

APARECIDA MARCELINO DE NAZARETH

**EFEITOS COMPORTAMENTAIS DA MICROINJEÇÃO DE mCPP NA
CONCHA DO NÚCLEO ACCUMBENS DE RATOS SOB RESTRIÇÃO
ALIMENTAR**

Dissertação de Mestrado 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.

Orientador: Prof. Dra. Marta Aparecida Paschoalini.

Florianópolis - SC
2010

“A Ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.”

Galileu Galilei

AGRADECIMENTOS

À Santíssima Trindade e à Maria Santíssima, a quem muito devo a minha vida e os cuidados à minha pessoa. E, claro, o mérito deste fim de trabalho. Amo vocês e muito obrigada!

À minha mãezinha (Jandira Maria de Nazareth). Que bom que você existe! Muito obrigada por ajudar-me em mais esta jornada. Por ter também cuidado de mim... Te amo!

À minha irmã Lucélia Marcelina. Que bom que também você existe. Muito obrigada pelo apoio! Nestes últimos dias eu tenho percebido o quanto vale e é importante ter um amigo. Muito obrigada por ter sido isto pra mim!

À Prof. Dr^a Marta Aparecida Paschoalini, a minha orientadora. Muito obrigada! Muito obrigada porque talvez não tenha percebido, mas muito ajudou no meu crescimento pessoal. Valeu muito! Muito obrigada!

Aos colegas de departamento:

À IC Laís Ganzer que muito me ajudou com o seu jeito dinâmico e eficiente de ser. Beijinhos, minha linda, no coração.

À Diana Sakae. Obrigada menininha crescida. Parabéns! Lembre-se sempre que “é dando que se recebe”.

Também a Sérgio Murilo Steffens, Danielle Beckman, Ana Paula Fraga Lopes, Samira Mansur e Anderson Ribas. Obrigada pelos “helps”.

À D. Vilma pelos quitutes. E, ao Sr. Carlos, por estar sempre com a gente.

Ao Secretário da Pós-Graduação em Neurociências: Nivaldo. Muito obrigada! Muito obrigada pela sua gentileza, disponibilidade (percebi que isto é com todos). Que bom que tinha você aí. Parabéns! És um homem bom!

À Capes.

A todos que direta ou indiretamente ajudaram-me nesta jornada.

 O Caderno

Sou eu que vou seguir você do primeiro rabisco até o beabá. Em todos os desenhos coloridos vou estar. A casa, a montanha, luas, nuvens no céu, e o sol a sorrir no papel. Sou eu que vou ser seu colega. Seus problemas ajudar a resolver e acompanhar nas provas bimestrais, você vai ver. Serei de você confidente fiel, se seu pranto molhar o meu papel...



“Eu não sei se você se recorda do seu primeiro caderno. Eu me recordo do meu. Com ele eu aprendi muita coisa. Foi nele que eu descobri que as experiências dos erros ela é tão importante quanto às experiências dos acertos. Por que visto de um jeito certo, os erros nos preparam para as nossas vitórias e conquistas futuras. Por que não há aprendizado na vida que não passe pelas experiências dos erros. O caderno é uma metáfora da vida. Quando os erros cometidos eram demais eu me recordo que a nossa professora sugeria que a gente virasse a página. Era o jeito interessante de descobrir a graça que há nos recomeços. Ao virar a página, os erros cometidos deixavam de nos incomodar e a partir deles a gente seguia um pouco mais crescido. O caderno nos ensina que erros não precisam ser fontes de castigos. Erros podem ser fontes de virtudes. Na vida é a mesma coisa. O erro tem que estar a serviço do aprendizado. Ele não tem que ser fonte de culpas, de vergonhas. Nenhum ser humano pode ser verdadeiramente grande sem que seja capaz de reconhecer os erros que cometeu na vida. Uma coisa é a gente se arrepender do que fez. Outra coisa é a gente se sentir culpado. A culpa nos paralisa. Arrependimentos não! Eles nos lançam pra frente e nos ajuda a corrigir os erros cometidos. Deus é semelhante ao caderno. Ele nos permite os erros pra que a gente aprenda a fazer do jeito certo. Você tem errado muito? Não importa! Aceite de Deus esta nova página de vida que tem nome de hoje. Recorde-se das primeiras lições do seu primeiro caderno. Quando os erros são demais. Vire a página!”

Pe. Fábio de Melo.



... o que está escrito aqui comigo ficará guardado se lhe dá prazer. A vida segue sempre em frente: O que se há de fazer? Só peço a você um favor se puder: não me esqueça num canto qualquer.



RESUMO

Este estudo investigou os efeitos do tratamento com o agonista serotoninérgico misto dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, m-clorofenilpiperazina (mCPP, 4 nmol, 10 nmol e 40 nmol/lado) na região concha do núcleo accumbens (NAc), sobre a ingestão de alimentos e o consumo de água, bem como nos níveis de comportamentos relacionados à ansiedade/medo. Foram utilizados ratos Wistar machos (250-300g), portando cânulas-guia implantadas bilateralmente 2 mm acima da NAcc, mantidos em restrição de alimento (15g ração rato/ao dia) e água *ad libitum*. Os animais foram tratados, bilateralmente, com ácido ascórbico (AC; 5%; 200 nl) e mCPP e, transferidos para uma caixa de registro alimentar para avaliação, por 30 min., do consumo de alimento e água. As imagens foram gravadas utilizando a webcam, e posteriormente foram avaliadas pelo programa Etholog 2.25. Os resultados indicaram que as doses mais baixas e mais altas do mCPP aumentaram ambos a duração e a frequência do comportamento de avaliação de risco, sugerindo que a ativação dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} na região concha do NAcc evocou o comportamento semelhante a ansiedade/medo. A ingestão alimentar e sua frequência não foram afetadas pelas injeções de mCPP, embora a dose de 10nmol de mCPP pareça induzir uma pequena diminuição na duração da ingestão e pequeno atraso na latência da alimentação. Esta dose também aumentou um dos comportamentos não ingestivo, a exploração alimentar. A administração do mCPP não alterou os comportamentos de ingestão de água e as atividades motoras, tais como a exploração vertical, a auto-limpeza e o comportamento de locomoção. Estes dados sugerem que as alterações emocionais evocadas pela manipulação farmacológica da neurotransmissão serotoninérgica na região concha NAcc não estão relacionadas às alterações na ingestão de alimento.

Palavras-chave: núcleo accumbens, serotonina, ingestão alimentar, ansiedade, mCPP.

ABSTRACT

This study investigated the effect of treatment with a 5-HT_{1B} and 5-HT_{2C} receptor agonist m-chlorophenylpiperazine (mCPP, 4 nmol, 10 nmol and 40 nmol/side) in the shell sub region of the nucleus accumbens (NAc), on feeding and drinking as well as the level of fear/anxiety-related behaviors. Wistar male rats (250-300g) were used in this study, which were implanted bilaterally guide cannulae 2 mm above the NAcc shell and kept on food-restricted (15g rat chow/day rat) and water ad libitum. The animals were treated bilaterally with ascorbic acid (AC; 5%; 200 nl), and mCPP and transferred to a feeding cage for evaluation of food and water consumption for 30 min. The images were recorded by webcam and then evaluated by Etholog 2.25 program. The results indicated that the lowest and highest mCPP doses increased both the stretched-attend posture (SAP) duration and frequency, suggesting that activation of 5-HT_{1B/2C} receptor in the NAc shell evoked fear/anxiety-like behavior. The food intake and feeding frequency were not affected by the mCPP injections although, 10 nmol dose of mCPP seems to induce a minor decrease in feeding duration and a slight delay in the feeding latency. This dose also increased a non-ingestive behavior, the food pellet assessment. Administration of mCPP failed to modify both drinking behavior and motor activity such as rearing, grooming and locomotor behavior. These data suggest that the emotional changes evoked by pharmacological manipulation of the serotonergic neurotransmission in the NAc shell are not linked with changes in food intake.

Key words: nucleus accumbens, serotonin, food intake, anxiety, mCPP

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização do núcleo accumbens (NAc).....	20
Figura 2: Fotografia da caixa experimental.....	29
Figura 3: Representação esquemática de cortes coronais do encéfalo, ilustrando os locais que atingiram as microinjeções de AC e mCPP na região concha do NAc.....	36
Figura 4: Alterações na duração e na frequência de exibição do comportamento de avaliação de risco.....	39
Figura 5: Alterações da latência e a duração da resposta de ingestão alimentar após a microinjeção de AC e de mCPP na região concha do NAc.....	43
Figura 6: Efeito da duração do comportamento de exploração do alimento após a microinjeção do AC e de mCPP na região concha do NAc.....	45

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Descrição comportamental e critérios de análise utilizados para a avaliação dos efeitos da administração de AC e de mCPP na região concha do NAc..... 32
- Tabela 2:** Quantidade de alimento ingerido e sua freqüência após microinjeção de AC e mCPP na região concha do NAcc.....38
- Tabela 3:** Latência do comportamento de ingestão de água, sua duração e sua freqüência após a microinjeção do AC e mCPP na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar.....41
- Tabela 4:** Duração dos comportamentos de exploração vertical (EV), auto-limpeza, locomoção (L), imobilidade (IMO) e exploração não locomotora (ENL) após microinjeção de AC e mCPP na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar.....47
- Tabela 5:** Freqüência dos comportamentos de exploração vertical (EV), auto-limpeza (AL), locomoção (L), imobilidade (IMO) e exploração não locomotora (ENL) após microinjeção de AC e mCPP na região concha do NAc de ratos submetidos restrição alimentar.....49

LISTA DE ABREVIATURAS

5-CT – Maleato de 5-carboxamidotriptamina

5-HTP – 5-hidroxitriptofano

5-HT – Serotonina ou 5-Hidroxitriptamina

5-HIAA – Ácido hidroxiindoloacético

AC – Ácido ascórbico

AP – Antero-posterior ao bregma

ANOVA – Análise de variância

AL – Auto-limpeza

AvR – Avaliação de risco

BHE – Barreira hematoencefálica

CEUA – Comitê de Ética para o Uso de Animais

DV – Dorso-ventral ao bregma

EALI – Exploração do alimento

ENL – Exploração não locomotora

EV – Exploração vertical

GABA – Ácido gama amino butírico

IALI – Alimento ingerido

IAGUA – Água ingerida

IMO – Imobilidade

L – Lateral ao bregma

Loc – Locomoção

mCPP – m-Clorofenilpiperazina

Nac – Núcleo accumbens

SNC – Sistema Nervoso Central

SERT – Transportador de serotonina

VMAT2 – Transportador de monoamina vesicular de subtipo 2

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
1.1	SEROTONINA E RECEPTORES 5-HT _{1B} E 5-HT _{2C}	13
1.2	NÚCLEO ACCUMBENS (NAc).....	18
2	JUSTIFICATIVA.....	23
3	OBJETIVO.....	24
3.1	OBJETIVO GERAL.....	24
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO.....	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
4.1	ANIMAIS.....	25
4.2	PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS.....	26
4.3	SOLUÇÃO E DOSES ADMINISTRADAS.....	27
4.4	INJEÇÕES INTRACEREBRAIS.....	27
4.5	CAIXA EXPERIMENTAL.....	28
4.6	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	29
4.7	CATEGORIZAÇÃO COMPORTAMENTAL.....	31
4.8	HISTOLOGIA.....	33
4.9	ANÁLISE DE DADOS.....	34
5	RESULTADOS.....	35
5.1	LOCAIS ATINGIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO DE AC E mCPP NA REGIÃO CONCHA DO NAc EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR.....	35
5.2	ADMINISTRAÇÃO DE mCPP NA REGIÃO CONCHA DO NAc EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR E SEUS EFEITOS SOBRE OS COMPORTAMENTOS INGESTIVOS.....	37
5.3.1.1	Ingestão de alimentos.....	37
5.3.1.2	Ingestão de água.....	40
5.3	ADMINISTRAÇÃO DE mCPP NA REGIÃO CONCHA DO NAc EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR E SEUS EFEITOS SOBRE OS COMPORTAMENTOS NÃO INGESTIVOS.....	42
5.3.1	Duração e frequência da avaliação de risco.....	42

5.3.2	Duração da exploração do alimento.....	44
5.3.3	Duração da exploração vertical, auto-limpeza, locomoção, exploração não locomotora e imobilidade.....	46
5.3.4	Frequência da exploração vertical, auto-limpeza, locomoção, exploração não locomotora e imobilidade.....	48
6	DISCUSSÃO.....	50
	REFERÊNCIAS.....	60
	ANEXO.....	77

1 INTRODUÇÃO

1.1 SEROTONINA (5-HIDROXITRIPTAMINA; 5-HT) E RECEPTORES 5-HT_{1B} E 5HT_{2C}

A 5-HT é um neurotransmissor aminérgico, difusamente distribuído em células neuronais do sistema nervoso central (SNC) e periférico dos mamíferos (FONE et al., 1998), no trato gastrointestinal (90% em células enterocromafins) e no sistema hematopoiético (BERTRAND et al., 2009; HASLER, 2009). Ela é derivada do aminoácido triptofano, encontrado na dieta alimentar, através de duas etapas: o triptofano é convertido inicialmente em um intermediário denominado 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela enzima triptofano hidroxilase. O 5-HTP é então convertido em 5-HT pela enzima 5-HTP descarboxilase (BEAR, CONNORS e PARADISO, 2006; HAIDER e HALEEM, 2000; STRÜDER e WEICKER, 2001).

Em virtude de suas características hidrofílicas, o triptofano plasmático atravessa a barreira hematoencefálica (BHE) através de captação ativa por carreadores de aminoácidos neutros localizados na BHE (STRÜDER e WEICKER, 2001). Ao final de sua síntese, nas células neuronais serotoninérgicas, a 5-HT é armazenada em vesículas sinápticas e é liberada por exocitose quando o impulso nervoso atinge as terminações neurais, permitindo desta forma a liberação do neurotransmissor na fenda sináptica (BOHMAKER, BORDI e MELLER, 1992).

Após a liberação na fenda sináptica a 5-HT pode interagir tanto em receptores localizados na membrana pós-sináptica (heterorreceptores), causando

alteração do potencial de membrana dos neurônios pós-sinápticos, como em receptores localizados na membrana pré-sináptica (auto-receptores) que, ativados, promovem a síntese e a liberação de 5-HT (BOHMAKER, BORDI e MELLER, 1992). A inativação da 5-HT se deve pela ação do transportador de 5-HT (SERT). Uma vez de volta ao citosol do terminal axonal serotoninérgico, o neurotransmissor é transportado para a vesícula sináptica pelo transportador de monoamina vesicular de subtipo 2 (VMAT2) ou degradado pela monoaminaoxidase (MAO) (BEAR, CONNORS e PARADISO, 2006; GINGRICH e HEN, 2001).

A 5-HT está implicada em diversas funções fisiológicas e comportamentais (FONE et al., 1998; VICKERS, DOURISH e KENNETT, 2001) através de sete famílias de receptores: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇. Com exceção dos receptores 5-HT₃, os quais são receptores ionotrópicos, todos os outros receptores serotoninérgicos pertencem à superfamília de receptores acoplados à proteína G. A família de receptores 5-HT₁ é subdividida em 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}. O subtipo C passou a fazer parte da família 5-HT₂. As subclasses dos receptores 5-HT₂ consistem dos receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C} (BRUNNER et al., 1999; FULLER et al., 1991; OEKELEN, LUYTEN e LEYSEN, 2003).

Os receptores 5HT_{1B} estão localizados nos terminais dos neurônios pré- e pós-sinápticos e funcionam como auto-receptores e heterorreceptores que medeiam a liberação de 5-HT e outros neurotransmissores. Eles interagem com as proteínas G e são negativamente acoplados a adenilciclase. Estão expressos também em neurônios não serotoninérgicos (BRUNNER, 1999; HOLMES, 2008; LEE et al., 2009; NEUMAIER et al., 2002) e são amplamente distribuídos no SNC, incluindo o núcleo accumbens (NAc) - onde é densamente expressado na sub-região concha –, globo pálido, substância cinzenta periaquedutal, substância negra, hipocampo e córtex

(BAROT, FERGUSON e NEUMAIER, 2007; LEE et al., 2009; O'DELL e PARSONS, 2004; SARI, 2004).

Os auto-receptores 5HT_{1B} são encontrados, principalmente, nos terminais sinápticos ou varicosidades axonais e, a ativação desse receptor inibe agudamente a liberação de 5-HT dos terminais axonais e reduz a quantidade de 5-HT sintetizada ao longo do tempo (GINGRICH e HEN, 2001). Nos neurônios não serotonérgico, o receptor 5-HT_{1B} também é encontrado perto de pontos de liberação do transmissor e parece inibir a liberação de outros transmissores como a acetilcolina, glutamato e GABA (CLARK et al., 2002; GINGRICH e HEN, 2001).

Os receptores 5-HT_{2C} (previamente conhecidos como receptores 5-HT_{1C}) são acoplados positivamente através da proteína Gq à fosfolipase C, e sua ativação induz um acúmulo de inositol fosfato e Ca²⁺ no meio intracelular. A estimulação destes receptores causa excitação celular (HIGGINS e FLETCHER, 2003; MOSHER et al., 2005). Os receptores 5-HT_{2C} são distribuídos no tecido encefálico de mamíferos e são expressos na área tegmental ventral e substância negra, bem como nas áreas de projeção terminal do estriado e córtex pré-frontal, no hipotálamo, amígdala, núcleo parabraquial da ponte e, em quantidades abundantes, no NAc (GRAF et al., 2003; HACKLER et al., 2007; HIGGINS e FLETCHER, 2003; FILIP e CUNNINGHAM, 2002; LEE et al., 1998).

No SNC, as disfunções na transmissão serotonérgica, podem acarretar várias patologias. Por exemplo, a disfunção dos receptores 5-HT_{1B} pode resultar em depressão, ansiedade, estresse, transtorno de personalidade anti-social, alcoolismo e reforço de droga de abuso (LEE et al., 2009; MORET e BRILEY, 2000; SARI, 2004). Por sua vez, os receptores 5-HT_{2C} estão envolvidos na ansiedade,

esquizofrenia, depressão, transtorno compulsivo obsessivo e obesidade (LI et al., 2005; WALKER et al., 2005; WALKER, BROWN e STERIOUS, 2007).

Estudos têm demonstrado que a estimulação de receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} pós-sinápticos, utilizando moduladores farmacológicos, diminuem a ingestão alimentar e o peso corporal em roedores e humanos (BLUNDELL, 1977; LOPEZ-ALONSO et al., 2007; LUCKI, KREIDER e SIMANSKI, 1988; MCTAVISH et al., 1992; GOLDSTEIN et al., 1994; GRIGNASCHI et al., 1996; SIMANSKY, 1996).

Uma variedade de abordagens sugere que os subtipos de receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} são fortes candidatos para mediar a saciedade e a ação inibitória da 5-HT sobre o comportamento alimentar (CLIFTON, LEE e DOURISH, 2000; HALFORD, WANNINAYAKE e BLUNDELL, 1998; HALFORD et al., 2007; HEWITT et al., 2002; SIMANSKY et al., 2004; VICKERS et al., 1999; VICKERS, DOURISH e KENNETT, 2001). Injeções do agonista altamente seletivo para o receptor serotoninérgico 5-HT_{1B}, CP-94,253 demonstraram que a ativação destes receptores é suficiente para reduzir a ingestão de alimentos e aumentar a saciedade representada pela seqüência comportamental da saciedade - esta inicia-se com a ingestão do alimento, seguida da auto-limpeza e por último da imobilidade - (HALFORD e BLUNDELL, 1996; LEE e SIMANSKI, 1997). Também, infusões de agonistas dos receptores 5-HT_{1B}, tal como o RU 24969 reduziram a ingestão alimentar em ambos os animais privados e não privados de alimentos (BENDOTTI e SAMANIN, 1987) e, a infusão do agonista do receptor 5-HT_{1B}, CP-93,129, dentro do núcleo parabraquial da ponte, promoveu uma redução do consumo de alimentos em ratos (LEE et al., 1998).

Referente aos receptores 5-HT_{2C}, o agonista destes receptores, o RO 60-0175 produziu uma diminuição da ingestão de alimentos. E, em um segundo

experimento, os efeitos específicos sobre a alimentação produzidos por esta droga foram atenuados pelo pré-tratamento com o antagonista do 5-HT_{2C}, o SB 242084 (HEWITT et al., 2002).

Em um recente trabalho, injeções do RO 60-0175 no núcleo paraventricular do hipotálamo anteciparam o início da seqüência comportamental da saciedade (LOPEZ-ALONSO et al., 2007). Dados apontam que o mCPP, agonista serotoninérgico misto dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, induz uma resposta hipofágica mais potente em roedores que outros compostos serotoninérgicos (DALTON et al., 2006; HEWITT et al., 2002). De Vry e Schreiber (2000) comentam que este efeito ocorre em animais após um período de privação de alimento.

Manipulações fisiológicas ou farmacológicas, que tendem a reduzir a concentração plasmática de triptofano, também diminuem a concentração central de triptofano e, conseqüentemente, podem interferir com a síntese serotoninérgica (HAIDER e HALEEM, 2000). Dados na literatura sugerem que uma restrição alimentar suave (mantenedora de 80% do peso corporal), por um período inferior a 4 semanas, é suficiente para baixar os níveis de leptina e insulina e estimular o consumo de alimento. Isto ocorre sem alterar significativamente a concentração de outros sistemas de neurotransmissores (Neuropeptídeo Y, noradrenalina) além da 5-HT, diferentemente do que ocorre na situação de restrição alimentar severa ou jejum – onde há um significativo aumento tempo-dependente na concentração de neuropeptídeo Y no núcleo paraventricular, uma redução nos níveis do hormônio liberador de corticotrofina e do hormônio liberador de tireotropina e um aumento na atividade parassimpática, assim como, uma diminuição na concentração dos níveis plasmáticos de triptofano e uma redução na concentração de 5-HT hipotalâmica (CHAOULOFF et al., 1997; HAIDER e HALLEM, 2000).

As regiões do encéfalo, associadas ao controle do comportamento de ingestão de alimento são: pálido ventral, amígdala centro medial, hipotálamo lateral, núcleo paraventricular do hipotálamo, núcleo arqueado medial, área tegmental ventral, núcleo mediano da rafe e o NAc (HEIMER et al., 1991; KELLY, 2004; MALDONADO-IRIZARRY e KELLY, 1995; PRATT e KELLY, 2004 e 2007; RAGNAUTH et al., 2000; STRATFORD, 2005).

1.2 NÚCLEO ACCUMBENS (NAc)

A inervação serotoninérgica do NAc origina-se do núcleo dorsal da rafe (LUKKES et al., 2008; SARI, 2004). Estudos sugerem que o neurotransmissor 5-HT participa de circuitos no NAc, tanto para a motivação positiva, representada pelo comportamento ingestivo e de recompensa, quanto para a negativa, caracterizada pelos comportamentos aversivos e de medo (BAROT, FERGUSON e NEUMAIER, 2007; INOUE, KOYAMA e YAMASHITA, 1993; INOUE, TSUCHIYA e YAMASHITA, 1994; JEAN et al., 2007; PRATT et al., 2009).

O NAc é um dos componentes dos núcleos da base (HEIMER, SWITZER e VAN HOESEN, 2003) e divide-se em duas sub-regiões, o centro ou núcleo - área central que envolve a comissura anterior - e a concha - região que se estende medianamente e ventralmente ao redor do centro – (Figura 1) (IKEDA et al., 2007). Estas duas sub-regiões possuem diferenças histoquímicas (MALDONADO-IRIZARRY e KELLY, 1995), citoarquitetônicas e respostas funcionais variadas aos estímulos ambientais (BALDO et al., 2002; HANLON et al., 2004), além de

diferenças em relação às suas aferências e eferências (ZAHM e BROG, 1992). Os neurônios da região centro conectam-se com núcleos da base, como o pálido-ventral, núcleo subtalâmico e substância negra. A região concha conecta-se com as regiões subcorticais límbicas, o hipotálamo lateral, a área tegmental ventral e a amígdala (MALDONADO-IRIZARRY et al., 1995; MALDONADO-IRIZARRY e KELLY, 1995).

O NAc está envolvido em vários processos comportamentais, tais como: atividades motoras (GARGIULO, 1996), controle alimentar (STRATFORD, SWANSON e KELLY, 1998; MALDONADO-IRIZARRY et al., 1995), motivação e reforço (SALAMONE, 1994), funções cognitivas (USIELLO et al., 1998), comportamento sexual, aprendizagem instrumental (KELLY et al., 2002 e 2005), aprendizagem emocional, particularmente sobre eventos aversivos (SCHWIENBACHER et al., 2004), e também no uso e abuso de drogas (DI CHIARA, 1998; PONTIERI, TANDA e DI CHIARA, 1995; CARLEZON e WISE, 1996; TANDA, PONTIERI e DI CHIARA, 1997).

Este núcleo tem sido considerado como uma interface entre o sistema límbico e motor (MONGENSON, JONES e YIN, 1980). Segundo estes autores, o NAc recebe aferências de estruturas do prosencéfalo límbico, direta ou indiretamente, através da área tegmental ventral, e envia sinais para o córtex motor através do globo pálido. O NAc recebe convergências aferentes da amígdala, hipocampo e córtex pré-frontal – áreas que formam uma complexa rede envolvida na aprendizagem emocional (SCHWIENBACHER et al., 2004). De acordo com essa interface límbico-motora considera-se que para iniciar uma ação, seja necessário que diversas estruturas do prosencéfalo límbico, realizem variados processos

cognitivos, envolvendo experiências prévias e aprendizagem (MONGENSON, JONES e YIN, 1980).

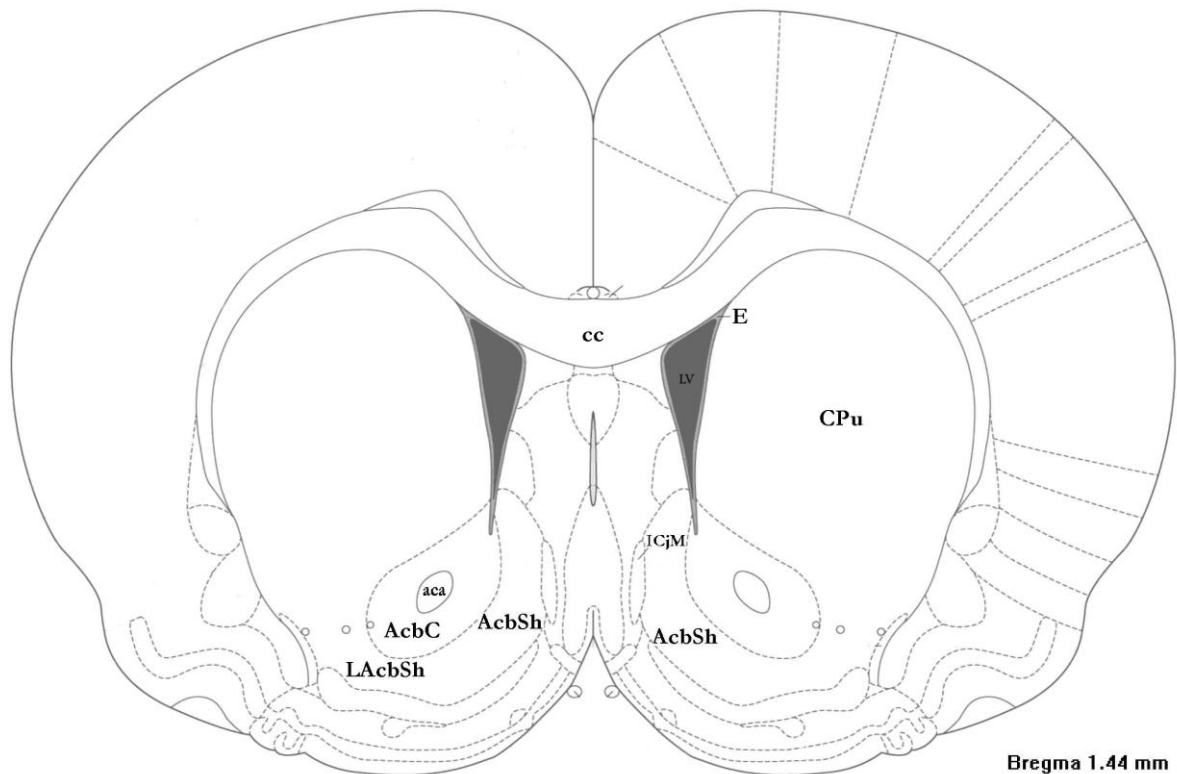


Figura 1: Localização do NAc. AcbC: região núcleo do NAc; AcbSh: região concha do NAc; aca: parte anterior da comissura anterior; LAcbSh: região lateral da concha do NAc; CPu: caudado/putâmen; cc: corpo caloso; LV: ventrículo lateral; E: epêndima; ICjM: ilhas de Calleja maior. Adaptação dos cortes coronais do encéfalo de ratos de acordo com o Atlas de Paxinos e Watson (2007).

O NAc pode ser considerado como uma área receptora das projeções de células dopaminérgicas situadas na área tegmental ventral (FRITSCHY e MOHLER, 1995), que atua como um local de convergência para estímulos procedentes da amígdala, hipocampo, área cingulada anterior e parte do lobo temporal. Deste núcleo, partem eferências para o hipotálamo, área cingulada anterior e lobos frontais. Devido às suas conexões aferentes e eferentes, o NAc desempenha relevante papel na regulação da emoção, motivação e cognição (KELLY, 2004).

A literatura relata que as funções da região concha do NAc estão envolvidas no circuito cortical e hipotalâmico como controle de ingestão alimentar, enquanto que a região do centro do NAc tem seus circuitos envolvidos com a aprendizagem e execução de ações. Ambas as regiões, centro e concha, estão conectadas com os circuitos centrais de controle da percepção gustativa, ingestão de alimento, controle autonômico visceral e somatossensorial (KELLY, 2004).

Em experimentos sobre alimentação constatou-se que a concha é especialmente responsiva à ingestão (TANDA e DI CHIARA, 1998; BASSAREO e DI CHIARA, 1999), sendo considerada um importante componente de um sistema neuronal envolvido no comportamento de ingestão de alimentos em ratos (MALDONADO-IRIZARRY e KELLY, 1995; PRATT e KELLY, 2004 e 2007; RAGNAUTH et al., 2000; STRATFORD, 2005; KELLY, 2004).

A concha do NAc parece regular o comportamento de ingestão através de múltiplos sistemas de neurotransmissores como o glutamato, ácido gama amino butírico (GABA), opióides, dopamina e 5-HT (BASSO e KELLY, 1999; HANLON et al., 2004; KELLY, 2004; KELLY et al., 2005; KELLY e SWANSON, 1997; HANLON et al., 2004; LOPES et al., 2007; MALDONADO-IRIZARRY e KELLY, 1995; PRATT et al., 2009; RAGNAUTH et al., 2000; REYNOLDS e BERRIDGE, 2001 e 2003; STRATFORD e KELLY, 1997; STRATFORD, SWANSON e KELLY, 1998).

A microinjeção bilateral do agonista do receptor 5-HT_{1/7}, o maleato de 5-carboxamidotriptamina (5-CT) na concha do NAc, reduziu a ingestão de alimentos em ratos com restrição alimentar e em ratos com acesso livre ao alimento altamente palatável (PRATT et al., 2009). Estes autores também observaram que infusão bilateral do agonista do receptor 5-HT₆, o EMD 386088, na concha do NAc, provocou um aumento da ingestão alimentar destes animais em ambos os paradigmas de

alimentação. Entretanto, nenhum destes efeitos foi apontado ao se administrar o agonista do receptor 5-HT_{2C}, o RO 60-0175, no local supracitado.

Projeções neurais noradrenérgicas partem do grupo celular A2 do núcleo do trato solitário e estabelecem sinapse com neurônios da região posterior da concha do NAc (DELFS et al., 1998). Nesta mesma região, há sítios de ligação para a amilina, um peptídeo co-secretado pelo pâncreas junto com a insulina (SEXTON et al., 1994; VAN ROSSUM et al., 1994). Através de estudos imunohistoquímicos, foram observadas projeções peptidérgicas, contendo a orexina, oriundas de neurônios hipotalâmicos dirigindo-se à concha do NAc, não atingindo o centro do NAc (BALDO et al., 2003). Esse conjunto de evidências indica uma relação bastante estreita entre a região da concha do NAc e estruturas neurais que processam informações associadas ao balanço energético e informações viscerais e, por isso, permitem denominar a região da concha do NAc como estriado víscero-endócrino (KELLY, 1999).

Stratford e Kelly (1997) descrevem que o comportamento ingestivo é regulado, em parte, por uma população de neurônios situados na concha do NAc, e a inibição destes neurônios é o evento celular que conduz à resposta de alimentação. Pratt e colaboradores (2009) relatam que muito dos efeitos referentes à alimentação é mediada via influências serotoninérgicas nos circuitos hipotalâmicos e que a redução central de 5-HT resulta em hiperfagia e ganho de peso.

2 JUSTIFICATIVA

As projeções serotoninérgicas da região concha do NAc medeiam a resposta do comportamento de ingestão alimentar. Microinjeções de agonistas serotoninérgicos 5-HT_{1/7} e 5-HT₄ nesta região do NAc, induziram à hipofagia em animais privados e não privados de alimentos (JEAN et al., 2007; PRATT et al., 2009).

O nosso grupo observou que microinjeções bilaterais de agonistas GABAérgicos GABA_A e GABA_B na concha do NAc induzem hiperfagia e estado ansiolítico em animais com acesso livre ao alimento (LOPEZ et al., 2007) e, que microinjeções bilaterais de antagonistas dos receptores AMPA provocam um efeito ansiolítico quando administradas na concha e não no centro do NAc, no teste de ingestão de alimento e no teste de labirinto em cruz elevado, mas não promovem qualquer alteração no comportamento de ingestão de alimentos (Da CUNHA et al., 2008a e 2008b). A presente pesquisa foi uma extensão destes trabalhos a fim de caracterizarmos uma possível participação do sistema serotoninérgico na concha do NAc sobre o comportamento de ingestão de alimentos. Para isto, avaliamos os efeitos de microinjeções bilaterais do agonista misto dos receptores serotoninérgico 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, m-clorofenilpiperazina (mCPP), na NAc em ratos *Wistar* machos, com restrição parcial de alimentos (15g ração/rato ao dia). A restrição de alimento tinha como objetivo motivar o comportamento ingestivo. A decisão de utilizar microinjeções do agonista serotoninérgico mCPP deu-se em razão desta droga exibir influências significativas na ingestão de alimentos (De VRY e SCHREIBER, 2000; DRYDEN et al., 1996).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o envolvimento de receptores serotoninérgicos na concha do NAc de ratos sobre o comportamento de ingestão de alimentos.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Investigar a participação de receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} empregando a técnica de injeções locais do agonista serotoninérgico mCPP na concha do NAc nas doses de 4 nmol, 10 nmol, 40 nmol, sobre o comportamento de ingestão de alimentos em ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus*) submetidos à restrição parcial de alimentos (15g ração/rato ao dia).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados ratos *Wistar* machos, pesando entre 250 e 300g, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina. Estes animais foram mantidos por sete dias no biotério do laboratório em uma caixa de polipropileno (49 x 34 x 16 cm) forrada de maravalha contendo cinco animais em cada caixa. A temperatura da sala foi mantida entre $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ com ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes acendendo às 06:00 hs). Nesse período os animais tiveram acesso livre à água e ração (CR-1, Nuvilab), sendo manipulados a cada 48 horas para a limpeza das caixas. Após a implantação cirúrgica bilateral das cânulas-guia, os ratos retornaram para o mesmo ambiente, porém mantidos em gaiolas individuais. O período de recuperação pós-cirúrgico foi de quatro dias, quando então se iniciou o período de restrição alimentar (15g ração/rato ao dia) com acesso livre a água, permanecendo desta forma durante todo o período experimental. Os experimentos foram realizados no período entre 9:00 e 12:00hs.

O protocolo de experimentação (nº. PP00256/CEUA) utilizado neste trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina e estava de acordo com os princípios éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

4.2 PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS

Para a implantação das cânulas-guia bilateralmente na concha do NAc cada animal foi anestesiado com uma mistura de cloridrato de xilazina e cloridrato de cetamina (0,5 ml/100g de xilazina a 2%; 0,15 ml/100g de cetamina) por via intraperitoneal. A seguir, o animal foi adaptado ao aparelho estereotáxico, tendo sua cabeça fixada por intermédio de barras posicionadas no conduto auditivo e na fossa incisiva. Após a anti-sepsia com álcool iodado, foi realizada uma incisão longitudinal no escalpo do animal para acesso à calota craniana. A porção exposta do crânio foi raspada e seca para melhor visualização do bregma e conseqüente marcação dos pontos para as perfurações e implantações das cânulas-guia. Estas foram confeccionadas a partir de uma agulha hipodérmica, 0,7 mm de diâmetro externo e 15 mm de comprimento e posicionadas bilateralmente a 2 mm acima da NAc de acordo com as coordenadas descritas por Paxinos e Watson (2007) (AP= + 1,44 mm anterior ao bregma; L= \pm 0,8 mm bilateral ao bregma; DV= - 5,5 mm dorso-ventral abaixo da dura-máter). O orifício (1 mm de diâmetro) para a introdução das cânulas-guia foi feito com o auxílio de uma broca esférica de uso odontológico. As cânulas-guia foram fixadas à calota craniana com acrílico autopolimerizável de uso odontológico e auxílio de parafusos de joalheiro (1 mm de comprimento e 2 mm de diâmetro previamente fixados à calota), formando uma estrutura sólida capaz de resistir aos eventuais choques mecânicos e à manipulação para injeção das drogas. A fim de evitar obstrução das cânulas-guia foi colocado em seu interior um fino fio de aço (mandril), que não ultrapassou o comprimento da guia e teve sua extremidade

externa fixada ao acrílico. Ao final do procedimento cirúrgico os animais retornaram para o biotério sendo mantidos individualmente em caixas de polipropileno.

4.3 SOLUÇÃO E DOSES ADMINISTRADAS

O tratamento utilizado foi o m-Clorofenilpiperazina (mCPP), agonista serotoninérgico misto dos receptores 5-HT_{1B} e 5HT_{2C}, obtido da Tocris (USA) e dissolvido em solução de ácido ascórbico 5% (AC). Esta solução foi utilizada como veículo. O mCPP foi administrado localmente nas doses de 4 nmol, 10 nmol e 40 nmol. A droga e suas respectivas doses foram selecionadas com base nos dados e análise de relatórios anteriores aos seus efeitos sobre o comportamento ingestivo e metabolismo energético e com base nas propriedades de ligação das mesmas aos receptores 5-HT_{1B} e 5HT_{2C} (conforme CASTRO et al., 2002, CURRIE et al., 2002 e GRIGNASCHI, SIRONI e SAMANI, 1996). As soluções, ácido ascórbico e droga foram administrados num volume de 200nl.

4.4 INJEÇÕES INTRACEREBRAIS

As injeções intracerebrais bilateralmente da droga e do ácido ascórbico na concha do NAc foram administradas através de uma agulha injetora (0,3 mm de diâmetro), introduzida nas cânulas-guia (2 mm menor que a injetora). A agulha injetora estava conectada por um tubo de polietileno (PE10) a uma microsseringa de

capacidade de 1µl. A administração das soluções nas regiões concha do NAc foi realizada primeiramente através de uma das cânulas e logo em seguida através da outra. A fim de minimizar variações na pressão intracerebral, as soluções foram administradas em cada lado, no período de 1 min. ou mais.

4.5 CAIXA EXPERIMENTAL

A caixa experimental utilizada para o registro comportamental e avaliação da ingestão de alimento está representada na figura 3. A mesma foi confeccionada em vidro transparente de 4mm de espessura do mesmo comprimento e largura da caixa de hospedagem (49 × 34 cm), tendo porém, uma altura maior (40 cm) para evitar fugas. O assoalho da caixa e três das quatro paredes laterais foram revestidos com plástico adesivo preto, permanecendo uma parede lateral com vidro transparente. Do lado de fora deste vidro foi colocado um espelho para possibilitar a visualização lateral do comportamento do animal e registro da mesma pela webcam. O espelho encontrava-se num ângulo que não permitia que o animal visualizasse sua imagem refletida durante o experimento. Nesta caixa foi acoplado um comedouro e um bebedouro.



Figura 2: Fotografia da caixa experimental. Laboratório de Neurofisiologia 1. Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS) / UFSC.

4.6 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Quatro dias após a implantação das cânulas-guia, os animais foram mantidos em um regime de restrição alimentar (15g ração/rato ao dia) e com acesso livre à água durante uma semana, tempo suficiente para motivar o comportamento ingestivo (conforme HAIDER e HALEEM, 2000; CHAOULOFF et al., 1997). A média do peso corporal destes animais ($n=27$) no primeiro dia de restrição alimentar foi de 290 ± 6 (g) e no primeiro dia de experimentação, ou seja, no oitavo dia em que se encontrava em restrição de alimento foi de 257 ± 4 (g), tendo uma variação de $11 \pm 0,5\%$ de redução de peso corporal durante a semana de restrição alimentar.

Dois dias antes da primeira sessão experimental cada animal era transferido para a sala onde o registro comportamental ocorreria, com as mesmas condições de temperatura ambiente e luminosidade encontrada no biotério de origem para serem

habituação, aos procedimentos de infusão simulada da droga e às condições do ambiente dentro da caixa experimental. No segundo dia de habituação, adicionalmente, o mandril era desprendido do acrílico e o animal recebia uma injeção simulada em tempo real (1 min. ou mais), como um procedimento real de infusão de drogas. Essas medidas foram utilizadas para proporcionar ao animal um período de adaptação ao ambiente e condições experimentais, minimizando prováveis efeitos relacionados ao estresse.

Após o período de habituação, os procedimentos experimentais foram iniciados. Cada rato recebeu bilateralmente a injeção do AC ou de uma das doses de mCPP (4 nmol, 10 nmol ou 40 nmol) intercalado por um dia. A administração dos tratamentos foi realizada primeiramente através de uma das cânulas e logo em seguida através da outra. Em cada lado, as soluções foram administradas por um período de 1min. ou mais. Os animais foram controles deles mesmos. Logo após as injeções nas regiões concha do NAc, o animal foi colocado na caixa experimental contendo ração e água previamente pesada para o registro do comportamento de ingestão com o auxílio de uma webcam, durante 30 min. A ração restante foi recolhida e pesada, sendo o consumo de alimento a diferença entre a quantidade de alimento inicial e a final. Ao final do experimento o animal era levado ao biotério e recebia a quantidade de ração necessária para complementar aquela já ingerida para totalizar a quantidade de ração estabelecida (15g/rato ao dia). Para evitar pistas odoríferas, após cada teste, a caixa experimental foi limpa com um tecido umedecido em solução alcoólica 20%. Essa rotina foi seguida até que, para cada condição de tratamento averiguada, houvesse um número de sujeitos experimentais suficientes para a análise estatística.

4.7 CATEGORIZAÇÃO COMPORTAMENTAL

As prováveis alterações comportamentais ocasionadas pela administração das diferentes doses de mCPP sobre o comportamento alimentar, foram criteriosamente analisadas de acordo com as categorias comportamentais propostas e utilizadas por HALFORD, WANNINAYAKE e BLUNDELL (1998). Os registros em webcam foram analisados com o programa de análise comportamental Etholog 2.2 (OTTONI, 2000), considerando a postura e os movimentos corporais do rato, como descritos no Tabela 1.

Tabela 1: Descrição comportamental e critérios de análise utilizados para a avaliação dos efeitos da administração de AC e de mCPP nas doses de 4 nmol, 10 nmol e 40 nmol na concha do NAc. Avaliação comportamental realizada durante 30 minutos.

COMPORTAMENTO	DESCRIÇÃO COMPORTAMENTAL	VARIÁVEIS DE ANÁLISE
Ingestão de Alimento	Quando o animal estiver efetivamente ingerindo alimento sólido, com comportamentos característicos de deglutição.	Quantidade Latência Duração Frequência
Ingestão de Água	Quando o animal lambe a ponta do bebedouro;	Quantidade Latência Duração Frequência
Exploração de Alimento	Quando cheira, carrega ou manipula a ração sem ingeri-la, ou seja, sem apresentar comportamentos característicos de deglutição;	Duração Frequência
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;	Duração Frequência
Exploração vertical	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;	Duração Frequência
Auto-limpeza	Quando o animal executar comportamentos orofaciais típicos de auto-limpeza, como limpar ou roer as unhas, lambem a cabeça e o corpo; ou coçar-se com a boca;	Duração Frequência
Avaliação de risco	Movimento no qual o animal explora à sua volta com as patas traseiras fixas ao chão e as patas dianteiras se movem e retornam à posição, com a cabeça observando ao redor;	Duração Frequência
Locomoção	Quando o animal estiver deambulando pela caixa, sem apresentar qualquer dos comportamentos já citados;	Duração Frequência
Imobilidade	Quando o animal permanecer imóvel, sem apresentar qualquer comportamento já citado.	Duração Frequência

Concernente aos critérios adotados da análise comportamental:

- Quantidade: refere-se à diferença entre a quantidade de ração (g) e/ou água (ml) apresentada ao animal no início da sessão experimental e a quantidade dos mesmos no final da sessão, representando um registro do consumo dos mesmos durante os 30 minutos;
- Latência: refere-se ao tempo, medido em segundos, que o animal leva para realizar pela primeira vez determinada resposta comportamental;
- Duração: refere-se ao tempo acumulado, medido em segundos, que o animal permanece executando determinada resposta comportamental;
- Frequência: refere-se ao número de vezes, durante os 30 minutos da sessão experimental, que o animal exibe determinada resposta comportamental.

4.8 HISTOLOGIA

Posteriormente aos procedimentos experimentais, os animais foram anestesiados profundamente e perfundidos transcordialmente com salina 0,9%, seguido de formol 10%. O posicionamento das cânulas foi verificado por meio da injeção de 200 nl de Azul de Evans. Depois de dissecadas, as peças permaneceram imersas em formol 10% por um período de cinco a sete dias, sendo posteriormente

cortada em fatias de 100µm de espessura por um vibrátomo. Os cortes foram montados em lâminas gelatinizadas e permaneceram secando cerca de uma semana; depois foram coradas pelo método de Nissl e permaneceram secando por igual período antes de serem analisadas ao microscópio óptico. A reprodução gráfica dos cortes e dos pontos de injeção analisados ao microscópio foi realizada a partir do Atlas do encéfalo de rato de PAXINOS e WATSON (2007).

4.9 ANÁLISE DE DADOS

Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) de uma via. A variável independente foi o tratamento (AC e Droga, mCPP nas doses de 4, 10 e 40 nmol). As variáveis dependentes foram os comportamentos ingestivos e não ingestivos. Os comportamentos ingestivos foram ingestão de alimento e água (quantidade, latência, duração e frequência), e os comportamentos não ingestivos foram exploração de alimento, exploração não locomotora, exploração vertical, auto-limpeza, locomoção, imobilidade e avaliação de risco (duração e frequência). A comparação entre os grupos foi feita aplicando o teste Duncan. Apenas valores de probabilidade de acaso menores que 5% ($p < 0,05$) foram considerados significativos.

5 RESULTADOS

5.1 LOCAIS ATINGIDOS PELA ADMINISTRAÇÃO DE AC E *m*CPP NA CONCHA DO NAc EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR.

A análise histológica revelou que vinte e sete animais tiveram a cânula-guia implantada bilateralmente na região da concha do NAc (Figura 4). Não foram incluídos na análise estatística animais que apresentaram implantação da cânula-guia em outros sítios de microinjeção ou quando não houve acerto bilateral na região da concha do NAc. Os animais foram controle deles mesmos.

Os animais foram distribuídos da seguinte forma:

- 27 animais receberam microinjeção de AC;
- 10 animais receberam *m*CPP na dose de 4 nmol;
- 8 animais receberam *m*CPP na dose de 10 nmol;
- 9 animais receberam *m*CPP na dose de 40 nmol.

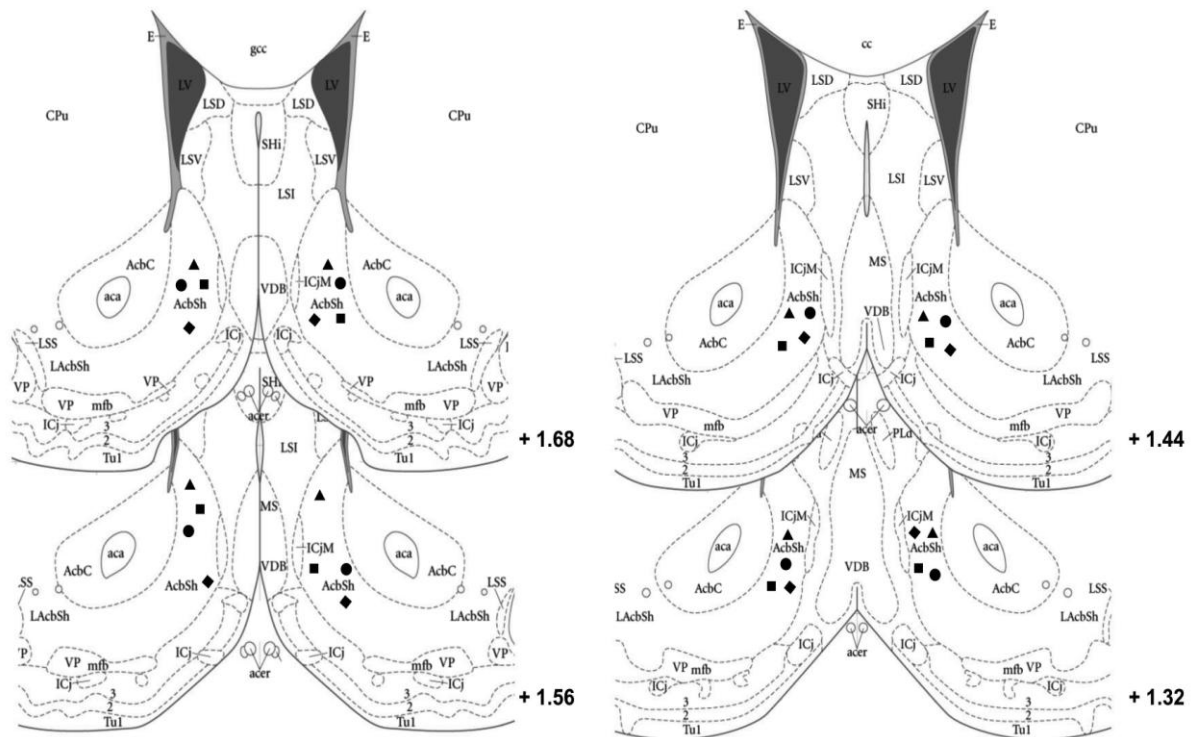


Figura 3: Representação esquemática de cortes coronais (100 μ m) do encéfalo de ratos de acordo com o Atlas Paxinos e Watson (2007), ilustrando os locais que atingiram as microinjeções de AC (●) e mCPP 4 nmol (▲); mCPP 10 nmol (■) e mCPP 40 nmol (◆) na região concha do núcleo accumbens (NAc). AC: ácido ascórbico; mCPP: m-clorofenilpiperazina; AcbC: região núcleo do NAc; AcbSh: região concha do NAc; aca: parte anterior da comissura anterior; acer: artéria cerebral anterior; ICj: ilhas de Calleja; ICjM: ilhas de Calleja maior; LAcSh: região lateral da concha do NAc; LSV: parte ventral do núcleo septal lateral; mfb: fibras do prosencéfalo medial; MS: núcleo septal lateral; Pld: núcleo septal paralambdóide; LSD: parte dorsal do núcleo septal lateral; Tu: tubérculo olfatório; VDB: parte diagonal da região límbica; VP: pálido ventral; E: epêndima; LSI: núcleo septal lateral; gcc: joelho do corpo caloso; LV: ventrículo lateral; SHi: núcleo do septo hipocampal; LSS: parte lateral do estriado; CPu: caudado/putâmen.

5.2 ADMINISTRAÇÃO DE *m*CPP NA REGIÃO DA CONCHA DO NAc EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR E SEUS EFEITOS SOBRE OS COMPORTAMENTOS INGESTIVOS.

5.2.1 Ingestão de alimentos

A ANOVA de uma via mostrou que não houve alteração na quantidade de alimento ingerido (IALI) [$F(5,48) = 1,1720$; $p = 0,34$] e na frequência de exibição do comportamento de ingestão alimentar dos ratos [$F(5,48) = 1,5719$; $p = 0,18$] submetidos à microinjeção de AC e *m*CPP nas doses de 4, 10 e 40 nmol na região concha do NAc (Tabela 2).

Em relação à variável latência para iniciar a ingestão alimentar [$F(5,48) = 2,1188$; $p = 0,08$] a ANOVA revelou uma tendência em indicar diferenças estatisticamente significantes entre as doses de *m*CPP utilizadas. O mesmo fato ocorreu com a análise dos dados da variável duração de ingestão de alimento. (Figura 4 A e 4 B).

Tabela 2: Quantidade de alimento ingerido (IALI) e sua frequência (média \pm erro padrão da média, em segundos) observadas durante 30 min. após microinjeção de ácido ascórbico (AC) e m-clorofenilpiperazina (mCPP) nas doses de 4, 10 e 40 nmol na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar.

	AC (n = 9)	mCPP 4 (n = 9)	AC (n = 8)	mCPP 10 (n = 8)	AC (n = 10)	mCPP 40 (n = 10)
IALI (g)	7 \pm 0,6	7 \pm 0,4	6 \pm 0,4	6 \pm 0,4	6 \pm 0,5	5 \pm 0,7
Frequência da IALI	16 \pm 1	17 \pm 2	20 \pm 3	13 \pm 2	21 \pm 2	20 \pm 2

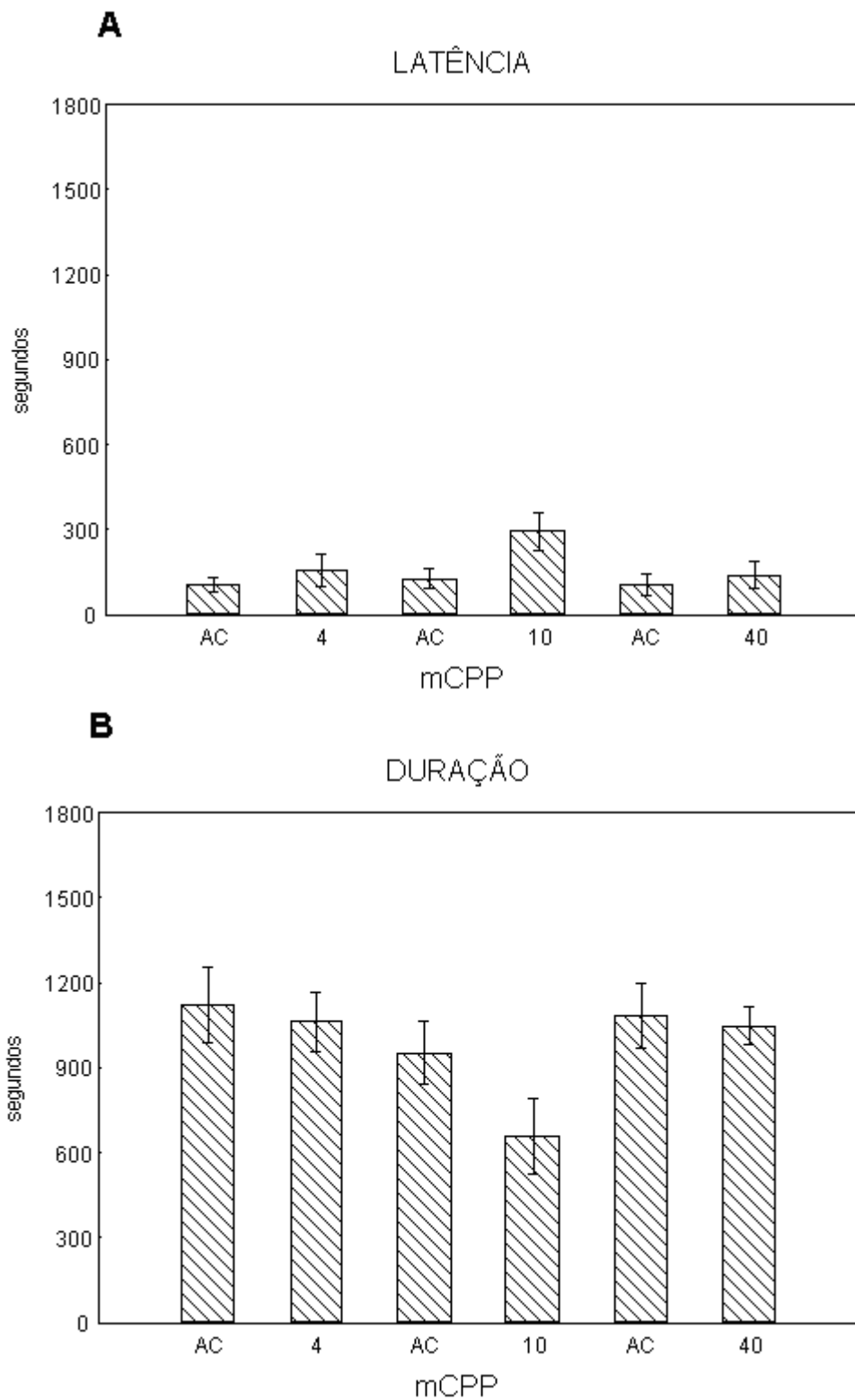


Figura 4: Latência (A) para iniciar e a duração (B) da resposta de ingestão alimentar observadas durante 30 min. após a microinjeção de ácido ascórbico 5% (AC; n= 27) e de m-clorofenilpiperazina (mCPP) nas doses de 4 nmol (n = 9), 10 nmol (n = 8) e 40 nmol (n = 10) na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar.

5.2.2 Ingestão de água

A ANOVA de uma via indicou que não houve diferença estatística entre os tratamentos administrados (AC e mCPP nas doses de 4, 10 e 40 nmol) na concha do NAc para as variáveis latência para iniciar a resposta dipsogênica, na duração dessa resposta ou na frequência para exibir o comportamento de ingestão água (IAGUA) conforme é mostrado na tabela 3.

Tabela 3: Latência para iniciar o comportamento de ingestão de água, sua duração e sua frequência (média \pm erro padrão da média, em segundos) observados durante 30 min. após a microinjeção de ácido ascórbico (AC) e mCPP (m-clorofenilpiperazina) nas doses de 4, 10 e 40 nmol na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar.

	AC (n = 9)	mCPP 4 (n = 9)	AC (n = 8)	mCPP 10 (n = 8)	AC (n = 10)	mCPP 40 (n = 10)
IAGUA (ml)	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
Latência	1800 \pm 0	1800 \pm 0	1799 \pm 1	1357 \pm 219	1800 \pm 0	1800 \pm 0
Duração	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	7 \pm 6	0 \pm 0	0 \pm 0
Frequência	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	1 \pm 0,5	0 \pm 0	0 \pm 0

5.3 ADMINISTRAÇÃO DE mCPP NA REGIÃO DA CONCHA DO NAc EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR E SEUS EFEITOS SOBRE OS COMPORTAMENTOS NÃO INGESTIVOS.

5.3.1 Duração e frequência da avaliação de risco

A ANOVA de uma via indicou alterações significativas na duração dos comportamentos de avaliação de risco (AvR) [$F(5,48) = 7,7826$; $p = 0,000020$] e na frequência do comportamento de AvR [$F(5,48) = 8,0147$; $p = 0,000015$], após a microinjeção bilateral de AC e mCPP na região da concha do NAc em ratos.

Os animais que receberam a microinjeção bilateral de mCPP, nas dosagens de 4 nmol e 40 nmol apresentaram um aumento da duração (Figura 5 A) e frequência (Figura 5 B) do comportamento de AvR em relação ao controle. Porém, não se observou modificação nesse comportamento em ratos tratados com o mCPP na dosagem de 10 nmol.

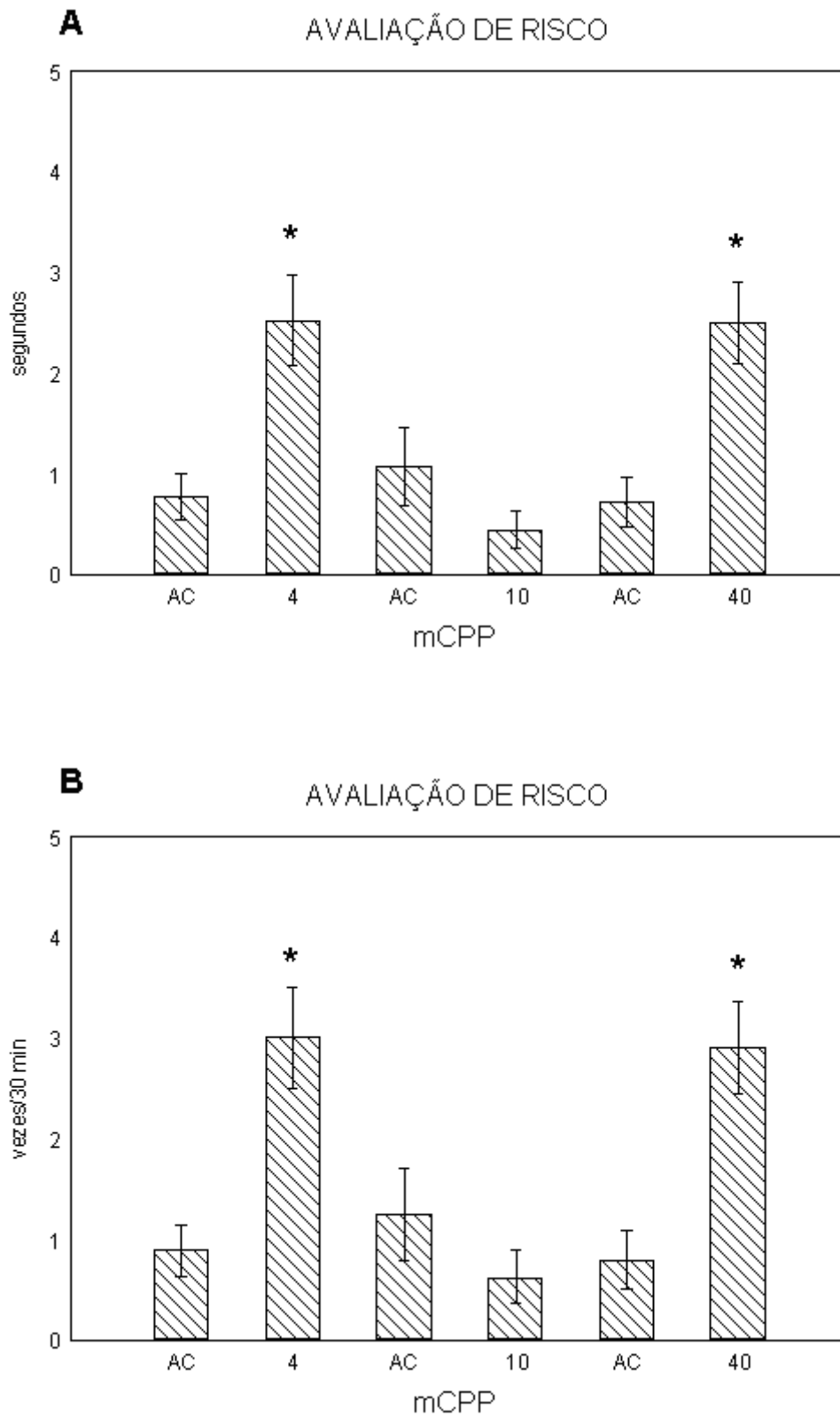


Figura 5: Alterações na duração (A) e na frequência de exibição (B) do comportamento de avaliação de risco observadas durante 30 min. após a microinjeção do ácido ascórbico a 5% (AC; n=27) e de m-clorofenilpiperazina (mCPP nas doses de 4 nmol (n = 9), 10 nmol (n = 8) e 40 nmol (n = 10) na região concha do núcleo accumbens (NAc) de ratos submetidos à restrição alimentar. (*) $p < 0.05$ em relação ao controle, AC.

5.3.2 Duração da exploração do alimento

A ANOVA de uma via mostrou alterações significativas na duração do comportamento de exploração do alimento (EALI) [$F(5,48) = 3,7623$; $p = 0,0059$] após a microinjeção de AC e mCPP na concha do NAc. A microinjeção de 10 nmol de mCPP aumentou significativamente a duração da EALI dos ratos. Os dados indicam que o mesmo não ocorreu com os animais submetidos ao tratamento com 4 e 40 nmol da droga (Figura 6).

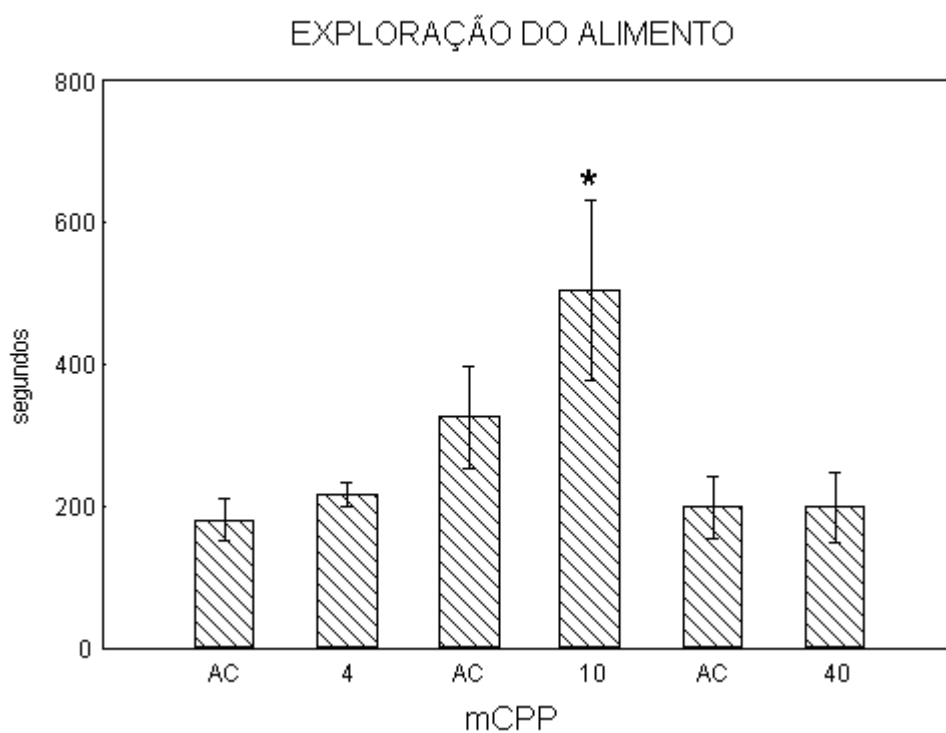


Figura 6: Efeito da duração do comportamento de exploração do alimento (EAL) observado durante 30 min. após a microinjeção do ácido ascórbico 5% (AC) e de m-clorofenilpiperazina (mCPP) nas doses de 4 nmol ($n = 9$), 10 nmol ($n = 8$) e 40 nmol ($n = 10$) na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar. (*) $p < 0.05$ em relação ao controle.

5.3.3 Duração da exploração vertical, auto-limpeza, locomoção, exploração não locomotora e imobilidade

A análise de variância não indica alterações significativas para a duração dos comportamentos de exploração vertical (EV), auto-limpeza (AL), locomoção (Loc), exploração não locomotora (ENL) e imobilidade (IMO) (Tabela 4).

Tabela 4: Duração (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de exploração vertical (EV), auto-limpeza, locomoção (Loc), imobilidade (IMO) e exploração não locomotora (ENL) observada durante 30 min. após microinjeção de ácido ascórbico (AC) e mCPP (m-clorofenilpiperazina) nas doses de 4, 10 e 40 nmol na região concha do NAc de ratos submetidos à restrição alimentar.

	AC (n = 9)	mCPP 4 (n = 9)	AC (n = 8)	mCPP 10 (n = 8)	AC (n = 10)	mCPP 40 (n = 10)
EV	46 \pm 22	33 \pm 9	38 \pm 15	73 \pm 20	55 \pm 20	66 \pm 21
AL	36 \pm 11	43 \pm 19	50 \pm 21	22 \pm 6	55 \pm 19	57 \pm 37
L	20 \pm 8	16 \pm 5	29 \pm 10	44 \pm 7	22 \pm 6	27 \pm 7
IMO	73 \pm 73	44 \pm 40	22 \pm 17	0 \pm 0	12 \pm 8	32 \pm 25
ENL	446 \pm 66	501 \pm 66	486 \pm 69	540 \pm 73	491 \pm 86	481 \pm 52

5.3.4 Freqüência da exploração vertical, auto-limpeza, locomoção, exploração não locomotora, imobilidade e da exploração alimentar

Através da ANOVA de uma via não se observou diferença estatística na freqüência de nenhum dos comportamentos não ingestivos analisados nesta pesquisa (Tabela 5) excetuando a freqüência do comportamento de AvR descrito anteriormente.

Tabela 5: Frequência (média \pm erro padrão da média, em segundos) dos comportamentos de exploração vertical (EV), auto-limpeza (AL), locomoção (Loc), imobilidade (IMO) e exploração não locomotora (ENL) e exploração do alimento (EALI) observada durante 30 min. após microinjeção de ácido ascórbico (AC) e mCPP (m-clorofenilpiperazina) nas doses de 4, 10 e 40 nmol na região concha do NAc de ratos submetidos restrição alimentar.

	AC (n = 9)	mCPP 4 (n = 9)	AC (n = 8)	mCPP 10 (n = 8)	AC (n = 10)	mCPP 40 (n = 10)
EV	17 \pm 8	16 \pm 5	14 \pm 5	27 \pm 6	18 \pm 5	19 \pm 5
AL	4 \pm 1	66 \pm 2	4 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 1
ENL	21 \pm 9	19 \pm 6	30 \pm 10	48 \pm 8	23 \pm 6	24 \pm 6
L	3 \pm 3	2 \pm 1	1 \pm 1	0 \pm 0	2 \pm 1	1 \pm 1
IMO	54 \pm 13	58 \pm 12	69 \pm 10	89 \pm 9	52 \pm 10	55 \pm 7
EALI	17 \pm 2	22 \pm 2	32 \pm 6	35 \pm 4	24 \pm 7	19 \pm 4

6 DISCUSSÃO

Os dados obtidos neste trabalho sugerem que as microinjeções de mCPP administradas bilateralmente na região concha do NAc provocam um efeito ansiogênico e um aumento da exploração de alimento em ratos submetidos à restrição alimentar. O efeito ansiogênico foi caracterizado por um aumento significativo da frequência e duração da avaliação de risco em relação ao controle.

A literatura descreve que o aumento da frequência da avaliação de risco é o aspecto comportamental mais significativo de um efeito ansiogênico em ratos (GRIEBEL et al., 1997; RODGERS, et al., 1997). Este comportamento é considerado indicador de ansiedade (BLANCHARD, BLANCHARD e RODGERS, 1991; BLANCHARD et al., 1993).

Tem sido relatado que o comportamento de avaliação de risco é um comportamento indicativo de um conflito entre explorar e evitar a exploração de um determinado ambiente (VAN der POEL, 1979). Ele é interpretado também como um comportamento específico de coleta de informações do ambiente quando o animal encontra-se em situações potencialmente ameaçadoras (PINEL e MANA, 1993).

Os estudos relatam que o comportamento de avaliação de risco é sensível ao efeito de drogas ansiogênicas e ansiolíticas (GRIEBEL et al., 1997; SETEM et al., 1999) e que, diferentemente dos demais comportamentos etológicos, a avaliação de risco pode servir como um modelo para distinguir os efeitos destas drogas (MOLEWIJK, VAN der POEL e OLIVER, 1995).

Alguns trabalhos sugerem que os roedores continuam a exibir o comportamento de avaliação de risco, mesmo após deixarem de evitar uma área

desprotegida, sugerindo que esse padrão defensivo pode ser ainda mais sensível às drogas que modulam a ansiedade do que às medidas espaço-temporal relacionadas à esquiva (GRIEBEL et al., 1997; RODGERS, 1997; SENTEM et al., 1999).

A avaliação de risco está intimamente relacionada com o medo e a ansiedade em situações potencialmente perigosas (BLANCHARD, BLANCHARD e RODGERS, 1991; BLANCHARD et al., 1993; RODGERS et al., 1997) e é uma resposta comum de ratos frente a estímulos nocivos (PINEL, MANA e WARD, 1989) podendo ser evocado em contexto não social (MOLEWIJK, VAN DER POEL e OLIVIER, 1995).

Neste trabalho, o mCPP (agonista misto dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}), na menor e na maior dose indicou um aumento significativo da frequência e a duração do comportamento de avaliação de risco em relação ao grupo controle sugerindo que os receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} da concha do NAc modulam o comportamento ansiedade/medo.

A 5-HT tem sido implicada há várias décadas na fisiopatologia e tratamento dos transtornos da ansiedade (HEISLER et al., 2007). Um aumento da neurotransmissão serotoninérgica está associado com ansiogênese, enquanto uma diminuída função serotoninérgica está associada com ansiólise (LIN e PARSONS, 2002). O mCPP tem sido usado para induzir o comportamento da ansiedade em humanos e também em animais (GUITTON e DUDAI, 2004; LIN e PARSON, 2002). Em humanos, o mCPP tem mostrado agravar o sintoma de inúmeros transtornos da ansiedade, incluindo o transtorno do pânico, da ansiedade aguda e do transtorno obsessivo compulsivo (CAMPBELL e MERCHANT, 2003). Em modelos animais de ansiedade esta substância provoca um efeito ansiogênico em ratos e camundongos (GREWAL et al., 1997). GREWAL et al. (1997) relatam que houve um aumento

significativo da frequência do comportamento de avaliação de risco em ambas as espécies após o tratamento com o mCPP. A administração do mCPP também induziu um aumento do comportamento de ansiedade em roedores evidenciado no teste de labirinto em cruz elevado (LIN e PARSONS, 2002).

A literatura aponta a participação dos receptores 5HT_{1B} no controle da ansiedade. Em seu estudo, Lin e Parsons (2002) observaram um aumento do comportamento semelhante à ansiedade em ratos submetidos ao tratamento com o agonista dos receptores 5-HT_{1B}, o CP 94,253 no teste de labirinto em cruz elevado. E, tem sido descrito que o bloqueio do receptor 5-HT_{1B} com propranolol ou isamoltane produz efeitos ansiolíticos ou anti-aversivos (NOGUEIRA e GRAEFF, 1995). Além disso, estudos utilizando camundongos *knockout* para o receptor 5-HT_{1B}, tem mostrado uma redução do comportamento de ansiedade (BRUNNER et al., 1999; GROENINK et al., 2003; ZHUANG et al., 1999). E, um aumento da expressão dos receptores 5-HT_{1B} está associado com um aumento da ansiedade relacionado ao estresse (Lee et al., 2009). Estas características indicam que estes receptores estão intrinsecamente envolvidos no comportamento de ansiedade.

A literatura também demonstra que os receptores serotoninérgicos 5HT_{2C} participam dos mecanismos de indução do comportamento ansiogênico. Estudos farmacológicos com diferentes antagonistas revelaram que a maioria dos efeitos ansiogênicos no SNC é mediada pelo receptor 5-HT_{2C} (GRAF et al., 2003). Há relatos que a ativação destes receptores pode agravar ataques de ansiedade (ERIKSSON et al., 1999). Além disso, outros estudos mostram que a ativação destes receptores no hipotálamo induz a liberação do hormônio liberador de corticotrofina (FONE et al., 1998; GRAF et al., 2003).

Kimura et al. (2009) relatam que um aumento da expressão dos receptores 5-HT_{2C} em camundongos transgênicos, provocou um efeito ansiogênico (KIMURA et al., 2009). Todavia, Heisler e colaboradores (2007), utilizando camundongos *knockout* para o receptor 5-HT_{2C}, observaram um efeito ansiolítico em diversos modelos de ansiedade, tais como o labirinto em cruz elevado e o teste de campo aberto. Este mesmo efeito ocorreu em ratos tratados com o antagonista do receptor 5-HT_{2C}, o SB 242084 (KENNETT et al., 1997).

A concha do NAc possui um importante papel nos estados motivacionais negativos, tais como o medo, o estresse e respostas comportamentais defensivas provocadas por estímulos nocivos ou ameaçadores (BECK e FIBIGER, 1995; BERRIDGE et al., 1999; GRAY, 1995; Da CUNHA et al., 2008a e 2008b; KELLY et al., 1999; LOPEZ et al., 2007; REYNOLDS e BERRIDGE, 2001 e 2003). A estimulação dos receptores GABA na concha do NAc reduziu o comportamento de ansiedade-medo em modelos animais de ansiedade (LOPEZ et al., 2007). Em seu trabalho, Lopez e colaboradores (2007) mostraram que injeções bilaterais de agonistas GABAérgicos dentro da concha do NAc evoca o comportamento ansiolítico em ratos. Os dados destes autores indicaram uma redução do comportamento de avaliação de risco em ratos. Da mesma forma, Da CUNHA et al. (2008) relatam que microinjeções bilaterais de antagonistas dos receptores AMPA, na região concha e não na região centro do NAc, reduzem o comportamento de avaliação de risco em ratos testados no labirinto em cruz elevado e no teste de ingestão (Da CUNHA et al., 2008a e 2008b; MARTINEZ et al., 2002). Também tem sido relatado uma redução dos níveis de glutamato na concha do NAc durante exposição de roedores a estímulos nocivos (REYNOLDS e BERRIDGE, 2003). Além disso, o resultado do presente estudo indicou que os receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C},

localizados na concha do NAc, podem ser também um componente do circuito neuronal ansiogênico.

Utilizando o teste de interação social em ratos, Walker, Brown e Sterious (2007) observaram que a ansiedade induzida pelo mCPP foi revertida por um antagonista do receptor 5-HT_{2C}. Entretanto, estudos utilizando camundongos *knockout* para o receptor 5-HT_{1B}, em diversos modelos de ansiedade, tais como o labirinto em cruz elevado e o teste de campo aberto indicaram um efeito ansiolítico (ZHUANG et al., 1999). Ademais, os agonistas dos receptores 5-HT_{1B} são ansiogênicos (BRUNNER et al., 1999). Estes fatores sustentam a idéia de que a falta destes receptores poderiam resultar numa resposta comportamental reduzida frente às situações de ansiedade e que estes receptores no NAc participam na modulação do efeito de ansiedade.

A concha do NAc possui propriedades histológicas e bioquímicas semelhantes àquelas dos núcleos amigdalóides (STURM et al., 2003) e recebe diversas conexões de neurônios glutamatérgicos das áreas límbicas, tais como: a amígdala basolateral, a região ventral do hipocampo, o córtex pré-frontal e a área tegmental ventral (MALDONADO-IZARRY e KELLY, 1995) além de possuir conexões eferentes com estas áreas (SCHWIENBACHER et al., 2004) e outras do encéfalo, como: o hipotálamo lateral e tálamo (BROG et al., 1993; KELLY, 2004). Todas estas áreas foram associadas a estímulos estressantes e de ansiedade (ASTON-JONES e HARRIS, 2004; BANNERMAN, 2004; CHARNEY, 2003; CHARNEY e DEUTCH, 1996; PICCIOTTO, BRUNZEL e CALDARONE, 2002; PLIAKAS et al., 2001). O fato da concha do NAc integrar as informações de todas estas estruturas pode explicar o seu provável potencial na expressão do comportamento do estresse e ansiedade. Desta forma, nossos dados sugerem que

o NAc participa nos mecanismos neurobiológicos da expressão de estados da ansiedade, através da atuação dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C}, por intermédio da microinjeção local de mCPP na concha do NAc dose-efeito.

Este estudo indica um aumento na duração do comportamento de exploração de alimento dos ratos tratados com a dose de 10 nmol de mCPP. Segundo Halford, Wanninayake e Blundell (1998), este comportamento pode indicar a natureza da anorexia induzida pela droga. Porém, não há outros trabalhos na literatura que descrevem tal relato e não houve em nossos estudos alteração na quantidade de alimento ingerido, na latência para iniciar a resposta de ingestão alimentar, na duração e na frequência desta resposta. Por isto, são necessários estudos adicionais para a compreensão do presente resultado.

A resposta à ingestão alimentar pelo mCPP neste trabalho foi semelhante àquela relatada por Pratt et al. (2009). Os dados obtidos por este autor e seus colaboradores mostraram que o tratamento com agonista dos receptores 5-HT_{2C} na região concha do NAc não teve efeito sobre o consumo de alimento, de água e na locomoção de ratos em restrição alimentar. Os dados do presente estudo confirmam a não participação dos receptores serotoninérgicos (5-HT_{2C}) na região concha do NAc, no controle do comportamento de ingestão de alimento, bem como nos mecanismos que envolvem o balanço de água e locomoção em ratos com restrição de alimento.

A dose de 10 nmol de mCPP parece induzir pequena diminuição na duração da alimentação e pequeno atraso na latência para iniciar a alimentação, mas os dados não atingiram significância estatística. Estes efeitos do mCPP sobre o comportamento alimentar pode ser parcialmente atribuído à ativação do receptor 5-HT_{1B}, visto que a injeção da dose mais alta do agonista dos receptores 5-HT_{1/7}, 5-CT na concha do NAc, atrasou o início deste comportamento e a ativação do receptor 5-

HT_{2C} não teve nenhum efeito sobre o consumo de alimentos, o consumo de água, bem como medidas de locomoção nos animais com restrição de alimentos (PRATT et al., 2009).

Além de atrasar a latência para iniciar a alimentação, o tratamento com o agonista dos receptores 5-HT_{1/7}, 5-CT, na concha do NAc reduziu a ingestão de alimentos e de água em ratos com restrição de alimentos (PRATT et al., 2009). Como o presente resultado exclui os receptores 5-HT_{1B} da concha do NAc no controle da ingestão de água e alimento, é provável que os efeitos ingestivos da ativação dos receptores 5-HT_{1/7} possa ser mediado pelos subtipos de receptores 5-HT₇ ou outros subtipos de receptores 5-HT₁ como o 5-HT_{1A}. Neste sentido, Steffens et al. (2008) demonstraram que a estimulação de 5-HT_{1A} no hipotálamo lateral ou no núcleo arqueado promoveu diminuição da ingestão de alimentos. Além disso, a estimulação de receptores 5-HT_{1A} no hipotálamo parece adiantar os processos de saciedade (LOPEZ-ALONSO et al., 2007).

Os receptores 5-HT₆ e 5-HT₄, na concha do NAc, parecem fazer parte dos circuitos serotoninérgicos no controle do comportamento de ingestão de alimentos, uma vez que, a ativação destes receptores afetou o comportamento alimentar (JEAN et al., 2007; PRATT et al., 2009). Enquanto a estimulação dos receptores 5-HT₆ da concha do NAc, com o agonista EMD 386088, aumentou a ingestão de alimentos (PRATT et al., 2009), a estimulação dos receptores 5-HT₄ reduziu o consumo de alimentos em ratos (JEAN et al., 2007).

Pratt e colaboradores (2009) descrevem que estes subtipos de receptores de 5-HT (5-HT_{1/7}, 5-HT₆ e o 5HT_{2C}) no NAc, mantém diferentes funções na modulação da ingestão alimentar e na atividade locomotora. Também relatam que a utilização de antagonistas destes receptores não afeta a ingestão de alimento, água

ou as medidas de locomoção em animais submetidos à restrição alimentar e, também, que o nível tônico de uma ativação endógena desses receptores na concha do NAc não é exigida para que ocorra uma alimentação normal.

Vários estudos têm demonstrado que a injeção sistêmica ou intracerebroventricular de mCPP induz hipolocomoção (FONE et al., 1998; FREO et al., 1992; GLEASON e SHANNON, 1998; KENNETT et al., 1994 e 1997; LUCKI, WARD e FRAZER, 1989; SILLS, LUCKI e FRAZER, 1985; STIEDL et al., 2007), a qual pode ser bloqueada por antagonista de receptores 5-HT_{2C}. Além disso, o mCPP induz uma resposta hiperativa nos ratos *Knockout* para os receptores 5-HT_{2C} (HEISLER e TECOTT, 2000).

Os nossos dados sugerem que não há envolvimento dos receptores 5-HT_{2C}, na concha do NAc, no efeito da hipolocomoção provocada pela mCPP, visto que, a atividade motora permaneceu inalterada após o tratamento com mCPP. Os receptores 5-HT_{1B}, na concha do NAc, parecem desempenhar um papel na resposta comportamental de psicoestimulantes, visto que, a hiperlocomoção induzida pela cocaína pode ser modificada por microinjeções de agonistas (CP 93129) e antagonistas (GR 55562) dos receptores 5-HT_{1B} na região concha, e este efeito não ocorre na região centro do NAc (PRZEGALIŃSKI et al., 2002).

O nosso grupo tem relatado que a manipulação dos neurotransmissores GABA e glutamato, no NAc, influencia a alimentação e os comportamentos de ansiedade, mas sem estabelecer relações funcionais entre os dois fatores. Injeções bilaterais de CNQX (antagonista do receptor AMPA) na concha do NAc induziram um efeito ansiolítico, uma vez que os animais apresentaram baixo nível de comportamento de avaliação de risco no teste de ingestão, sem modificar o comportamento de alimentação (Da CUNHA et al., 2008a). Injeções bilaterais do

agonista dos receptores GABA_A (Muscimol) ou GABA_B (Baclofen) na concha do NAc induziu um efeito ansiolítico e um aumento da ingestão de alimentos, mas sem correlação positiva entre os dois parâmetros (LOPES et al., 2007). No presente estudo, mostramos que a estimulação dos receptores 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} dentro da concha do NAc evocou o comportamento ansiogênico sem mudanças consistentes no comportamento alimentar. Juntos, estes dados sugerem que as alterações emocionais evocadas por manipulação farmacológica do GABA, glutamato ou neurotransmissão serotoninérgica na concha do NAc não estão correlacionados com alterações na ingestão de alimentos.

A inervação serotoninérgica do NAc origina-se do núcleo dorsal da rafe (LUKKES et al., 2008; SARI, 2004). A liberação de 5-HT no NAc pode ser influenciada pelo estresse e interação social (LUKKES et al., 2008). Um aumento na atividade serotoninérgica no NAc está associado a condições de estresse (INOUE, KOYAMA e YAMASHITA, 1993; LUKKES et al., 2009; KIRBY, ALLEN e LUCKI, 1995), como no teste de nado forçado (KIRBY, ALLEN e LUCKI, 1995). Além disso, o tratamento, com CRF (neurotransmissor que medeia o estresse e a ansiedade) no núcleo dorsal da rafe, altera a liberação da 5-HT nas sub-regiões concha e núcleo do NAc (LUKKES et al., 2008). Estas observações reforçam nossos dados presentes sugerindo que os circuitos serotoninérgicos no NAc contribuem para controlar o comportamento de ansiedade.

Com base nos resultados apresentados, podemos concluir que:

- Os receptores serotoninérgicos 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} na concha do NAc parecem não participar do controle da ingestão de alimento.

- A ativação dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} na concha do NAc produz uma elevação do comportamento de avaliação de risco dependente de dose, indicando que a concha do NAc pode estar envolvida no circuitaria neural que modula o comportamento ansiedade/medo.

Enfim, este estudo representa um empenho para aumentar o nosso entendimento sobre a circuitaria neural envolvida na regulação do comportamento ingestivo. Partindo dele, estudos utilizando modelos de ansiedade tais como o labirinto em cruz elevado, teste de campo aberto, anti-conflito e interação social podem prover subsídios irrefutáveis e inéditos para a comunidade científica. Uma vez que estes modelos servem como testes investigatórios de agentes ansiolíticos e ansiogênicos e procuram justificar vários tipos de ansiedade, conforme o Manual de Diagnóstico e Estatístico de Doença Mental – IV edição (SSM-IV) (IMAIZUMI e ONODERA, 2000; LISTER, 1987).

REFERÊNCIAS

ASTON-JONES, G.; HARRIS, G.C. Brain substrates for increased drug seeking during protracted withdrawal. **Neuropharmacology**, n. 47, p. 167-179, 2004.

BALDO, B.A.; DANIEL, R.A.; BERRIDGE, C.W.; KELLEY, A.E. Overlapping distributions of orexin/hypocretin- and dopamine-beta-hydroxylase immunoreactive fibers in rat brain regions mediating arousal, motivation, and stress. **The Journal Comparative Neurology**, n. 464, p. 220–237, 2003.

BALDO, B. A.; SADEGHIAN, K.; BASSO, A. M.; KELLEY, A. E. Effects of selective dopamine D1 or D2 receptor blockade within nucleus accumbens subregions on ingestive behavior and associated motor activity. **Behavioral Brain Research**, n. 137, p. 165-177, 2002.

BANNERMAN, D.M.; RAWLINS, J.N.; MCHUG, S.B.; DEACON, R.M; YEE, B.K.; BAST, T.; ZHANG, W.N.; POTHUIZEN, H.H.; FELDON, J. Regional dissociations within the hippocampus-memory and anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, n. 28, p. 273-283, 2004.

BAROT, S.K.; FERGUSON, S.M.; NEUMAIER, J.F. 5-HT_{1B} receptors in nucleus accumbens efferents enhance both rewarding and aversive effects of cocaine. **European Journal of Neuroscience**, v. 25, p. 3125-3131, 2007.

BASSO, A.M.; KELLEY, A.E. Feeding induced by GABA(A) receptor stimulation within the nucleus accumbens shell: regional mapping and characterization of macronutrient and taste preference. **Behavioral Neuroscience**, n. 113, p. 324–336, 1999.

BASSAREO, V.; DI CHIARA, G. Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. **Neuroscience**, n. 89, p. 637–641, 1999.

BEAR, M.F.; CONNORS, B.W.; PARADISO, M. A. **Neurociências Desvendando o Sistema Nervoso**. 2. ed. Rio Grande do Sul: Artmed, 2006. p. 131-162.

BECK, C.H.; FIBIGER, H.C. Conditioned fear-induced changes in behavior and in the expression of the immediate early gene c-fos: with and without diazepam pretreatment. **The Journal of Neuroscience**, n. 15, p. 709-720, 1995.

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

BERRIDGE, C.W.; MITTON, E.; CLARK, W.; ROTH, R.H. Engagement in a non-escape (displacement) behavior elicits a selective and lateralized suppression of frontal cortical dopaminergic utilization in stress. **Synapse**, n. 32, p. 187-197, 1999.

BERTRAND, P.P.; BARAJAS-ESPINOSA, A.; NESHAT, S.; BERTRAND, R.L.; LOMAX, A.E. Analysis of real-time serotonin (5-HT) availability during experimental colitis in mouse. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**, 2009.

BLANCHARD, D.C.; BLANCHARD, R.J.; RODGERS, R.J. Risk assessment and animal models of anxiety. In: Oliver, B.; Mos, J.; Slangen, J.L., editors, **Animal Models in Psychopharmacology Birkhäuser, Basel**, p. 117-134, 1991.

BLANCHARD, R.J.; YUDKO, E.B.; RODGERS, R.J.; BLANCHARD, D.C. Defense system psychopharmacology: an ethological approach to the pharmacology of fear and anxiety. **Behavioural Brain Research**, n. 58, p. 155-165, 1993.

BLUNDELL, J.E. Is there a role for serotonin (5-hydroxytryptamine) in feeding? **Int. Journal of Obesity**, p. 15-42, 1977.

BOHMAKER, K.; BORDI, F.; MELLER, E. The effects of pertussis toxin on dopamine D2 and serotonin 5-HT_{1A} autoreceptor-mediated inhibition of neurotransmitter synthesis: relationship to receptor reserve. **Neuropharmacology**, n.31, p. 451-459, 1992.

BROG, J.S.; SALYAPONGSE, A.; DEUTCH, A.Y.; ZAHM, D.S. The patterns of afferent innervation of the core and shell in the "accumbens" part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. **The Journal of Comparative Neurology**, n. 338, p. 255-278, 1993.

BRUNNER, D.; BUHOT, M.C.; HEN, R.; HOFER, M. Anxiety, motor activation, and maternal-infant interactions in 5-HT_{1B} knockout mice. **Behavioral Neuroscience**, v. 113, n. 3, p. 587-601, 1999.

CAMPBELL, B.M.; MERCHANT, K.M. Serotonin 2C receptors within the basolateral amygdala induce acute fear-like responses in an open-field environment. **Brain Research**, n. 993, p. 1-9, 2003.

CARLEZON Jr., W.A.; DUMAN, R.S.; NESTLER, E.J.; The many faces of CREB. **Trends in Neurosciences**, n. 28, p. 436-445, 2005.

CARLEZON, W.A.; WISE, R.A. Rewarding actions of phencyclidine and related drugs in nucleus accumbens shell and frontal cortex. **Journal of Neuroscience**, n. 16, p. 3112-3122, 1996.

CASTRO, L.; MALDONADO, I.; CAMPOS, B.; VARJÃO, B.; ANGELO, A.L.; ATHANAZIO, R.A.; BARBETTA, M.C.; RAMOS, A.C.; FREGONESE, J.B.; De CASTRO E SILVA, E. Central administration of mCPP, a serotonin 5-HT_{2B/2C} agonist, decreases water intake in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 72, p. 891-898, 2002.

CHAOULOFF, F.; BERTON, O.; AQUERRE, S.; HAY, M.; MORMEDE, P. Effects of food deprivation on midbrain 5-HT_{1A} autoreceptors in Lewis and SHR rats. **Neuropharmacology**, n. 36, p. 483-488, 1997.

CHARNEY, D.S. Neuroanatomical circuits modulating fear and anxiety behaviors. **Acta Psychiatrica Scandinavica**, n. 417, p. 38-50, 2003.

CHARNEY, D.S.; DEUTCH, A. A functional neuroanatomy of anxiety and fear: implications for the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. **Critical Reviews Neurobiology**, n. 10, p. 419-446, 1996.

CLARK, M.S.; SEXTON, T. J.; MCCLAIN, M.; ROOT, D.; KOHEN, R.; NEUMAIER, J. F. Overexpression of 5-HT_{1B} receptor in dorsal raphe nucleus using herpes simplex virus gene transfer increases anxiety behavior after inescapable stress. **The Journal of Neuroscience**, n. 22, p. 4550-4562, 2002.

CLIFTON, P.G.; LEE, M.D.; DOURISH, C.T. Similarities in the action of RO 60-0175, a 5-HT_{2C} receptor agonist and d-fenfluramine on feeding patterns in the rat. **Psychopharmacology**, n. 152, p. 256-267, 2000.

CRYAN, J.F.; KAUPMANN, K. Don't worry 'B' happy!: a role for GABAB receptors in anxiety and depression. **Trends in Pharmacological Sciences**, n. 26, p. 36-43, 2005.

CURRIE, P.J.; COIRO, C.D.; NIYOMCHAI, T.; LIRA, A.; FARAHMAND, F. Hypothalamic paraventricular 5-hydroxytryptamine: receptor-specific inhibition of NPY-stimulated eating and energy metabolism. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 71, p. 709-716, 2002.

DA CUNHA, I.C.; DE NAZARETH, A.M.; VARGAS, J.; FERRAZ, A.; NETO, J.; PASCHOALINI, M.; FARIA, M. The microinjection of AMPA receptor antagonist into the accumbens shell failed to change food intake, but reduced fear-motivated behaviour in free-feeding female rats. **Behavioural Brain Research**, v. 193, p. 243-247, 2008a.

DA CUNHA, I.C.; LOPEZ, A.P.F.; STEFFENS, S.M.; FERRAZ, A.; VARGAS, J.; LIMA, T.C.M.; NETO, J.M.; PASCHOALINI, M.; FARIA, M. The microinjection of AMPA receptor antagonist into the accumbens shell, but not into accumbens core, induces anxiolysis in an animal model of anxiety. **Behavioural Brain Research**, v. 193, p. 243-247, 2008b.

DALTON, G. L.; LEE, M.D.; KENNETT, G.A.; DOURISH, C.T.; CLIFTON, P.G. Serotonin 1B and 2C receptor interactions in the modulation of feeding behaviour in the mouse. **Psychopharmacology**, n. 185, p. 45-57, 2006.

DELFS, J.M.; ZHU, Y.; DRUHAN, J.P.; ASTON-JONES, G.S. Origin of noradrenergic afferents to the shell subregion of the nucleus accumbens: anterograde and retrograde tract-tracing studies in the rat. **Brain Research**, n. 806, p. 127–140, 1998.

DE VRY, J.; SCHREIBER, R. Effects of selected serotonin 5-HT(1) and 5-HT(2) receptor agonists on feeding behavior: Possible mechanisms of action. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, n. 24, p. 341–353, 2000.

DI CHIARA, G.; IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 85, p. 5274–5278, 1998.

DRYDEN, S.; WANG, Q.; FRANKISH, H.M.; WILLIAMS, G. Differential effects of the 5-HT_{1B/2C} receptor agonist mCPP and the 5-HT_{1A} agonist flesinoxan on hypothalamic neuropeptide Y in the rat: evidence that NPY may mediate serotonin's effects on food intake. **Peptides**, n. 17, p. 943–949, 1996.

ERIKSSON, E.; ENGBERG, G.; BING, O.; NISSBRANDT, H. Effects of mCPP on the extracellular concentrations of serotonin and dopamine in rat brain. **Neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 3, p. 287-296, 1999.

FILIP, M.; CUNNINGHAM, K. A. Serotonin 5-HT(2C) receptors in nucleus accumbens regulate expression of the hyperlocomotive and discriminative stimulus effects of cocaine. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, n. 71, p. 745–756, 2002.

FONE, K. C. F.; AUSTIN, R. H.; TOPHAM, I.A.; KENNETT, G. A.; PUNHANI, T. Effect of chronic m-CPP on locomotion, Hypophagia, plasma corticosterone and 5-HT_{2C} receptor levels in the rat. **British Journal of Pharmacology**, n. 123, p. 1707-1715, 1998.

FREO, U.; HOLLOWAY, H.W.; GREIG, N.H.; SONCRANT, T.T. Chronic treatment with meta-chlorophenylpiperazine (m-CPP) alters behavioral and cerebral metabolic responses to the serotonin agonists m-CPP and quipazine but not 8-hydroxy-2(di-N-propylamino)tetralin. **Psychopharmacology**, n.107, p. 30-38, 1992.

FRITSCHY, J.M.; MOHLER, H. GABAA-receptor heterogeneity in the adult rat brain. Differential regional and cellular distribution of seven major subunits. The **Journal of Comparative Neurology**, n. 359, p. 154-194, 1995.

FULLER, R.W. Role of serotonin in therapy of depression and related disorders. **Journal of Clinical Psychiatry**, n. 52, p. 52-57, 1991.

GARGIULO, P.A. Thyrotropin releasing hormone injected into the nucleus accumbens septi selectively increases face grooming in rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. 29, p. 805-810, 1996.

GINGRICH, J.A.; HEN, R. Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. **Psychopharmacology**, n. 155, p. 1-10, 2001.

GLEASON, S.D.; SHANNON, H. E. Meta-chlorophenylpiperazine induced changes in locomotor activity are mediated by 5-HT₁ as well as 5-HT_{2C} receptors in mice. **European Journal of Pharmacology**, p. 135-138, 1998.

GOLDSTEIN, D.J.; RAMPEY Jr., A.H.; ENAS, G.G.; POTVIN, J.H.; FLUDZINSKI, L.A.; LEVINE, L.R. Fluoxetine: a randomized clinical trial in the treatment of obesity. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**. n. 18 p. 129-135, 1994.

GRAEF, F.G.; NETTO, C.F.; ZANGOSSI Jr., H. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, n. 23, p. 237-246, 1998.

GRAF, M.; KANTOR, S.; ANHEUER, Z.E.; MODOS, E.A.; BAGDY, G. m-CPP-induced self-grooming is mediated by 5-HT_{2C} receptors. **Behavioural Brain Research**, n. 142, p. 175-179, 2003.

GRAY, J.A.; Dopamine release in the nucleus accumbens: the perspective from aberrations of consciousness in schizophrenia. **Neuropsychologia**, n. 33, p. 1143-1153, 1995.

GREWAL, S.S.; SHEPHERD, J.K.; BILL, D.J.; FLETCHER, A.; DOURISH, C.T. Behavioural and pharmacological characterization of the canopy stretched attend posture test as a model of anxiety in mice and rats. **Psychopharmacology**, n. 133, p. 29-38, 1997.

GRIGNASCHI, G.; SIRONI, F.; SAMANIN, R. Stimulation of 5-HT_{2A} receptors in the paraventricular hypothalamus attenuates neuropeptide Y-induced hyperphagia through activation of corticotrophin releasing factor. **Brain Research**, n. 708, p. 173-176, 1996.

GRIEBEL, G.; RODGERS, R.J.; PERRALT, G.; SANDER, D.J. Risk assessment behaviour: evaluation of utility in the study of 5-HT- related drugs in the rat elevated plus-maze test. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n.57, p. 817-827, 1997.

GROENINK, L.; VAN BOGAERT, M.J.; VAN DER GUGTEN, J.; OOSTING, R.S.; OLIVIER, B. 5-HT_{1A} receptor and 5-HT_{1B} receptor knockout mice in stress and anxiety paradigms. **Behavioural Pharmacology**, v. 14, p. 369-383, 2003.

GROSS, C.; HERR, R. The developmental origins of anxiety. **Nature Reviews Neuroscience**, n. 5, p. 545-552, 2004.

GUITTON, M.; DUDAI, Y. Anxiety-like state associates with taste to produce conditioned taste aversion. **Biological Psychiatry**, n. 56, p. 901-904, 2004.

HACKLER, E.A.; TURNER, G.H.; GRESCH, P.J.; SENGUPTA, S.; DEUTCH, A.Y.; AVISON, M.J.; GORE, J.C.; SANDERS-BUSH, E. 5-Hydroxytryptamine_{2C} receptor contribution to m-chlorophenylpiperazine and n-methyl- β -carboline-3-carboxamide-induced anxiety-like behavior and limbic brain activation. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, n. 320, p. 1023–1029, 2007.

HAIDER, S.; HALEEM, D.J. Decreases of brain serotonin following a food restriction schedule of 4 weeks in male and female rats. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, n. 6, p. 1061-1067, 2000.

HAINES, D.E. **Neurociência fundamental para aplicações básicas e clínicas**. 3ª edição. Editora Elsevier. R.J., p. 297-301, 2006.

HALFORD, J. C.; BLUNDELL, J. E. The 5-HT_{1B} receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. **Physiological Behavior**, n. 60, p. 933-939, 1996.

HALFORD, J.C.; HARROLD, J.A.; BOYLAND, E.J.; LAWTON, C.L.; BLUNDELL, J.E. Serotonergic drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. **Drugs**, n. 67, p. 27-55, 2007.

HALFORD, J.C.G.; WANNINAYAKE, S.C.D; BLUNDELL, J.E. Behavioral satiety sequence (BSS) for the diagnosis of drug action on food intake. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 61, p. 159-168, 1998.

HANLON, E.C.; BALDO, B.A.; SADEGHIAN, K.; KELLY, A. E. Increases in food intake or food-seeking behavior induced by GABAergic, opioid, or dopaminergic stimulation of the nucleus accumbens: is it hunger? **Psychopharmacology**, n. 172, p. 241-247, 2004.

HASLER, W.L. Serotonin and the GI tract. **Current Gastroenterology Reports**, n. 11, p. 383-391, 2009.

HEIMER, L.; SWITZER, R.C.; VAN HOESEN, G.V. Ventral striatum and ventral pallidum. **Trends Neuroscience**, n. 5, p.83-87, In: HEIMER L. A new anatomical framework for neuropsychiatric disorders and drug abuse. **American Journal of Psychiatry**, n. 160, p. 1726-1739, 2003.

HEIMER, L.; VAN HOESEN, G.V. The limbic lobe and its output channels: implications for emotional functions and adaptive behavior. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, n. 30, p. 126-147, 2006.

HEIMER, L.; ZAHM, D.S.; CHURCHILL, L.; KALIVAS, P.W.; WOHLTMANN, C. Specificity in the projection patterns of accumbens core and shell in the rat. **Neuroscience**, n. 41, p. 89-125, 1991.

HEISLER, L.K.; ZHOU, L.; BAJWA, P.; HSU, J.; TECOTT, L.H. Serotonin 5-HT_{2C} receptors regulate anxiety-like behavior. **Genes, Brain and Behavior**, n. 6, p. 491-496, 2007.

HEISLER, L.K.; TECOTT, L.H. A paradoxical locomotor response in serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice. **The Journal of Neuroscience**, n. 20, p. RC71, 2000.

HEWITT, K.N.; LEE, M.D.; DOURISH, C.T.; CLIFTON, P.G. Serotonin 2C receptor agonists and the behavioural satiety sequence in mice. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 71, p. 691–700, 2002.

HIGGINS, G.A.; FLETCHER, P.J. Serotonin and drug reward: focus on 5-HT_{2C} receptors. **European Journal of Pharmacology**, n. 480, p. 151–162, 2003.

HOLMES, A. Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, n. 32, p. 1293–1314, 2008.

IKEDA, H.; MORIBE, S.; SATO, M.; KOTANI, A.; KOSHIKAWA, N.; COOLS, A. Adrenergic receptors in the nucleus accumbens shell differentially modulate dopamine and acetylcholine receptor-mediated turning behaviour. **European Journal of Pharmacology**, n. 554, p. 175-182, 2007.

IMAIZUMI, M.; ONODERA, K. Animal models of “anxiety”. **Nippon Yakurigaku Zasshi**, n. 115, p. 5-12, 2000.

INOUE, T.; KOYAMA, T.; YAMASHITA, I. Effect of conditioned fear stress on serotonin metabolism in the rat brain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 44, p. 371-374, 1993.

INOUE, T.; TSUCHIYA, K.; KOYAMA, T. Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 49, p. 911–920, 1994.

JEAN, A.; CONDUCTIER, G.; MANRIQUE, C.; BOURAS, C.; BERTA, P.; HEN, R.; CHARNAY, Y.; BOCKAERT, J.; COMPAN, V. Anorexia induced by activation of serotonin 5-HT₄ receptors is mediated by increases in CART in the nucleus accumbens. **Neuroscience**, v. 104, n. 41, p. 16335-16340, 2007.

KELLEY, A. E.; BALDO, B.A.; PRATT, W.E.; WILL, M.J. Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: Integration of energy, action and reward. **Physiology & Behavior**, n. 86, p. 773-795, 2005.

KELLEY, A. E.; BERRIDGE, K.C. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. **Journal of Neuroscience**, n. 22, p. 3306-3311, 2002.

KELLEY, A.E. Neural integrative activities of nucleus accumbens subregions in relation to learning and motivation. **Psychobiology**, n. 27, p. 198–213, 1999.

KELLEY, A. E. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. **Neuroscience Biobehavioral Reviews**, n. 27, p. 765-776, 2004.

KELLEY, A. E.; SWANSON, C.J. Feeding induced by blockade of AMPA and Kainite receptor within ventral striatum: a microinfusion mapping study. **Behavioural Brain Research**, v. 89, p. 1107-1113. 1997.

KENNETT, G.A.; LIGHTOWLER, S.; DE BIASI, V.; STEVENS, N.C.; WOOD, M.D.; TULLOCH, I.F.; BLACKBURN, T.P. Effect of chronic administration of selective 5-hydroxytryptamine and noradrenaline uptake inhibitors on a putative index of 5-HT_{2C/2B} receptor function. **Neuropharmacology**, n. 33, p. 1581-1588, 1994.

KENNETT, G.A.; WOOD, M.D.; BRIGHT, F.; TRAIL, B.; RILEY, G.; HOLLAND, V.; AVENELL, K.Y.; STEAN, T.; UPTON, N.; BROMIDGE, S.; FORBES, I.T.; BROWN, A.M.; MIDDLEMISS, D.N.; BLACKBURN, T.P. SB 242084, a selective and brain penetrant 5-HT_{2C} receptor antagonist. **Neuropharmacology**, n. 36, p. 609-620, 1997.

KIMURA, A.; STEVENSON, P.L.; CARTER, R.N.; MACCOLL, G.; FRENCH, K.L.; SIMONS, J.P.; AL-SHAWL, R.; KELLY, V.; CHAPMAN, K.E.; HOLMES, M.C. Overexpression of 5-HT_{2C} receptors in forebrain leads to elevated anxiety and hypoactivity. **European Journal of Neuroscience**, v. 30, p. 299-306, 2009.

KIRBY, L.G.; ALLEN, A.R.; LUCKI, I. Regional differences in the effects of forced swimming on extracellular levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid. **Brain Research**, v. 682, p. 189-196, 1995.

LEE, M.D.; ALOYO, V.J.; FLUHARTY, S.J.; SIMANSKY, K.J. Infusion of the serotonin_{1B} (5-HT_{1B}) agonist CP-93,129 into the parabrachial nucleus potently and selectively reduces food intake in rats. **Psychopharmacology** n. 136, p. 304-307, 1998.

LEE, M.D.; SIMANSKY, K.J. CP-94,253: a selective serotonin_{1B} (5-HT_{1B}) agonist that promotes satiety. **Psychopharmacology** n. 131, p. 264-270, 1997.

LEE, S.; LIN, W.; HUANG, S.; KUO, P.; WANG, C.; WU, P.; CHEN, S.; WU, J.Y.; KO, H.; LU, R. The relationship between serotonin receptor 1B polymorphisms A-161T and alcohol dependence. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 33, n. 9, p. 1589-1595, 2009.

LI, Z.; ICHIKAWA, J.; HUANG, M.; PRU, A.J.; DAI, J.; MELTZER, H.Y. ACP-103, a 5-HT_{2A/2C} inverse agonist, potentiates haloperidol-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. **Psychopharmacology**, n. 183, p.144-153, 2005.

LIN, D.; PARSONS, L.H. Anxiogenic-like effect of serotonin_{1B} receptor stimulation in the rat elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 71, p. 581-58, 2002.

LISTER, R.G. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. **Pharmacology e Therapeutics**, n. 92, p. 180-185, 1987.

LOPES, A.P.F.; DA CUNHA, I.C.; STEFFENS, S.M.; FERRAZ, A.; VARGAS, J.; DE LIMA, T.C.M.; NETO, J.M.; FARIA, M.S.; PASCHOALINI, M.A. GABAA and GABAB agonist microinjection into medial accumbens shell increase feeding and induce anxiolysis in an animal model of anxiety. **Behavioural Brain Research**, v. 184, p. 142-149, 2007.

LOPEZ-ALONSO, V.E.; MANCILLA-DÍAZ, J.M.; RITO-DOMINGO, M.; GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, B.; ESCARTÍN-PÉREZ, R. E. The effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2C} receptor agonists on behavioral satiety sequence in rats. **Neuroscience Letters**, v. 416, p. 285-288, 2007.

LUCKI, I.; KREIDER, M.S.; SIMANSKY, K.J. Reduction of feeding behavior by the serotonin uptake inhibitor sertraline. **Psychopharmacology**, n. 96, p. 289-295, 1988.

LUCKI, I., WARD, H.R., FRAZER, A. Effect of 1-(m-chlorophenyl)piperazine and 1-(m-trifluoromethylphenyl)piperazine on locomotor activity. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, n. 249, p. 155–164, 1989.

LUKKES J.L.; FORSTER G.L.; RENNER K.J.; SUMMERS, C.H. Corticotropin-releasing factor 1 and 2 receptors in the dorsal raphé differentially affect serotonin release in the nucleus accumbens. **European Journal of Pharmacology**, n. 578, p. 185–193, 2008.

LUKKES, J.L.; SUMMERS, C.H.; SCHOLL, J.L.; RENNER, K.J.; FORSTER, G.L. Early life social isolation alters corticotropin releasing factor responses in adult rats **Neuroscience**, n. 158, p. 845–855, 2009.

MCTAVISH, D.; HEEL, R.C. Dexfenfluramine. A review of its pharmacological properties and therapeutic potential in obesity [erratum appears in *Drugs* 1992 Jul; 44(1):8]. **Drugs**, n. 43, p. 713– 733, 1992.

MALDONADO-IRIZARRY, C.S.; KELLEY, A.E. Excitotoxic lesions of the core and shell subregions of the nucleus accumbens differentially disrupt body weight regulation and motor activity in rat. **Brain Research Bulletin**, n. 6, p. 551– 559, 1995.

MALDONADO-IRIZARRY, C.S.; SWANSON, C.J.; KELLEY, A.E. Glutamate receptors in the nucleus accumbens shell control of feeding behavior via the lateral hypothalamus. **Journal of Neuroscience**, n. 15, p. 6779– 6788, 1995.

MARTINEZ, C.; ROPER, C.; FUNES, A.; FLORE, E.; BLOTTA, C.; LANDA, A.I.; GARGIULO, P.A. Effects of selective NMDA and non-NMDA blockade in the nucleus accumbens on the plus-maze test. **Physiology & Behavior**, n. 76, p. 219-224, 2002.

MELLO, E.; VILLARES, J. Neuroanatomy of the basal ganglia. **Psychiatry Clinics of North America**, n. 20, p. 691-704, 1997.

MOLEWIJK, H.E.; VAN DER POEL, A.M.; OLIVIER, B. The ambivalent behaviour “stretched approach posture” in the rat as a paradigm to characterize anxiolytic drugs. **Psychopharmacology**, n. 121, p. 81–90, 1995.

MONGENSON, G.J.; JONES, D.L.; YIM, C.Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the system. **Progress in Neurobiology**, n. 14, p. 69–97, 1980.

MORET, C.; BRILEY, M. The possible role of 5-HT_{1B/D} receptors in psychiatric disorders and their potential as a target for therapy. **European Journal of Pharmacology**, n. 404, p. 1-12, 2000.

MOSHER, T.; HAYES, D.; GREENSHAW, A. Differential effects of 5-HT_{2C} receptor ligands on place conditioning and locomotor activity in rats. **European Journal of Pharmacology**, p. 107-116, 2005.

MURPHY, D.L.; MUELLER, E.A.; HILL, J.L.; TOLLIVER, T.J.; JACOBSEN, F.M. Comparative anxiogenic, neuroendocrine, and other physiologic effects of m-chlorophenylpiperazine given intravenously or orally to healthy volunteers. **Psychopharmacology**, n. 98, p. 275–282, 1989.

NEUMAIER, J.F.; VINCOW, E.S.; ARVANITOGIANNIS, A.; WISE, R.A.; CARLEZON Jr., W.A. Elevated expression of 5-HT_{1B} receptors in nucleus accumbens efferents sensitizes animals to cocaine. **The Journal of Neuroscience**, n. 22, p. 10856-10863, 2002.

NOGUEIRA, R.L.; GRAEFF, F.G. Role of 5-HT receptor subtypes in the modulation of dorsal periaqueductal gray generated aversion. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 52, n. 1, p. 1-6, 1995.

O'DELL, L.E.; PARSONS, L.H. Serotonin_{1B} receptors in the ventral tegmental area modulate cocaine-induced increases in nucleus accumbens dopamine levels. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 311, n. 2, p. 711-719, 2004.

OEKELEN, D.V.; LUYTEN, W.H.M.L.; LEYSEN, J. E. 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors and their atypical regulation properties. **Life Sciences**, n. 72, p. 2429-2449, 2003.

OTTONI, E.B. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. **Behavior Research Methods, Instruments & Computers**, n. 32, p. 446- 449, 2000.

PAXINOS, G.; WATSON, C. **The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates**, 4^a ed., Academic Press, 2007.

PICCIOTTO, M.R.; BRUNZELL, D.H.; CALDARONE, B. Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. **Neuroreport**, n. 13, p. 1097-1106, 2002.

PLIAKAS, A.M.; CARLSON, R.R.; NEVE, R.L.; KONRADI, C.; NESTER, E.J.; CARLEZON Jr., W.A. Altered responsiveness to cocaine and increased immobility in the forced swim test associated with elevated cAMP response element-binding protein expression in nucleus accumbens. **Journal of Neuroscience**, n. 21, p. 7397-7403, 2001.

PINEL, J.J.; MANA, M.J. Adaptative interactions of rats with dangerous inanimate objects: Support for a cognitive theory of defensive behavior. In: Blanchard, R.J.; Brain, P.F.; Blanchard, D.C.; Parmigiani, S., editors. *Ethoexperimental Approaches to the study of Behavior*. **Dordrecht: Kluweer Academic Publications**, p. 137-150, 1993.

PINEL, J.P.J.; MANA, M.J.; WARD, J.A. Stretched-approach sequences directed at a localized shock source by *Rattus norvegicus*. **Journal of Comparative Psychology**, n. 103, p. 140-148, 1989.

PONTIERI, F.E.; TANDA, G.; DI CHIARA, G. Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the "shell" as compared with the "core" of the rat nucleus accumbens. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n. 92, p. 12304-12308, 1995.

PRATT, W.E.; SPENCER, R.C.; KELLEY, A.E. Muscarinic Receptor Antagonism of the Nucleus Accumbens Core Causes Avoidance to Flavor and Spatial Cues. **Behavioral Neuroscience**, v. 121, n. 6, p.1215-1223, 2007.

PRATT, W.E.; KELLEY, A.E. Nucleus Accumbens Acetylcholine regulates Appetitive learning and motivation for food via activation of muscarinic receptors. **Behavioural Neuroscience**, v. 118, n. 4, p.730-739, 2004.

PRATT, W.E.; BLACKSTONE, K.; CONNOLLY, M.E.; SKELLY, M.J. Selective serotonin receptor stimulation of the medial nucleus accumbens causes differential effects on food intake and locomotion. **Behavioral Neuroscience**, v. 123, n. 5, p. 1046-1057, 2009.

PRZEGALINSKI, E.; FILIP, M.; PAPLA, I.; CZEPIEL, K. Effects of 5-HT_{1B} receptor ligands microinjected into the accumbal shell or core on the cocaine-induced locomotor hyperactivity in rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, n.53, p. 383-394, 2002.

RAGNAUTH, A.; ZNAMENSKY, V.; MOROZ, M.; BODNAR, R.J. Analysis of dopamine receptor antagonism upon feeding elicited by mu and delta opioid agonists in the shell region of the nucleus accumbens. **Brain Research**, n. 877, p. 65-72, 2000.

REYNOLDS, S.M.; BERRIDGE, K.C. Fear and feeding in the nucleus accumbens shell: rostrocaudal segregation of GABA-elicited defensive behavior versus eating behavior. **The Journal of Neuroscience**, n. 21, p. 3261-3270, 2001.

REYNOLDS, S.M.; BERRIDGE, K.C. Glutamate motivational ensembles in nucleus accumbens: rostro caudal shell gradients of fear and feeding. **European Journal of Neuroscience**, n. 17, p. 2187-2220, 2003.

REYNOLDS, S.M.; BERRIDGE, K.C. Positive and negative motivation in nucleus accumbens shell: Bivalent rostrocaudal gradients for GABA-Elicited eating, taste "Liking"/ "Disliking" reactions, place preference/avoidance, and fear. **Journal of Neuroscience**, n. 22, p. 7308-7320, 2002.

RODGERS, R.J.; CAO, B.J.; DALVI, A.; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. 30, p. 289-304, 1997.

SALAMONE, J.D. The involvement of nucleus accumbens dopamine in appetitive and aversive motivation. **Behavioural Brain Research**, n. 61, p. 117-133, 1994.

SARI, Y. Serotonin 1B receptors: from protein to physiological function and behavior. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, n. 28, p. 5565-5582, 2004.

SCHWIENBACHER, I.; FENDT, M.; RICHARDSON, R.; SCHNITZLER, H.U. Temporary inactivation of the nucleus accumbens disrupts acquisition and expression of fear-potentiated startle in rats. **Brain Research**, n. 1027, p. 87-93, 2004.

SETEM, J.; PINHEIRO, A.P.; MOTTA, V.A.; MORATO, S.; CRUZ, A.P.M. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 62, p. 515-521, 1999.

SEXTON, P.M.; PAXINOS, G.; KENNEY, M.A.; WOOKEY, P.J.; BEAUMONT, K. In vitro autoradiographic localization of amylin binding sites in rat brain. **Neuroscience**, n. 62, p. 553-567, 1994.

SILLS, M.A.; LUCKI, I.; FRAZER, A. Development of selective tolerance to the serotonin behavioral syndrome and suppression of locomotor activity after repeated administration of either 5-MeODMT or mCPP. **Life Sciences**, n. 36, p. 2463-2469, 1985.

SIMANSKY, K.J.; DAVE, K.D.; INEMER, B.R.; NICKLOUS, D.M.; PADRON, J.M.; ALOYO, V.J.; ROMANO, A.G. A 5-HT_{2C} agonist elicits hyperactivity and oral dyskinesia with hypophagia in rabbits. **Physiology & Behavior**, n. 82, p. 97-107, 2004.

SIMANSKY, K.J. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. **Behavioral Brain Research**, n. 73, p. 37–42, 1996.

STEFFENS, S.M.; CUNHA, I.C.; BECKMAN, D.; LOPES, A.P.F.; FARIA, M.S.; NETO, J.M. PASCHOALINI, M.A. The effects of metergoline and 8-OH-DPAT injections into arcuate nucleus and lateral hypothalamic area on feeding in female rats during the estrous cycle. **Physiology e Behavior**, n. 95, p. 484–491, 2008.

STIEDL, O.; MISANE, I.; KOCH, M.; PATTIJ, T.; MEYER, M.; O'GREN, S.O. Activation of the brain 5-HT_{2C} receptors causes hypolocomotion without anxiogenic-like cardiovascular adjustments in mice. **Neuropharmacology**, n. 52, p. 949-957, 2007.

STRATFORD, T.R. Activation of feeding-related neural circuitry after unilateral injections of muscimol into the nucleus accumbens shell. **Brain Research**, n. 1048, p. 241–250, 2005.

STRATFORD, T.R.; KELLEY, A.E. GABA in the nucleus accumbens shell participates in the central regulation of feeding behavior. **Journal of Neuroscience**, n. 17, p. 4434–4440, 1997.

STRATFORD, T.R.; SWANSON, C.J.; KELLY, A. Specific changes in food intake elicited by blockade or activation of glutamate receptors in the nucleus accumbens shell. **Behavioural Brain Research**, n. 93, p. 43–50, 1998.

STÜDER, H.K.; WEICKER, H. Physiology and Pathophysiology of the serotonergic system and its implications on mental and physical performance. Part I. **Int. J. Sports Medicine**, p. 467-481, 2001.

STURM, V.; LENARTZ, D.; KOULOUSAKIS, A.; TREUER, H.; HERHOLZ, K.; KLEIN, J.C.; KLOSTERKÖTTER, J. The nucleus accumbens: a target for deep brain stimulation in obsessive-compulsive and anxiety-disorders. **Journal of Chemistry Neuroanatomy**, n. 26, p. 293–299, 2003.

SETEM, J.; PINHEIRO, A.P.; MOTTA, V.A.; MORATO, S.; CRUZ, A.P.M. Ethopharmacological analysis of 5-HT ligands on the rat elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, n. 62, p. 515-521, 1999.

SCHWIENBACHER, I.; FENDT, M.; RICHARDSON, R.; SCHNITZLER, H.U. Temporary inactivation of the nucleus accumbens disrupts acquisition and expression of fear-potentiated startle in rats. **Brain Research**, n. 1027, p. 87-93, 2004.

TANDA, G.L; DI CHIARA, G. A dopamine-mu(1) opioid link in the rat ventral tegmentum shared by palatable food (Fonzies) and nonpsychostimulant drugs of abuse. **European Journal of Neuroscience**, n. 10, p. 1179-1187, 1998.

TANDA, G; PONTIERI, F.E.; DI CHIARA, G. Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common mu 1 opioid receptor mechanism. **Science**, n. 276, p. 2048-2050, 1997.

TYE, N.C.; IVERSEN, S.D.; GREEN, A.R. The effects of benzodiazepines and serotonergic manipulations on punished responding. **Neuropharmacology**, n. 18, p. 689-695, 1979.

USIELLO, A; SARGOLINI, F.; ROULLET, P; AMASSARI-TEULE, M.; PASSINO, E.; OLIVERIO, A.; MELE, A. N-Methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens are involved in detection of spatial novelty in mice. **Psychopharmacology**, n. 137, p. 175-183, 1998.

VAN DER POEL, A.M. A note on "stretched attention", a behavioural element indicative of an approach-avoidance conflict in rats. **Animal Behaviour**, n. 27, p. 446-450, 1979.

VAN ROSSUM, D.; MENARD, D.P.; FOURNIER, A.; ST-PIERRE, S.; QUIRION, R. Autoradiographic distribution and receptor binding profile of [125I] bolton hunter-rat amylin binding sites in the rat brain. **The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics**, n. 270, p. 779-787, 1994.

VICKERS, S.P.; CLIFTON, P.G.; DOURISH, C.T.; TECOTT, L.H. Reduced satiating effect of d-fenfluramine in serotonin 5-HT_{2C} receptor mutant mice. **Psychopharmacology**, n. 143, p. 309-314, 1999.

VICKERS, S.P.; DOURISH, C.T.; KENNETT, G.A. Evidence that hypophagia induced by d-fenfluramine and d-norfenfluramine in the rat is mediated by 5-HT_{2C} receptors. **Neuropharmacology**, n. 41, p. 200-209, 2001.

WALKER, E.A.; KOHUT, S.J.; HASS, R.W.; BROWN Jr., E.K.; PRABANDHAM, A.; LEFEVER, T. Selective and nonselective serotonin antagonists block the aversive stimulus properties of MK212 and m-chlorophenylpiperazine (mCPP) in mice. **Neuropharmacology**, n. 49, p. 1210-1219, 2005.

WALKER, E.A.; BROWN Jr., E.K.; STERIOUS, S.N. In vivo Schild regression analyses using nonselective 5-HT_{2C} receptor antagonists in a rat operant behavioral assay. **Psychopharmacology**, n. 193, p. 187-197, 2007.

ZAHM, D.S.; BROG, J.S. On the significance of subterritories in the 'accumbens' part of the rat ventral striatum. **Neuroscience**, n. 50, p. 751-767, 1992.

ZHUANG, X.; GROSS, C.; SANTARELLI, L.; COMPAN, V.; TRILLAT, A.; HEN, R. Altered emotional states in knockout mice lacking 5-HT_{1A} or 5-HT_{1B} receptors. **Neuropsychopharmacology**, v. 21, p. 52-60, 1999.

ANEXO

Ms. Ref. No.: BBR-D-10-00094

Title: FEAR-RELATED BEHAVIOUR INCREASED AFTER mCPP INJECTION INTO THE ACCUMBENS SHELL OF FOOD-RESTRICTED RATS.

Behavioural Brain Research

Dear Professor Marta Paschoalini

Your submission entitled "FEAR-RELATED BEHAVIOUR INCREASED AFTER mCPP INJECTION INTO THE ACCUMBENS SHELL OF FOOD-RESTRICTED RATS." has been assigned the following manuscript number: BBR-D-10-00094.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/bbr/>.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Mary Harty

Journal Manager

Behavioural Brain Research

02 de fevereiro de 2010.