RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 29/08/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS CAMPUS JABOTICABAL

DIFERENÇAS SEXUAIS REFERENTES À PARTICIPAÇÃO DO CANAL CATIÔNICO ASIC1a NO *LOCUS COERULEUS* NA RESPOSTA COMPORTAMENTAL INDUZIDA POR CO_2

Letícia Rodrigues Pinheiro

Bióloga

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP CÂMPUS DE JABOTICABAL

DIFERENÇAS SEXUAIS REFERENTES À PARTICIPAÇÃO DO CANAL CATIÔNICO ASIC1a NO *LOCUS COERULEUS* NA RESPOSTA COMPORTAMENTAL INDUZIDA POR CO_2

Letícia Rodrigues Pinheiro

Orientadora: Profa. Dra. Luciane Helena Gargaglioni Batalhão

Coorientadora: Dra. Alana Tercino Frias

Dissertação apresentada ao Programa Institucional de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

2024

P654d

Pinheiro, Letícia Rodrigues

Diferenças sexuais referentes à participação do canal catiônico ASIC1a no Locus coeruleus na resposta comportamental induzida por CO2 / Letícia Rodrigues Pinheiro. -- Jaboticabal, 2024

47 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Luciane Helena Gargaglioni Batalhão

Coorientadora: Alana Tercino Frias

1. Fisiologia. 2. Ventilação. 3. Comportamento. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: DIFERENÇAS SEXUAIS REFERENTES À PARTICIPAÇÃO DO CANAL CATIÔNICO ASIC1a NO *LOCUS COERULEUS* NA RESPOSTA COMPORTAMENTAL INDUZIDA POR CO_2

AUTORA: LETÍCIA RODRIGUES PINHEIRO
ORIENTADORA: LUCIANE HELENA GARGAGLIONI BATALHÃO
COORIENTADORA: ALANA TERCINO FRIAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Fisiologia e Bem Estar Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. LUCIANE HELENA GARGAGLIONI BATALHÃO (Participaçao Presencial)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. HÉLIO ZANGROSSI JUNIOR (Participaçao Virtual)
Departamento de Farmacologia / FMRP USP Ribeirão Preto

Prof. Dr. LUIZ GUILHERME DE SIQUEIRA BRANCO (Participaçao Virtual)
Departamento de Morfologia, Fisiologia e Patologia Básica / FORP USP Ribeirão Preto/SP

Jaboticabal, 29 de fevereiro de 2024

gov.br Documento assinado digitalmente
LUCIANE HELENA GARGAGLIONI
Data: 13/03/2024 09:57:42-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Letícia Rodrigues Pinheiro, nascida em 12 de novembro de 1996 na cidade de Tangará da Serra - MT, filha de Lídia Bezerra Rodrigues Pinheiro e Paulo César, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Pontal em março de 2017. Durante o período de graduação, a aluna realizou uma iniciação científica sendo bolsista do Programa de Educação Tutorial-PET BIO. O estágio curricular foi realizado no Laboratório de Fisiologia da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus Jaboticabal. Colou grau em outubro de 2021 e recebeu o título de Bacharel em Ciências Biológicas. Em janeiro de 2022 iniciou o curso de Mestrado pelo programa de Pós-graduação em Ciência Animal no Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal na Universidade Estadual Paulista- UNESP Campus Jaboticabal, onde foi bolsista CAPES.

“Quem quer algo de grande, como diz Goethe, deve saber limitar-se. Quem, pelo contrário, tudo quer, nada, em verdade, quer e nada consegue.” Georg Wilhelm Friedrich Hegel.

Dedico à minha mãe Lídia, meu pai Paulo César (*in memorian*) e aos meus tios, a quem amo profundamente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente à força que tem me guiado na forma de fé e esperança ao início de cada dia. Agradeço a mim, por todas as vezes que desistir não foi uma opção, apesar de todas as dificuldades encontradas nestes dois últimos anos.

À minha família, que sempre me apoiou e incentivou a minha trajetória acadêmica, em especial minha mãe Lídia e meus tios Daniel, Gerusa e Miriam. Vocês foram e são minha base e referencial de bondade, de força e de transformação.

Agradeço à minha orientadora Profa. Dra. Luciane Gargaglioni, a qual nutro imensa e profunda admiração, tanto no quesito profissional quanto pessoal, pela capacidade de nos inspirar e saber demandar nosso melhor. Obrigada por confiar em mim este trabalho e por ter me recebido de braços abertos no laboratório, sempre serei grata.

Agradeço à minha coorientadora e amiga Alana, por toda a paciência e disponibilidade em ensinar e sanar as dúvidas, e principalmente por me acalmar quando tudo parecia desmoronar, você foi e é imprescindível para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos, que me acompanharam e me auxiliaram em todos os momentos, independente da distância ou da dificuldade, em especial minhas queridas amigas Amanda e Maria Emanuelle. Agradeço aos amigos que Jaboticabal me presenteou, a Paloma e Felipe, sem vocês a vida não teria o mesmo brilho. Aos meus amigos e colegas de laboratório, Ane, Ângela, Beatriz, Bianca, Camila, Geni, Gleyce, Isa, João, Lívia, Luana, Mariana, Sofia e Thaís, por todos os momentos que compartilhamos.

Agradeço ao auxílio do Dr. Luís Gustavo em diversas etapas deste estudo.

À Profa. Kênia por toda a contribuição no decorrer desse trabalho e em meu amadurecimento profissional.

Ao técnico Euclides pelo cuidado com os animais e a Ângela por todo apoio e carinho presente no cotidiano do laboratório, possibilitando que pudéssemos realizar as atividades da melhor forma.

Aos animais que cederam a vida para a realização deste estudo, ofereço todo o respeito e gratidão.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

Página

Resumo 01
Abstract 02
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS 03
Introdução 03
Objetivos 05
Revisão da Literatura 05
CAPÍTULO 2- Sexual differences regarding the participation of cationic channel ASIC1a within the *Locus coeruleus* in behavioral responses induced by CO_2 25
Introduction 26
Methods 27
Results 31
Discussion 33
References. 36
Figure Legends… 41
Figures. 42

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Participação do canal catiônico ASIC1a nas alterações cardiorrespiratórias e comportamentais induzidas por CO_2"**, protocolo nº 3451/22, sob a responsabilidade da Profª Drª Luciane Helena Gargaglioni Batalhão, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 15 de junho de 2022.

Vigência do Projeto	01/07/2022 a 03/02/2024
Espécie / Linhagem	C57BL/6
Nº de animais	64
Peso / Idade	25-30g/9 semanas
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério de Roedores do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal – FCAV/UNESP

Jaboticabal, 15 de junho de 2022.

Fabiana Pilarski

Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209 7100 - www.fcav.unesp.br

DIFERENÇAS SEXUAIS REFERENTES À PARTICIPAÇÃO DO CANAL CATIÔNICO ASIC1a NO *LOCUS COERULEUS* NA RESPOSTA COMPORTAMENTAL INDUZIDA POR CO_2

Resumo: O transtorno de pânico (TP) é uma condição marcada por intensa angústia e ansiedade, na qual o paciente desenvolve rapidamente sintomas respiratórios comofalta de ar, hiperventilação e sensação de sufocamento. Apesar dos mecanismos dessa desordem permanecerem desconhecidos, estudos recentes sugerem provávelconexão entre os desafios respiratórios e o TP, uma vez que episódios de hipóxia ou hipercapnia podem desencadear transtornos relacionados à ansiedade. O locus coeruleus (LC) é uma região quimiossensível capaz de gerar respostas emocionais efísicas durante episódios de estresse. Além disso, o LC possui neurônios noradrenérgicos que participam na resposta ventilatória ao CO_2, e a inalação de ar enriquecido com CO_2 pode desencadear ataques de pânico. Estudos recentes também sugerem a participação do canal iônico sensível a ácido do tipo 1a (ASIC1a)localizados na amígdala na resposta panicogênica induzidas por CO_2. Apesar disso, ainda não se conhece totalmente o envolvimento desse canal no LC na resposta ventilatória e às alterações comportamentais induzidas por concentrações elevadas de CO_2, que é um modelo utilizado para indução de ataques de pânico. O presente estudo teve como objetivo avaliar a participação dos canais ASIC1a do LC nas respostas respiratórias, metabólicas e comportamentais à exposição a 20% de CO_2 em camundongos machos e fêmeas após injeção intra-LC de Psalmotoxina-1 (Pstx- 1, antagonista seletivo de canais ASIC1a). Os experimentos foram realizados em camundongos C57BL/6 machos e fêmeas, que foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implante de cân ulas-guia direcionadas ao LC e sensor de temperatura na cavidade abdominal. Sete dias depois, a dose de 50ng/0,1uL de Pstx1 ou salina foi administrada intra-LC e os animais foram expostos ao desafio respiratório. Parâmetros ventilatórios e metabólicos foram medidos por pletismografiade corpo inteiro em sistema fechado. A análise comportamental foi gravada por uma câmera e as respostas de fuga foram analisadas seguindo os parâmetros: número desaltos, *freezing*, corrida e levantamento de patas. Os resultados encontrados em camundongos machos e fêmeas indicam que os canais ASIC1a não parecem estar envolvidos no controle da respiração, mas participam das respostas comportamentais. Em machos, o antagonista promoveu uma diminuição no número de saltos (Salina: 9,33 ± 5,85 vs Pstx-1: 3,40 ± 3,85), já em fêmeas, não foi observado resultado significativo referente ao número de saltos nos animais que receberam Pstx-1 intra-LC (Salina: 1 ± 1 vs Pstx-1: 9 ± 4,51). Nossos dados sugerem que os canais ASIC1a no LC não participam do controle respiratório sob desafio de CO_2, mas estão envolvidos no comportamento de pânico induzido por CO_2, demonstrando uma resposta sexo específica.

Palavras-chave: Locus coeruleus, diferenças sexuais, ventilação, comportamento, ASIC1a

SEXUAL DIFFERENCES REGARDING THE PARTICIPATION OFCATIONIC CHANNEL ASIC1a WITHIN THE *LOCUS COERULEUS* IN BEHAVIORAL RESPONSES INDUCED BY CO_2

ABSTRACT: Panic disorder (PD) is a condition marked by intense anxiety, in which the patient quickly develops respiratory symptoms such as dispnea, hyperventilation and a feeling of suffocation. Although the mechanisms of this disorder remain unknown, recent studies suggest a possible connection between respiratory challenges and PD,since episodes of hypoxia or hypercapnia can trigger anxiety-related disorders. The locus coeruleus (LC) is a chemosensitive region capable of generating emotional andphysical responses during stress episodes. This region has noradrenergic neurons that participate in the ventilatory response to CO_2. The acid-sensitive ion channel type1a (ASIC1a) has been suggested to participate in the panicogenic response induced by CO_2. Despite this, it is not yet fully known the involvement of this channel in the LCin the ventilatory response and behavioral changes induced by hypercapnia. We studied the effects of injection of a ASIC1a antagonist [Psalmotoxin -1 (Pstx-1- 50ng/0.1uL)] into the LC of C57BL/6 male and female mice on respiratory, metabolic and behavioral responses to exposure to 20% CO_2. We observed that Pstx-1 did not change ventilation and metabolism under normocapnic and hypercapnic conditions inboth male and female mice. As to CO_2-behavioral responses, intra-LC Pstx-1 injectiondecreased the number of jumps in males. Therefore, our data suggest that ASIC1a channels in LC do not participate in respiratory control under CO_2 challenge, but are involved in CO_2-induced panic behavior, demonstrating a specific sex-dependent response.

Keywords: Locus coeruleus, sexual differences, ventilation, behavior, ASIC1a

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

O Transtorno do Pânico (TP) caracteriza-se por episódios de ataques de pânico súbitos e recorrentes, manifestando sintomas respiratórios, cardiovasculares,gastrointestinais, autonômicos e cognitivos de início agudo (Grant et al., 2006). No TP, o indivíduo vivencia ataques de pânico inesperados e recorrentes, seguidos de momentos de apreensão e/ou medo de sofrer novos ataques. Estes ataques se caracterizam por momentos de medo intenso e desconforto, que alcançam o ápice em poucos minutos, sendo acompanhados de sintomas físicos e/ou cognitivos (American Psychiatry Association, 2013).

Uma ferramenta diagnóstica relevante para o TP é o uso de agentes químicos,denominados de panicogênicos, (Kessler et al., 2006; Esquivel et al., 2010), que estimulam a respiração, sendo esta função fortemente regulada pelo pH. A inalação de CO2 eleva a PCO2 e reduz o pH sanguíneo, resultando em alterações que podem ser percebidas pelo encéfalo. Algumas regiões encefálicas que são sensíveis ao H^+ e ao CO2 estão relacionadas tanto ao controle da ventilação, quanto aos comportamentos defensivos, incluindo os relacionados com o pânico (Esquivel et al.,2010).

Dentre essas estruturas, o Locus coeruleus (LC) desempenha uma importante participação. O desequilíbrio na modulação do sistema LC/noradrenérgico está implicado em inúmeras desordens psiquiátricas, como transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, doenças neurodegenerativas, transtorno de estresse pós- traumático, depressão e transtornos de ansiedade, incluindo o TP (Bangasser e Valentino, 2014; Fortress et al., 2015; Isingrini et al., 2016; Weinshenker, 2018). Em estudos clínicos mostraram, que uma regulação noradrenérgica alterada está presente em pacientes com TP e durante ataques de pânico (Charney et al., 1990; Bremner et al., 1996; Balaban, 2002; Dierssen et al., 2002). A elevada atividade noradrenérgica aumenta as respostas comportamentais relacionadas à ansiedade. Além disso, a ativação inadequada do LC pode participar da responsividade exagerada ao estímulo e do aumento da emotividade

observada em pacientes com estresse ou transtornos de ansiedade. Por outro lado, o tratamento antidepressivo, que é eficaz em pacientes com transtorno de pânico, diminui o disparo no LC e a expressão da tirosina hidroxilase, assim como as manipulações comportamentais que diminuem o estresse, como o manejo pós-natal, modulam as respostas do sistema noradrenérgico (Escorihuela et al., 1995; Baamonde et al., 2002).

Os mecanismos pelos quais as células do LC detectam as alterações causadas pelo CO_2 ainda não são completamente compreendidos. Dentre as possibilidades, oscanais iônicos sensíveis a ácidos (ASIC1a) merecem destaque. Os ASIC1a são particularmente abundantes na amígdala e outras estruturas do circuito de medo, sugerindo uma contribuição para distúrbios comportamentais como ansiedade e depressão (Wemmie et al., 2003; Coryell et al., 2009). De fato, diversos comportamentos induzidos por inalação de CO2, incluindo congelamento, aversão e evitação, dependem do ASIC1a (Ziemann et al., 2009). Esses canais são controladospor prótons e mediadores-chave das respostas à lesão neuronal. Eles exibem padrões únicos de distribuição no sistema nervoso central (SNC), com alta expressãoem neurônios e baixa expressão em células gliais (Cegielski et al., 2022). As correntesprovenientes do canal ASIC1a podem sofrer inibição por moduladores seletivos, como a toxina inibitória do nó de cisteína Psalmotoxina-1 (Pstx-1) (Escoubas et al., 2003; Dawson et al., 2012). A Pstx-1 inibe especificamente ASIC1a, não inibindo nenhum outro canal ASIC, ligando-se a esses canais de modo a alterar a sua conformação, fazendo com que sua afinidade ao H^+ se altere (Escoubas et al., 2000; Chen et al., 2006).

É bastante conhecido que o sexo do indivíduo pode afetar o controle da respiração e a suscetibilidade a algumas doenças respiratórias (Gargaglioni et al., 2019; Holley et al., 2012; Jiang et al., 2017). Alguns estudos mostraram que há um dimorfismo sexual em humanos em anormalidades do sistema respiratório, como apnéias repetidas, hipopneias e oscilações respiratórias, que têm uma incidência trêsvezes maior em homens (Behan e Kinkead, 2011; Gargaglioni et al., 2019). Além disso, a síndrome da morte súbita em neonatos (SIDS) também é mais prevalente emindivíduos do sexo masculino na proporção de 60:4 (Moon et al., 2007), assim como a apneia obstrutiva do sono afeta predominantemente os homens (Wenninger et al., 2009). Por outro lado, as mulheres têm probabilidade

duas a três vezes maior de desenvolver transtorno do pânico do que os homens durante a vida (Kessler et al., 2005; Sheikh et al., 2002; Yonkers et al., 1998).

Apesar das evidências apresentadas, pouco se sabe sobre o envolvimento doscanais ASIC1a expressos no LC nas respostas respiratórias e comportamentais relacionadas ao TP, em animais machos e fêmeas, uma vez que diversos distúrbios podem ser prevalentes em um determinado sexo.

References

AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. DSM 5. 2013. Washington, DC: American Psychiatric Association. 2013.

Balaban CD (2002) Neural substrates linking balance control and anxiety. **Physiology& behavior** 77:469-475.

Bangasser DA, Valentino RJ (2014) Sex differences in stress-related psychiatric disorders: neurobiological perspectives. **Frontiers in neuroendocrinology** 35:303- 319.

Biancardi V, Bícego KC, Almeida MC, Gargaglioni LH (2008) Locus coeruleus noradrenergic neurons and CO 2 drive to breathing. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology** 455:1119-1128.

Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, Charney DS (1996) Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. **Synapse** 23:28-38.

Borodovitsyna O, Flamini MD, Chandler DJ (2018) Acute stress persistently alters locus coeruleus function and anxiety-like behavior in adolescent rats. **Neuroscience** 373:7-19.

Carvalho D, Bícego KC, de Castro OW, da Silva GS, Garcia-Cairasco, N, Gargaglioni LH (2010) Role of neurokinin-1 expressing neurons in the locus coeruleus on ventilatory and cardiovascular responses to hypercapnia. **Respiratory physiology & neurobiology** 172:24-31.

Charney DS, Woods SW, Nagy LM, Southwick SM, Krystal JH, Heninger GR (1990) Noradrenergic function in panic disorder. **The Journal of clinical psychiatry** 51:5-11.

Chen X, Kalbacher H, Grunder S (2006) Interaction of acid-sensing ion channel (ASIC)1 with the tarantula toxin psalmotoxin 1 is state dependent. **The Journal of general physiology** 127:267-276.

Coryell MW, Wunsch AM, Haenfler JM, Allen JE, Schnizler M, Ziemann AE, Wemmie JA (2009) Acid-sensing ion channel-1a in the amygdala, a novel therapeutic target in depression-related behavior. **Journal of Neuroscience** 29:5381-5388.

D'Amato FR, Zanettini C, Lampis V, Coccurello R, Pascucci T, Ventura R, Battaglia M(2011) Unstable maternal environment, separation anxiety, and heightened CO2 sensitivity induced by gene-by-environment interplay. **PLoS One** 6:e18637.

Dawson RJ, Benz J, Stohler P, Tetaz T, Joseph C, Huber S, Ruf A (2012) Structure ofthe acid-sensing ion channel 1 in complex with the gating modifier Psalmotoxin 1. **Nature communications** 3:936.

Dierssen M, Fotaki V, de Lagrán MM, Gratacos M, Arbones M, Fillat C, Estivill X (2002) Neurobehavioral development of two mouse lines commonly used in transgenic studies. **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 73:19-25.

Drorbaugh JE, Fenn WO (1955) A barometric method for measuring ventilation in newborn infants. **Pediatrics** 16:81-87.

Elam M, Yao T, Thore P, Svensson TH (1981) Hypercapnia and hypoxia: chemoreceptor-mediated control of locus coeruleus neurons and splanchnic, sympathetic nerves. **Brain research** 222:373-381.

Escoubas P, De Weille JR, Lecoq A, Diochot S, Waldmann R, Champigny G, Lazdunski M (2000) Isolation of a tarantula toxin specific for a class of proton -gated Na+ channels. **Journal of Biological Chemistry** 275:25116-25121.

Escoubas P, Bernard C, Lambeau G, Lazdunski M, Darbon H (2003) Recombinant production and solution structure of PcTx1, the specific peptide inhibitor of ASIC1a proton-gated cation channels. **Protein Science** 12:1332-1343.

Esquivel G, Schruers KR, Maddock RJ, Colasanti A, Griez EJ (2010). Acids in the brain: a factor in panic?. **Journal of psychopharmacology** 24:639-647.

Filosa JA, Dean JB, Putnam RW (2002) Role of intracellular and extracellular pH in

the chemosensitive response of rat locus coeruleus neurones. **The Journal of physiology** 54:493-509.

Fortress AM, Hamlett ED, Vazey EM, Aston-Jones G, Cass WA, Boger HA, GranholmACE (2015) Designer receptors enhance memory in a mouse model of Down syndrome. **Journal of Neuroscience** 35:1343-1353.

Gargaglioni LH, Hartzler LK, Putnam RW (2010) The locus coeruleus and central chemosensitivity. **Respiratory physiology & neurobiology** 173:264-273.

Gargaglioni LH, Marques DA, Patrone LGA (2019) Sex differences in breathing. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology** 238:110543.

Giustino TF, Ramanathan KR, Totty MS, Miles OW, Maren S (2020) Locus coeruleus norepinephrine drives stress-induced increases in basolateral amygdala firing and impairs extinction learning. **Journal of Neuroscience** 40:907-916.

Goossens L, Leibold N, Peeters R, Esquivel G, Knuts I, Backes W, Schruers K (2014)Brainstem response to hypercapnia: a symptom provocation study into the pathophysiology of panic disorder. **Journal of psychopharmacology** 28:449-456.

Grant BF, Hasin DS, Stinson FS, Dawson DA, Goldstein RB, Smith S, Saha TD (2006)The epidemiology of DSM-IV panic disorder and agoraphobia in the United States: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. **The Journal of clinical psychiatry** 67: 6517.

Holley HS, Behan M, Wenninger, JM (2012) Age and sex differences in the ventilatoryresponse to hypoxia and hypercapnia in awake neonatal, pre-pubertal and young adultrats. **Respiratory physiology & neurobiology** 180:79-87.

Imber AN, Santin JM, Graham CD, Putnam RW (2014) A $HCO3-$-dependent mechanism involving soluble adenylyl cyclase for the activation of Ca^{2+} currents in locus coeruleus neurons. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis ofDisease** 1842:2569-2578.

Isingrini E, Perret L, Rainer Q, Amilhon B, Guma E, Tanti A, Giros B (2016) Resilienceto chronic stress is mediated by noradrenergic regulation of dopamine neurons. Natureneuroscience, 19(4), 560-563.

Jiang C, Cui N, Zhong W, Johnson CM, Wu Y (2017) Breathing abnormalities in animal models of Rett syndrome a female neurogenetic disorder. **Respiratory physiology &neurobiology** 245:45-52.

Kessler RC, Chiu WT, Demler O, Walters EE (2005) Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. **Archives of general psychiatry** 62:617-627.

Koteja P (1996) Measuring Energy Metabolism with Open -Flow Respirometric

Systems: Which Design to Choose? **Funct. Ecol** 10:675.

Leibold NK, Van Den Hove DLA, Viechtbauer W, Buchanan GF, Goossens L, Lange I, Schruers KRJ (2016) CO2 exposure as translational cross-species experimental modelfor panic. **Translational psychiatry** 6:e885-e885.

McCall JG, Siuda ER, Bhatti DL, Lawson LA, McElligott ZA, Stuber GD, Bruchas MR (2017) Locus coeruleus to basolateral amygdala noradrenergic projections promote anxiety-like behavior. **Elife** 6:e18247.

Paxinos G, Franklin KB (2003) Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic press.

Pineda J, Aghajanian GK (1997) Carbon dioxide regulates the tonic activity of locus coeruleus neurons by modulating a proton-and polyamine-sensitive inward rectifier potassium current. **Neuroscience** 77:723-743.

Putnam RW, Filosa JA, Ritucci, NA (2004) Cellular mechanisms involved in CO2 and acid signaling in chemosensitive neurons. **American Journal of Physiology-Cell Physiology** 287:C1493-C1526.

Song N, Zhang G, Geng W, Liu Z, Jin W, Li L, Shen L (2012) Acid sensing ion channel 1 in lateral hypothalamus contributes to breathing control. **PloS one** 7:e39982.

Sheikh JI, Leskin GA, Klein DF (2002) Gender differences in panic disorder: findings from the National Comorbidity Survey. **American Journal of Psychiatry** 159:55-58.

Song N, Guan R, Jiang Q, Hassanzadeh CJ, Chu Y, Zhao X, Shen L (2016) Acid - sensing ion channels are expressed in the ventrolateral medulla and contribute to central chemoreception. **Scientific reports** 6:38777.

Spiacci A, Vilela-Costa HH, Sant'Ana AB, Fernandes GG, Frias AT, da Silva GSF, Zangrossi H (2018) Panic-like escape response elicited in mice by exposure to CO2, but not hypoxia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry** 81:178-186.

Ripamonte GC, Fonseca EM, Frias AT, Patrone LGA, Vilela-Costa HH, Costa Silva KS, Szawka RE, Bícego KC, Zangrossi Jr H, Plummer NW, Jensen P, Gargaglioni LH. Locuscoeruleus noradrenaline depletion and its differential impact on CO2-induced panic andhyperventilation in male and female mice. *In revision.*

Taugher RJ, Lu Y, Fan R, Ghobbeh A, Kreple CJ, Faraci FM, Wemmie JA (2017) ASIC1A in neurons is critical for fear-related behaviors. **Genes, Brain and Behavior** 16:745-755.

Taugher RJ, Lu Y, Wang Y, Kreple CJ, Ghobbeh A, Fan R, Wemmie JA (2014) The bed nucleus of the stria terminalis is critical for anxiety-related behavior evoked by CO2 and acidosis. **Journal of Neuroscience** 34:10247-10255.

Taugher RJ, Dlouhy BJ, Kreple CJ, Ghobbeh A, Conlon MM, Wang Y, Wemmie JA (2019) The amygdala differentially regulates defensive behaviors evoked by CO_2. **Behavioural brain research** 377:112236.

Vollmer LL, Strawn JR, Sah R (2015) Acid–base dysregulation and chemosensory mechanisms in panic disorder: a translational update. **Translational psychiatry**, 5:e572-e572.

Weinshenker D (2018) Long road to ruin: noradrenergic dysfunction in neurodegenerative disease. **Trends in neurosciences** 41:211-223.

Wemmie JA, Askwith CC, Lamani E, Cassell MD, Freeman JH, Welsh MJ (2003) Acid-sensing ion channel 1 is localized in brain regions with high synaptic density and contributes to fear conditioning. **Journal of Neuroscience** 23:5496-5502.

Yonkers KA, Zlotnick C, Allsworth J, Warshaw M, Shea T, Keller MB (1998) Is the course of panic disorder the same in women and men?. **American Journal of Psychiatry** 155:596-602.

Zhou R, Leng T, Yang T, Chen F, Hu W, Xiong ZG (2019) β-Estradiol protects against acidosis-mediated and ischemic neuronal injury by promoting ASIC1a (acid-sensing ion channel 1a) protein degradation. **Stroke** 50:2902-2911.

Zhu Y, Hu X, Wang L, Zhang J, Pan X, Li Y, Huang Y (2022) Recent advances in acid- sensitive ion channels in central nervous system diseases. **Current Pharmaceutical Design** 28:1406-1411.

Ziemann AE, Allen JE, Dahdaleh NS, Drebot II, Coryell MW, Wunsch AM, Wemmie JA (2009) The amygdala is a chemosensor thatdetects carbon dioxide and acidosis to elicitfear behavior. **Cell** 139:1012-102.