

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

RÚBIA LIMA DIAS DOS SANTOS

**AUMENTO DA INGESTÃO ALIMENTAR APÓS A INJEÇÃO DE
ADRENALINA NO NÚCLEO MEDIANO DA RAFE EM RATOS
SACIADOS**

Florianópolis
2008

RÚBIA LIMA DIAS DOS SANTOS

**AUMENTO DA INGESTÃO ALIMENTAR APÓS A INJEÇÃO DE
ADRENALINA NO NÚCLEO MEDIANO DA RAPE EM RATOS
SACIADOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientadora: Prof. Dra. Marta Aparecida Paschoalini

Florianópolis
2008

RÚBIA LIMA DIAS DOS SANTOS

**AUMENTO DA INGESTÃO ALIMENTAR APÓS A INJEÇÃO DE
ADRENALINA NO NÚCLEO MEDIANO DA RAFE EM RATOS
SACIADOS**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS na área de Neurofisiologia e Comportamento Aprovada e aprovado em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Neurociências, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 29 de agosto de 2008

Prof. Dr. Adair Roberto Soares dos Santos
Coordenador do Curso

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Marta Aparecida Paschoalini
Orientadora

Prof. Dra. Cilene Lino de Oliveira
Membro

Prof. Dra. Denise Maria Souza de Mello
Membro

Prof. Dr. Moacir Serralvo Faria
Membro

AGRADECIMENTOS

*Agradeço a **Deus** por mais esta conquista tão árdua.*

*Ao meu esposo **Toninho** pela força, pela compreensão de estar só em muitos momentos, meu amigo, meu companheiro, meu amor.*

*Ao **meu filhinho**, que mesmo pequeno, sempre soube declarar o seu amor, o seu “entendimento” pela minha ausência, e de certa forma me estimulou a continuar trilhando o meu caminho.*

*A **minha mãe** pelas palavras de incentivo, mesmo nos piores momentos motivando-me, nunca permitindo que eu desistisse.*

*A **toda minha família**, aos **meus sogros**, que torceram por mim.*

*A todos os **colegas do departamento**, pela convivência, pelos gestos de incentivo, pelos momentos de descontração.*

*Ao **Sérgio**, que compartilhou as rotinas de trabalho, sempre disposto para me auxiliar.*

*Em especial agradeço a **Eloísa**, pela paciência e fundamental auxílio para a continuação e finalização deste trabalho.*

*Ao **Sr. Nivaldo**, secretário do curso de Pós-Graduação em Neurociências que nunca mediu esforços para me atender.*

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, que através das suas aulas e ensinamentos possibilitaram o meu crescimento como pessoa e como pesquisadora.

Ao Prof. Dr. Marino por disponibilizar o seu laboratório, sempre incentivador da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Moacir pelas breves palavras, mas fundamentais e incentivadoras.

A minha orientadora Prof. Dra. Marta, primeiro, por aceitar me orientar, segundo por me mostrar que é com muito profissionalismo que a gente conquista o nosso espaço e vence os obstáculos. Obrigada!

Agradeço aos animais por serem instrumentos do meu trabalho.

SANTOS, Rúbia Lima Dias dos. **AUMENTO DA INGESTÃO ALIMENTAR APÓS A INJEÇÃO DE ADRENALINA NO NÚCLEO MEDIANO DA RAFE EM RATOS SACIADOS**. Florianópolis, 2008. 77 p. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Curso de Pós-Graduação em Neurociências. Universidade Federal de Santa Catarina.

RESUMO

O presente estudo examinou os efeitos de injeções locais de doses equimolares (6nmol, 20nmol e 60nmol) de adrenalina (AD) ou noradrenalina (NA) no núcleo mediano da rafe (MR) em ratos alimentados livremente sobre comportamento ingestivo e não ingestivo. Os resultados mostraram que o tratamento com AD nas doses de 20nmol e 60nmol aumentou a ingestão de alimento. E a resposta hiperfágica a dose de AD 60nmol foi acompanhada de uma redução da latência para iniciar a ingestão de alimento e aumento da frequência das ingestões. A dose de AD 20nmol não foi capaz de alterar estes aspectos comportamentais na resposta ingestiva. A quantidade de alimento e o comportamento não ingestivo não foram alterados pelo tratamento com AD no MR. Enquanto a ingestão de água permaneceu sem alterações após tratamento com AD 20nmol no MR, essa dose diminuiu a latência para iniciar a ingestão hídrica. O comportamento alimentar e de ingestão hídrica não se alteraram com o tratamento com NA no MR. Esses dados sugerem que os receptores adrenérgicos do MR participam dos mecanismos que controlam o início do processo de ingestão de alimentos ou apetite. Além disso, nossos resultados também indicam que a disponibilidade de substrato energético pode afetar a influência adrenérgica nos neurônios do MR sendo que dados anteriores indicam que a injeção de AD no MR de ratos em restrição alimentar diminui a ingestão de alimentos.

Palavras-chave: adrenalina, noradrenalina, ingestão de alimentos, núcleo mediano da rafe.

SANTOS, Rúbia Lima Dias dos. **AUMENTO DA INGESTÃO ALIMENTAR APÓS A INJEÇÃO DE ADRENALINA NO NÚCLEO MEDIANO DA RAPE EM RATOS SACIADOS**. Florianópolis, 2008. 77 p. Dissertação (Mestrado em Neurociências) – Curso de Pós-Graduação em Neurociências. Universidade Federal de Santa Catarina.

ABSTRACT

The present study examined the effects of local injections of adrenaline (AD) or noradrenaline (NA) in equimolar doses (6nmol, 20 nmol and 60nmol) into the median raphe nucleus (MRN) on ingestive and non-ingestive behaviors of free feeding rats. The results showed that treatment with AD at doses of 20nmol and 60nmol increased food intake. While the hyperphagic response evoked by 60nmol dose of AD was accompanied by reduction in latency to start feeding and increase in the frequency of feeding, the 20nmol dose of AD was unable to change these behavioral aspects of feeding response. The meal size and non-ingestive behaviors were not affected by AD treatment in the MRN. While water intake remained unchanged after the treatment with 20nmol of AD in the MRN, this dose decreased the latency to start drinking. Feeding and drinking behaviors were not affected by treatment with NA in the MRN. This data suggest that adrenergic receptors of MRN participate in the mechanisms controlling food intake initiation or the appetite. In addition, our results also indicate that the availability of energetic substrate could affect the adrenergic influence on MRN neurons since previous data indicated that the injection of AD into the MRN of food restricted rats decreased food intake.

Key words: adrenaline, noradrenaline, food intake, median raphe nucleus

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Caixa experimental 31
- Figura 2 - Corte histológico do MR em rato..... 35
- Figura 3 - Desenho semi-esquemático de secções coronais mesencefálicas dos locais atingidos pela injeção de VEH, AD e NA, em ratos saciados, mostrando a localização aproximada dos locais de injeção no MR 37
- Figura 4 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), NA e AD nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido e a latência para iniciar a resposta de ingestão de alimento avaliados durante um período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo..... 40
- Figura 5 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), AD e NA nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a frequência e a duração de ingestão de alimento avaliados durante um período de durante 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo. 42
- Figura 6 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), AD e NA nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a quantidade de ingestão de água e a latência para iniciar a resposta de ingestão de água, avaliados durante período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo..... 44
- Figura 7 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), AD e NA nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a frequência e a duração da ingestão de água avaliados durante período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo..... 46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Resultados da ANOVA de duas vias para os resultados da latência para iniciar os comportamentos não ingestivos. 47
- Tabela 2 - Latência total (média ± erro-padrão da média) para iniciar a exibição dos comportamentos não ingestivos (em segundos) de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, observados durante 30min após a injeção local de VEH ou 6nmol, 20nmol e 60nmol de AD e NA no MR, de ratos saciados. (*) Diferente da dose de 60nmol de AD ($P < 0,05$). 48
- Tabela 3 - Resultados da ANOVA de duas vias para os valores da duração dos diferentes comportamentos não ingestivos. 49
- Tabela 4 - Duração total (média ± erro-padrão da média) dos comportamentos não ingestivos (em segundos) de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, observados durante 30min após a injeção local de VEH ou 6nmol, 20nmol e 60nmol de AD e NA no MR, de ratos saciados. * $P < 0,05$ em relação ao tratamento com VEH 50
- Tabela 5 - Resultados da ANOVA de duas vias para os resultados da frequência dos diferentes comportamentos não ingestivos. 51
- Tabela 6 - Frequência total (média ± erro-padrão da média) dos comportamentos não ingestivos (em segundos) de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, observados durante 30min após a injeção local no MR de VEH ou 6nmol, 20nmol e 60nmol de AD e NA, em ratos saciados. * $P < 0,05$ em relação ao tratamento com VEH. 52

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	-	Serotonina
5-HTT	-	Transportador de 5-HT
8-OH-DPAT	-	8-hidroxi-2-(di-n-propilamina)tetralina
AD	-	Adrenalina
AHL	-	Área hipotalâmica lateral
ARC	-	Núcleo arqueado
CEUA	-	Comitê de ética ao uso de animais
DR	-	Núcleo Dorsal da rafe
EAA	-	Aminoácidos excitatórios
GABA	-	Ácido gama-amino-butírico
HDM	-	Hipotálamo Dorsomedial
HVM	-	Hipotálamo Ventromedial
LC	-	<i>Locus coeruleus</i>
MR	-	Núcleo Mediano da Rafe
NA	-	Noradrenalina
NPV	-	Núcleo paraventricular
NTS	-	Núcleo do trato solitário
RFM	-	Rafe mesencefálica
SNC	-	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	CONTROLE NEURAL DA INGESTÃO DE ALIMENTOS:	14
1.2	CONTROLE DA INGESTÃO DE ALIMENTO PELA 5-HT	16
1.3	RELAÇÃO ENTRE OS NÚCLEOS MEDIANO E DORSAL DA RAFE	20
1.4	RELAÇÃO ENTRE COMPORTAMENTO DE INGESTÃO ALIMENTAR E SISTEMA NORADRENÉRGICO:	24
2	JUSTIFICATIVA.....	26
3	OBJETIVO	27
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4.1	ANIMAIS.....	28
4.2	CIRURGIA ESTEREOTÁXICA E IMPLANTAÇÃO DA CÂNULA-GUIA	29
4.3	DROGAS ADMINISTRADAS	30
4.4	MICROINJEÇÕES INTRACEREBRAIS	30
4.5	CAIXA EXPERIMENTAL	30
4.6	ESQUEMA EXPERIMENTAL.....	31
4.7	CATEGORIZAÇÃO COMPORTAMENTAL.....	32
4.8	REGISTRO ALIMENTAR.....	34
4.9	HISTOLOGIA	34
4.10	ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	36
5	RESULTADOS.....	37
5.1	EFEITO DE INJEÇÃO DE CATECOLAMINAS NO MR SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTOS EM RATOS SACIADOS	38
5.1.1	Efeitos sobre o consumo de alimentos	38
5.1.2	Efeitos sobre a latência	38
5.1.3	Efeitos sobre a frequência	41
5.1.4	Efeitos sobre a duração.....	41
5.2	EFEITO DE INJEÇÃO DE CATECOLAMINAS NO MR SOBRE A INGESTÃO DE ÁGUA EM RATOS SACIADOS.....	43
5.2.1	Efeitos sobre o consumo de água	43
5.2.2	Efeitos sobre a latência	43
5.2.3	Efeitos sobre a frequência	45
5.2.4	Efeitos sobre a duração.....	45

5.3	EFEITOS DE INJEÇÃO DE CATECOLAMINAS NO MR SOBRE OS COMPORTAMENTOS NÃO INGESTIVOS	47
5.3.1	Efeitos sobre a latência	47
5.3.2	Efeitos sobre a duração.....	49
5.3.3	Efeitos sobre a frequência	51
6	DISCUSSÃO.....	53
7	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

O controle neural da ingestão alimentar fornece indícios de um sistema de retroalimentação (ROWLAND; MORIEN, 1996) por intermédio de vias que trazem informação da periferia ao Sistema Nervoso Central (SNC), as quais são interligadas principalmente no hipotálamo. O comportamento alimentar pode ser estimulado ou inibido devido às informações necessárias que partem do SNC à periferia (BRAY et al., 1989; BLUNDELL, 1991; STRUBBE, 1994).

Diversas substâncias participam deste processo de regulação do comportamento ingestivo, como por exemplo, hormônios, neuropeptídeos e neurotransmissores clássicos como a serotonina (BLUNDELL, 1984; MONTGOMERY; FLETCHER, 1986; FLETCHER; PATERSON, 1989), as catecolaminas (ROWLAND; MORIEN, 1996), o glutamato (STANLEY et al., 1993a, 1993b; BURNS; RITTER, 1997).

Em resposta ao comportamento ingestivo, sinais são gerados e integrados a circuitaria do córtex cerebral via mecanismos envolvendo o hipotálamo e tronco encefálico caudal (BLEVINS; SCHWARTZ; BASKIN, 2002, FUNAHASHI et al, 2002).

1.1 CONTROLE NEURAL DA INGESTÃO DE ALIMENTOS:

O hipotálamo exerce papel fundamental na regulação da ingestão alimentar (MORLEY, 1987). Lesões na área hipotalâmica ventromedial (HVM), causam aumento na ingestão alimentar e conseqüente obesidade. Entretanto, lesões na região do núcleo dorsomedial do hipotálamo (HDM), podem desencadear diminuição na ingestão alimentar e no peso corporal. Hiperfagia e obesidade, novamente é observado quando há lesões em nível de núcleo paraventricular (NPV) (STEFFENS et al., 1988).

O hipotálamo além de interligar vários sítios neurais, é capaz de produzir sinais anorexigênicos e orexigênicos que auxiliam no ajuste de mecanismos relacionados ao apetite e saciedade (BRAY et al., 1989; BLUNDELL, 1991; STRUBE, 1994; ROWLAND; MORIEN, 1996). Histologicamente, o hipotálamo é dividido em vários núcleos e estes em subnúcleos, que além do comportamento ingestivo, participam de outros comportamentos como, a ingestão hídrica, adaptação ao estresse, comportamento sexual, agressivo, defensivo, de acordo com conexões intra e extra-hipotalâmicas estabelecidas (BERTHOUD, 2002). Estão envolvidos na regulação do comportamento alimentar vários sítios hipotalâmicos tais como o núcleo arqueado (ARC), a área hipotalâmica lateral (AHL), o hipotálamo medial (HVM) e o hipotálamo dorsomedial (HDM) (LUITEN; HORST; STEFFENS et al., 1988; HORVATH et al., 1999; BERTHOUD, 2002).

Tanto o ARC, como o NPV parecem ter papel fundamental no controle do comportamento alimentar e metabolismo energético (SHOR-POSTNER et al., 1986; LEIBOWITZ; ALEXANDER, 1998; SCHWARTZ et al., 2000), por apresentarem populações neuronais distintas anatômica e funcionalmente, caracterizada pela coexistência de diferentes neurotransmissores e também por estas áreas cerebrais exibirem plasticidade neuroquímica dependendo do estado fisiológico do organismo, justificando o controle desta região sobre várias respostas

comportamentais e endócrinas (SWANSON; SAWCHENKO, 1980; CHRONWALL, 1985; KISS, 1988; ATRENS; MENÉNDEZ, 1993; BERTHOUD, 2002).

Estruturas como a amígdala, o núcleo parabraquial, o núcleo do trato solitário (NTS), os núcleos da rafe e o *locus coeruleus* (LC) também participam da regulação do comportamento alimentar (GROSSMAN; GROSSMAN, 1963; BENDOTTI; SAMARIN, 1986; NAGAI et al., 1987; FLETCHER; DAVIES, 1990; WIRTSHAFTER, 2001; ADELL et al., 2002).

O controle do comportamento alimentar e metabolismo energético sofre influência direta da ação das vias adrenérgicas do tronco encefálico sobre o hipotálamo, sendo o NPV, a área de maior sensibilidade a atividade adrenérgica associada a alimentação.

O NPV é um dos principais locais onde a serotonina (5-HT) atua modulando a ingestão de alimento em mamíferos (STEFFENS et al., 1988; CURZON, 1990; SIMANSKY, 1993; BLUNDELL; HALFORD, 1996; ROWLAND; MORIEN, 1996; LEIBOWITZ; ALEXANDER, 1998; HALFORD; WANNINAYAKE; BLUNDELL, 1998; WURTMAN; WURTMAN, 1998; DE VRY; SCHREIBER, 2000; COLLIN et al., 2002; CURRIE et al., 2002). Observa-se que a administração direta e indireta de agonistas de receptores 5-HT no NPV reduz a ingestão de alimentos (HUTSON; DOURISH; CURZON, 1986; WEISS et al., 1990; SHORPOSTNER et al., 1996) e que lesões neurotóxicas de neurônios serotoninérgicos (SALLER; STRICKER, 1976) promovem o efeito oposto, ou seja, aumentam o consumo alimentar. Tanto o NPV, como a AHL, recebem forte aferência de neurônios NPY do ARC (ELMQUIST; ELIAS; SAPER, 1999; SCHWARTZ et al., 2000; BERTHOUD, 2002).

O ARC recebe aferência de outros sítios hipotalâmicos como NPV, o HDM e HVM, AHL, também recebe aferência de estruturas como a amígdala, e de vários locais do tronco encefálico, incluindo (NTS) (LI; CHEIN; SMITH, 1999; DE FALCO et al., 2001) e do MR (NEARY; GOLDSTEIN; BLOOM, 2004). Alguns

hormônios como insulina e metabólitos como glicose (LYNCH et al., 2000), leptina (GLAUM et al., 1996; REIDY; WEBER, 2000), assim como glicocorticóides e esteróides sexuais (HISANO et al., 1998; TONG et al., 1990), ambos apresentando importante relação com comportamento ingestivo, atingindo receptores específicos de neurônios do ARC.

A regulação da ingestão alimentar também sofre influência de mecanismos dopaminérgicos e serotoninérgicos sobre o hipotálamo (STEFFENS et al., 1988; DE VRY; SCHREIBER, 2000).

1.2 CONTROLE DA INGESTÃO DE ALIMENTO PELA 5-HT

A biossíntese da 5-HT ocorre a partir do aminoácido precursor triptofano, encontrado na dieta alimentar, que é convertido inicialmente em 5-hidroxitriptofano, em seguida, é descaboxilado em 5-HT. No DR, os corpos celulares serotoninérgicos e dendritos acumulam serotonina em vesículas (HENSLER, 2006).

Em meados dos anos 70, Blundell (1977) realizou estudos que demonstraram ligação entre a ingestão de alimentos e 5-HT. Quando a 5-HT e seus precursores triptofano e 5-hidroxitriptofano foram administrados em roedores, tanto a quantidade de alimento ingerido como a frequência e a duração das refeições foram significativamente reduzidas (MONTGOMERY; FLETCHER; BURTON, 1986; BLUNDELL; LATHAM, 1979). Drogas que podem incrementar a concentração de 5-HT na sinapse (por exemplo, aumentando a liberação ou inibição da recaptação de 5-HT), produzem mudanças similares no consumo de alimento. Substâncias como inibidores seletivos da recaptação de 5-HT, como fluoxetina (HALFORD;

BLUNDELL, 1996, WELLMAN; JONES; MILLER, 2003), sertralina (SIMANSKY; VAIDYA, 1990) têm demonstrado ser potenciais redutores da ingestão de alimento e induzir perda de peso em mamíferos. Além disso, a sibutramina (inibidor da recaptção de 5-HT e de NA), também tem demonstrado ser um efetivo composto hipofágico e antiobesidade (CHAPELOT et al., 2000, WELLMAN; JONES; MILLER, 2003). Em contrapartida, utilizando-se compostos que bloqueiam a síntese neuronal de 5-HT, como a p-clorofenilalanina (pCPA), tem sido observado aumento no consumo alimentar (MACKENZIE et al., 1979).

O sistema serotoninérgico está envolvido na regulação, modulação, ou ambos no controle da ingestão alimentar. De modo que, a ingestão alimentar incrementa os níveis de serotonina (5-HT) do hipotálamo e o contrário também é verdadeiro, a diminuição ou ausência de alimentação reduz os níveis serotoninérgicos hipotalâmicos (BLUNDELL, 1984; CURSON, 1990; WURTMAN; WURTMAN, 1998; COLLIN et al, 2002; CURRIE et al., 2002; HALFORD et al., 1998; SIMANSKY; VAIDYA, 1993).

A 5-HT está estritamente ligada com o processo de saciação e estado de saciedade. A saciação é o processo no qual, sinais aferentes, como os estímulos sensoriais (visuais, gustativos, olfativos), o aumento na motilidade gastrointestinal, os hormônios liberados durante o processo digestivo ou os metabólitos originados da digestão dos alimentos, desencadeiam o término da refeição. A saciedade refere-se aos sinais que impedem o início de uma refeição, determinando o intervalo entre o final de uma e o início da outra. Com base nesses conceitos, a saciação define o tamanho e a duração da refeição, enquanto a saciedade determina o intervalo entre as refeições (BLUNDELL, 1991).

Existe sete famílias diferentes de receptores da 5-HT, designadas como 5-HT₁ (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}), 5-HT₂ (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}), 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅ (5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}), 5-HT₆ e 5-HT₇, as quais compreendem um total de 14 receptores serotoninérgicos, estrutural e farmacologicamente distintos. Com exceção do receptor 5-HT₃, que está ligado a

um canal iônico, os demais pertencem à família de receptores acoplados à proteína G (BARNES E SHARP, 1999)

O envolvimento de receptores 5-HT_{1A} no controle do comportamento ingestivo foi sugerido inicialmente por Dourish; Hutson; Curzon, (1985a), que observaram a administração subcutânea de 8-OH-DPAT (8-hidroxi-2-(di-n-propylamino) tetralina), um agonista seletivo do receptor 5-HT_{1A} (MIDDLEMISS; FOZARD, 1983), aumenta a ingestão de alimento em ratos (DOURISH; HUTSON; CURZON, 1985a; DOURISH et al., 1986; FLETCHER; DAVIES, 1990; CURRIG; COSCINA, 1993). Em camundongos, gatos e macacos rhesus, também foi observado o mesmo efeito de aumento do comportamento ingestivo (JACOBS et al., 1989; POMERANTZ, 1990; SHEPHERD; ROGERS, 1990). Os receptores 5-HT_{1A} podem estar localizados em sítios pré ou pós-sinápticos. Os pré-sinápticos têm sido encontrados em corpos celulares e dendritos de neurônios serotoninérgicos do tronco cerebral e são então denominados de auto-receptores somatodendríticos (MARTIN et al, 1999; RIAD et al., 2000). O papel fisiológico desses auto-receptores é funcionar como sensores que respondem com a redução da descarga e liberação serotoninérgica quando a concentração do transmissor endógeno no espaço extracelular se torna excessiva (ADELL et al., 2002). Em estruturas límbicas, os receptores 5-HT_{1A} estão localizados pós-sinápticamente. Estes heteroreceptores 5-HT_{1A} encontram-se em neurônios não serotoninérgicos, inibindo o disparo de neurônios piramidais do hipocampo e córtex pré-frontal (HENSLER, 2006).

Blundell (1977, 1984), afirmou que geralmente é observado que, agonistas serotoninérgicos provocam diminuição do consumo alimentar, enquanto os antagonistas dos receptores 5-HT causam aumento da ingestão de alimento. Porém, a administração de agonistas de receptores 5-HT_{1A}, aumentam a ingestão de alimento em ratos saciados e suprime a ingestão em ratos que estão em restrição alimentar. A administração de 8-OH-DPAT, tanto em ratos como em porcos, parece causar efeito contrário; após sua administração, pode estar associado a uma pequena diminuição do comportamento ingestivo em animais em restrição e em animais saciados, gera ou induz intensa hiperfagia (BENDOTTI; SAMARIN, 1987;

BALDWIN; RIVA, 1995; EBENEZER; PARROT; VELLUCCI, 1999; VOIGHT et al., 2000).

O número de receptores 5-HT_{1A} é encontrado em maior quantidade no DR em comparação ao MR em neurônios serotoninérgicos (ADELL et al., 2002). Neste mesmo trabalho do Adell et al., (2002), foi realizado experimento com ratos, administrando através da via subcutânea quatro tipos diferentes de agonistas dos receptores 5-HT_{1A}, e todos produziram redução da liberação de 5-HT mais pronunciada no MR do que no DR.

O transportador de 5-HT (5-HTT) (TAO; AUERBACH, 2000) e autorreceptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B} (SPROUSE; AGHAJANIAN, 1987; DAVIDSON; STAMFORD, 1995; HERVAS et al., 1998; HOPWOOD; STAMFORD, 2001), estão envolvidos com a regulação da 5-HT extracelular no MR e liberação de 5-HT no cérebro (ADELL et al., 2002). O 5-HTT é responsável pela recaptação de 5-HT para dentro do neurônio pré-sináptico e é ativado por ambos MR e sítios de projeção (HORSCHITZ et al.; HUMMERICH; SCHLOSS, 2001).

Os agonistas dos receptores do tipo 5-HT_{1B} causam efeitos hipofágicos após sua administração tanto em ratos privados de alimento como em ratos saciados (BOVETTO; RICHARDS, 1995; HALFORD; BLUNDELL, 1996; SCHREIBER et al., 2000; DE VRY et al., 2003). Os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1B} e 5-HT_{1D} estão localizados predominantemente em terminais axônicos (VARNÄS et al., 2001). Os agonistas dos receptores do tipo 5-HT_{1B} diminuem a liberação de 5-HT no DR e MR, e estes efeitos podem ser revertidos com o uso de antagonistas 5-HT_{1B}, entretanto antagonistas sozinhos não afetam a liberação basal de 5-HT (ADELL et al., 2002).

Os receptores 5-HT_{2C} e 5-HT₃ parecem ter um envolvimento menor sobre o comportamento da regulação de ingestão alimentar, no entanto pode provocar respostas anoréxicas a dietas deficientes em alguns aminoácidos (TECOTT et al., 1995).

O envolvimento de outros receptores 5-HT₁, com o controle da liberação de 5-HT no MR é controverso (ADELL et al., 2002).

1.3 RELAÇÃO ENTRE OS NÚCLEOS MEDIANO E DORSAL DA RAFE

Os neurônios contendo serotonina estão em sua maior parte agrupados dentro dos nove núcleos da rafe. Rafe significa “linha tracejada” ou “marca de costura”, em grego, e de fato os núcleos da rafe alinham-se em ambos os lados da linha média (plano mediano) do tronco encefálico. De todos os núcleos da rafe, o MR e o DR, são os principais núcleos que apresentam neurônios serotonérgicos (VERTES; CRANE, 1997).

A grande maioria das fibras serotonérgicas que inervam a maior parte das estruturas prosencefálicas do SNC originam-se primariamente do núcleo dorsal da rafe (DR) e mediano da rafe (MR) (ADELL et al., 2002; PERRIN et al., 2003; LOWRY, 2002). Estes núcleos estão alinhados em ambos os lados da linha média do tronco encefálico. Na rafe mesencefálica (RFM), estão os núcleos mediano e dorsal e na rafe pontina, destaca-se o núcleo supraleminiscal. Segundo Vertes e Crane (1997), os neurônios serotonérgicos são também encontrados na formação reticular ponte-mesencefálica (localizados mais lateralmente aos núcleos da rafe).

Estes núcleos estão envolvidos na regulação de várias funções fisiológicas. Além do comportamento ingestivo, regulam também a temperatura, variação de humor e até comportamento sexual (ADELL et al., 2002). O sistema serotonérgico regula distúrbios como anorexia e bulimia (BARBARICH, 2002; PATRICK, 2002), também distúrbios de aprendizagem e cognição (MENESES, 1999), ansiedade (JONES; BLACKBURN, 2002) e adaptação ao estresse (GRAEFF et al., 1996).

A regulação de outros neurotransmissores no MR, como a noradrenalina (NA), pode ser influenciada pela redução da atividade de neurônios serotoninérgicos. Há uma grande interação entre os sistemas adrenérgico e serotoninérgico, sugerindo que a interação recíproca pode variar, de forma que, por exemplo, a NA atuando nos terminais pré-sinápticos serotoninérgicos, provoca diminuição da liberação de serotonina (5-HT), enquanto que, a atividade de adrenoreceptores pós-sinápticos pode conduzir um aumento na liberação de serotonina (NINA, 1999).

Os neurônios da RFM enviam projeções ascendentes que inervam várias regiões corticais e subcorticais. As projeções do MR para o PVN do hipotálamo representam um substrato anatômico para as influências da RFM sobre o comportamento ingestivo; sugerindo que este núcleo seja um dos maiores responsáveis pela liberação de 5-HT no PVN (VERTES; MARTIN, 1988; FLETCHER; COSCINA, 1993; LOWRY, 2002; PERRIN et al., 2003). O MR, tanto envia como recebe projeções do hipotálamo lateral, região perifornical, da área pré-óptica e do órgão subfornical (AGHAJANIAN; WANG, 1977; BERK; FINKELSTEIN, 1982; LIND, 1986; VERTES; FORTIN; CRANE, 1999; VOIGT et al., 2000; WIRTSHAFTER, 2001), sendo que estas estruturas estão envolvidas com a regulação de ingestão de alimento e de água. Também o MR, está diretamente conectado através de vias aferentes ao NTS (SCHAFFAR et al., 1988; BERTHOUD, 2002).

As fibras que partem do DR são finas com varicosidades pequenas ou granulares e as fibras que partem do MR são grossas e apresentam botões ovais ou arredondados, cujos terminais estabelecem sinapses com o soma e os dendritos das células alvo. A sua distribuição pode variar entre todas as áreas do cérebro, porém o córtex cerebral provavelmente é a região que recebe de modo mais intenso os dois tipos de fibras (MAMOUNAS; MOLLIVER, 1988; TORR, 1990, HENSLER, 2006).

As principais fontes de inervação serotoninérgica ascendente são através de axônios serotoninérgicos do mesencéfalo, principalmente os núcleos MR e DR.

Dentre as projeções que o MR envia, está a formação reticular, tálamo e hipocampo, hipotálamo (GRAEFF; BRANDÃO, 1999, HENSLER, 2006), núcleo supraquiasmático, núcleo medial mamilar, amígdala, septo medial, LC, estruturas mesolímbicas, núcleo acumbens (core), área tegmental ventral, córtex temporal (LECHIN, 2006).

E o DR envia projeções para a matéria cinzenta periaquedutal, colículos, amígdala, gânglios da base, neocórtex e hipocampo (GRAEFF; BRANDÃO, 1999, HENSLER, 2006), caudato putamen, cordão torácico espinhal, septo lateral, núcleo acumbens (shell), substância nigra, estriato (LECHIN, 2006).

Neurônios dopaminérgicos enviam axônios excitatórios para o DR, mas não para o MR, isto pode ser observado, quando drogas que excitam neurônios (anfetamina e cocaína) promovem liberação de 5-HT do DR, mas não de axônios do MR (LECHIN, 2006).

Neurônios serotoninérgicos do MR são inibidos pela ativação de auto-receptores 5-HT_{1A} (SINTON; FALLON, 1988). A liberação de 5-HT em áreas inervadas pelos neurônios do MR é inibida por agonistas do receptor 5-HT_{1A} (HJORTH; SHARP, 1991; CASANOVAS; ARTIGAS, 1996). A liberação de 5-HT em regiões inervadas pelo MR pode ser inibida pelo uso de antagonistas α -1 adrenérgicos (ROUQUIER et al., 1994).

Neurônios do MR disparam lenta e regularmente com ação potencial na presença de agonistas α -1 adrenérgicos, mas estes neurônios foram inibidos pela presença de baixas concentrações de 5-HT. A inibição induzida pela 5-HT, foi gradualmente atenuada pelo WAY100635 (antagonista do 5-HT_{1A}) (FLETCHER; DAVIES, 1996), indicando mediação pelos receptores 5-HT_{1A}. Com os neurônios do DR acontece eventos semelhantes de excitação e inibição (JUDGE; GARTSIDE, 2006). A diferença entre a sensibilidade dos receptores 5-HT_{1A} do MR e DR pode refletir uma menor densidade de 5-HT_{1A} em neurônios do MR, estes dados também sugerem que há um número menor de receptores por neurônio no MR do que no DR (JUDGE; GARTSIDE, 2006). Muitas drogas como antidepressivos, com atividade

ansiolítica, ou ambos, influenciam a neurotransmissão 5-HT através da ação direta ou indireta com os receptores 5-HT_{1A} e adrenoceptor α -1 em neurônios serotoninérgicos (GARTSIDE et al., 1997b; HADDJERI et al., 1998; BLIER, 2001).

As conexões aferentes do MR fornece um substrato neuroanatômico para a interação entre diferentes áreas do cérebro, neurônios serotoninérgicos e outros sistemas neurotransmissores (ADELL et al., 2002); por exemplo, dopaminérgico e noradrenérgico proveniente da substância nigra, área tegmental ventral e área tegmental lateral. A existência de interação entre os sistemas catecolaminérgico e serotoninérgico pode ser demonstrado pela existência de receptores dopaminérgico e adrenérgico neste núcleo. No entanto, a ativação local de receptores dopaminérgicos D1 em ambos DR e MR não modifica a liberação de 5-HT nestes núcleos (ADELL et al., 2002).

Nos núcleos da rafe são observados muitos neurônios serotoninérgicos, porém várias outras populações de células coexistem nos núcleos (TAKASE; NOGUEIRA, 2008). Outros estudos relatam que células não-serotoninérgicas podem estar envolvidas mediando a influência do MR na ingestão de alimento e água (WIRTSHAFTER, 2001). Dentre estas células, estão outros neurotransmissores, como GABA, dopamina, glutamato e Fator liberador da corticotropina (JACOBS et al. 1989; COMMONS et al., 2003; DAY et al., 2004; SERRATS et al., 2005) que estão presentes em ambos MR e DR e podem influenciar potencialmente as diferentes fases do comportamento ingestivo.

Assim como os neurônios do LC, as células dos núcleos da rafe disparam mais rapidamente durante a vigília, quando o animal está ativo e alerta. Os neurônios da rafe estão mais quietos durante o sono (BARBARICH, 2002).

1.4 RELAÇÃO ENTRE COMPORTAMENTO DE INGESTÃO ALIMENTAR E SISTEMA NORADRENÉRGICO:

Há evidências do controle noradrenérgico central sobre o comportamento ingestivo. E é conhecido que a NA depende da ativação de adrenoceptores α (RITTER; EPSTEIN, 1975).

Sistemas adrenérgicos são circuitos neurais e endócrinos que usam epinefrina (adrenalina/AD) e/ou norepinefrina (noradrenalina/NA) como neurotransmissores, os quais são chamados de catecolaminas e têm função importante na ingestão de alimentos, cognição, emoção, reprodução, entre outros (MARINO-NETO, et al., 2004).

Ambos os DR e MR recebem inervação noradrenérgica originadas do LC, onde há evidências de que existem enzimas sintetizadoras e transportadoras de NA nos MR, onde, vias aferentes noradrenérgicas podem facilitar a transmissão serotoninérgica através de adrenoceptores α_1 (ADELL et al., 2002). Através de estudos eletrofisiológicos, antagonista de adrenoceptor α_1 (prazosin) suprime a liberação basal de 5-HT em ambos os núcleos da rafe, sendo que esta influência é maior no MR (HJORTH; SHARP, 1991; CASANOVAS; ARTIGAS, 1996) ao ser comparada com o DR (ADELL et al., 2002).

Os receptores adrenérgicos são organizados apartir de nove subtipos – α_1 (A, B, D), α_2 (A, B, C) e β (1, 2, 3) – todos metabotrópicos (PHILLIP e HEIN, 2004). Os receptores α_1 são acoplados a proteína G_q , estimula a fosfolipase C, gerando trifosfato de inusitol e diacilglicerol como segundos mensageiros, liberando cálcio. Os receptores α_2 são acoplados a proteína G_i , que atua inibindo a adenilciclase. E os receptores β , são acoplados a proteína G_s , a qual ativa a adenilato ciclase, aumenta o AMPc intracelular (WOZNIAK, et al., 1999).

Componentes α -2 adrenérgicos também afetam a liberação de 5-HT no MR (ADELL et al., 2002). Estudo, *in vivo*, após a administração local de clonidina sugere a diminuição da liberação de 5-HT em 30% nos valores basais no MR e até 60% nos valores basais do DR. Esta variação reflete uma diferença entre α -2-auto-receptores localizados em vias aferentes noradrenérgicas e neurônios localizados em terminais não noradrenérgicos presentes em outros núcleos, os quais podem contrabalancear os efeitos inibitórios efeitos da redução de liberação de NA por parte do DR. Em contrapartida, a perfusão local de antagonistas α -2, aumentam a liberação de 5-HT em ambos DR e MR (ADELL et al., 2002).

Segundo Yoshioka et al. (1992), a síntese de 5-HT é inibida após a ativação de adrenoreceptores α -2. Também Adell et al. (1999), através de estudos eletrofisiológicos, demonstram que neurônios serotoninérgicos no DR são incrementados por ativação de adrenoreceptores α -1 adrenérgicos e inibido pela estimulação de adrenoreceptores α -2. Os receptores adrenérgicos, em particular o receptor α -2 está envolvido no comportamento sexual e no controle do apetite (CARLSON, 2002).

Neurônios serotoninérgicos no DR exercem controle excitatório tônico pelos adrenoreceptores α -1. Administração local ou sistêmica de antagonistas adrenérgicos α -1 diminui os níveis extracelulares de 5-HT no MR e DR, bem como estruturas como hipocampo e estriado, pela inibição de disparo dos neurônios serotoninérgicos no DR (O'LEARY et al., 2007). O bloqueio de α -2 adrenoreceptores aumenta os níveis extracelulares de 5-HT em ambos os núcleos e agonistas α -2 adrenoreceptores podem reduzir os níveis de 5-HT indiretamente pela diminuição da liberação de NA no DR e reduz o tônus noradrenérgico facilitatório pós-sináptico α -1 adrenoreceptor localizado em neurônios serotoninérgicos (O'LEARY et al., 2007).

2 JUSTIFICATIVA

Estudos anteriores de nosso laboratório indicaram que a AD, mas não a NA, injetada no MR diminui a ingestão de alimento e antecipa o término da refeição nos ratos com restrição de alimento (15g/dia rato) (MAIDEL et al, 2007). Como o comportamento alimentar pode variar dependendo da disponibilidade do alimento, sugerimos ser possível que os efeitos desencadeados pela injeção de catecolaminas sobre a ingestão de alimento no MR pudessem diferir nos animais com acesso livre ao alimento.

Reforçando essa sugestão, um estudo recente comparando animais com livre acesso ao alimento e com acesso restrito (2h/dia durante 15 dias) mostrou um aumento no número de neurônios FOS-imunorreativos no MR de animais em restrição alimentar com acesso ou não ao alimento durante 30min do período experimental (TAKASE; NOGUEIRA, 2008).

No presente estudo avaliamos os efeitos no comportamento alimentar após injeções de AD ou de NA no MR de animais alimentados livremente.

3 OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi investigar as ações da AD e da NA sobre a regulação do comportamento ingestivo mediada pelo MR em ratos alimentados *ad libitum*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos N=56 (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, machos adultos, com peso corporal entre 250g e 350g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Os animais foram recebidos e alojados em caixas de polipropileno (49cm x 34cm x 16cm), e mantidos por 7 dias no biotério setorial do departamento Ciências Fisiológicas (CFS) para adaptação às novas condições de ambiente. Após a cirurgia, os animais foram mantidos em caixas individuais de polipropileno (29cm x 13cm x 18cm), forradas com maravalha. Os animais tinham acesso livre à água e a ração (CR-1, Nuvilab) e foram mantidos sob temperatura ambiente em torno de 24°C com ciclo claro/escuro de 12h, o período de luz tinha o seu início às 7h e o seu término às 19h. Os experimentos foram realizados em acordo com os princípios éticos de experimentação animal, postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo o protocolo de experimentação aprovado pelo Comitê de Ética ao Uso de Animais (CEUA) n° dos protocolos PP00091/CEUA e 23080.010535/2007-26 da Universidade Federal de Santa Catarina.

4.2 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA E IMPLANTAÇÃO DA CÂNULA-GUIA

A implantação de cânulas-guia medindo 18mm de comprimento, e 0,7mm de diâmetro confeccionadas a partir de agulhas hipodérmicas descartáveis (23G), foi necessário para a administração de drogas através de microinjeções na região do MR. Os animais foram anestesiados com uma associação anestésica de xilazina (20mg/kg, i.p.) e cloridrato de cetamina (100mg/kg, i.p.) ambos os fármacos do Laboratório König. Em seguida, a cabeça do animal foi posicionada no aparelho estereotáxico, de forma que o bregma e o lambda ficassem situados num mesmo plano horizontal. Na seqüência, foi realizada a tricotomia da área desejada, assepsia com álcool iodado, e a incisão longitudinal, permitindo a exposição da calota craniana. Após esse procedimento, a porção exposta do crânio foi raspada e seca, possibilitando a observação das estruturas bregma e lambda e a marcação da posição para a perfuração da calota craniana, criando um orifício por onde foi introduzida a cânula-guia. Duas perfurações adicionais foram realizadas na calota craniana criando orifícios onde foram fixados parafusos de aço inoxidável. A cânula-guia e os parafusos foram aderidos à calota craniana com o auxílio de acrílico autopolimerizável, formando uma estrutura sólida, capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos com a gaiola e permitiu a injeção das drogas no sistema nervoso central. A fim de evitar a obstrução da cânula-guia, foi introduzido no seu interior um mandril (estilete de aço inoxidável), tendo o seu comprimento igual ao da cânula-guia, e sua extremidade externa também foi fixada ao acrílico. A cânula-guia foi implantada conforme coordenadas encontradas no Atlas estereotáxico de Paxinos e Watson (2007), sendo a medida antero-posterior: 7,8mm posterior ao bregma; lateral 2,7mm lateral a linha média e horizontal 7,5mm de profundidade a partir do osso craniano.

4.3 DROGAS ADMINISTRADAS

As drogas utilizadas durante os experimentos foram Adrenalina (Sigma Co, USA) e Noradrenalina (Sigma Co, USA), dissolvidas em solução salina (0,9%), nas doses de 6nmol, 20nmol e 60nmol.

4.4 MICROINJEÇÕES INTRACEREBRAIS

A injeção intracerebral de AD, NA ou VEH foi realizada por meio de uma agulha injetora (Mizzy-Slide-Park: 0,3mm de diâmetro), introduzida na cânula-guia, após a retirada do mandril do seu interior. A agulha injetora foi conectada a uma microseringa Hamilton (capacidade de 1 μ l) através de um tubo de polietileno. As agulhas injetoras excederam o tamanho da cânula-guia em 2mm. Com o objetivo de minimizar as variações na pressão intracraniana, as soluções foram administradas no período de 1min, e o volume injetado foi sempre de 200nl.

4.5 CAIXA EXPERIMENTAL

A caixa experimental utilizada para o registro comportamental e a avaliação da ingestão de alimento foi confeccionada em vidro transparente de 4mm e possuía as seguintes medidas: 49cm x 34cm x 40cm, comprimento, largura e altura,

respectivamente. Nesta caixa, três paredes e o fundo foram recobertas com papel plástico adesivo preto, permanecendo uma parede lateral transparente, a qual foi posicionado um espelho, que possibilitava a visualização do animal e o registro digital (gravação) completo de seus comportamentos durante a sessão experimental. O registro do comportamento animal durante o experimento foi realizado através de uma *webcam* que ficava posicionada sobre a caixa experimental por um período de 30min (FIG. 1)



Figura 1 - Caixa experimental

4.6 ESQUEMA EXPERIMENTAL

Após os procedimentos cirúrgicos para a implantação da cânula-guia, os animais passavam por um período de 7 dias pós-cirurgia, alojados individualmente em caixas de polipropileno, com água e comida *ad libitum*. Os animais foram

submetidos à habituação ao ambiente de registro, durante 15min por duas vezes antes de receberem o tratamento no MR. Este processo, é importante para diminuir o efeito do estresse de colocar o animal em um novo ambiente experimental.

No dia do experimento, o animal foi retirado de sua gaiola localizada no biotério e tratado com uma injeção de veículo (solução salina 0,9%), AD ou NA no MR. Ao final da injeção, os animais foram colocados na caixa experimental, contendo comedouro e bebedouro no seu interior, durante 30 minutos. Tanto a água como a ração foram previamente pesadas, e as quantidades de água e de alimento ingeridos foram medidos pela diferença entre as quantidades inicial e final. A higienização da caixa experimental foi realizada com tecido embebido em solução alcoólica a 20% após ser recolhido excrementos com papel toalha. Este procedimento ocorria sempre entre um teste e outro.

Cada sessão experimental foi gravada em CD-Room, permitindo a posterior análise comportamental, através da transcrição dos vídeos com o auxílio do Programa Etholog 2.25 (OTTONI, 2000). Ao final do teste, os animais voltaram para as suas respectivas caixas individuais localizadas no biotério do CFS.

Ao final das sessões experimentais os animais foram sacrificados para remoção do cérebro e posterior análise histológica.

4.7 CATEGORIZAÇÃO COMPORTAMENTAL

As mudanças comportamentais desencadeadas pela administração de diferentes doses de AD, NA e VEH no MR foram analisadas por intermédio de categorias comportamentais propostas e utilizadas por (HALFORD et al.; 1998).

A latência, a duração e a frequência em cada comportamento foram avaliadas, bem como a quantidade de alimento e água ingerida:

- a) *ingestão do alimento*: quando o animal se aproxima do comedouro, e efetivamente ingere alimento sólido, com comportamentos característicos de deglutição;
- b) *ingestão de água*: quando o animal se aproxima do bebedouro e lambe a sua ponta.;
- c) *exploração não locomotora*: quando o animal estiver ativamente explorando o ambiente com a cabeça, seja cheirando o ar ou o chão, sem tirar as quatro patas do local onde se encontra;
- d) *exploração vertical (ereto)*: quando o animal estiver explorando o ambiente apoiado somente nas patas traseiras, estando as patas dianteiras livres e não apoiadas no fundo da caixa ou comedouro;
- e) *autolimpeza*: quando o animal executar comportamentos oro-faciais típicos de autolimpeza, como: lambe a cabeça e o corpo, ou coçar-se com a boca;
- f) *locomoção*: quando o animal estiver deambulando pela caixa, sem apresentar qualquer outro dos comportamentos já citados;
- g) *imobilidade*: quando o animal permanecer imóvel, sem apresentar qualquer outro comportamento já citado;
- h) *quantidade*: refere-se à diferença entre a quantidade de ração apresentada ao animal no início da sessão experimental e a ração restante ao final da mesma, medida em gramas.
- i) *latência*: refere-se ao tempo, medido em segundos, que o animal levou para realizar pela primeira vez determinada resposta comportamental;

- j) *duração*: refere-se ao tempo, medido em segundos, que o animal permaneceu executando determinada resposta comportamental ao longo de 30min;
- k) *frequência*: refere-se ao número de vezes, durante o período de 30 minutos da sessão experimental, que o animal exibiu determinada resposta comportamental.

4.8 REGISTRO ALIMENTAR

O consumo alimentar foi medido pela diferença entre a quantidade de ração inicial e final, ao término da sessão experimental (duração de 30 min.).

4.9 HISTOLOGIA

Ao final do experimento, os animais foram anestesiados com hidrato de cloral a 10%, e submetidos à perfusão transcardíaca com solução salina a 0,9% seguida por uma solução de formalina a 10%. O posicionamento da cânula-guia e os pontos de injeção foram verificados por meio de microinjeções do corante Azul de Evans, na dosagem de 200nl. Em seguida os cérebros foram dissecados e imersos por período de 5 a 7 dias em solução de formolina a 10%. Após esse período, as peças foram, fixadas e cortadas no plano frontal (cortes de aproximadamente 100µm

de espessura) com o auxílio de um vibrótomo. Os cortes foram montados em lâminas de vidro gelatinizadas e colocadas para secar por período de aproximadamente 7 dias. Após esse período, as lâminas foram coradas pelo método de Nissl e permaneceram secando por mais 7 dias, para posterior análise ao microscópio óptico. A reprodução gráfica dos cortes e dos pontos de injeção analisados ao microscópio foram realizadas manualmente com o auxílio do Atlas do cérebro do rato (FIG.

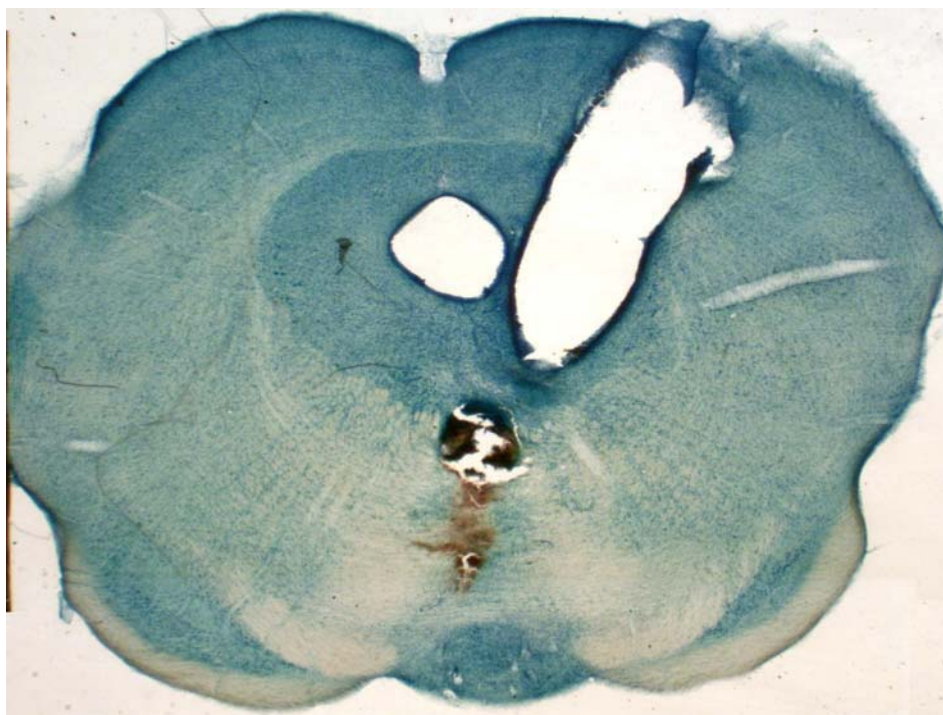


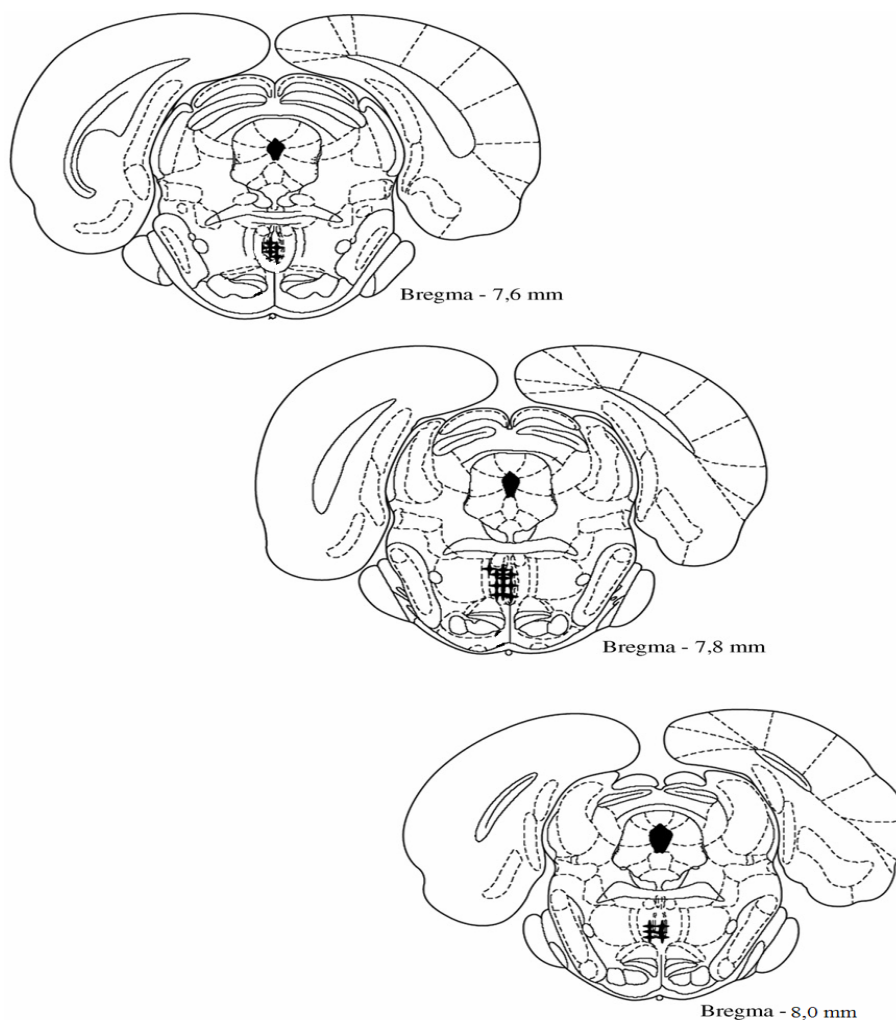
Figura 2 – Corte histológico do MR em rato

4.10 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados de ingestão de alimento e de água obtidos após os diferentes tratamentos foram avaliados por intermédio de uma análise de variância de duas vias (ANOVA de duas vias), tendo como fatores as doses (0nmol, 6nmol, 20nmol e 60nmol) e tratamento (AD e NA). A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se do teste de Duncan. Apenas os valores de probabilidade de acaso menores que 5% foram considerados significantes ($P < 0,05$).

5 RESULTADOS

Os diferentes sítios atingidos pela injeção de VEH, AD e NA no MR de ratos saciados, ficaram distribuídos entre 7,6mm a 8,0mm posterior ao bregma (FIG. 3).



Fonte: Adaptado de Paxinos e Watson (2007).

Figura 3 - Desenho semi-esquemático de secções coronais mesencefálicas dos locais atingidos pela injeção de VEH, AD e NA, em ratos saciados, mostrando a localização aproximada dos locais de injeção no MR

5.1 EFEITO DE INJEÇÃO DE CATECOLAMINAS NO MR SOBRE A INGESTÃO DE ALIMENTOS EM RATOS SACIADOS

5.1.1 Efeitos sobre o consumo de alimentos

A análise dos dados do consumo de alimentos por intermédio da ANOVA de duas vias mostrou que houve alterações significantes entre as doses [$F(3,48) = 4,54$; $p < 0,0069$]; entretanto, não houve modificações significantes entre os tratamentos [$F(1,48) = 3,46$; $p < 0,068$] e nem interação significativa entre os tratamentos e doses [$F(3,48) = 1,99$; $p < 0,12$].

Os resultados apresentados na FIG. 4 mostram que a administração de 20nmol e 60nmol de AD no MR de animais saciados proporcionaram maior ingestão de alimento se comparado com a administração de VEH. A menor dose não provocou modificações no consumo de alimento ingerido. As injeções de NA nas doses de 6nmol, 20nmol ou 60nmol não provocaram alterações na quantidade de alimento ingerido.

5.1.2 Efeitos sobre a latência

A análise dos dados da latência para iniciar a resposta de ingestão de alimento através da ANOVA de duas vias indicou diferença estatisticamente significativa entre as diferentes doses administradas no MR de ratos saciados [$F(3,48) = 3,70$; $p < 0,0176$]. Não houve diferença significativa entre os tratamentos, [$F(1,48) = 0,06$; $p < 0,7068$] e também não houve interação significativa entre as doses e os tratamentos, [$F(3,48) = 0,78$; $p < 0,5067$].

A administração de 60nmol de AD reduziu a latência para iniciar o consumo de alimento quando comparado com as outras doses de AD ou VEH. A dose de 20nmol de AD, embora tenha elevado a quantidade de alimento ingerido, não modificou a latência para iniciar a resposta de ingestão de alimento. Nenhuma das doses de NA no MR de ratos saciados conseguiu alterar a latência para iniciar o consumo de alimento (FIG. 4).

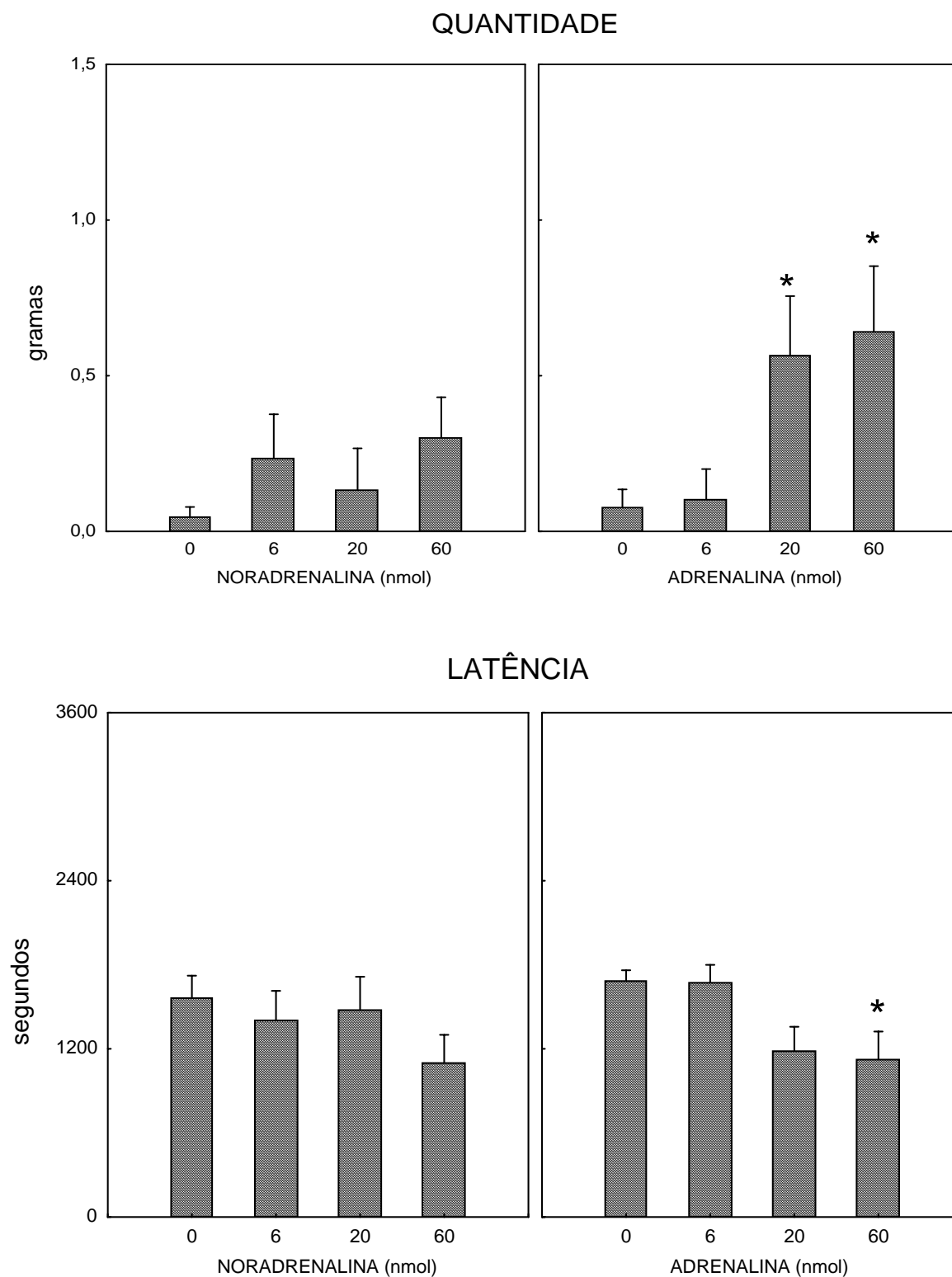


Figura 4 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), NA e AD nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a quantidade de alimento ingerido e a latência para iniciar a resposta de ingestão de alimento avaliados durante um período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo.

5.1.3 Efeitos sobre a frequência

A análise estatística dos dados de frequência de ingestão de alimento através da ANOVA de duas vias mostrou diferença significativa entre as doses $F(3,48) = 4,09$; $p < 0,0114$]; entretanto não houve modificações significantes entre tratamentos [$F(1,48) = 2,33$; $p < 0,1327$] e nem interação entre os tratamentos e doses [$F(3,48) = 1,65$; $p < 0,1897$].

A administração de AD no MR de ratos saciados, na dose de 60nmol aumentou a frequência do comportamento de ingestão de alimentos quando comparado com o grupo controle (FIG. 5). As doses menores de AD não induziram modificações na exibição desse comportamento. A injeção de NA no MR em ratos saciados, não modificou a frequência de exibição do comportamento de ingestão de alimento, como ilustra o FIG. 5.

5.1.4 Efeitos sobre a duração

A ANOVA de duas vias, não mostrou diferença estatisticamente significativa entre doses [$F(3,48) = 1,64$; $p < 0,1920$]; também não houve diferença estatística entre os tratamentos e nem interação entre dose e tratamento [$F(1,48) = 2,85$; $p < 0,0973$] e [$F(3,48) = 0,48$; $p < 0,7530$].

Nenhuma das doses de AD ou NA utilizadas no presente estudo modificou a duração de resposta de ingestão de alimento após sua administração no MR de ratos saciados (FIG. 5).

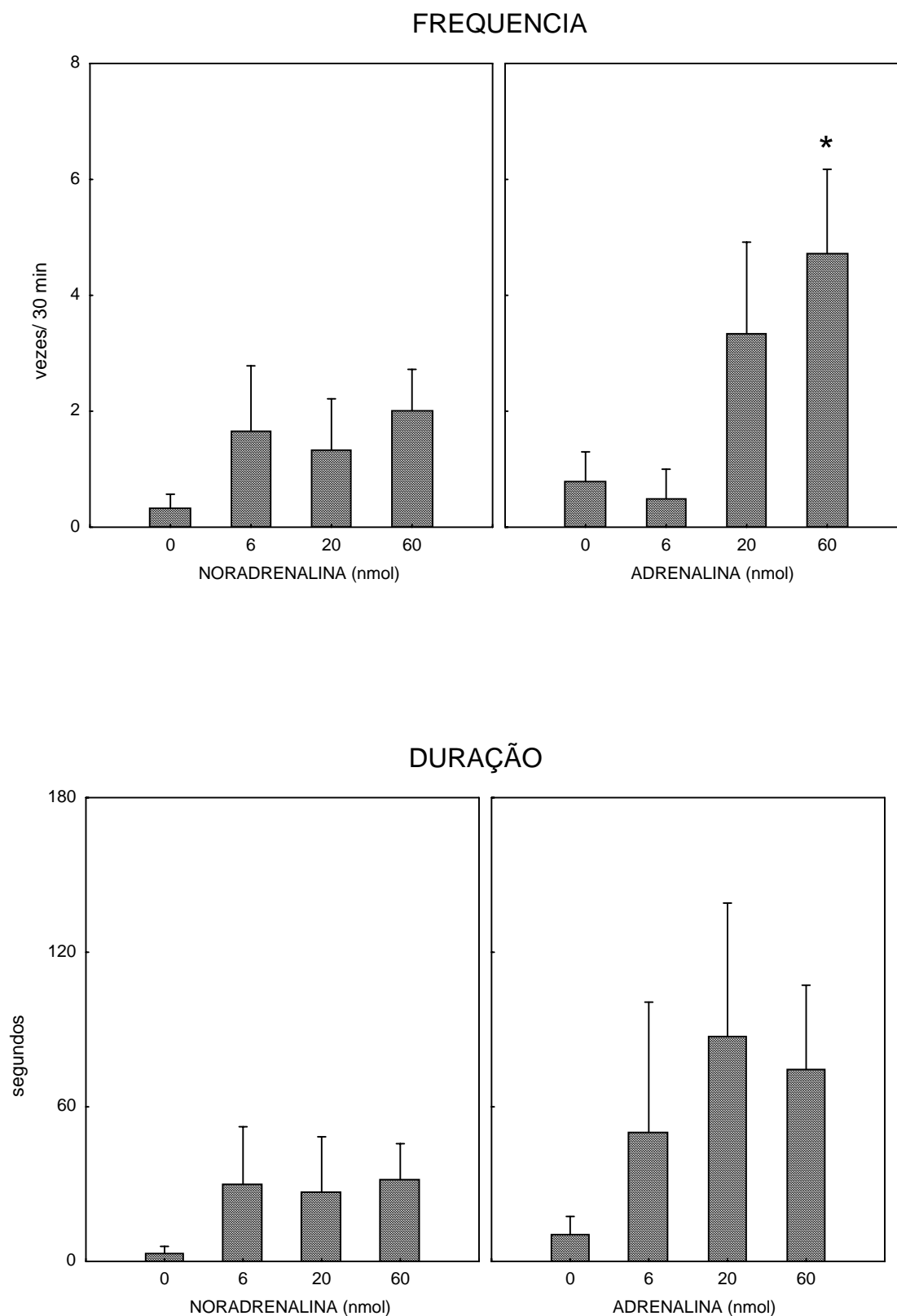


Figura 5 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), AD e NA nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a frequência e a duração de ingestão de alimento avaliados durante um período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo.

5.2 EFEITO DE INJEÇÃO DE CATECOLAMINAS NO MR SOBRE A INGESTÃO DE ÁGUA EM RATOS SACIADOS

5.2.1 Efeitos sobre o consumo de água

A ANOVA de duas vias mostrou que não houve diferença estatística entre as doses [$F(3,48) = 1,15$; $p < 0,3364$]; nem entre os tratamentos [$F(1,48) = 3,55$; $p < 0,0654$] também, a interação entre dose e tratamento não foi significativa [$F(3,48) = 1,77$; $p < 0,1638$].

Os tratamentos com AD e NA no MR não modificaram o consumo de água nas doses utilizadas no presente estudo. Embora, a administração de AD na dose de 20nmol tenha elevado o consumo de água, não foi estatisticamente diferente daquele exibido pelos animais do grupo controle (FIG. 6).

5.2.2 Efeitos sobre a latência

A análise de variância dos dados do comportamento de ingestão de água mostrou que houve diferença estatística entre as doses de catecolaminas administradas no MR de ratos saciados [$F(3,48) = 3,19$; $p < 0,0317$], porém não houve diferença entre os tratamentos [$F(1,48) = 0,91$; $p < 0,3428$]. A interação entre tratamento e dose, também não apresentou diferenças significantes [$F(3,48) = 2,17$; $p < 0,1034$].

A administração de AD na dose de 20nmol no MR de ratos saciados, causou uma diminuição da latência para iniciar o primeiro episódio de consumo de água quando comparado ao VEH. Por outro lado, as doses de 6nmol e 60nmol de AD não modificaram a latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de água. O tratamento com as diferentes doses de NA não alterou a latência para iniciar a resposta dipsogênica (FIG. 6).

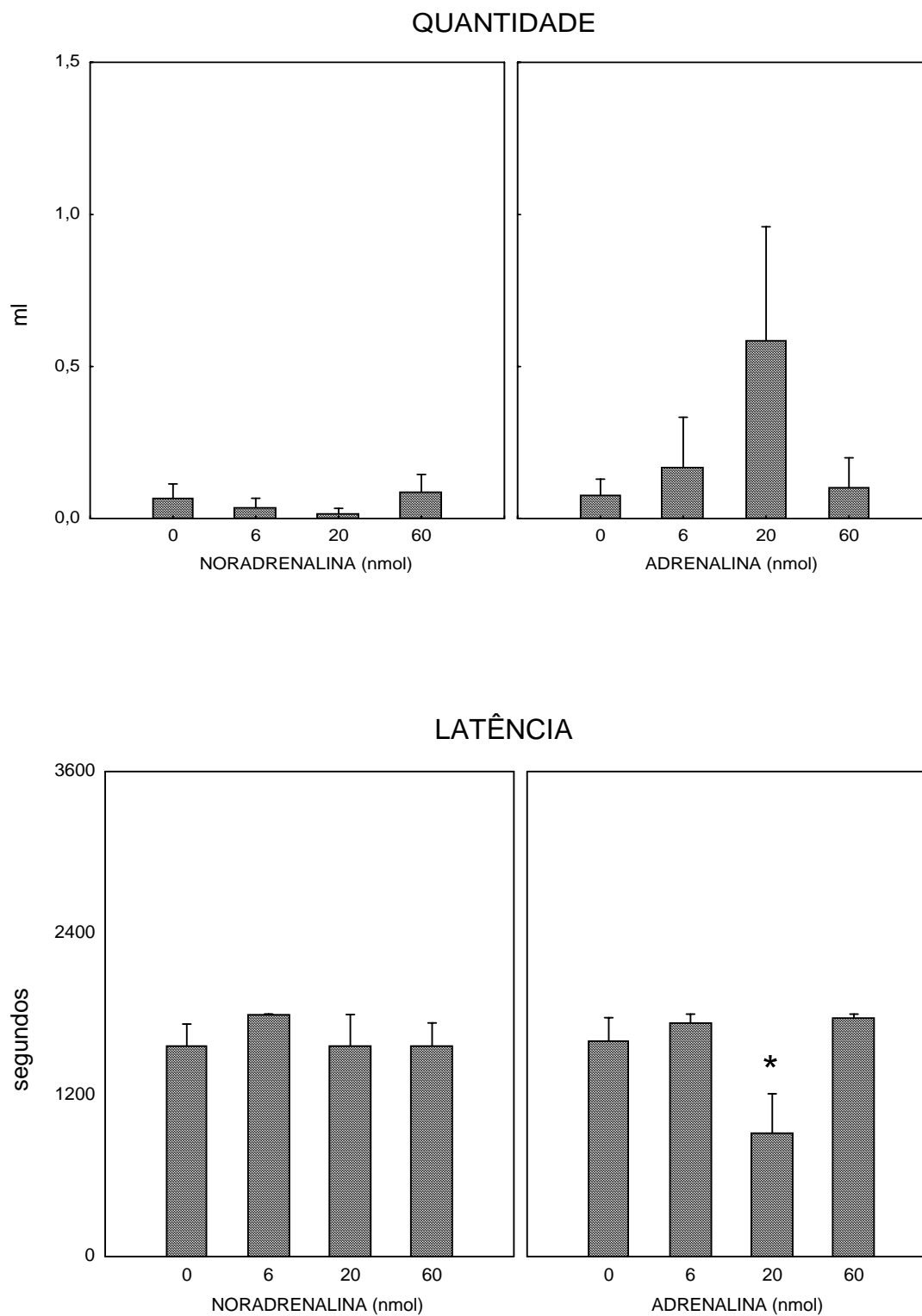


Figura 6 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), AD e NA nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a quantidade de ingestão de água e a latência para iniciar a resposta de ingestão de água, avaliados durante período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo.

5.2.3 Efeitos sobre a frequência

De acordo com a ANOVA de duas vias [$F(3,48) = 2,13$; $p < 0,1083$] não houve diferença significativa entre as doses, bem como, não houve diferenças significantes entre os tratamentos [$F(1,48) = 1,99$; $p < 0,1645$], e nem interação significativa entre dose e tratamento [$F(3,48) = 2,29$; $p < 0,0894$]. Na análise dos dados sobre a frequência de exibição do comportamento dipsogênico.

A frequência da exibição do comportamento de ingestão de água não apresentou alterações ao longo do período experimental após tratamento com as diferentes doses de NA ou AD no MR de ratos saciados. Embora, a administração de AD na dose de 20nmol, tenha induzido um incremento na frequência de exibição do comportamento de ingestão de água, esse valor não foi estatisticamente diferente do controle (FIG. 7).

5.2.4 Efeitos sobre a duração

A ANOVA de duas vias indicou que não houve diferença entre as doses [$F(3,48) = 1,24$; $p < 0,3049$], também não houve diferenças significantes entre os tratamentos e nem interações entre a dose e o tratamento, [$F(1,48) = 3,28$; $p < 0,0759$] e [$F(3,48) = 1,40$; $p < 0,2537$]. Na análise dos dados sobre a duração do comportamento dipsogênico.

A duração total da ingestão de água variou bastante após o tratamento com as diferentes doses de AD, sendo que após a injeção de 20nmol foi obtido uma duração maior da resposta dipsogênica pelos ratos saciados, apesar de não diferir estatisticamente do controle.

Não foi verificada modificações estatisticamente significantes na duração de resposta de ingestão de água, após a administração de NA no MR (FIG. 7).

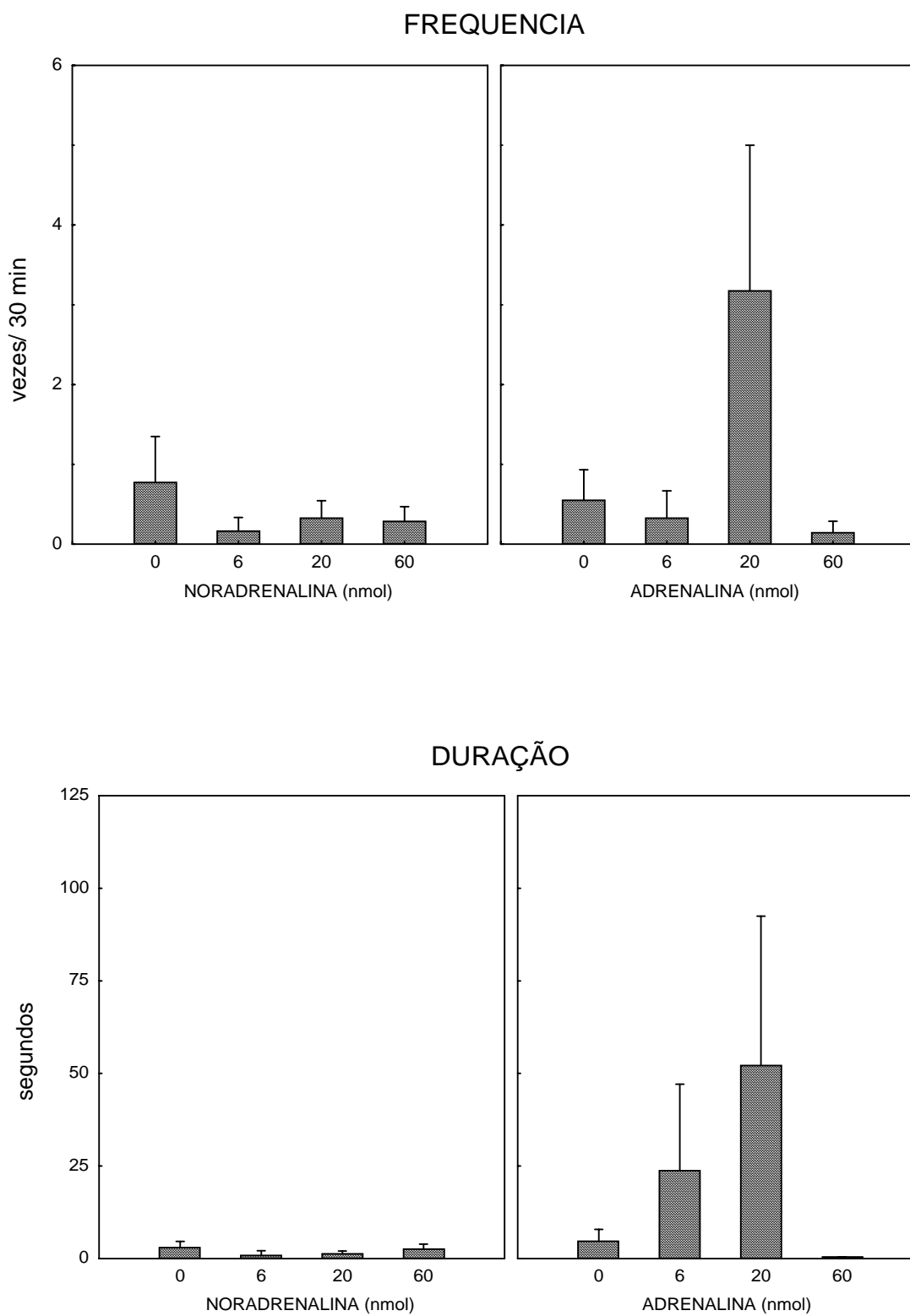


Figura 7 - Administração de VEH (n = 9 por tratamento), AD e NA nas doses de 6 (n = 6 por tratamento), 20 (n = 6 por tratamento) e 60nmol (n = 7 por tratamento) no MR de ratos saciados e seus efeitos sobre a frequência e a duração da ingestão de água avaliados durante período de 30min. * P < 0,05 em relação ao veículo.

5.3 EFEITOS DE INJEÇÃO DE CATECOLAMINAS NO MR SOBRE OS COMPORTAMENTOS NÃO INGESTIVOS

5.3.1 Efeitos sobre a latência

Os resultados da ANOVA de 2 vias estão apresentados na TAB. 1. Dentre todos os comportamentos não ingestivos, apenas a latência para iniciar o comportamento de autolimpeza apresentou alteração estatisticamente significativa entre as doses.

Tabela 1 - Resultados da ANOVA de duas vias para os resultados da latência para iniciar os comportamentos não ingestivos.

	Fator 1 - Dose	Fator 2 – Tratamento	Fator 1x2 – Dose x Tratamento
Exploração não-locomotora	[F(3,48) = 2,18; p < 0,1023]	[F(1,48) = 0,56; p < 0,4556]	[F(3,48) = 0,48; p < 0,6918]
Ereto	[F(3,48) = 1,58; p < 0,2246]	[F(1,48) = 1,34; p < 0,2521]	[F(3,48) = 1,18; p < 0,3243]
Auto - limpeza	[F(3,48) = 2,82; p < 0,0487] *	[F(1,48) = 0,20; p < 0,8880]	[F(3,48) = 0,37; p < 0,7744]
Imobilidade	[F(3,48) = 1,26; P < 0,2955]	[F(1,48) = 0,16; p < 0,8985]	[F(3,48) = 1,22; p < 0,3120]
Locomoção	[F(3,48) = 0,57; p < 0,6368]	[F(1,48) = 0,10; p < 0,7427]	[F(3,48) = 1,78; P < 0,1634]

A dose de 20nmol de AD aumentou a latência para iniciar o comportamento de autolimpeza que diferiu estatisticamente apenas do tratamento com a dose de 60nmol de AD, mas foi estatisticamente semelhante ao controle (TAB. 2).

Tabela 2 - Latência total (média \pm erro-padrão da média) para iniciar a exibição dos comportamentos não ingestivos (em segundos) de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, observados durante 30min após a injeção local de VEH ou 6nmol, 20nmol e 60nmol de AD e NA no MR, de ratos saciados. (*) Diferente da dose de 60nmol de AD ($p < 0,05$).

Tratamento	Dose nmol	Expl. n. locom.	Ereto	Auto-limpeza	Imobilidade	Locomoção
AD	0 N=9	6,18 \pm 2,75	17,35 \pm 4,23	96,79 \pm 32,76	1772,27 \pm 27,72	4,74 \pm 1,83
AD	6 N=6	1,09 \pm 0,35	31,15 \pm 7,80	47,41 \pm 16,25	1684,88 \pm 115,11	23,08 \pm 19,60
AD	20 N=6	16,86 \pm 3,20	194,71 \pm 169,49	197,02 \pm 118,83 *	1318,42 \pm 309,13	4,78 \pm 1,90
AD	60 N=7	3,72 \pm 1,05	11,23 \pm 2,33	35,37 \pm 13,09	1726,15 \pm 73,84	1,00 \pm 0,29
NA	0 N=9	18,43 \pm 12,88	21,30 \pm 7,39	66,64 \pm 20,43	1458,85 \pm 176,09	2,05 \pm 0,50
NA	6 N=6	3,70 \pm 1,57	22,50 \pm 10,09	53,69 \pm 11,75	1613,93 \pm 186,07	1,32 \pm 0,37
NA	20 N=6	17,22 \pm 7,07	28,63 \pm 1,24	156,13 \pm 51,32	1570,82 \pm 229,17	2,38 \pm 0,58
NA	60 N=7	2,64 \pm 0,38	12,33 \pm 3,34	81,58 \pm 41,61	1800,00 \pm 0,0	19,82 \pm 17,05

5.3.2 Efeitos sobre a duração

O resultado da ANOVA de 2 vias para a duração dos comportamentos não ingestivos de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, estão apresentados na TAB. 3.

Tabela 3 - Resultados da ANOVA de duas vias para os valores da duração dos diferentes comportamentos não ingestivos.

	Fator 1 - Dose	Fator 2 - Tratamento	Fator 1x2 – Dose x Tratamento
Exploração não-locomotora	[F(3,48) = 4,48; p < 0,007] *	[F(1,48) = 0,07; p < 0,79]	[F(3,48) = 0,68; p < 0,56]
Ereto	[F(3,48) = 2,31; p < 0,08]	[F(1,48) = 0,009; p < 0,92]	[F(3,48) = 0,36; p < 0,77]
Autolimpeza	[F(3,48) = 2,82; p < 0,04] *	[F(1,48) = 0,02; p < 0,88]	[F(3,48) = 0,37; p < 0,77]
Imobilidade	[F(3,48) = 1,60; p < 0,20]	[F(1,48) = 0,02; p < 0,86]	[F(3,48) = 0,48; p < 0,69]
Locomoção	[F(3,48) = 3,89; p < 0,01] *	[F(1,48) = 1,07; p < 0,30]	[F(3,48) = 1,58; p < 0,20]

Embora a ANOVA de 2 vias tenha apresentado diferenças significantes entre as doses, na análise dos dados dos comportamentos de exploração não-locomotora, autolimpeza e locomotora, o teste *post-hoc* indicou uma única diferença estatística entre a dose de 20nmol de NA e o VEH, quando o comportamento de locomoção foi avaliado. Nesse caso, a injeção de 20nmol de NA no MR elevou a duração do comportamento de locomoção (TAB. 4).

Tabela 4 - Duração total (média \pm erro-padrão da média) dos comportamentos não ingestivos (em segundos) de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, observados durante 30min após a injeção local de VEH ou 6nmol, 20nmol e 60nmol de AD e NA no MR, de ratos saciados. * $P < 0,05$ em relação ao tratamento com VEH.

Tratamento	Dose nmol	Expl. n. locom.	Ereto	Auto-limpeza	Imobilidade	Locomoção
AD	0	724,61 \pm	219,11 \pm	393,01 \pm	0,22 \pm	360,30 \pm
	N=9	79,84	33,73	70,46	0,22	31,05
AD	6	775,05 \pm	90,70 \pm	443,65 \pm	3,91 \pm	243,39 \pm
	N=6	56,02	21,74	91,19	3,91	48,96
AD	20	585,64 \pm	154,72 \pm	370,37 \pm	44,56 \pm	373,44 \pm
	N=6	56,69	68,87	108,00	42,32	54,50
AD	60	621,96 \pm	621,96 \pm	402,26 \pm	0,42 \pm	383,26 \pm
	N=7	58,53	58,53	70,29	0,42	54,98
NA	0	668,19 \pm	668,19 \pm	518,70 \pm	1,74 \pm	349,07 \pm
	N=6	78,33	78,33	67,86	1,38	52,17
NA	6	878,48 \pm	878,48 \pm	435,13 \pm	1,28 \pm	307,37 \pm
	N=6	57,76	57,76	32,20	1,28	15,31
NA	20	528,31 \pm	528,31 \pm	425,83 \pm	0,71 \pm	505,01 \pm *
	N=6	57,34	57,34	73,20	0,71	29,83
NA	60	685,00 \pm	685,00 \pm	478,35 \pm	0,00 \pm	330,67 \pm
	N=7	66,49	66,49	77,25	0,00	42,38

5.3.3 Efeitos sobre a frequência

O resultado da ANOVA para a frequência dos comportamentos não ingestivos de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, estão apresentados na TAB. 5.

Tabela 5 - Resultados da ANOVA de duas vias para os resultados da frequência dos diferentes comportamentos não ingestivos.

	Fator 1 - Dose	Fator 2 – Tratamento	Fator 1x2 – Dose x Tratamento
Exploração não-locomotora	[F(3,48) = 2,93; p < 0,04] *	[F(1,48) = 1,19; p < 0,28]	[F(3,48) = 1,28; p < 0,29]
Ereto	[F(3,48) = 2,53; p < 0,06] *	[F(1,48) = 0,94; p < 0,33]	[F(3,48) = 1,02; p < 0,38]
Autolimpeza	[F(3,48) = 1,46; p < 0,23]	[F(1,48) = 0,13; p < 0,71]	[F(3,48) = 0,73; p < 0,53]
Imobilidade	[F(3,48) = 1,40; p < 0,25]	[F(1,48) = 1,23; p < 0,27]	[F(3,48) = 1,84; p < 0,15]
Locomoção	[F(3,48) = 1,60; p < 0,20]	[F(1,48) = 0,02; p < 0,20]	[F(3,48) = 0,48; p < 0,69]

A ANOVA de 2 vias apontou diferenças estatisticamente significantes entre as doses na análise das doses de frequência de exibição do comportamento de exploração não-locomotora e ereto. A comparação entre as médias efetuada com o auxílio do Teste de Duncan indicou que a administração de 60nmol de AD no MR de ratos saciados aumentou a frequência do comportamento de exploração não-locomotora (TAB. 6).

Tabela 6 - Freqüência total (média \pm erro-padrão da média) dos comportamentos não ingestivos (em segundos) de exploração não-locomotora, ereto, autolimpeza, imobilidade e locomoção, observados durante 30min após a injeção local no MR de VEH ou 6nmol, 20nmol e 60nmol de AD e NA, em ratos saciados. * $P < 0,05$ em relação ao tratamento com VEH.

Tratamento	Dose nmol	Expl. n. locom.	Ereto	Auto-limpeza	Imobili-Dade	Locomo-Cão
AD	0	123,11 \pm	55,66 \pm	27,77 \pm	0,11 \pm	112,33 \pm
	N=9	11,66	7,60	3,53	0,11	13,84
AD	6	102,00 \pm	26,66 \pm	30,50 \pm	0,33 \pm	81,83 \pm
	N=6	10,88	6,44	3,59	0,33	12,79
AD	20	77,83 \pm	30,16 \pm	23,33 \pm	2,33 \pm	78,33 \pm
	N=6	5,58	11,02	5,35	1,80	13,01
AD	60	197,18 \pm *	63,57 \pm	38,71 \pm	0,14 \pm	122,14 \pm
	N=7	65,41	18,06	5,63	0,14	21,56
NA	0	107,66 \pm	42,44 \pm	28,77 \pm	0,55 \pm	104,22 \pm
	N=9	11,46	10,15	2,81	0,33	18,13
NA	6	111,16 \pm	28,83 \pm	28,16 \pm	0,33 \pm	92,33 \pm
	N=6	10,31	4,46	3,15	0,33	9,88
NA	20	84,66 \pm	38,00 \pm	28,00 \pm	0,16 \pm	505,01 \pm
	N=6	11,32	4,45	7,49	0,16	29,83
NA	60	117,42 \pm	39,00 \pm	30,71 \pm	0,00 \pm	108,00 \pm
	N=7	10,40	6,90	2,83	0,00	15,14

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo revelaram que a injeção de AD no MR aumentou a ingestão de alimento. A resposta da ingestão de alimento induzida por uma dose mais elevada de AD (60nmol) foi similar àquela produzida pela AD 20nmol. Entretanto, a dose mais elevada de AD afetou aspectos do comportamento ingestivo, tais como diminuição na latência para começar a alimentação e aumento na frequência da ingestão de alimento. A quantidade de alimento permaneceu inalterada após o tratamento com AD no MR. Desde que o comportamento não ingestivo registrado permaneceu inalterado após o tratamento de AD no MR, os efeitos hiperfágicos observados referentes a AD não podem ser atribuídos às mudanças na atividade motora ou em outros domínios comportamentais (não ingestivo).

Ritter e Epstein (1975), propuseram que as alterações de frequência de ingestões sugerem, uma operação de controle que inicia as refeições, um controle da fome. Enquanto que alterações do tamanho da refeição, necessitam de um controle que termine a alimentação ou ingestão, ou seja, um controle da saciedade. De acordo, sugerimos que os receptores adrenérgicos posicionados no MR são componentes dos circuitos neurais que controlam o início da alimentação ou o apetite uma vez que se sugeriu que o apetite inclui vários aspectos do padrão alimentar tais como a frequência e o tamanho dos episódios de comer (engolir versus mordiscar), as escolhas de alimentos com baixo e elevado teor de gordura, a densidade da energia dos alimentos consumidos, a variedade dos alimentos aceitos, a palatabilidade da dieta e a variabilidade na ingestão cotidiana (FINLAYSON et al., 2007; 2008).

A grelina é um peptídeo conhecido como o hormônio da fome, descoberta por pesquisadores japoneses em 1999, produzida principalmente no estômago. Quando o estômago fica vazio, ocorre um aumento na secreção de grelina, quando a cavidade gástrica está repleta, há uma diminuição na secreção de grelina. Este hormônio atua à nível do cérebro, causando a sensação de fome. Através de estudo, foi constatado que o efeito preliminar de injeções de grelina em padrões alimentares foi diminuir a latência à ingestão, conduzindo a uma extra propensão de comer logo após a administração de grelina, aumentando assim o número de refeições sem afetar o tamanho da refeição (FAULCONBRIDGE et al., 2003). Sugere-se que os receptores adrenérgicos do MR poderiam mediar os efeitos da grelina na ingestão de alimento, uma vez que este peptídeo contribui à fome preprandial e participa do início da refeição. Estes dados sugerem que o sistema noradrenérgico pode estar envolvido com o controle central do comportamento alimentar quando é observado os resultados obtidos da administração periférica de grelina (DATE et al., 2006). Além disso, a administração de grelina aumenta primeiramente o apetite do que o comportamento de consumo dos animais. Parece que o efeito principal da administração da grelina no comportamento ingestivo é aumentar a motivação dos animais a procurarem o alimento e a iniciar a alimentação.

A colecistoquinina (CCK) é um hormônio gastrointestinal (produzido por um tipo de células endócrinas), é sintetizado por neurônios do SNC (córtex), onde parece estar envolvido com mecanismos reguladores da ansiedade e do apetite. O peptídeo YY (PYY), é sintetizado no intestino e leva a informação de “estou satisfeito” ao cérebro, enviando o sinal de saciedade, provocando a perda do apetite. O controle em curto prazo da ingestão alimentar reside principalmente no tronco encefálico. Relatou-se que os neurônios A₂/C₂ do grupo das catecolaminas do tronco encefálico expressam o Fos em resposta ao tratamento com os peptídeos anoréxicos tais como CCK e PYY (RINAMAN et al., 1993; RINAMAN et al., 1995; BULLER; DIA, 1996; BLEVINS et al., 1996). Além disso, foi demonstrado que a distensão gástrica aumenta a expressão Fos nas células positivas da tirosina-hidroxilase no NTS (BERTHOUD, 2002). Os neurônios C₂ foram geralmente dirigidos sagitalmente, medialmente e lateralmente ao longo do assoalho ventricular

e ventralmente ou medialmente em direção a rafe (RUGGIERO et al., 1985), este circuito sugere um mecanismo possivelmente envolvido no controle da atividade neural dos neurônios do MR.

A injeção de AD no MR de ratos com restrição alimentar tanto diminuiu a ingestão alimentar quanto o tamanho da refeição sem afetar a latência de começar a refeição (MAIDEL et al., 2007). A opção do controle total de ingestão de alimento por mudanças no tamanho da refeição deve ser de valor adaptável considerável. O aumento na quantidade de alimento em um único momento da ingestão permitiria que os animais fizessem uso da vantagem do alimento que se tornou disponível irregularmente (RITTER; EPSTEIN, 1975). De acordo com esta sugestão, indicouse que o aumento na ingestão alimentar resulta inteiramente de um aumento no tamanho da refeição (LEVITSKY, 1970). Assim, o mecanismo adrenérgico do MR poderia estar relacionado com o regime de restrição alimentar em animais privados de alimento, afim de regular o ambiente interno tal como reservas de energia.

Estudo anterior do laboratório (MAIDEL, et al., 2007), apresenta como resultado que, o efeito hipofágico produzido pela AD nos animais com restrições alimentares foi atribuído à influência da estimulação do receptor adrenérgico mediado pela ativação dos α_1 -adrenoceptores nos neurônios serotoninérgicos do MR (ADELL et al., 1999; 2002), então permitindo a ação inibitória da 5-HT no comportamento ingestivo (BLUNDELL; LATHAM, 1979; BLUNDELL, 1984; 1991; HUTSON et al., 1986; LEIBOWITZ; ALEXANDER, 1988; CURRIE; CURZON, 1990; WIRTSHAFTER; KREBS, 1990; LEIBOWITZ, 1990; MADEIRAS et al., 1998; COSCINA, 1993; WOODS, 1998; WIRTSHAFTER, 2001; HILLEBRAND et al., 2002). O efeito hipofágico produzido pela AD em animais em regime de restrição alimentar, foi atribuída a estimulação dos receptores α_1 -adrenérgicos (excitatórios), que desencadeiam cascata de eventos intracelulares – despolarização da membrana e aumento da liberação de 5-HT em áreas de projeção envolvidas com o comportamento ingestivo, diminuindo a ingestão de alimento. No MR há alguma evidência de que a NA endógena exerce facilitação tônica direta no controle da liberação de 5-HT via receptor α_1 e inibição indireta via α_2 (ADELL e

ARTIGAS, 1999). Nos ratos alimentados livremente (dados do estudo atual), sugerimos que o efeito hiperfágico da AD poderia ser atribuído às influências inibitórias do receptor adrenérgico mediado pela ativação dos α_2 -adrenoceptores nos neurônios serotoninérgicos do MR (ADELL et al., 1999; 2002), então suprimindo a ação inibitória da 5-HT no comportamento ingestivo. Nos ratos saciados o efeito hiperfágico da AD no MR, poderia ser atribuído à ativação dos receptores α_2 adrenérgicos (inibitórios), diminuindo a liberação de 5-HT e consequentemente aumentando a ingestão de alimentos. Os receptores adrenérgicos, em particular o receptor α_2 adrenérgico está envolvido no comportamento sexual e no controle do apetite (CARLSON, 2002).

As respostas alimentares diferentes obtidas depois da injeção de AD no MR de ratos em regime de restrição alimentar ou em livre-alimentação podem ser devido às diferenças na atividade das vias aferentes adrenérgicas dirigidas a este núcleo e por diferenças no balanceamento calórico. Alterações fisiológicas depois da restrição alimentar podem representar tanto conseqüências do déficit metabólico e nutricional, quanto parte da resposta compensatória para conservar a energia e induzir a hiperfagia para reverter o déficit. Assim, é possível que o controle tônico estimulatório exercido pelos receptores α_1 (excitatórios) na liberação da 5-HT podem ser reduzidos, ou mesmo serem suprimidos, em animais em regime de alimentação restrita. Acredita-se que alterações à nível de NA e/ou no número ou função de adrenoceptores α deve modificar o comportamento ingestivo em ratos (WELLMAN, 2000). Além disso, foi relatado que a expressão do recaptador transportador de 5-HT mRNA (5-HTT) diminuiu a sua expressão no MR de rato anoréxico mutante mostrando reduções severas no peso corpóreo (JAHNG et al., 1998). O 5-HTT controla a propagação do sinal serotoninérgico oportunizada pela recaptação de 5-HT na abertura sináptica imediatamente depois de sua liberação. Assim, sugere-se que a expressão 5-HTT diminuída no MR pela restrição crônica do alimento pode ter contribuído para o efeito hipofágico do tratamento com AD neste núcleo.

Entretanto, observou-se que poucas células exibiram FOS-IR+5-HT-IR dentro dos núcleos do rafe durante a ingestão de alimento por 30 minutos, sugerindo que os circuitos serotoninérgicos da rafe poderiam ser ligeiramente ativados durante a ingestão alimentar (TAKASE; NOGUEIRA, 2008). Assim, os efeitos adrenérgicos na ingestão de alimento em animais com restrição alimentar (MAIDEL et al., 2007) ou alimentados livremente (resultados atuais) poderiam ser devido a ativação dos neurônios não serotoninérgicos posicionados no MR (LEGER; WIKLUND, 1982; VERTES; CRAINE, 1997).

Alternativamente, as mudanças na disponibilidade do substrato energético no programa de restrição alimentar ou de livre alimentação poderiam afetar a influência adrenérgica nos neurônios do MR, justificando as diferentes respostas na ingestão alimentar induzidas pela AD em ambas condições de restrição alimentar ou de animais alimentados livremente. De acordo com esta sugestão, relatou-se que 24h de privação alimentar aumentam a expressão de tirosina-hidroxilase (importante enzima na biossíntese das catecolaminas – DA, AD e NA; o aumento na sua expressão, melhora ou incrementa a transmissão catecolaminérgica) enquanto diminui a expressão de monoamina-oxidase (MAO) no LC de camundongos (JAHNG et al., 1998). Com o MR recebendo aferentes adrenérgicos do LC (MARZINKIEWICZ et al., 1989), as mudanças na tirosina-hidroxilase e a expressão da MAO neste núcleo podem contribuir para aumentar a eficácia sináptica da NA endógena em animais com restrição alimentar modificando então, através do mecanismo de baixa regulação o número ou a sensibilidade do receptor adrenérgico encontrado no MR durante o regime de restrição alimentar. Inversamente, em condição de livre alimentação, o mecanismo de alta regulação pode aumentar o número ou a sensibilidade do receptor adrenérgico e facilitar a resposta de ingestão de alimento induzida pela injeção de catecolamina no MR.

Como observado previamente nos animais em regime de restrição alimentar (MAIDEL et al., 2007), a injeção de NA no MR de ratos alimentados livremente também não alterou nenhuma variável relacionada ao comportamento ingestivo. É um dado curioso, uma vez que a AD e a NA são agonistas α_1 -adrenoceptores.

Poderíamos sugerir a participação dos receptores β -adrenérgicos no controle da ingestão alimentar exercido pelos neurônios do MR, especialmente o β_2 -adrenoceptor, uma vez que a AD é mais eficaz do que a NA para estimular este subtipo de receptor adrenérgico (LEIBOWITZ, 1988).

A diminuição na latência para iniciar a ingestão hídrica induzida pela dose de AD 20nmol sugere a participação dos receptores adrenérgicos do MR nos circuitos que controlam a ingestão hídrica. A participação do MR nos circuitos que controlam a ingestão hídrica já havia sido indicada pelo aumento na ingestão hídrica e alimentar provocadas por injeções ambas intra-MR de muscinol (agonista do receptor GABA_A) e do baclofen (agonista do receptor GABA_B) (KLITENICK; WIRTSHAFTER, 1988; WIRTSHAFTER et al., 1993).

O GABA e a glicina são exemplo de aminoácidos inibitórios, quando os receptores GABA são ativados, promovem dentre outras funções o aumento da ingestão hídrica e alimentar. O baclofen, inibe o influxo pré-sináptico de cálcio, que bloqueia a liberação de neurotransmissores excitatórios, inibe a despolarização da membrana. O muscinol promove a inativação dos neurônios do MR, aumentando a ingestão de água e alimento.

Além disso, as injeções intra-MR de diversos antagonistas aminoácidos excitatórios diferentes estimularam também a ingestão hídrica e alimentar (WIRTSHAFTER; KREBS, 1990; WIRTSHAFTER; TRIFUNOVIC, 1988). Os antagonistas dos aminoácidos excitatórios administrados no MR (WIRTSHAFTER et al., 1993) desempenham papel inibitório sobre os neurônios deste núcleo, promovendo aumento da ingestão hídrica e alimentar. Pois, quando os receptores dos aminoácidos excitatórios (exemplo: glutamato) são ativados, desencadeiam um potencial de ação, levando a uma despolarização de neurônios do SNC aumentando o influxo de cálcio, ocasionando a excitação dos neurônios do SNC, logo, com a administração dos antagonistas têm-se o efeito contrário.

Assim, adicionado aos receptores adrenérgicos, o GABA e os receptores de aminoácidos excitatórios encontrados no MR também fazem parte dos mecanismos neurais que controlam a ingestão hídrica.

7 CONCLUSÃO

Em conclusão, os dados atuais destacam o papel funcional dos receptores adrenérgicos do MR no controle da ingestão alimentar, sugerindo que as ativações dos receptores adrenérgicos deste núcleo participam dos mecanismos que controlam o início da alimentação. Além disso, nossos resultados indicam também que a disponibilidade de substrato energético pode afetar a influência adrenérgica sobre neurônios do MR que participam na regulação da ingestão alimentar.

REFERÊNCIAS

ADELL, A.; CELADA, P.; TERESA ABELLAN, M.; ARTIGAS, F. Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. **Brain Res. Rev.** 39: 154-80, 2002.

ADELL, A.; ARTIGAS, F. Regulation of the release of 5-hydroxytryptamine in the median raphe nucleus of the rat by catecholaminergic afferents. **Eur. J. Neurosci.**; 11: 2305-2311, 1999.

AGHAJANIAN, G. K.; WANG, R. Y. Habenular and other midbrain raphe afferents demonstrated by a modified retrograde tracing technique. **Brain Res.**, 122, 229-242, 1977.

ASIN, K. E.; FIBIGER, H. C. An analysis of neuronal elements within the median nucleus of the raphe that mediate lesion induced increases in locomotor activity. **Brain Res.**; 268, 211-213, 1983.

ATRENS, E. C; MENÉNDEZ, J. A. Glucagon and paraventricular hypothalamus: modulation of energy balance. **Brain Res.**, 630: 245-251, 1993.

BALDWIN, B. A.; RIVA, C. Effects of the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT on operant feeding in pigs. **Physiol. Behav.**, 58:611-613, 1995.

BARBARICH, O. N. Is there a common mechanism of serotonin dysregulation in anorexia nervosa and obsessive compulsive disorder? **Eat Weight Disord.**, 7: 221-31, 2002.

BARNES, N. M.; SHARP, T. A. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, 38:1083-1152, 1999.

BECK, S. G.; PAN, Y. S.; AKANWA, A. C.; KIRBY, L. G. Median and dorsal raphe neurons are not electrophysiologically identical. **J. Neurophysiol.**, 91, 994-1005, 2004.

BENDOTTI, C.; SAMANIN, R. The role of putative 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the control of feeding in rats. **Life Sci.**, 41:635-642, 1987.

BENDOTTI, C., SAMANIN, R. 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) elicits eating in free-feeding rats by acting on central serotonin neurons. **Eur. J. Pharmacol.**, 121: 147-150, 1986.

BERK, M. L.; FINKELSTEIN, J. A. Efferent connections of the lateral hypothalamic area of the rat: an autoradiographic and degeneration study. **Brain Res. Bull.**, 8: 511-526, 1982.

BERTHOUD, H. R. Multiple neural systems controlling food intake and body weight. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 26: 393-428, 2002.

BLEVINS, J. E.; SCHWARTZ, M. W.; BASKIN, D. G. Peptide signals regulation food intake and energy homeostasis. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 80, 396-406, 2002.

BLIER, P.; Crosstalk between the norepinephrine and serotonin systems and its role in the antidepressant response. **J. Psychiatry Neurosci.**, 26: S3-S10, 2001.

BLUNDELL, J. E.; HALFORD, J. C. G. Metergoline antagonizes fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. **Pharmacol. Biochem. Behav.** 54: 745-751, 1996.

BLUNDELL, J. E. Is there a role for serotonin (5-hydroxytryptamine) in feeding? **Int. J. Obes.**, 1(1): 15-42, 1977.

BLUNDELL, J. E. Pharmacological approaches to appetite suppression. **Trends Pharmacol. Sci.** 12:147-157, 1991.

BLUNDELL, J. E. Serotonin and appetite. **Neuropharmacology**, 23: 1537-1551, 1984.

BLUNDELL, J. E.; LATHAM, C. J. Serotonergic influences on food intake: effect of 5-hydroxytryptophan on parameter of feeding behaviour in deprived and free-feeding rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 11:431-437, 1979.

BOVETTO, S.; RICHARDS, D. Functional assessment of the 5-HT 1A-, 1B-, 2A/2C-, e 3-receptor subtypes on food intake and metabolic rate in rats. **Am. J. Physiol.**, 268: 14-20, 1995.

BULLER, KM, DAY TA. Involvement of medullary catecholamine cells in neuroendocrine responses to systemic cholecystokinin. **J. Neuroendocrinol.**, 8:819-824, 1996.

BRAY, G. A.; YORK, D. A.; FISLER, J. S. Experimental obesity: a homeostatic failure due to defective nutrient stimulation of the sympathetic nervous system. **Obesity**, 45: 1-124, 1989.

BURNS, G. A.; RITTER, R. C. The non-competitive NMDA antagonist MK-801 increases food intake in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 56: 145-149, 1997.

CASANOVAS, J. M.; ARTIGAS, F. Differential effects of ipsapirone on 5-hydroxytryptamine release in the dorsal and median raphe neuronal pathways. **J. Neurochem.**, 67, 1945-1952, 1996.

CARLSON, N. C. **Fisiologia do Comportamento**, Manole: São Paulo.2002. ISBN 8520411614.

CHAPELOT, D.; MARMONIER, C.; THOMAS, F.; HANOTIN, C. Modalities of the food intake-reducing effect of sibutramine in humans. **Physiol. Behav.**, 66:299-308, 2000.

CHRONWALL, B. M. Anatomy and physiology of the neuroendocrine arcuate nucleus. **Peptides**, 2: 6-11, 1985.

COLLIN, O. M., BÄCKBERG, O. M.; ONNESTAM, O. K.; MEISTER, O. B. 5-HT_{1A} receptor immunoreactivity in hypothalamic neurons involved in body weight control. **Neuroreport**, 13: 945-51, 2002.

COMMONS, K. G.; CONOLLEY, K. R.; VALENTINO, R. J. A neurochemically distinct dorsal raphe-limbic circuit with a potential role in affective disorders. **Neuropsychopharmacology**, 28, 206-215, 2003.

CURRIE, O. P. J.; COIRO, O. C. D.; NIYOMCHAI, O. T.; LIRA, O. A.; FARAHMAND, O. F. Hypothalamic paraventricular 5-hydroxytryptamine: receptor-specific inhibition of NPY-stimulated eating and energy metabolism. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 71: 709-16, 2002.

CURRIE, P. J.; COSCINA, D. V. Diurnal variations in the feeding response to 8-OHDPAT injected into the dorsal or median raphe. **Neuroreport**, 4: 1105-1107, 1993.

CURZON, G. Serotonin and appetite. **Ann. NY Acad. Sci.**, 600: 521-531, 1990.

DATE Y, SHIMBARA T, KODA S, TOSHINAI K, IDA T, MURAKAMI N, MIYAZATO M, KOKAME K, ISHIZUKA Y, ISHIDA Y, KAGEYAMA H, SHIODA S, KANGAWA K, NAKAZATO M. Peripheral ghrelin transmits orexigenic signals through the noradrenergic pathway from the hindbrain to the hypothalamus. **Cell Metab.**, 4:323–331, 2006.

DAVIDSON, C.; STAMFORD, J. A. Evidence that 5-hydroxytryptamine release in rat dorsal raphe nucleus is controlled by 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} autoreceptors. **Br. J. Pharmacol.**, 114: 1107-1109, 1995.

DAY, H. E.; GREENWOOD, B. N.; HAMMACK, S. E.; WALTAKINS, L. R.; FLESHNER, M.; MAIER, S. F.; CAMPEAU, S. Differential expression of 5-HT_{1A}, alpha 1b adrenergic, CRF-R1, and CRF-R2 receptor mRNA in serotonergic, gamma-aminobutyric acidergic, and catecholaminergic cells of the rat dorsal raphe nucleus. **J. Comp. Neurol.**, 474, 364-378, 2004.

DE FALCO, J.; TOMISHIMA, M.; LIU, H.; ZHAO, C.; CAI, X.; MARTH, J. D.; ENQUIST, L.; FRIEDMAN, J. M. Virus-assisted mapping of neural inputs to a feeding center in the hypothalamus. **Science**, 291: 2608-2613, 2001.

DE VRY, J.; SCHREIBER, R. Effects of selected serotonin 5-HT₁ and 5-HT₂ receptor agonists on feeding behaviour: possible mechanisms of action. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 24: 341-353, 2000.

DE VRY, J.; SCHREIBER, R.; DASCHKE, A.; JENTZSCH, K. R. Effects of serotonin 5-HT_{1/2} agonists in a limited-access operant food intake paradigm in the rat. **Eur. Neuropsychopharmacol.**, 1: 1-9, 2003.

DOURISH, C. T.; HUTSON, P. H.; CURZON, G. Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). **Brain Res. Bull.**, 15:377-384, 1985.

DOURISH, C. T.; HUTSON, P. H.; KENNETT, G. A.; CURZON, G. 8-OH-DPAT induced hyperphagia: its neural basis and possible therapeutic relevance. **Appetite (Suppl.)**, 7:127-140, 1986.

DRYDEN, J.; WANG, Q.; FRANKISH, H. M.; WILLIAMS, G. Increased feeding and neuropeptide Y (NPY) but not NPY mRNA levels in the hypothalamus of the rat following central administration of serotonin synthesis inhibitor p-chlorophenylalanine. **Brain Res.**, 724: 232-237, 1996.

EBENEZER, I. S.; PARROTT, R. F.; VELLUCCI, S. V. Effects of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT on operant food intake in food-deprived pigs. **Physiol. Behav.**, 67:213-217, 1999.

ELMQUIST, J.; ELIAS, C.; SAPER, C. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. **Neuron**, 22: 221-232, 1999.

FAULCONBRIDGE L.F., CUMMINGS D.E., KAPLAN J.M., GRILL H.J. Hyperphagic effects of brainstem ghrelin administration. **Diabetes**, 52:2260-2265, 2003.

FINLAYSON G., KING N., BLUNDELL, J.E. Liking vs. wanting food: Importance for human appetite control and weight regulation. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 31:987–2002, 2007.

FINLAYSON G., KING N., BLUNDELL, J. E. The role of implicit wanting in relation to explicit liking and wanting for food: implications for appetite control. **Appetite**, 50: 120-127, 2008.

FLETCHER, A., FOSTER, E. A., BILL, D. J., BROWN, G.; CLIFFE, L. A.; HARTLEY, J. E.; JONES, D. E.; NCLENACHAN, A.; STANHOPE, K. J.; CRITCLEY, D. J.; CHILDS, K. J.; MIDDLEFELL, V. C.; LANFUMEY, L.; CORRADETTI, R.; LAPORTE, A. M.; GOZLAN, H.; HAMON, M.; DOURISH, C. T. Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioural studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT_{1A} receptor antagonist. **Behav. Brain Res.**, 73, 337-353, 1996.

FLETCHER, P. J.; COSCINA, D. V. Injecting 5-HT into PVN does not prevent feeding induced by injecting 8-OH-DPAT into the raphe. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 46: 487-491, 1993.

FLETCHER, P. J.; DAVIES, M. Dorsal raphe microinjection 5-HT and indirect 5-HT agonists induces feeding in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, 184: 265-271, 1990.

FLETCHER, P. J.; PATERSON, I. A. A comparison of the effects of tryptamine and 5-hydroxytryptamine of feeding following injection into the Paraventricular nucleus of the hypothalamus. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 32: 907-911, 1989.

FLETCHER, P. J. Opiate antagonists inhibit feeding induced by 8-OH-DPAT: possible mediation in the nucleus accumbens. **Brain Res.**, 560: 260-267, 1991.

FUNAHASHI, H.; TAKENOYA, F.; GUAN, J.; KAGEYAMA, H.; YADA, T.; SHIODA, S. Hypothalamic neuronal networks and feeding-related peptides involved in the regulation of feeding. **Anat. Sci. Intern.**, 78(3): 123-132, 2002.

GARTSIDE, S. E.; UMBERS, V.; SHARP, T. inhibition of 5-HT cell firing in the DRN by non-selective 5-HT reuptake inhibitors: studies on the role of 5-HT_{1A} autoreceptors and noradrenergic mechanisms. **Psychopharmacology.**, 130, 261-268, 1997b.

GEYER, M. A.; PETERSON, L. R.; ROSE, G. J. Effects of serotonergic lesions on investigatory responding by rats in a holeboard. **Behav. Neural Biol.**; 30: 160-177, 1980.

GLAUM, S. R.; HARA, M.; BINDOKAS, V. P.; LEE, C. C.; POLONSKY, K. S.; BELL, G. I.; MULLER, R. J. Leptin, the obese gene product, rapidly, modulates synaptic transmission in the hypothalamus. **Mol. Pharmacol.**, 50: 230-235, 1996.

GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S.; DE ANDRADE, T. G. C. S.; DEAKIN, J. F. W. Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 54: 129-141, 1996.

GRAEFF, F. G. Ansiedade. Em GRAEFF, F. G.; BRANDÃO, M. L. **Neurobiologia das doenças mentais**. 5 ed. São Paulo: Lemos Editorial e Gráficos Ltda, 109-144, 1999.

GROSSMAN, S. P.; GROSSMAN, L. Food and water intake following lesions or electrical stimulation of the amygdale. **Am. J. Physiol.**, 205: 761-765, 1963.

HADDJERI, N.; BLIER, P.; MONTIGNY, C. Acute and long-term actions of the antidepressant drug mirtazapine on central 5-HT neurotransmission. **J. Affect. Disord.**, 51, 255-266, 1998.

HAJÓS, M.; GARTSIDE, S. E.; SHARP, T. Inhibition of median and dorsal raphe neurons following administration of the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. **Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, 351, 624-629, 1995.

HALFORD, J. C. G.; BLUNDELL, J. E. Metergoline antagonizes fluoxetine-induced suppression of food intake but not changes in the behavioural satiety sequence. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 54:745-751, 1996a.

HALFORD, J. C. G.; BLUNDELL, J. E. The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94, 253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. **Physiol. Behav.**, 60: 933-939, 1996b.

HALFORD, J. C. G.; WANNINAYAKE, S. C. D.; BLUNDELL, J. E. Behavioural satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **Pharmacol. Biochem. Behav.**; 61: 159-168, 1998.

HENSLER, J. G. Serotonergic modulation of the limbic system. **Neurosci. Biobehav. Rev.**, 30: 203-214, 2006.

HERVAS, I.; BEL, N.; FERNANDEZ, A. G.; PALACIOS, J. M.; ARTIGAS, F. In vivo control of 5-hydroxytryptamine release by terminal autoreceptors in rat brain areas differentially innervated by the dorsal and median raphe nuclei. **Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.**, 358: 315-322, 1998.

HILLEBRAND J. J. G, WIED D., ADAN R. A. H. Neuropeptides, food intake and body weight regulation: a hypothalamic focus. **Peptides**, 23:2283–2306, 2002.

HISANO, S.; KAGOTANI, Y.; TSURUO, Y.; DAIKOKU, S.; CHIHARA, K.; WHITNALL, M. H. Localization of glucocorticoid receptor in neuropeptide Y-containing neurons in the arcuate nucleus of the rat hypothalamus. **Neurosci. Lett.**, 95: 13-18, 1998.

HJORTH, S.; SHAP, T. Effect of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. **Life Sci.**, 48: 1779-1786, 1991.

HOPWOOD, S. E.; STAMFORD, J. A. Multiple 5-HT(1) autoreceptor subtypes govern serotonin release in dorsal and median raphe nuclei. **Neuropharmacology**, 40: 508-519, 2001.

HORSCHITZ, S.; HUMMERICH, R.; SCHLOSS, P. Structure, function and regulation of the 5-hydroxytryptamine (serotonin) transporter. **Biochem. Soc. Trans.**, 29: 728-732, 2001.

HORVATH, T. L.; DIANO, S.; VAN DEN POL, A. N. Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: a novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. **J. Neurosci.**, 19: 1072-87, 1999.

HUTSON, P. H.; DOURISH, C. T.; CURZON, G. Neurochemical and behavioural evidence for mediation of the hyperphagic action of 8-OH-DPAT by 5-HT cell body autoreceptors. **Eur. J. Pharmacol.**, 129: 347-52, 1986.

JACOBS, B. L.; AZMITIA, E. C. Structure and function of the brain serotonin system. **Physiol. Rev.**; 72: 165-229, 1992.

JACOBS, B. L.; FORNAL, C. A.; RIBEIRO-DO-VALLE, L. E.; LITTO, W. J.; WILKINSON, L. O. Effects of 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT) on food intake and serotonergic dorsal raphe unit activity in behaving cats. **Soc. Neurosci. Abstr.**, 17:91, 1989.

JAHNG J.W., HOUP T.A., JOH T.H., SON J.H. Differential expression of monoamine oxidase A, serotonin transporter, tyrosine hydroxylase and norepinephrine transporter mRNA by anorexia mutation and food deprivation. **Brain Res. Dev. Brain Res.**, 1998; 107:241-246.

JONES, B. J.; BLACKBURN, T. P. The medical benefit of 5-HT research. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 71: 555-68, 2002.

JUDGE, S. J.; GARTSIDE, S. E. Firing of 5-HT neurons in the dorsal and median raphe nucleus in vitro shows differential α_1 -adrenoceptor and 5-HT_{1A} receptor modulation. **Neurochemistry International**, 48: 100-107, 2006.

KIRBY, L. G.; PERNAR, L.; VALENTINO, R. J.; BECK, S. G. Distinguishing characteristics of serotonin and non-serotonin-containing cells in the dorsal raphe nucleus: electrophysiological and immunohistochemical studies. **Neuroscience**, 116, 669-683, 2003.

KISS, J. Z. Dynamism of chemoarchitecture in the hypothalamamic paraventricular nucleus. **Brain Res. Bull**, 20: 699-708, 1988.

KLITENICK, M. A.; WIRTSHAFTER, D. Behavioral and neurochemical effects of opioids in the paramedian midbrain tegmentum including the median raphe nucleus and ventral tegmental area. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**; 273, 327-336, 1995.

KLITENICK M.A., WIRTSHAFTER D. Comparative studies of the ingestive behaviors produced by microinjections of muscimol into the midbrain raphe nuclei of the ventral tegmental area of the rat. **Life Sci.**, 42:775-782, 1988.

LECHIN, F.; DIJS, B. V. D.; ADRIÁN, G. H. Dorsal raphe vs. Median raphe serotonergic antagonism. Anatomical, physiological, behavioral, neuroendocrinological, neuropharmacological and clinical evidences: Relevance for neuropharmacological therapy. **Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry**; 30: 565-585, 2006.

LÉGER L., WIKLUND L. Distribution and numbers of indoleamine cell bodies in the cat brainstem determined with Falck-Hillarp fluorescence histochemistry. **Brain Res. Bull.**, 9:245-251, 1982.

LEIBOWITZ, S. F.; ALEXANDER, J. T. Serotonin in control of eating behavior, meal size and body weight. **Biol. Psychiatry**, 44:851-864, 1998.

LEIBOWITZ, S. F.; SHOR-POSTNER, G.; WEISS, G. F. Serotonin in medial hypothalamic nuclei controls circadian pattern of macronutrient intake. In: PAOLETTI, R. Serotonin: From Cell Biology to Pharmacology and Therapeutics, Kluwer Academic Publisher. The **Neetherlands**, 203-211, 1990.

LEIBOWITZ, S. F. Hypothalamic Paraventricular nucleus: Interaction between α_2 – noradrenergic system and circulating hormones and nutrients in relation to energy balance. **Neurosci. Biobehav.**, 12, 101-109, 1988.

LEVITSKY D. A. Feeding patterns of rats in response to fasts and changes in environmental conditions. **Physiol. Behav.**; 5:291-300, 1970.

LI, C.; CHEIN, P.; SMITH, M. S. Identification of neuronal inputs to the arcuate nucleus (ARH) activated during lactation: implications in the activation of neuropeptide Y neurons. **Brain Res.**, 824: 267-276, 1999.

LIND, R. W. Bi-directional, chemically specified neural connections between the subfornical organ and the midbrain raphe system. **Brain Res.**, 384: 250-261, 1986.

LORENS, S. A. Some behavioural effects of serotonin depend on method: a comparison of 5,7-dihydroxytryptamine, p-cloroamphetamine and electrolytic raphe lesions. **Ann. NY Acad. Sci.**, 305, 532-535, 1978.

LOWRY, C. A. Functional subsets of serotonergic neurons: implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **J. Neuroendocrinol.**, 14: 911-923, 2002.

LUITEN, P. G.; HORST, G. J.; STEFFENS, A. B. The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism. **Prog. Neurobiol.**, 28: 1-54, 1987.

LYNCH, R. M.; TOMPKINS, L. S.; BROOKS, H. L.; DUNN-MEYNELL, A. A.; LEVIN, B. E. Localization of glicokinase gene expression in the rat brain. **Diabetes**, 49: 693-700, 2000.

MACKENZIE, R. G.; HOEBEL, B. G.; DUCRET, R. P.; TRULSON, M. E. Hyperphagia following intraventricular p-chlorophenylalanine-, leucine- or tryptophan-methyl esters: lack of correlation with whole brain serotonin levels. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 10:951-955, 1979.

MAIDEL S., LUCINDA A.M., DE AQUINO V.W., FARIA M.S., PASCHOALINI M.A. The adrenaline microinjection into the median raphe nucleus induced hypophagic effect in rats submitted to food restriction regimen. **Neurosci. Lett.**, 422: 123-127, 2007.

MAMOUNAS, L. A.; MOLLIVER, M. E. Evidence for dual serotonergic projections to neocortex: axons from the dorsal and median raphe nuclei are differentially vulnerable to the neurotoxin p-chloroamphetamine (PCA). **Exp. Neurol.**, 102: 23-36, 1988.

MARINO-NETO J.; SABI M.; PASCHOALINI M. A. Adrenergic Mechanisms. In: **Encyclopedia of Endocrine Diseases**, v. 1, p. 106-111. Academic Press, 2004.

MARTIN, L. P.; JACKSON, D. M.; WALLSTEN, C.; WASZCZAK, B. L. Electrophysiological comparison of 5-HT_{1a} receptor antagonists on dorsal raphe cell firing. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, 288:820-826, 1999.

MARZINKIEWICZ M., MORCOS R., CHRETIEN M. CNS connections with the median raphe nucleus: retrograde tracing with WGAapoHRP-Gold complex in the rat. **J. Comp. Neurol.**, 289:11-35, 1989.

MENESES, A. 5-HT system and cognition. **Neurosci. Biobehav.**, 23: 1111-25, 1999.

MIDDLEMISS, D. N.; FOZARD, J. R. 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin discriminates between subtypes of the 5-HT₁ recognition site. **Eur. J. Pharmacol.**, 90:151-153, 1983.

MONTGOMERY, A. M. J.; FLETCHER, P. J.; BURTON, M. J. Behavioral and pharmacological investigations of 5-HT hypophagia and hyperdipsia. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 25: 23-28, 1986.

MORLEY, J. E. Neuropeptide regulation of appetite and weight. **Endocr. Rev.**, 8: 256-287, 1987.

NAGAI, K.; INO, H.; YAMAMOTO, H.; YAMANO, M.; TOHYAMA, M.; SHIOSAKA, S.; SHIOTANI, Y.; INAGAKI, S.; KITO, S. Lesions in the lateral part of the dorsal parabrachial nucleus caused hyperphagia and obesity. **J. Clin. Biochem. Nutr.**, 3: 103-112, 1987.

NEARY, N. M.; GOLDSTONE, A. P.; BLOOM, S. R. Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. **Clinical Endocrinol.**, 60(2): 153-160, 2004.

NINA, P. T. The Functional Anatomy, Neurochemistry, and Pharmacol of Anxiety. **J. Clin. Psychiatry.**, 60(22): 12-17, 1999.

O'LEARY, O. F.; BECHTHOLT, A. J.; CROWLEY, J. J.; VALENTINO, R. J.; LUCKI, I. The role of noradrenergic tone in the dorsal raphe nucleus of the mouse in the acute behavioral effects of antidepressant drugs. **Eur. Neuropsychopharmacol.**; 17, 215-226, 2007.

OTTONI, E. B. Etholog2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. **Behav. Res. Methods, instruments & Computers.**, 32: 446-449, 2000.

PATRICK, O. L. Eating disorders: a review of the literature with emphasis on medical complications and clinical nutrition. **Altern. Med. Rev.**, 07: 184-202, 2002.

PAXINOS G, WATSON C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. 6th ed. New York: Academic Press & Elsevier Inc., 2007.

PERRIN, D.; MAMET, J.; GELOEN, A.; MOREL, G.; DALMAZ, Y.; PEQUIGNOT, J. M.; Sympathetic and brain monoaminergic regulation of energy balance in obesity-resistant rats (Lou/C). **Auton. Neurosci.**, 109 (1-2): 1-9, 2003.

PHILLIP, M.; HEIN, L. Adrenergic receptor knockout mice: distinct functions of 9 receptor subtypes. **Pharmacol. and Therapeutics**, 101 (1): 65-74, 2004.

REIDY, S. P; WEBER, J. M. Leptin: na essencial regulator of lipid metabolism. **Comp. Biochem. Physiol.**, (A), 125: 285-297, 2000.

RIAD, M.; GARCIA, S.; WALTRICK, K. C.; JODOIN, N.; DOUCET, E.; LANGLOIS, X.; *et al.* Somatodendritic localization of 5-HT1A and preterminal axonal localization of 5-HT1B serotonin receptors in adult rat brain. **J. Comp. Neurol.**, 417: 181-194, 2000.

RINAMAN L., HOFFMAN G. E., DOHANICS J., LE W.W., STRICKER E. M., VERBALIS J. G. Cholecystokinin activates catecholaminergic neurons in the caudal medulla that innervate the paraventricular nucleus of the hypothalamus in rats. **J. Comp. Neurol.**, 360: 246-256, 1995.

RINAMAN L., VERBALIS J. G., STRICKER E. M., HOFFMAN G. E. Distribution and neurochemical phenotypes of caudal medullary neurons activated to express cFos following peripheral administration of cholecystokinin. **J. Comp. Neurol.**, 338: 475-490, 1993.

RITTER RC; EPSTEIN AN. Control of meal size by central noradrenergic action. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, 72: 3740-3743, 1975.

ROUQUIER, L.; CLAUSTER, Y.; BENAVIDES, J. α_1 -Adrenoceptor antagonists differentially control serotonin release in the hippocampus and striatum: a microdialysis study. **Eur. J. Pharmacol.**, 261, 59-64, 1994.

ROWLAND, N. E.; MORIEN, A.; LI, B. The physiology and brain mechanisms of feeding. **Nutrition**, 12: 626-639, 1996.

RUGGIERO DA, ROSS CA, ANWAR M, PARK DH, JOH TH, REIS DJ. Distribution of neurons containing phenylethanolamine N-methyltransferase in medulla and hypothalamus of rat. **J. Comp. Neurol.**, 239:127-154, 1985.

SALLER, C. F., STRICKER, E. M. Hyperphagia and increased growth in rats after intracerebroventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. **Science**, 192, 385-387, 1976.

SCHAFFAR, N.; KESSLER, J. P.; BOSLER, O.; JEAN, A. Central serotonergic projection to the nucleus tractus solitarii: evidence from a double labeling study in the rat. **Neuroscience**, 26: 951-958, 1988.

SCHREIBER, R., SELBACH, K., ASMUSSEN, M., HESSE, A., DE VRY, J. Effects of serotonin_{1/2} receptor agonists on dark-phase food and water intake in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 67: 291-305, 2000.

SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE-JR, D.; SEELEY, R. J.; BASKIN, D. G. Central nervous system control of food intake. **Nature**, 404: 661-671, 2000.

SERRATS, J.; MENGOD, G.; CORTES, R. Expression of serotonin 5-HT_{2C} receptors in GABAergic cells of the anterior raphe nuclei. **J. Chem. Neuroanat.**, 29, 83-91, 2005.

SHEPHERD, J. K.; RODGERS, R. J. 8-OH-DPAT specifically enhances feeding behavior in mice: evidence from behavioural competition. **Psychopharmacology**, 101:408-413, 1990.

SHOR-POSTNER, G.; e cols. Déficits in the control of food intake after hypothalamic paraventricular nucleus lesions. **Physiol. Behav.**, 35: 883-890, 1986.

SHOR-POSTNER, G.; GRINKER, J. A.; MARMESON, C.; BROWN, O.; LEIBOWITZ, S. F. Hypothalamic serotonin in the control of meal patterns and macronutrient selection. **Brain Res. Bull.**, 17: 663-671, 1996.

SIMANSKY, K. J.; EBERLE, WANG, K.; GEARY, N. Serotonergic mechanisms and ingestion: pharmacological facts and physiological promises. **Appetite**, 21: 220, 1993.

SIMANSKY, Y. J.; VAIDYA, A. H. Behavioral mechanisms for the anorectic action of the serotonin (5-HT) uptake inhibitor sertraline in rats: comparison with directly acting 5-HT agonists. **Brain Res. Bull.**, 25:953-960, 1990.

SINTON, C. M.; FALLON, S. L. Electrophysiological evidence for a functional differentiation between subtypes of the 5-HT receptor. **Eur. J. Pharmacol.**, 157: 173-181, 1988.

SPROUSE, J. S.; AGHAJANIAN, G. K. Electrical responses of serotonergic raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. **Sinapse**, 1:3-9, 1987.

STANLEY, B. G.; HA, L. H.; SPEARS, L. C.; DEE, M. G. Lateral hypothalamic injections of glutamate, kainic acid, D, L- α -amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole propionic acid or N-methyl-D-aspartic acid rapidly elicit intense transient eating in rats. **Brain Res.**, 613:88-95, 1993a.

STANLEY, B. G.; HA, L. H.; SPEARS, L. C.; DEE, M. G. The lateral hypothalamus: a primary site mediating amino acid-elicited eating. **Brain Res.**, 630:41-49, 1993b.

STEFFENS, A. B.; SCHEURINK, A. J. W.; LUTTEN, P. G. M.; BOHUS, B. Hypothalamic food intake regulating areas are involved in the homeostasis of blood glucose and plasma FFA levels. **Physiol. Behav.**, 44: 581-589, 1988.

SWANSON, L. W.; SAWCHENKO, P. E. Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. **Neuroendocrinology**, 31: 410-417, 1980.

TAKASE, L. F.; NOGUEIRA, M. I. Patterns of activation in rat nuclei during feeding behavior. **Brain Res.**, 1200, 10-18, 2008.

TAO, R.; MA, Z.; AUERBACH, S. B. Differential effect of local infusion of serotonin reuptake inhibitors in the raphe versus forebrain and the role of depolarization-induced release in increased extracellular serotonin. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**; 294: 571-579, 2000.

TECOTT, L. H.; SUN, L. M., SKANA, S. F., STRACK, A. M., LOWENSTEIN, D. H., DALLMAN, M. F., *et al.* Eating disorder and epilepsy in mice lacking the 5-HT_{2C} serotonin receptor. **Nature**, 374: 542-6, 1995.

TONG, Y.; *et cols.* Regulation of propiomelano-cortin messenger ribonucleic acid content by sex steroids in the arcuate nucleus of the female rat brain. **Neurosci. Lett.**, 112: 104-108, 1990.

TORK, L. Anatomy of the serotonergic system. **Ann. NY Acad. Sci.**, 600, 9-34., 1990.

VAN DER GUGTENA, J.; KLOETA, E. R.; VERSTEEGA, D. H. G.; SLANGENB, J. L. Regional hypothalamic catecholamine metabolism and food intake regulation in the rat. **Brain Res.**, 135: 325-336, 1977.

VARNÄS, K., HALL, H., BONAVENTURE, P., SEDVALL, G. Autoradiographic mapping of 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} receptors in the post mortem human brain using [³H]GR 125743. **Brain Res.**, 915: 47-57, 2001.

VERTES, R. P.; CRANE, A. M. Distribution, quantification, and morphological characteristics of serotonin-immunoreactive cells of the suprallemniscal nucleus (B9) and pontomesencephalic reticular formation in the rat. **J. Comp. Neurol.**, 378: 411-424, 1997.

VERTES, R. P.; FORTIN, W. J.; CRANE, A. M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. **J. Comp. Neurol.**, 407: 555-582, 1999.

VERTES, R. P.; MARTIN, G. F. Autoradiographic analysis of ascending projections from the pontine and mesencephalic reticular formation and the median raphe in the rat. **J. Comp. Neurol.**, 275: 511-541, 1988.

VOIGT, J.; KIENZLE, F.; SOHR, R.; REX, A.; FINK, H. Feeding and 8-OH-DPAT-related release of serotonin in the rat lateral hypothalamus. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 65:183-189, 2000.

WEISS, G. F.; ROGACJI, N.; FUEG, A.; BUCHEN.; LEIBOWITZ, S. F. Impact of hypothalamic d-norfenfluramine and peripheral d-fenfluramine injection on macronutrient intake in the rat. **Brain Res. Bull.**, 25: 849-859, 1990.

WELLMAN, P. Norepinephine and the control of food intake. **Nutrition**, v. 16, p.837-842, 2000.

WELLMAN, P. J.; JONES, S. L.; MILLER, D. K. Effects of preexposure to dexfenfluramine, phentermine, desfenfluramine-phentermine, or fluoxetine on sibutramine-induced hypophagia in the adult rat. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, 75:103-114, 2003.

WIRTSHAFTER, D. The control of ingestive behaviour by the median raphe nucleus. **Appetite**, 36: 99-105, 2001.

WIRTSHAFTER, D.; KREBS, J. Control of intake by kainite/quisqualate receptors in the median raphe nucleus. **Psychopharmacology**, 101: 137-141, 1990.

WIRTSHAFTER, D.; STRATFORD, T. R.; PITZER, M. R. Studies on the behavioral activation produced by stimulation of GABAB receptors in the median raphe nucleus. **Behav. Brain Res.**, 59, 83-93, 1993.

WOZNIAK, M.; SCHRAMM, N.L.; LIMBRID, L. E. The noradrenergic receptor subtypes. In: **Basic Neurochemistry, Mol., Cel. and Medical Aspects**, 6. ed., Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999.

WURTMAN, R. J.; WURTMAN, J. J. Serotonergic mechanisms and obesity. **J. Nutr. Biochem.**, 9: 511-515, 1998.

YOSHIOKA, M.; MATSUMOTO, M.; TOGASHI, H.; SMITH, C. B.; SAITO, H. Alpha 2-adrenoceptor modulation of 5-HT biosynthesis in the rat brain. **Neurosci. Lett.**; 139: 53-56, 1992.