci.**, v. 28, n. 35, p. 8691-8697, 2008.

CLARKSON, J.; HERBISON, A. E. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. **Endocrinology**, v. 147, n. 12, p. 5817-5825, 2006.

CVETKOVIC, V.; BRISCHOUX, F.; GRIFFOND, B.; BERNARD, G.; JACQUEMARD, C.; FELLMANN, D.; RISOLD, P. Y. Evidence of melanin-concentrating hormone-containing neurons supplying both cortical and neuroendocrine projections. **Neuroscience**, v. 116, n. 1, p. 31-35, 2003.

DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. **Acta Physiol. Scand.**, v. 62, p. 1-55, 1964. Suppl. 232.

DONATO, J. JR.; CRAVO, R. M.; FRAZAO, R.; GAUTRON, L.; SCOTT, M. M.; LACHEY, J.; CASTRO, I. A.; MARGATHO, L. O.; LEE, S.; LEE, C.; RICHARDSON, J. A.; FRIEDMAN, J.; CHUA, S. JR.; COPPARI, R.; ZIGMAN, J. M.; ELMQUIST, J. K.; ELIAS, C. F. Leptin's effect on puberty in mice is relayed by the ventral premammillary nucleus and does not require signaling in Kiss1 neurons. **J. Clin. Invest.**, v. 121, n. 1, p. 355-368, 2011.

DONATO, J. JR.; SILVA, R. J.; SITA, L. V.; LEE, S.; LEE, C.; LACCHINI, S.; BITTENCOURT, J. C.; FRANCI, C. R.; CANTERAS, N. S.; ELIAS, C. F. The ventral premammillary nucleus links fasting-induced changes in leptin levels and coordinated luteinizing hormone secretion. **J. Neurosci.**, v. 29, n. 16, p. 5240-5250, 2009.

DUMALSKA, I.; WU, M.; MOROZOVA, E.; LIU, R.; VAN DEN POL, A.; ALREJA, M. Excitatory effects of the puberty-initiating peptide kisspeptin and group I metabotropic glutamate receptor agonists differentiate two distinct subpopulations of gonadotropin-releasing hormone neurons. **J. Neurosci.**, v. 28, n. 32, p. 8003-8013, 2008.

ELIAS, C. F.; BITTENCOURT, J. C. Study of the origins of melanin-concentrating hormone and neuropeptide EI immunoreactive projections to the periaqueductal gray matter. **Brain. Res.**, v. 755, n. 2, p. 255-271, 1997.

ELIAS, C. F.; FRIGO, L.; BITTENCOURT, J. C. Origins of melanin-concentrating hormone immunoreactive projections to the motor cortex and pedunculopontine nucleus. **Soc. Neurosci. Abstr.**, v. 23, n. 2, p. 1484, 1997.

ELIAS, C. F.; BITTENCOURT, J. C. Study of the origins of melanin-concentrating hormone and neuropeptide EI immunoreactive projections to the periaqueductal gray matter. **Brain. Res.**, v. 755, n. 2, p. 255-271, 1997.

ELIAS, C. F.; LEE, C. E.; KELLY, J. F.; AHIMA, R. S.; KUHAR, M.; SAPER, C. B.; ELMQUIST, J. K. Characterization of CART neurons in the rat and human hypothalamus. **J. Comp. Neurol.**, v. 432, n. 1, p. 1-19, 2001.

ELIAS, C. F.; SITA, L. V.; ZAMBON, B. K.; OLIVEIRA, E. R.; VASCONCELOS, L. A.; BITTENCOURT, J. C. Melanin-concentrating hormone projections to areas involved in somatomotor responses. **J. Chem. Neuroanat.**, v. 35, n. 2, p. 188-201, 2008.

FORGER, N. G.; ROSEN, G. J.; WATERS, E. M.; JACOB, D.; SIMERLY, R. B.; VRIEG, G. J. Deletion of Bax eliminates sex differences in the mouse forebrain. **PNAS Neurosci.**, v. 101, n. 37, p. 13666-13671, 2004.

GAHR, M. How should brain nuclei be delineated? Consequences for developmental mechanisms and for correlations of area size, neuron numbers and functions of brain nuclei. **Trends. Neurosci.**, v. 20, n. 2, p. 58-62, 1997.

GALLARDO, M. G.; CHIOCCHIO, S. R.; TRAMEZZANI, J. H. Changes of melanin-concentrating hormone related to LHRH release in the median eminence of rats. **Brain. Res.**, v. 1030, n. 1, p. 152-158, 2004.

GAO, X. B.; VAN DEN POL, A. N. Melanin concentrating hormone depresses synaptic activity of glutamate and GABA neurons from rat lateral hypothalamus. **J. Physiol.**, v. 533, pt. 1, p. 237-252, 2001.

GONZALEZ, M. I.; BAKER, B. I.; WILSON, C. A. Stimulatory effect of melanin-concentrating hormone on luteinising hormone release. **Neuroendocrinology**, v. 66 n. 4, p. 254-262, 1997.

GORSKI, R.A. Sexual dimorphisms of the brain. **J. Anim. Sci.**, v. 61, p. 38–61, 1985. Supplement 3.

GORSKI, R. A.; HARLAN, R. E; JACOBSON, C. D.; SHRYNE, J. E.; SOUTHAM, A. M. Evidence for the existence of a sexually dimorphic nucleus in the preoptic area of the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 193, p. 529–539, 1980.

GOTO, M.; CANTERAS, N .S.; BURNS, G.; SWANSON, L. W. Projections from the subfornical region of the lateral hypothalamic area. **The Journal of Comparative Neurology,** v. 493, n. 3, p. 412-438, 2005.

GOTTSCH, M. L.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. From KISS1 to kisspeptins: An historical perspective and suggested nomenclature. **Peptides**, v. 30, n. 1, p. 4-9, 2009.

GU, G.B.; SIMERLY, R.B. Projections of the Sexually Dimorphic Anteroventral Periventricular Nucleus in the Female Rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 384, p. 142-164, 1997.

HAISENLEDER, D. J.; DALKIN, A. C.; MARSHALL, J. C. Regulation of gonadotropin gene expression. In: KNOBIL, E.; NEILL, J. D.; editors. **The Physiology of Reproduction**, New York: Raven Press; p. 1793–1813, 1994.

HAN, S. K.; GOTTSCH, M. L.; LEE, K. J.; POPA, S. M.; SMITH, J. T.; JAKAWICH, S. K.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A.; HERBISON, A. E. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. **J. Neurosci.**, v. 25, n. 49, p. 11349-11356, 2005.

HERKENHAM, M. The connections of the nucleus reuniens thalami: evidence for a direct thalamo-hippocampal pathway in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 177, n. 4, p. 589-610, 1978.

HOFFMAN, G. E.; LE, W. W.; SITA, L. V. The importance of titrating antibodies for immunocytochemical methods. **Curr. Protoc. Neurosci.**; Chapter 2: Unit 2 12, 2008.

HÖKFELT, T.; MARTENSSON, R.; BJÖRKLUND ,A.; KLEINAU, S.; GOLDSTEIN, M. Distributional maps of tyrosine-hydroxilase-immunoreactive neurons in the rat brain. In: BJÖRKLUND, A.; HÖKFELT, T.; editors. **Handbook of Chemical Neuroanatomy**, Amsterdam: Elsevier; p. 277-379, 1984.

IRWIG, M. S.; FRALEY, G. S.; SMITH, J. T.; ACOHIDO, B. V.; POPA, S. M.; CUNNINGHAM, M. J.; GOTTSCH, M. L.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. **Neuroendocrinology**, v.80, n. 4, p. 264-272, 2004.

KALIA, V.; FENSKE, C.; HOLE, D. R.; WILSON, C. A. Effect of gonadal steroids and gamma-aminobutyric acid on LH release and dopamine expression and activity in the zona incerta in rats. **J. Reprod. Fertil.**, v. 117, n. 1, p. 189-197, 1999.

KAWANA, E.; WATANABE, K. A cytoarchitectonic study of zona incerta in the rat. **J. Hirnforsch.**, v. 22, n. 5, p. 535-541, 1981.

KNOLLEMA, S.; BROWN, E. R.; VALE, W.; SAWCHENKO, P. E. Novel hypothalamic and preoptic sites of prepro-melanin-concentrating hormone messenger ribonucleic acid and peptide expression in lactating rats. **J. Neuroendocrinol.**, v. 4, n. 6, p. 709-717, 1992.

LAGOS, P.; TORTEROLO, P.; JANTOS, H.; CHASE, M. H.; MONTI, J. M. Effects on sleep of melanin-concentrating hormone (MCH) microinjections into the dorsal raphe nucleus. **Brain Res.**, v. 1265, p.103-110, 2009.

LANCIEGO, J. L.; WOUTERLOOD, F. G. A half century of experimental neuroanatomical tracing. **J. Chem. Neuroanat.**, V. 42, n. 3, p. 157-183, 2011.

LE, W. W.; BERGHORN, K. A.; RASSNICK, S.; HOFFMAN, G. E. Periventricular preopitic area neurons coactivated with luteinizing hormone (LH)-releasing hormone (LHRH) neurons at the time of the LH surge are LHRH afferents. **Endocrinology**, v. 140, p. 510-519, 1999.

MACKENZIE, F. J.; HUNTER, A. J.; DALY, C.; WILSON, C. A. Evidence that the dopaminergic incerto-hypothalamic tract has a stimulatory effect on ovulation and gonadotrophin release. **Neuroendocrinology**, v. 39, n. 4, p. 289-295, 1984.

MACKENZIE, F. J.; JAMES, M. D.; WILSON, C. A. Changes in dopamine activity in the zona incerta (ZI) over the rat oestrous cycle and the effect of lesions of the ZI on cyclicity: further evidence that the incerto-hypothalamic tract has a stimulatory role in the control of LH release. **Brain Res.**, v. 444, n. 1, p. 75-83, 1988.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz. J. Biol.**, v. 62, n. 4A, p. 609-614, 2002.

MASSON, P. Carcinoids (Argentaffin-cell tumors) and nerve hyperplasia of the appendicular mucosa. **Am .J. Pathol.**, v. 4, n. 3, p. 181-211, 1928.

MCBRIDE, R. B.; BECKWITH, B. E.; SWENSON, R. R.; SAWYER, T. K.; HADLEY, M. E.; MATSUNAGA, T. O.; HRUBY, V. J. The actions of melanin-concentrating hormone (MCH) on passive avoidance in rats: a preliminary study. **Peptides**, v. 15, n. 4,p. 757-759, 1994.

MCKENNA, J. T.; VERTES, R. P. Afferent projections to nucleus reuniens of the thalamus. **J. Comp. Neurol.**, v. 480, n. 2, p. 115-142, 2004.

MITROFANIS, J. Some certainty for the "zone of uncertainty"? Exploring the function of the zona incerta. **Neuroscience**, v. 130, n. 1, p. 1-15, 2005.

MONZON, M. E.; DE BARIOGLIO, S. R. Response to novelty after i.c.v. injection of melanin-concentrating hormone (MCH) in rats. **Physiol. Behav.**, v. 67, n. 5, p. 813-817, 1999.

MONZON, M. E.; DE SOUZA, M. M.; IZQUIERDO, L. A.; IZQUIERDO, I.; BARROS, D. M.; DE BARIOGLIO, S. R. Melanin-concentrating hormone (MCH) modifies memory retention in rats. **Peptides**, v. 20, n. 12, p. 1517-1519, 1999.

MURRAY, J. F.; ADAN, R. A.; WALKER, R.; BAKER, B. I.; THODY, A. J.; NIJENHUIS, W. A.; YUKITAKE, J.; WILSON, C. A. Melanin-concentrating hormone,

melanocortin receptors and regulation of luteinizing hormone release. **J. Neuroendocrinol.**, v. 12, n. 3, p. 217-223, 2000a.

MURRAY, J. F.; BAKER, B. I.; LEVY, A.; WILSON, C. A. The influence of gonadal steroids on pre-pro melanin-concentrating hormone mRNA in female rats. **J. Neuroendocrinol.**, v. 12, n. 1, p. 53-59, 2000b.

MURRAY, J. F.; HAHN, J. D.; KENNEDY, A. R.; SMALL, C. J.; BLOOM, S. R.; HASKELL-LUEVANO, C.; COEN, C. W.; WILSON, C. A. Evidence for a stimulatory action of melanin-concentrating hormone on luteinising hormone release involving MCH1 and melanocortin-5 receptors. **J. Neuroendocrinol.**, v. 18, n. 3, p. 157-167, 2006.

NAKAMURA, S.; TSUMORI, T.; YOKOTA, S.; OKA, T.; YASUI, Y. Amygdaloid axons innervate melanin-concentrating hormone- and orexin-containing neurons in the mouse lateral hypothalamus. **Brain Res.**, 2009.

National Research Council of the National Academy of Sciences. Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research. Washington: The National Academies Press, 2003.

OAKLEY, A. E.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. Kisspeptin signaling in the brain. **Endocr. Rev.**, v. 30, n. 6, p. 713-743, 2009.

OERTEL, W. H.; TAPPAZ, M. L.; BEROD, A.; MUGNAINI, E. Two-color immunohistochemistry for dopamine and GABA neurons in rat substantia nigra and zona incerta. **Brain Res. Bull.**, v. 9, n. 1-6, p. 463-474, 1982.

ONAT, F. Y.; AKER, R.; SEHIRLI, U.; SAN, T.; CAVDAR, S. Connections of the dorsomedial hypothalamic nucleus from the forebrain structures in the rat. **Cells Tissues Organs.,** v. 172, n. 1, p. 48-52, 2002.

PAXINOS G, WATSON C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press, 1998.

PEREIRA-DA-SILVA, M.; TORSONI, M. A.; NOURANI, H. V.; AUGUSTO, V. D.; SOUZA, C. T.; GASPARETTI, A. L.; CARVALHEIRA, J. B.; VENTRUCCI, G.; MARCONDES, M. C.; CRUZ-NETO, A. P.; SAAD, M. J.; BOSCHERO, A. C.; CARNEIRO, E. M.;VELLOSO, L. A. Hypothalamic melanin-concentrating hormone is induced by cold exposure and participates in the control of energy expenditure in rats. **Endocrinology**, v. 144, n. 11, p. 4831-4840, 2003.

PIELECKA-FORTUNA, J.; CHU, Z.; MOENTER, S. M. Kisspeptin acts directly and indirectly to increase gonadotropin-releasing hormone neuron activity and its effects are modulated by estradiol. **Endocrinology**, v. 149, n. 4, p. 1979-1986, 2008.

QU, D.; LUDWIG, D. S.; GAMMELTOFT, S.; PIPER, M.; PELLEYMOUNTER, M. A.; CULLEN, M. J.; MATHES, W. F.; PRZYPEK, R.; KANAREK, R.; MARATOS-

FLIER, E. A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behaviour. **Nature**, v. 380, n. 6571, p. 243-247, 1996.

RONDINI, T. A.; DE CRUDIS RODRIGUES, B.; DE OLIVEIRA, A. P.; BITTENCOURT, J. C.; ELIAS, C. F. Melanin-concentrating hormone is expressed in the laterodorsal tegmental nucleus only in female rats. **Brain Res. Bull.**, v. 74, n. 1-3, p. 21-28, 2007.

RONDINI, T. A.; DONATO, J. JR.; RODRIGUES, B. DE C.; BITTENCOURT, J. C.; ELIAS, C. F. Chemical identity and connections of medial preoptic area neurons expressing melanin-concentrating hormone during lactation. **J. Chem. Neuroanat.**, v. 39, n. 1, p. 51-62, 2010.

ROSSI, M.; CHOI, S. J.; O'SHEA, D.; MIYOSHI, T.; GHATEI, M. A.; BLOOM, S. R. Melanin-concentrating hormone acutely stimulates feeding, but chronic administration has no effect on body weight. **Endocrinology**, v. 138, n. 1, p. 351-355, 1997.

SANGHERA, M. K.; ANSELMO-FRANCI, J.; MCCANN, S. M. Effect of medial zona incerta lesions on the ovulatory surge of gonadotrophins and prolactin in the rat. **Neuroendocrinology**, v. 54, n. 5, p. 433-438, 1991.

SEMINARA, S. B.; MESSAGER, S.; CHATZIDAKI, E. E.; THRESHER, R. R.; ACIERNO, J. S. JR.; SHAGOURY, J. K.; BO-ABBAS, Y.; KUOHUNG, W.; SCHWINOF, K. M.; HENDRICK, A. G.; ZAHN, D.; DIXON, J.; KAISER, U. B.; SLAUGENHAUPT, S. A.; GUSELLA, J. F.; O'RAHILLY, S.; CARLTON, M. B.; CROWLEY, W. F. JR.; APARICIO, S. A.; COLLEDGE, W. H. The GPR54 gene as a regulator of puberty. **N. Engl. J. Med.**, v. 349, n. 17, p. 1614-1627, 2003.

SHUGHRUE, P. J.; LANE, M. V.; MERCHENTHALER, I. Comparative distribution of estrogen receptor-α and -β mRNA in the rat Central Nervous System. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 388, p. 507-525, 1997.

SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W.; GORSKI, R. A. Demonstration of a sexual dimorphism in the distribution of serotonin-immunoreactive fibers in the medial preoptic nucleus of the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 225, p. 151–166, 1984.

SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W.; GORSKI, R. A. The distribution of monoaminergic cells and fibers in a periventricular preoptic nucleus involved in the control of gonadotropin release: immunohistochemical evidence for a dopaminergic sexual dimorphism. **Brain Res.**, v. 330, p. 55–64, 1985a.

SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W.; HANDA, R. J.; GORSKI, R. A. Influence of perinatal androgen on the sexually dimorphic distribution of tyrosine hydroxylase immunoreactivecells and fibers in the anteroventral periventricular nucleus of the rat. **Neuroendocrinology**, v. 40, p. 501–510, 1985b.

SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W. The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 246, p. 312–342, 1986.

SIMERLY, R. B.; SWANSON, L. W. Projections of the medial preoptic nucleus: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 270, p. 209–242, 1988.

SIMERLY, R.B. Organization and regulation of sexually dimorphic neuroendocrine pathways. **Behav. Brain Res.**, v. 92, n. 2, p. 195-203, 1998.

SITA, L. V.; BITTENCOURT, J. C. Imunoistoquímica. In: BITTENCOURT, J. C.; ELIAS, C. F.; editors. **Métodos em Neurociência**, São Paulo: Roca, p. 57-79, 2007.

SITA, L. V.; ELIAS, C. F.; BITTENCOURT, J. C. Dopamine and melanin-concentrating hormone neurons are distinct populations in the rat rostromedial zona incerta. **Brain Res.**, v. 970, n. 1-2, p. 232-237, 2003.

SITA, L. V.; ELIAS, C. F.; BITTENCOURT, J. C. Connectivity pattern suggests that incerto-hypothalamic area belongs to the medial hypothalamic system. **Neuroscience**, v. 148, n. 4, p. 949-969, 2007.

SITA, L. V.; GONÇALVES, L. F. Z.; MARTINEZ, R. C. R.; CARVALHO-NETTO, E. F.; BITTENCOURT, J. C.; CANTERAS, N. S. Does the incerto-hypothalamic area have a role in unconditioned defensive behavior? em preparação.

SMITH, J. T.; POPA, S. M.; CLIFTON, D. K.; HOFFMAN, G. E.; STEINER, R. A. Kiss1 neurons in the forebrain as central processors for generating the preovulatory luteinizing hormone surge. **J. Neurosci.**, v.26, p.6687-6694, 2006.

SWANSON, L.W. Brain maps: structure of the rat brain. Amsterdam: **Elsevier**, 2004.

TARTAGLIA, L. A.; DEMBSKI, M.; WENG, X.; DENG, N.; CULPEPPER, J.; DEVOS, R.; RICHARDS, G. J.; CAMPFIELD, L. A.; CLARK, F. T.; DEEDS, J.; MUIR, C.; SANKER, S.; MORIARTY, A.; MOORE, K. J.; SMUTKO, J. S.; MAYS, G. G.; WOOL, E. A.; MONROE, C. A.; TEPPER, R. I. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. **Cell**, v. 83, n. 7. p. 1263-1271, 1995.

TENA-SEMPERE, M. Kisspeptin signaling in the brain: recent developments and future challenges. **Mol. Cell Endocrinol.**, v. 314, n. 2, p. 164-169, 2010.

TORTEROLO, P.; SAMPOGNA, S.; CHASE, M. H. MCHergic projections to the nucleus pontis oralis participate in the control of active (REM) sleep. **Brain Res.**, v. 1268, p. 76-87. 2009.

TSUKAMURA, H.; THOMPSON, R. C.; TSUKAHARA, S.; OHKURA, S.; MAEKAWA, F.; MORIYAMA, R.; NIWA, Y.; FOSTER, D. L.; MAEDA, K. Intracerebroventricular administration of melanin-concentrating hormone suppresses pulsatile luteinizing hormone release in the female rat. **J. Neuroendocrinol.**, v. 12, n. 6, p. 529-534, 2000.

VEENMAN, C. L.; REINER, A.; HONIG, M. G. Biotinylated dextran amine as an anterograde tracer for single- and double-labeling studies. **J. Neurosci. Methods**, v. 41, n. 3, p. 239-254, 1992.

VERRET, L.; GOUTAGNY, R.; FORT, P.; CAGNON, L.; SALVERT, D.; LEGER, L.; BOISSARD, R.; SALIN, P.; PEYRON, C.; LUPPI, P. H. A role of melanin-concentrating hormone producing neurons in the central regulation of paradoxical sleep. **BMC Neurosci.**, v. 4, n. 1, p. 19, 2003.

VERTES, R. P.; CRANE, A. M.; COLOM, L. V.; BLAND, B. H. Ascending projections of the posterior nucleus of the hypothalamus: PHA- L analysis in the rat. **J. Comp. Neurol.**, v. 359, n. 1, p. 90-116, 1995.

VRANG, N.; LARSEN, P. J.; CLAUSEN, J. T.; KRISTENSEN, P. Neurochemical characterization of hypothalamic cocaine- amphetamine-regulated transcript neurons. **J. Neurosci.**, v. 19, n. 10, p. RC5, 1999.

WAGNER, C. K.; EATON, M. J.; MOORE, K. E.; LOOKINGLAND, K. J. Efferent projections from the region of the medial zona incerta containing A13 dopaminergic neurons: a PHA-L anterograde tract-tracing study in the rat. **Brain Res.**, v. 677. n. 2, p. 229-237, 1995.

WALKER, L. C.; KITT, C. A.; CORK, L. C.; STRUBLE, R. G.; DELLOVADE, T. L.; PRICE, D. L. Multiple transmitter systems contribute neurites to individual senile plaques. **J. Neuropathol. Exp. Neurol.**, v. 47, n. 2, p. 138-144, 1988.

WIEGAND, S. J.; TERASAWA, E. Discrete lesions reveal functional heterogeneity of suprachiasmatic structures in regulation of gonadotropin secretion in the female rat. **Neuroendocrinology**, v. 34, p. 395-404, 1982.

WILLIAMSON-HUGHES, P. S.; GROVE, K. L.; SMITH, M. S. Melanin concentrating hormone (MCH): a novel neural pathway for regulation of GnRH neurons. **Brain Res.**, v. 1041. n. 2, p. 117-124, 2005.

ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v. 372, n. 6505, p. 425-432, 1994.