

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS

BRUNNO ROCHA LEVONE

**PARTICIPAÇÃO DE α -ADRENOCEPTORES DO NÚCLEO
MEDIANO DA RAFE NO CONTROLE DA RESPOSTA
INGESTIVA EM RATOS SACIADOS**

Florianópolis – SC
2014

Brunno Rocha Levone

**PARTICIPAÇÃO DE α -ADRENOCEPTORES DO NÚCLEO
MEDIANO DA RAFE NO CONTROLE DA RESPOSTA
INGESTIVA EM RATOS SACIADOS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina, para obtenção do título de Mestre em Neurociências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marta
Aparecida Paschoalini
Coorientadora: Prof^a Dr^a Samira
Schultz Mansur

Florianópolis – SC
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Rocha Levone, Brunno

Participação de <alfa>-adrenoceptores do Núcleo Mediano da Rafe no Controle da Resposta Ingestiva em Ratos Saciados / Brunno Rocha Levone ; orientadora, Marta Aparecida Paschoalini ; co-orientadora, Samira Schultz Mansur. - Florianópolis, SC, 2014.

75 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

Inclui referências

1. Neurociências. 2. Núcleo Mediano da Rafe. 3. Adrenoceptores. 4. Ingestão de alimento. 5. Serotonina. I. Paschoalini, Marta Aparecida. II. Schultz Mansur, Samira. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. IV. Título.

BRUNNO ROCHA LEVONE

**“PARTICIPAÇÃO DE α -ADRENOCEPTORES DO
NÚCLEO MEDIANO DA RAFE NO CONTROLE DA
RESPOSTA INGESTIVA EM RATOS SACIADOS”**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para a obtenção do Grau de Mestre em Neurociências na área de Neuropsicobiologia no Programa de Pós-Graduação em Neurociências da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 20 de fevereiro de 2014.

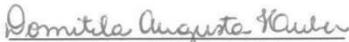


Prof. Rodrigo Bainy Leal
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Prof. Marta Aparecida Paschoalini
Orientadora – UFSC



Prof. Domitilá A. Huber
Membro – UFSC



Prof. Fernanda B.L. Christian
Membro – UFSC



Prof. Mariana Graciela Terenzi
Membro – UFSC

AGRADECIMENTOS

Ao finalizar essa dissertação de mestrado, só tenho a agradecer por todo conhecimento e experiência adquiridos.

Agradeço a Deus e a toda a minha família, pela força, apoio e compreensão nos momentos mais difíceis. Obrigado mãe, pai, irmãos, avó, tias e ao Daniel. Todos foram imprescindíveis.

Um agradecimento especial à minha orientadora Prof^a Dr^a Marta Aparecida Paschoalini, inicialmente pelo voto de confiança em ter me aceito em seu laboratório e em segundo lugar pela disposição em sempre ajudar e transmitir conhecimento tanto como professora, quanto como orientadora.

À nossa aluna de iniciação científica Elisa Caroline Cella, pela disponibilidade e auxílio na realização da nossa pesquisa. Foi fundamental.

A todos os professores das disciplinas que realizei durante o mestrado. Com certeza, todos colaboraram muito para meu crescimento e desenvolvimento pessoal e profissional.

Aos professores da minha banca de qualificação Dr^a Mariana Graciela Terenzi, Dr^a Fernanda Barbosa Lima Christian e Dr Moacir Serralvo Faria e agora na banca de defesa, também à Dr^a Domitila Augusta Huber, pela disponibilidade e colaboração.

À professora Dr^a Rosane Porto Seleme Heinzen pela colaboração e conhecimentos transmitidos durante meu estágio de docência e à Catharina Nucci, minha colega de estágio, pela parceria.

À minha coorientadora, Prof^a Dr^a Samira Schultz Mansur pelas colaborações.

Ao professor Moacir, pela parceria e empréstimo do laboratório.

À Larissa, que além de ter sido uma grande colega de laboratório, se mostrou uma grande amiga de verdade e aos amigos Ana Paula Taschetto, Ana Cláudia e Rafael que conheci no laboratório, mas com certeza levarei para a vida. Aos colegas do LAMEB, pela colaboração.

A todos os colegas de laboratório que conheci durante essa jornada: Eduardo, Ana Paula Fraga Lopes, Lucas e Anderson. Aos colaboradores do nosso departamento, Nivaldo, dona Vilma e Carlos.

A todos os amigos que vêm desde antes do mestrado, pelo apoio e compreensão do meu afastamento devido aos compromissos inadiáveis.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

O presente estudo avaliou a participação de α -adrenoceptores do núcleo mediano da rafe (NMR) de ratos saciados, nas variáveis de ingestão de alimentos e água e comportamentos não ingestivos. Os animais controle foram tratados com salina (SAL) ou adrenalina (ADR), injetados no NMR sete minutos após a injeção do veículo utilizado para solubilizar os antagonistas, propilenoglicol (PLG) ou SAL. Os animais dos grupos experimentais foram tratados com um antagonista de α -adrenoceptores, prazosina (α_1 , 20 ou 40nmol) ou ioimbina (α_2 , 20 ou 40nmol) ou fentolamina (α não seletivo, 20 ou 40nmol), seguido, sete minutos após, pela injeção de ADR ou SAL. Os comportamentos foram registrados durante 30 minutos. Os resultados indicam que a injeção de ADR, assim como o bloqueio de receptores α_1 resulta em hiperfagia, por outro lado, o bloqueio de α_2 ou de α_1 e α_2 simultaneamente não altera o comportamento ingestivo. O pré-tratamento do núcleo mediano da rafe com a prazosina, seguida da injeção de ADR, não foi capaz de causar um incremento na quantidade de alimento ingerido após cada um separadamente, embora a maior dose (40nmol) tenha reduzido a latência para iniciar o comportamento ingestivo. O pré-tratamento com a ioimbina ou com a fentolamina, seguido de ADR, bloqueou o comportamento ingestivo induzido pela ADR sozinha. O presente estudo reforça a ideia de que existe uma ativação tônica de α_1 -adrenoceptores no NMR, que ativa uma influência inibitória (provavelmente neurônios serotoninérgicos) em áreas que controlam a ingestão de alimentos. A ADR, ao ativar receptores α_2 , leva a uma queda na disponibilidade de catecolamina endógena na sinapse, o que reduz a liberação de 5-HT e leva à hiperfagia.

Palavras-chave: Núcleo mediano da rafe. Alfa-adrenoceptores. Ingestão de alimento. Serotonina.

ABSTRACT

The present study evaluated the involvement of α -adrenoceptors of the median raphe nucleus (MRN) in satiated rats, in the variables of food and water intake and non ingestive behaviours. Control animals were treated with saline (SAL) or adrenaline (ADR), injected into the MRN seven minutes after the injection of the vehicle used to solubilize the antagonists, propylene glycol (PLG) or SAL. The animals of the experimental groups were treated with an α -adrenoceptor antagonist, prazosin (α_1 , 20 or 40nmol) or yohimbine (α_2 , 20 or 40nmol) or phentolamine (non-selective α , 20 or 40nmol), followed (seven minutes after) by the injection of ADR or SAL. The behaviours were recorded for 30 minutes. The results indicate that the injection of ADR and the blockade of α_1 receptors result in hyperphagia, on the other hand, blocking α_2 or α_1 and α_2 simultaneously does not change feeding behaviour. Pretreatment of the MRN with prazosin, followed by the injection of ADR was not able to cause an increase in the amount of food ingested by each one, while the highest dose (40nmol) reduced the latency to start feeding. Pretreatment with phentolamine or yohimbine, followed by ADR blocks feeding induced by ADR itself. The present study reinforces the idea that there is a tonic activation of α_1 -adrenoceptors in the MRN, which activates an inhibitory influence (probably serotonergic neurons) in areas that control food intake. ADR activates α_2 receptors, resulting in a decrease in the availability of endogenous catecholamines at the synapse, which reduces the release of 5-HT and leads to hyperphagia.

Key-words: Median raphe nucleus. Alpha-adrenoceptors. Food intake. Serotonin.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Esquema demonstrando a localização do hipotálamo..... | 23 |
| Figura 2. Esquema de estruturas de controle da ingestão do alimento..... | 25 |
| Figura 3. Representação esquemática do Núcleo Mediano da Rafe..... | 28 |
| Figura 4. Aparelho estereotáxico Insight..... | 36 |
| Figura 5. Caixa de registro comportamental..... | 38 |
| Figura 6. Criostato Leica, modelo CM 1850 UV..... | 40 |
| Figura 7. Diagramas representativos de cortes coronais e das injeções que atingiram o NMR..... | 41 |
| Figura 8. Efeitos da injeção do antagonista de $\alpha 1$ -adrenoceptores, prazosina, no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados... | 42 |
| Figura 9. Efeitos da injeção de ADR e PRZ nas adjacências do NMR..... | 44 |
| Figura 10. Efeitos do pré-tratamento com prazosina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados..... | 45 |
| Figura 11. Efeitos do pré-tratamento com ioimbina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados..... | 48 |
| Figura 12. Efeitos do pré-tratamento com fentolamina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados..... | 51 |
| Figura 13. Efeitos do pré-tratamento com fentolamina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de água em ratos saciados..... | 52 |
| Figura 14. Desenho esquemático demonstrando a função do NMR no controle da ingestão de alimento em ratos saciados..... | 61 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeitos da injeção do antagonista prazosina nas doses de 20 e 40nmol no NMR nas variáveis de ingestão de água e não ingestivas....43
- Tabela 2.** Efeitos do pré-tratamento com o antagonista prazosina nas doses de 20 e 40 nmol, seguido da aplicação de ADR no NMR, nas variáveis de ingestão de água e não ingestivas.....46
- Tabela 3.** Efeitos da injeção do antagonista ioimbina nas doses de 20 e 40nmol nas variáveis ingestivas e não ingestivas.....47
- Tabela 4.** Efeitos do pré-tratamento com o antagonista ioimbina nas doses de 20 e 40 nmol, seguido da aplicação de ADR no NMR, nas variáveis de ingestão de água e não ingestivas.....49
- Tabela 5.** Efeitos da injeção do antagonista fentolamina nas doses de 20 e 40nmol nas variáveis ingestivas e não ingestivas.....50
- Tabela 6.** Efeitos do pré-tratamento com o antagonista fentolamina nas doses de 20 e 40 nmol, seguido da aplicação de ADR no NMR, nas variáveis não ingestivas.....53

LISTA DE ABREVIATURAS

- 5-HT – 5-hidroxitriptamina, serotonina
- 8-OH-DPAT – 8-hidroxi-2-n-(di-n-propilamino)tetralina
- α -MSH – hormônio alfa-melanócito estimulante
- ADR – adrenalina
- ARQ – núcleo arqueado
- CART – transcrito regulado pela cocaína e anfetamina
- DMH – hipotálamo dorsomedial
- FNT – fentolamina
- IBN – ioimbina
- LH – hipotálamo lateral (ou área hipotalâmica lateral)
- NA – noradrenalina
- NDR – núcleo dorsal da rafe
- NMR – núcleo mediano da rafe
- NPV – núcleo paraventricular
- NPY – neuropeptídeo Y
- NTS – núcleo do trato solitário
- PLG – propilenoglicol
- Pn – núcleos pontinos
- PnO – parte oral do núcleo pontino reticular
- POMC – pró-ópio-melanocortina
- PRAg – peptídeo relacionado ao agouti
- PRZ – prazosina
- SAL – salina
- VMH – hipotálamo ventromedial

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 23 |
| 1.1. Controle neural do balanço energético e sua relação com a serotonina | 23 |
| 1.2. Os núcleos da rafe | 26 |
| 1.3. O núcleo mediano da rafe..... | 27 |
| 1.4. O sistema noradrenérgico e a ingestão de alimento | 29 |
| 2. OBJETIVOS..... | 33 |
| 2.1. Geral..... | 33 |
| 2.2. Específicos | 33 |
| 3. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 35 |
| 3.1. Animais | 35 |
| 3.2. Procedimentos Cirúrgicos | 35 |
| 3.3. Microinjeções e drogas administradas..... | 37 |
| 3.4. Grupos experimentais..... | 37 |
| 3.5. Caixa de registro comportamental..... | 37 |
| 3.6. Perfusão e Histologia..... | 39 |
| 3.7. Análise estatística..... | 40 |
| 4. RESULTADOS..... | 41 |
| 4.1. Efeitos do antagonista de $\alpha 1$ -adrenoceptores, prazosina, no NMR nas variáveis ingestivas e não ingestivas..... | 42 |
| 4.2. Efeitos do antagonista de $\alpha 2$ -adrenoceptores, ioimbina, no NMR nas variáveis ingestivas e não ingestivas..... | 47 |
| 4.3. Efeitos do antagonista não seletivo de $\alpha 1$ e $\alpha 2$ -adrenoceptores, fentolamina, no NMR nas variáveis ingestivas e não ingestivas..... | 50 |
| 5. DISCUSSÃO..... | 55 |
| 5.1. Antagonista seletivo de $\alpha 1$ -adrenoceptores, prazosina..... | 55 |
| 5.2. Antagonista seletivo de $\alpha 2$ -adrenoceptores, ioimbina..... | 57 |
| 5.3. Antagonista não seletivo de α -adrenoceptores, fentolamina . | 58 |
| 5.4. O papel do NMR na resposta ingestiva mediada por α -adrenoceptores..... | 59 |
| 6. CONCLUSÃO | 63 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 65 |

1. INTRODUÇÃO

1.1. Controle neural do balanço energético e sua relação com a serotonina

A homeostase energética é um processo regulatório ativo que realiza um balanço entre o consumo e o gasto energético (PERRIN *et al.*, 2003). Embora haja um índice crescente de pessoas obesas, o balanço energético é um processo finamente regulado (DRUCE, SMALL e BLOOM, 2004), sendo o hipotálamo o principal local de integração de diversos fatores de origem central e periférica para o controle da homeostase energética (SAHU, 2004). Vários núcleos hipotalâmicos, como o arqueado (ARQ), o dorsomedial (DMH), o ventromedial (VMH), o paraventricular (NPV) e a área hipotalâmica lateral (LH) estão relacionados com o controle da ingestão de alimentos. Esses núcleos estão demonstrados na Figura 1.

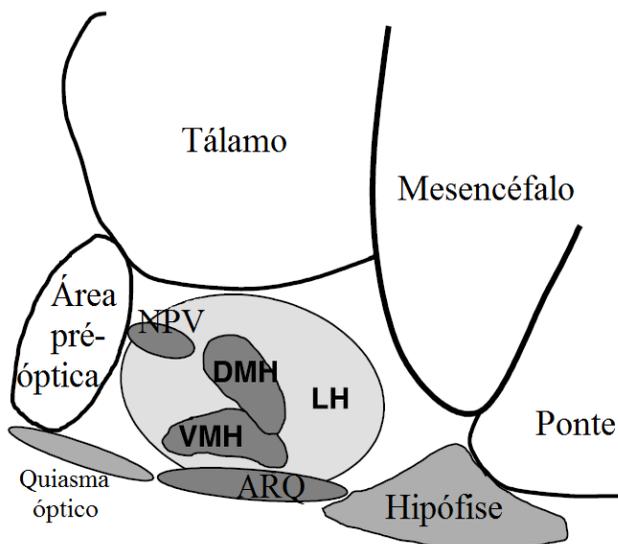


Figura 1: Esquema demonstrando a localização do hipotálamo (regiões em cinza) e seus principais núcleos. Adaptado de Neary, Goldstone e Bloom (2004). NPV=núcleo paraventricular, DMH=hipotálamo dorsomedial, VMH=hipotálamo ventromedial, LH=hipotálamo lateral, ARQ=núcleo arqueado.

Por possuir uma pobre barreira hemato-encefálica em sua proximidade, o núcleo arqueado (ARQ) recebe sinais da periferia e os integra com sinais do tronco encefálico (CONE et al, 2001), sendo um dos principais núcleos hipotalâmicos relacionado ao controle do comportamento ingestivo e apetite (HEISLER et al., 2007; HEISLER et al., 2006; WARD et al., 2008). De fato, quando o ARQ de ratos é lesado, o resultado é a obesidade e a hiperfagia (HEISLER et al., 2007; WADE et al., 2008).

No ARQ, há duas áreas que controlam a ingestão, sendo uma que estimula – a orexigênica (relacionada aos neurotransmissores anabólicos neuropeptídeo Y e peptídeo relacionado ao agouti, responsáveis pela fome) e outra que inibe – a anorexigênica (relacionada aos neurotransmissores catabólicos pro-opiomelanocortina/ α -MSH e transcrito regulado pela cocaína e anfetamina/CART, responsáveis pela saciedade) (DRUCE, SMALL e BLOOM, 2004; VALASSI, SCACCHI e CAVAGNINI, 2007).

Os neurônios do ARQ projetam-se para o núcleo paraventricular, o dorsomedial, o olfatório e o núcleo do trato solitário (DRUCE, SMALL E BLOOM, 2004). O núcleo paraventricular coordena ações destinadas à alimentação, metabolismo, eixo endócrino e sistema simpático (DRUCE, SMALL E BLOOM, 2004), podendo secretar moléculas anorexigênicas ou orexigênicas, dependendo dos sinais periféricos que chegam ao hipotálamo (VALASSI, SCACCHI e CAVAGNINI, 2007). O comportamento ingestivo também é influenciado por estruturas límbicas e corticais do cérebro, como a amígdala e o córtex pré-frontal, que estão relacionados ao valor hedônico do alimento, como sabor, aparência e textura (HEISLER et al., 2007). As principais estruturas relacionadas ao controle da ingestão de alimento estão demonstradas na Figura 2.

Muitos são os hormônios periféricos que conseguem influenciar a ingestão de alimento, como por exemplo a grelina, a leptina, a insulina, a colecistocinina, o polipeptídeo pancreático, o peptídeo tipo glucagon 1, o peptídeo YY, a oxintomodulina, entre outros (para revisão: DRUCE, SMALL e BLOOM, 2004). Esses peptídeos podem também sinalizar para o hipotálamo através do complexo vagal dorsal, no tronco encefálico (DRUCE, SMALL e BLOOM, 2004).

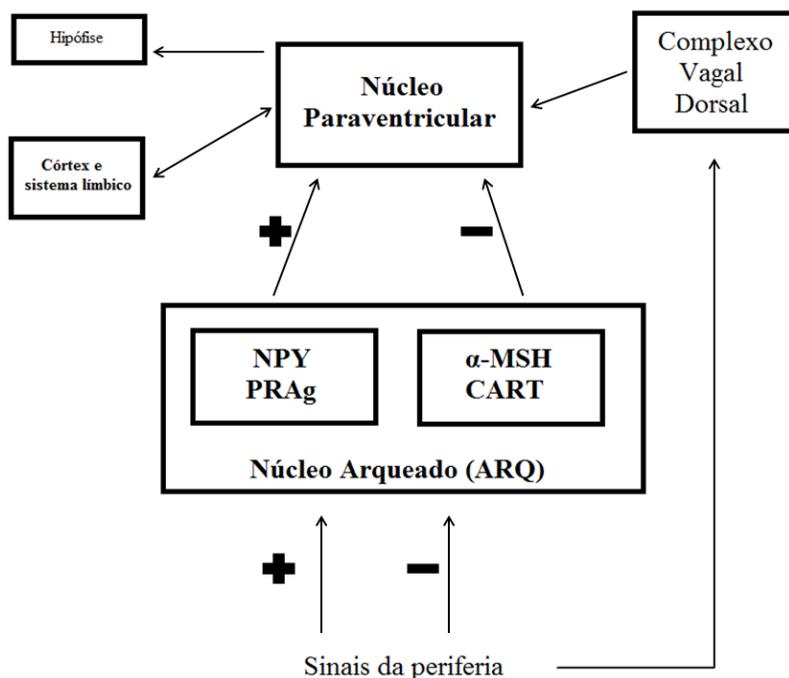


Figura 2: Esquema de estruturas de controle da ingestão do alimento, demonstrando a influência de sinais periféricos sobre a região anorexigênica (-) e a orexigênica (+) do ARQ, que por sua vez exerce influências sobre o núcleo paraventricular (NPV). O NPV também pode ser influenciado por informações providas do complexo vagal dorsal. Adaptado de Druce, Small e Bloom (2004).

A definição de saciação e saciedade, que são parte do sistema de controle do apetite, evidencia a função desses peptídios na ingestão de alimentos. Saciação pode ser definida como o processo que leva ao término da ingestão, relacionado à liberação de hormônios/peptídeos que informam sobre o enchimento estomacal, aumento da absorção intestinal e da satisfação (BENELAM, 2009). A saciedade, por outro lado, é a sensação de volume que persiste após a ingestão, suprimindo a ingestão até que a fome retorne (BENELAM, 2009).

Estudos com manipulações na síntese, na biodisponibilidade e no metabolismo da serotonina (5-HT) fornecem evidências do papel endógeno que esse neurotransmissor possui na coordenação da ingestão de alimento e manutenção do peso corporal (LAM et al., 2010) Entradas

serotonérgicas em núcleos hipotalâmicos originam-se principalmente dos núcleos dorsal (NDR) e mediano da rafe (NMR), do mesencéfalo (ADELL *et al.*, 2002; WILLOUGHBY e BLESSING, 1987).

Evidências acumuladas sugerem que manipulações farmacológicas de vias serotonérgicas afetam o comportamento ingestivo (BLUNDELL, 1986; GARFIELD e HEISLER, 2009; HALFORD *et al.*, 2005). Experimentos mostram que a depleção central de 5-HT resulta em hiperfagia, demonstrando que a 5-HT desempenha um papel inibitório na regulação da ingestão de alimentos (BREISCH, ZEMLAN e HOEBEL, 1976; SALLER e STRICKER, 1976). Além disso, uma vez que a 5-HT não atravessa a barreira hemato-encefálica, é deduzível que a supressão da ingestão seja mediada por vias serotonérgicas centrais (HEISLER *et al.*, 2006).

A 5-HT coordena, ou ao menos influencia, diversos aspectos motivacionais da ingestão de alimentos, observados em circuitos mesolímbicos, centros reflexos do tronco encefálico e centros integradores hipotalâmicos (LAM *et al.*, 2010). Em ratos descerebrados, injeções de agonistas serotonérgicos no quarto ventrículo reduzem a ingestão de alimentos (GRILL *et al.*, 1997; KAPLAN, SONG e GRILL, 1998), sugerindo que a ação da serotonina no tronco encefálico pode ser suficiente para fornecer algum nível de controle sobre a ingestão de alimentos (LAM *et al.*, 2010).

1.2. Os núcleos da rafe

Núcleos da rafe são grupos heterogêneos de neurônios, com distinta morfologia, projeções e características neuroquímicas (JACOBS e AZMITIA, 1992), localizados na linha média ao longo da extensão rostrocaudal do tronco encefálico (HORNUNG, 2003). Essa região do tronco é conhecida por possuir neurônios produtores de 5-HT (5-hidroxitriptamina), inicialmente estudados por Dahlström e Fuxe (1964), que utilizaram a técnica de fluorescência histoquímica de Falck-Hillarp e realizaram uma identificação detalhada dos corpos desses neurônios, classificando-os em nove grupos, denominados de B1 a B9, sendo B1 o mais caudal e B9 o mais rostral (DAHLSTRÖM e FUXE, 1964; BOWKER *et al.*, 1983; MARSTON, GARFIELD e HEISLER, 2011).

O núcleo mediano da rafe (NMR – B8) e o núcleo dorsal da rafe (NDR – B7) são a origem da grande maioria das fibras serotonérgicas que inervam a maior parte das estruturas prosencefálicas (ADELL *et al.*, 2002; PERRIN *et al.*, 2003), sendo que aproximadamente 20% delas são

originadas no NMR (DESCARRIES *et al.*, 1982). As projeções axonais dos neurônios serotoninérgicos da rafe são generalizadas, ramificando para o tronco encefálico e a maior parte do prosencéfalo, como tálamo, hipotálamo, estriado e córtex (FUXE, 1965; MARSTON, GARFIELD e HEISLER, 2011). Os axônios do NDR e do NMR dirigem-se a regiões distintas do prosencéfalo – enquanto as fibras do NMR chegam ao hipocampo dorsal, hipotálamo e septo medial (HENSLENER, 2006), as do NDR chegam ao estriado, hipocampo ventral, amígdala, núcleo accumbens e córtex cerebral (MOKLER *et al.*, 2009).

Os núcleos da rafe estão envolvidos em diversos domínios fisiológicos, como no controle do ciclo sono-vigília, na liberação de neurohormônios hipotalâmicos, comportamento motivacional, emocionalidade, aprendizado/memória, respostas à dor e balanço energético (BERGER, GRAY e ROTH, 2009; CONRAD, LEONARD e PFAFF, 1974; JACOBS E AZMITIA, 1992; JONNAKUTY e GRAGNOLI, 2008; PYTLIAK *et al.*, 2011).

A atividade dos neurônios serotoninérgicos da rafe é controlada por feedback negativo, mediada por receptores 5-HT_{1A} (JACOBS e AZMITIA, 1992; LAM *et al.*, 2010), que são autoreceptores somatodendríticos, acoplados a uma proteína G inibitória (CAINS, BLOMELEY e BRACCI, 2012; HOYER, HANNON e MARTIN, 2002; LAM *et al.*, 2010; PENINGTON, KELLY e FOX, 1991), que regulam a síntese e liberação do neurotransmissor (HENSLENER, 2006). Uma demonstração disso pode ser observada após a injeção da droga 8-OH-DPAT, agonista do receptor 5-HT_{1A}, que inibe fortemente a atividade dos neurônios serotoninérgicos (JACOBS e AZMITIA, 1992).

1.3. O núcleo mediano da rafe

O NMR está localizado na linha média do mesencéfalo, ventralmente ao NDR, que por sua vez é ventral ao aqueduto mesencefálico (DAHLSTRÖM e FUXE, 1964; KOHLER e STEINBUSCH, 1982). A Figura 3 demonstra um corte coronal de encéfalo de rato, na coordenada estereotáxica de +7,8 mm posterior ao bregma, apresentando a disposição anatômica do NDR e do NMR. Além das fibras serotoninérgicas que o NMR projeta para estruturas prosencefálicas, o mesmo também projeta fibras não-serotoninérgicas (VERTES, FORTIN e CRANE, 1999). Os neurônios serotoninérgicos estão concentrados na parte mais mediana deste núcleo (BAKER *et al.*, 1991).

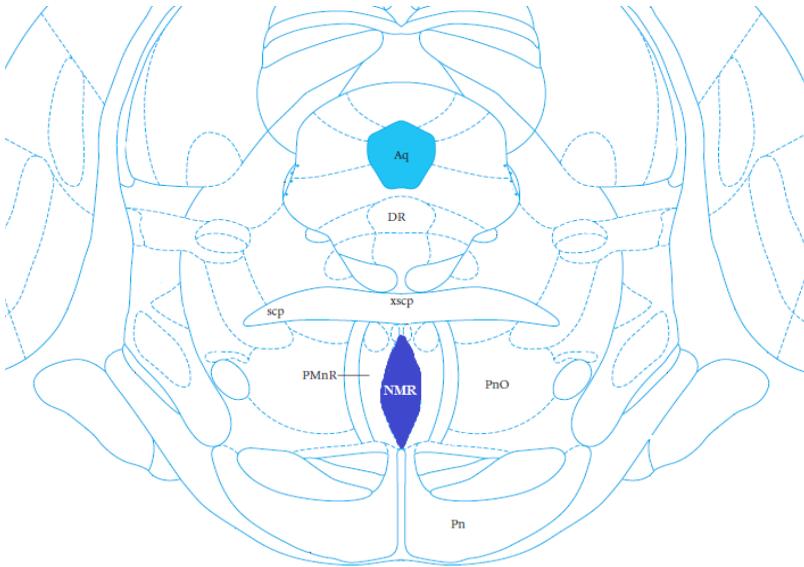


Figura 3: Representação esquemática de um corte coronal do mesencéfalo de ratos, na coordenada de +7,8 mm posterior ao bregma, destacando o Núcleo Mediano da Rafe (NMR). Adaptado do atlas de Paxinos e Watson (2007). Aq=aqueduto mesencefálico, DR=núcleo dorsal da rafe, scp=pedúnculo cerebelar superior, xscp=decussação do pedúnculo cerebelar superior, PMnR=núcleo paramediano, PnO=núcleo pontino reticular, Pn = núcleos pontinos

A presença de 5-HT no NMR auxilia no controle da síntese e liberação da própria 5-HT em seus terminais sinápticos. Isso é devido à presença de altas quantidades do autoreceptor 5-HT_{1A}. Estudos demonstram que a aplicação do agonista do receptor 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT, no NMR reduz a liberação de 5-HT em seus terminais sinápticos nas áreas de projeções axonais (HOPWOOD e STAMFORD, 2001), inclusive no hipotálamo medial (CURRIE, FLETCHER e COSCINA, 1994).

Além da própria serotonina, vários outros neurotransmissores influenciam a ação de neurônios serotoninérgicos do NMR, como noradrenalina (NA), dopamina, glutamato, ácido gama-aminobutírico (GABA), glicina, entre outros (PIÑEYRO e BLIER, 1999; ADELL *et al.*, 2002). Sabe-se que neurônios do NMR possuem NA, suas enzimas sintetizadoras (SAAVEDRA, GROBECKER e ZIVIN, 1976) e seus

transportadores (TEJANI-BUTT, 1992). Aferências noradrenérgicas exercem facilitação tônica da transmissão serotoninérgica através de $\alpha 1$ -adrenoceptores (ADELL *et al.*, 2002) e a injeção de prazosina, antagonista de $\alpha 1$ -adrenoceptores, suprime a liberação basal de 5-HT em áreas de projeção (ADELL e ARTIGAS, 1999), como no hipocampo (ROUQUIER, CLAUSTRE e BENAVIDES, 1994).

Diversos estudos foram realizados mostrando o papel do NMR na ingestão de alimentos. Estudos utilizaram-se de manipulações farmacológicas e demonstram que a injeção de agonistas GABAérgicos no NMR, o muscimol ($GABA_A$) e o baclofen ($GABA_B$), causa um enorme aumento na ingestão de alimento e água (FLETCHER, 1994; KLITENICK e WIRTSHAFTER, 1988; WIRTSHAFTER, STRATFORD e PITZER, 1993). Além disso, a injeção de antagonistas glutamatérgicos causa o mesmo efeito e de agonistas glutamatérgicos causa redução na ingestão em ratos deprivados de alimentos (WIRTSHAFTER e KREBS, 1990). Sendo assim, é possível inferir que neurônios GABAérgicos e glutamatérgicos presentes no NMR podem alterar de alguma forma a ingestão de alimentos e água e acredita-se que tratamentos que diminuam a atividade neural no NMR evoquem uma resposta hiperfágica (WIRTSHAFTER, DAVIS e STRATFORD, 2011), sendo proposto que o NMR exerce uma influência inibitória sobre a ingestão de alimentos.

1.4. O sistema noradrenérgico e a ingestão de alimento

Os adrenoceptores são receptores acoplados a uma proteína G e podem ser divididos nos principais tipos: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$ e $\beta 3$. Os $\alpha 1$ e os β -adrenoceptores são acoplados a uma proteína G excitatória e os $\alpha 2$ são acoplados a uma inibitória (PHILIPP e HEIN, 2004; RANG *et al.*, 2007). Os $\alpha 2$ -adrenoceptores são autoreceptores, com ação principal de controlar a neurotransmissão pré- ou pós-sinápticamente, inibindo o sistema noradrenérgico e reduzindo o nível de liberação de noradrenalina (RANG *et al.*, 2007).

A NA, produzida no locus coeruleus/subcoeruleus e área tegmental, é capaz de aumentar a ingestão de alimento através da ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores e reduzir a ingestão através da ativação de $\alpha 1$, $\beta 2$ e $\beta 3$ -adrenoceptores (RAMOS *et al.*, 2005). No NMR, sabe-se que a presença da catecolamina é um agente facilitador tônico direto da transmissão serotoninérgica, isto é, a presença de NA no NMR auxilia na manutenção do tônus dos neurônios serotoninérgicos, através da ativação

de $\alpha 1$ -adrenoceptores (ADELL e ARTIGAS, 1999). Por outro lado, a ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores inibe a liberação de 5-HT (ADELL e ARTIGAS, 1999). Portanto, estudos sugerem que α -adrenoceptores no NMR estejam envolvidos no controle da ingestão de alimento, através do controle da liberação de 5-HT em suas estruturas de projeção.

Neurônios catecolaminérgicos do núcleo do trato solitário (NTS) parecem desempenhar um papel importante na regulação da ingestão de alimentos. Esses neurônios são ativados por refeições saciantes, bem como pela distensão gástrica artificial (RINAMAN *et al.*, 1998 e WILLING e BERTHOUD, 1997). Esses neurônios do NTS são ativados por tratamento sistêmico com agonistas serotoninérgicos (LAM *et al.*, 2009), mas a importância funcional desta população de células no controle da ingestão de alimentos requer maiores investigações.

O papel dos adrenoceptores do NMR no comportamento ingestivo de ratos vem sendo estudado em nosso laboratório. Observou-se que a injeção local de adrenalina (ADR) em ratos privados de alimentos causou hipofagia (MAIDEL *et al.*, 2007). Por outro lado, a injeção da ADR em ratos saciados causou hiperfagia (DOS SANTOS *et al.*, 2009). Curiosamente, a injeção de noradrenalina não alterou a ingestão em nenhuma das duas condições alimentares (DOS SANTOS *et al.*, 2009; MAIDEL *et al.*, 2007). Um estudo também demonstrou que injeção do agonista de receptores $\beta 2$, terbutalina, no NMR não causou alterações na ingestão de alimentos em ratos saciados, excluindo a possibilidade de que a ADR possa estar agindo por esse receptor (MANSUR, 2011).

A aplicação de fenilefrina, um agonista seletivo de $\alpha 1$ -adrenoceptores, em ratos saciados, não foi capaz de modificar o comportamento ingestivo (MANSUR *et al.*, 2011a), já a clonidina, agonista seletivo de $\alpha 2$ -adrenoceptores, causou hiperfagia de intensidade semelhante à ADR (MANSUR *et al.*, 2010). De maneira oposta, em ratos privados de alimentos, a fenilefrina causou hipofagia e a clonidina não alterou o comportamento ingestivo (RIBAS *et al.*, 2012).

Dessa forma, sugere-se que, em ratos privados de alimento, a ADR aja em $\alpha 1$ -adrenoceptores, o que permitiria a liberação da 5-HT e sua ação inibitória na alimentação (MAIDEL *et al.*, 2007). Em ratos saciados, sugere-se que a ADR aja nos $\alpha 2$ -adrenoceptores, que diminui a disponibilidade da catecolamina endógena no NMR, inibindo a liberação de 5-HT e, por conseguinte, aumentando a ingestão de alimentos (DOS SANTOS *et al.*, 2009).

Estudos adicionais em ratos saciados mostraram que o bloqueio de $\alpha 1$ -adrenoceptores, através da aplicação do antagonista seletivo prazosina, causou hiperfagia e que esse efeito é bloqueado quando a fenilefrina é administrada logo após o antagonista (MANSUR *et al.*, 2011b). Por outro lado, o bloqueio de $\alpha 2$ -adrenoceptores, através do antagonista seletivo ioimbina, bloqueia o efeito hiperfágico causado pela clonidina (Mansur *et al.*, 2011b). Esses dados reforçam que a hiperfagia em ratos saciados deve ser devida à ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores e o presente estudo pretende avaliar as alterações na resposta hiperfágica induzida pelo tratamento com ADR no NMR, após o tratamento prévio com antagonistas seletivos e não-seletivos de α -adrenoceptores, com o objetivo de confirmar a hipótese de que a hiperfagia induzida pela ADR em animais saciados também seja mediada pela ativação dos $\alpha 2$ -adrenoceptores.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

- Avaliar a participação de $\alpha 1$ e $\alpha 2$ -adrenoceptores no NMR no controle da ingestão de alimento por meio de drogas que bloqueiam a ação adrenérgica local, em ratos saciados.

2.2. Específicos

- Comprovar os efeitos do bloqueio isolado de $\alpha 1$ e $\alpha 2$ -adrenoceptores na resposta ingestiva e não-ingestiva;
- Avaliar os efeitos do bloqueio simultâneo de ambos α -adrenoceptores;
- Avaliar alterações no comportamento ingestivo e não ingestivo em ratos saciados após a inativação de $\alpha 1$ -adrenoceptores seguida da injeção de ADR no NMR;
- Avaliar alterações no comportamento ingestivo e não ingestivo em ratos saciados após a inativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores seguida da injeção de ADR no NMR;
- Avaliar alterações no comportamento ingestivo e não ingestivo em ratos saciados após a inativação concomitante de $\alpha 1$ e $\alpha 2$ -adrenoceptores seguida da injeção de ADR no NMR;
- Analisar as variáveis de ingestão de água e alimento quanto à quantidade, latência, duração e frequência;
- Analisar as variáveis não ingestivas quanto à duração e frequência.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais

Para o presente estudo, foram utilizados 300 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), com massa corporal entre 280 e 300g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Ao serem recebidos, os animais (em grupos de cinco) foram alojados em caixas de polipropileno (50 x 35 x 15 cm) com grade, forradas com maravalha e dispostas de água e ração peletizada (CR-1, Nuvilab) *ad libitum*. Para habituação, os animais passaram ao menos uma semana no biotério antes de qualquer tratamento.

Todas as caixas permaneceram no biotério, com temperatura controlada em $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ e ciclo claro-escuro de 12 horas (claro das 7 às 19 horas). As caixas foram manipuladas apenas três vezes por semana, para limpeza. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), sendo o protocolo de experimentação aprovado pelo Comitê de Ética ao Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), sob código PP755.

3.2. Procedimentos Cirúrgicos

Para a administração das drogas diretamente no NMR, os animais foram submetidos à cirurgia estereotáxica, para implantação de uma cânula-guia de 0,6 mm de diâmetro externo e 18 mm de comprimento, previamente confeccionada a partir de uma agulha hipodérmica (33G).

Para a cirurgia, os animais foram anestesiados com cloridrato de xilazina (anestésico e sedativo, 13mg/kg) e cloridrato de cetamina (anestésico, 87 mg/kg), injetados por via intraperitoneal. Quando devidamente sedados, os animais foram adaptados ao aparelho estereotáxico (Insight, Ribeirão Preto-SP, Brasil, Figura 4), fixando-se a cabeça pelos condutos auditivos e incisivos superiores. Foi realizada tricotomia, assepsia e incisão no centro do escalpo, para exposição dos ossos do crânio, seguida de raspagem do periósteo e limpeza com água oxigenada (volume 10), para melhor visualização das estruturas de

referência (bregma). Após seguir as corretas coordenadas, a cânula-guia foi posicionada 2 mm acima do NMR, para não haver lesão do mesmo.

Para evitar possíveis lesões durante o procedimento cirúrgico, em especial a dos seios venosos e do aqueduto mesencefálico, a haste do aparelho foi inclinada em 20°. As coordenadas foram calculadas a partir do atlas estereotáxico de cérebro de ratos de Paxinos e Watson (2007), que tem como referência o bregma, sendo: 7,8 mm posterior ao mesmo (medida anteroposterior), 3,0 mm para a esquerda (deslocamento lateral) e 7,0 mm de profundidade a partir da dura-máter (medida dorsoventral). A cânula foi fixada ao crânio por meio de um parafuso de aço inoxidável (tipo joalheiro) e envolta poracrílico auto-polimerizável. Por fim, um fio ortodôntico de aço inoxidável foi introduzido no interior da cânula para evitar seu entupimento.

Após os procedimentos cirúrgicos, os ratos permaneceram alojados individualmente em caixas de polipropileno (30 x 20 x 15 cm), mantidas no biotério com água e ração *ad libitum*. A recuperação cirúrgica dos ratos foi observada e as caixas foram limpas a cada dois dias. Após uma semana de recuperação da cirurgia, os animais foram expostos em dois dias consecutivos à habituação ao ambiente do experimento por 30 minutos (caixa de registro dos comportamentos) e, no dia seguinte, os procedimentos experimentais foram iniciados.

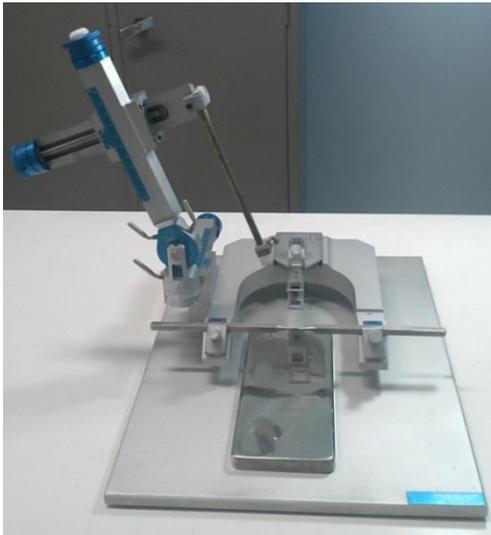


Figura 4. Aparelho estereotáxico Insight.

3.3. Microinjeções e drogas administradas

No dia dos experimentos, as drogas foram administradas diretamente no local de estudo (NMR), através de uma agulha injetora de 20 mm de comprimento (para exceder em 2 mm o comprimento da cânula), conectada por um tubo de polietileno a uma micro seringa de Hamilton (com capacidade total de 1 μ l).

Todas as drogas foram injetadas no volume de 0,2 μ l, e em duração de dois minutos para injeção e dispersão, para evitar o aumento da pressão intracraniana. As drogas e veículos utilizados foram:

- Salina (SAL): solução 0,9% de cloreto de sódio, veículo para a adrenalina e fentolamina;
- Propilenoglicol (PLG): propano-1,2-diol, veículo para prazosina e ioimbina;
- Adrenalina (ADR): ativa todos os receptores adrenérgicos, dose de 20 nmol, da marca Sigma Aldrich. A dose escolhida foi a menor dose efetiva em causar hiperfagia em trabalho prévio realizado em nosso laboratório (DOS SANTOS *et al.*, 2009);
- Prazosina (PRZ): antagonista seletivo de α 1-adrenoceptores, nas doses de 20 ou 40 nmol, da marca Sigma Aldrich;
- Ioimbina (IBN): antagonista seletivo de α 2-adrenoceptores, nas doses de 20 ou 40 nmol, da marca Sigma Aldrich;
- Fentolamina (FNT): antagonista não seletivo de α 1 e α 2-adrenoceptores, nas doses de 20 ou 40 nmol, da marca Sigma Aldrich.

3.4. Grupos experimentais

Os animais controle foram tratados com salina ou adrenalina, injetados no NMR sete minutos após a injeção do veículo utilizado para solubilizar os antagonistas, PLG ou SAL. Os animais do grupo experimental foram tratados com um antagonista seletivo ou não seletivo de α -adrenoceptores, seguido, sete minutos após, pela injeção de adrenalina ou salina no NMR.

3.5. Caixa de registro comportamental

Após a administração das drogas, os animais foram colocados na caixa de registro comportamental. Essa caixa (Figura 5) consiste em

uma caixa de acrílico, com largura e comprimento semelhantes aos da caixa de hospedagem (50 x 35 cm) e maior altura (40 cm) para evitar possíveis fugas. O chão e três das paredes são pintadas com spray preto. A parede da frente possui um vidro e um espelho, posicionado a 45°, que impede que o animal se visualize, mas facilita a gravação do mesmo. A gravação foi realizada por uma web câmera posicionada 10 cm acima do topo da caixa. A análise das variáveis ingestivas e não-ingestivas através dos vídeos foi realizada pelo software Etholog 2.25 (Ottoni, 2000).

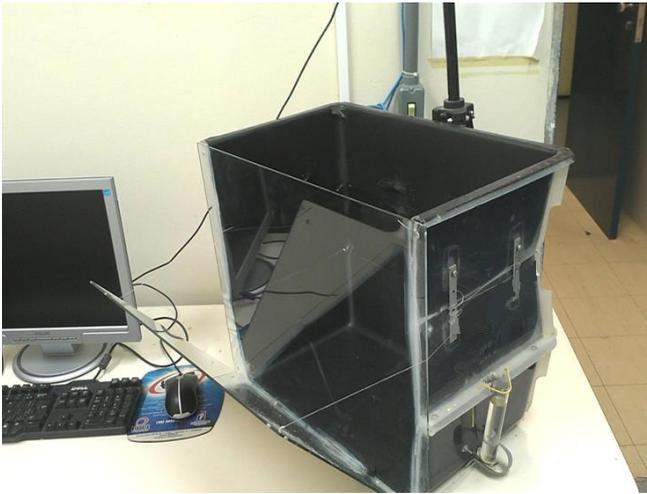


Figura 5. Caixa de registro do comportamento ingestivo e não-ingestivo.

Para o registro (duração de 30 minutos), os animais tiveram água e alimento disponíveis *ad libitum*. Após o experimento, a quantidade água e ração ingerida foi mensurada. A cada troca de animais, a caixa foi limpa com álcool 20%, para evitar possíveis pistas odoríferas. As variáveis comportamentais ingestivas e não-ingestivas avaliadas foram (baseado em Halford, Wanninayake e Blundell, 1998):

- Variáveis ingestivas (variáveis relacionadas à ingestão de alimentos e de água):
 - Quantidade: foi mensurada a diferença entre o início e o término do experimento da ração (g) e da água (ml);
 - Latência (s): tempo para iniciar a ingestão;

- Frequência: número de vezes em que foi realizada ingestão de alimento e/ou água.
 - Duração (s): tempo total gasto ingerindo alimentos e/ou água;
 - Exploração do alimento: manipulação do alimento, sem a ingestão do mesmo, avaliado quanto à frequência e duração;
- Variáveis não-ingestivas (avaliadas quanto a frequência e a duração):
 - Exploração vertical: exploração do ambiente com o corpo ereto, apoiado apenas nas patas traseiras, com patas dianteiras livres e não apoiadas no chão da caixa;
 - Auto limpeza: ato de limpeza da cabeça com as patas, limpeza das unhas ou utilização da boca/língua pelo corpo;
 - Locomoção: deambulação pela caixa, sem apresentar qualquer outro comportamento, movimento obrigatório das quatro patas;
 - Exploração não locomotora: qualquer outra exploração do ambiente, sem a movimentação das patas traseiras, incluindo o sniffing;
 - Imobilidade: quando o animal permanece completamente imóvel, sem apresentar qualquer outro comportamento.

3.6. Perfusão e Histologia

Imediatamente após os experimentos, os ratos foram profundamente anestesiados. Uma incisão torácica foi realizada para exposição do coração; o átrio direito foi cortado e uma agulha foi inserida no ventrículo esquerdo para realização da perfusão, com salina (0,9% de cloreto de sódio), seguida de formol 10%. Os encéfalos foram retirados e mantidos em formol 10% por sete dias.

Os cortes foram realizados em um criostato da marca Leica, modelo CM 1850 UV (Figura 6), à temperatura de -21°C. Para isso, um dia antes do corte, os encéfalos foram mergulhados em solução crioprotetora (tampão fosfato e sacarose 10, 20 e 30%, progressivamente), sendo posteriormente cortados em fatias de 50 µm no plano coronal. Os cortes foram dispostos em lâminas gelatinizadas e

permaneceram secando por sete dias. Após secas, as lâminas foram coradas pelo método de Nissl, que utiliza o cresil violeta, um corante básico que evidencia o citoplasma neuronal. Após secagem, as lâminas foram analisadas em microscópio de luz, com o auxílio do atlas do encéfalo de ratos de Paxinos e Watson, 2007.



Figura 6. Criostato Leica, modelo CM 1850 UV.

3.7. Análise estatística

Os efeitos do tratamento com os antagonistas foram analisados separadamente por meio da análise de variância (ANOVA) de uma via. Os grupos de antagonistas foram comparados com o respectivo controle (PLG ou SAL) e os grupos com pré-tratamento, seguido de ADR, com o controle ADR (PLG-ADR ou SAL-ADR). As análises de variância foram seguidas pelo teste post hoc de Duncan para múltiplas comparações, quando apropriado. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM) e apenas os valores de probabilidade (p) menores do que 0,05 foram considerados significativos.

4. RESULTADOS

A Figura 7 mostra secções coronais, com a posição das injeções no NMR. Análises histológicas indicaram que um total de 98 animais foram atingidos no NMR.

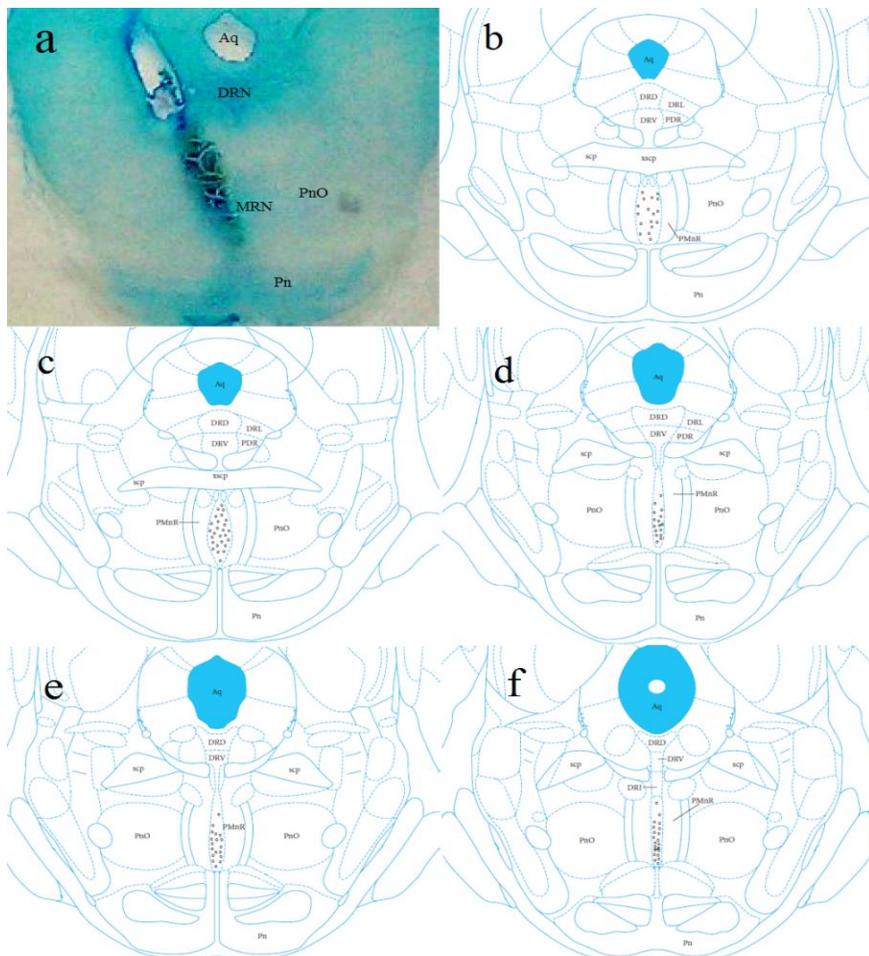


Figura 7. Diagramas representativos de cortes coronais e das injeções que atingiram o NMR. Em a, fotomicrografia de um corte coronal de mesencéfalo, demonstrando o local de injeção no NMR. Em b-f, representação esquemática dos locais de injeção nas coordenadas: 7,68, 7,8, 8,04, 8,16 e 8,4, respectivamente.

4.1. Efeitos do antagonista de $\alpha 1$ -adrenoceptores, prazosina, no NMR nas variáveis ingestivas e não ingestivas

A prazosina foi capaz de aumentar a ingestão de alimento ($F_{2,16}=7,10$, $p=0,006$), acompanhado de uma redução na latência para iniciar a ingestão ($F_{2,16}=3,56$, $p=0,049$). O antagonista também causou um aumento na frequência ($F_{2,16}=4,1$, $p=0,036$) do comportamento ingestivo na dose de 20nmol, sem causar alteração na duração do mesmo. Os histogramas com as variáveis de ingestão de alimento podem ser observados na Figura 8. Houve, também, um aumento marginal na frequência de ingestão de água ($F_{2,16}=3,08$, $p=0,07$ – Tabela 1) e aumento na exploração de alimento, tanto na frequência ($F_{2,16}=7,28$, $p=0,006$) quanto na duração ($F_{2,16}=10,43$, $p=0,001$),

O antagonista não foi capaz de alterar qualquer variável não ingestiva (tabela 1).

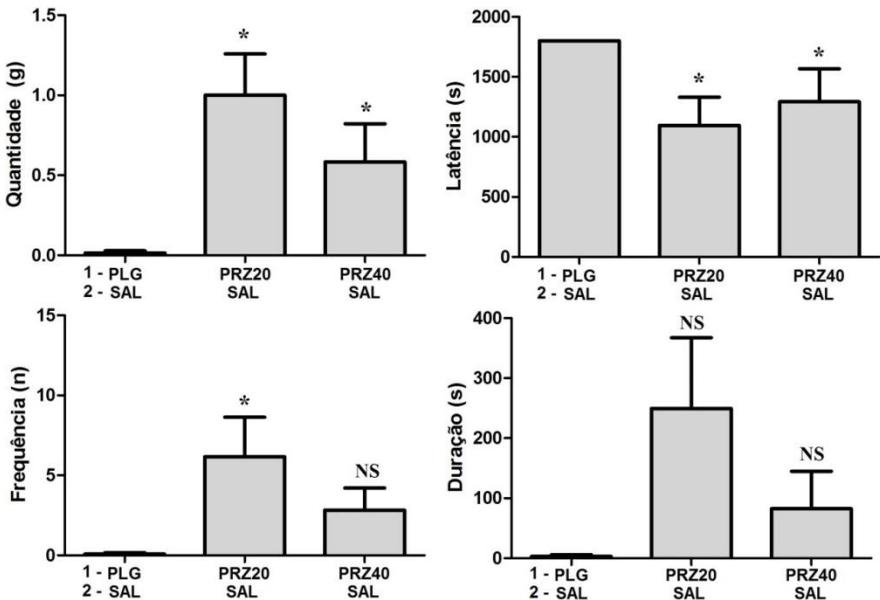


Figura 8. Efeitos da injeção do antagonista de $\alpha 1$ -adrenoceptores, prazosina, no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados. PLG=propileno glicol, SAL=salina, PRZ20=prazosina 20nmol, PRZ40=prazosina 40nmol, NS=não significativo, * $p<0,05$ em relação ao controle (PLG-SAL).

Tabela 1. Efeitos da injeção do antagonista prazosina nas doses de 20 e 40nmol no NMR nas variáveis de ingestão de água e não ingestivas.

| Variáveis | PLG-SAL (n=7) | PRZ20-SAL (n=6) | PRZ40-SAL (n=6) | ANOVA |
|--------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------------|
| Ing ág (ml) | 0,07±0,07 | 0,83±0,38 | 0,58±0,24 | F _{2,16} =2,53 NS |
| Ing ág Lat | 1591,6±208 | 958,07±296 | 946,21±289 | F _{2,16} =2,08 NS |
| Ing ág Fr | 0,14±0,14 | 3,83±1,72 | 4±1,57 | F _{2,16} =3,08 NS |
| Ing ág Dr | 0,23±0,23 | 51,9±26,47 | 60,43±26,8 | F _{2,16} =2,64 NS |
| Expl alim Fr | 6,43±1,59 | 19,5±2,62* | 22,5±5* | F _{2,16} =7,28, p=0,006 |
| Expl alim Dr | 12,87±4,31 | 50,41±6,3* | 67,4±14* | F _{2,16} =10,43, p=0,001 |
| Expl vert Fr | 22,14±3,84 | 40±6,25 | 37,83±7,01 | F _{2,16} =3,08 NS |
| Expl vert Dr | 101,88±26,3 | 150,1±28,2 | 158,2±30,4 | F _{2,16} =1,22 NS |
| Auto limp Fr | 13,14±2,44 | 12,17±2,21 | 17,67±3,44 | F _{2,16} =1,11 NS |
| Auto limp Dr | 221,69±56,8 | 203±54,98 | 295,6±64,8 | F _{2,16} =0,66 NS |
| Locom Fr | 59,57±8,13 | 67,67±14,2 | 74,17±7,8 | F _{2,16} =0,52 NS |
| Locom Dr | 106,88±15,3 | 120,1±23,6 | 123,2±15,8 | F _{2,16} =0,23 NS |
| Expl nloc Fr | 135,71±8,43 | 138,5±15,5 | 138,83±8,2 | F _{2,16} =0,03 NS |
| Expl nloc Dr | 718,38±67,7 | 653,6±37,9 | 601,4±29,5 | F _{2,16} =1,37 NS |
| Imobil Fr | 58±8,9 | 37,83±6,35 | 38,33±5,94 | F _{2,16} =2,5 NS |
| Imobil Dr | 638±78,11 | 321,69±124 | 411,4±73,7 | F _{2,16} =3,18 NS |

Os valores são média ± EPM. Lat=latência, Fr=frequência, Dr=duração, Ing ág=ingestão de água, Expl alim=exploração de alimento, Expl vert=exploração vertical, Auto limp=auto limpeza, Locom=locomotoção, Expl nloc=exploração não locomotora, Imobil=imobilidade. * p<0,05.

Para verificar se a resposta ingestiva obtida é restrita ao NMR e para descartar que os efeitos observados possam ser pela dispersão da droga a áreas vizinhas, a ADR (20 nmol) e a PRZ (20 nmol) foram injetadas em áreas próximas ao NMR, na parte oral do núcleo pontino reticular (PnO) e nos núcleos pontinos (Pn).

Não é observada uma resposta de ingestiva quando a ADR é injetada nas áreas próximas (F_{2,16}=9,25, p=0,002), assim como a redução na latência (F_{2,16}=6,56, p=0,008) e o aumento na frequência (F_{2,16}=15,78, p=0,00016) deixam de ser observados. Em relação à PRZ injetada nos outros núcleos, observa-se o mesmo, a ingestão de alimento não é obtida (F_{2,15}=8,48, p=0,003), nem as alterações na latência (F_{2,15}=4,93, p=0,023) e na frequência (F_{2,15}=5,01, p=0,022)

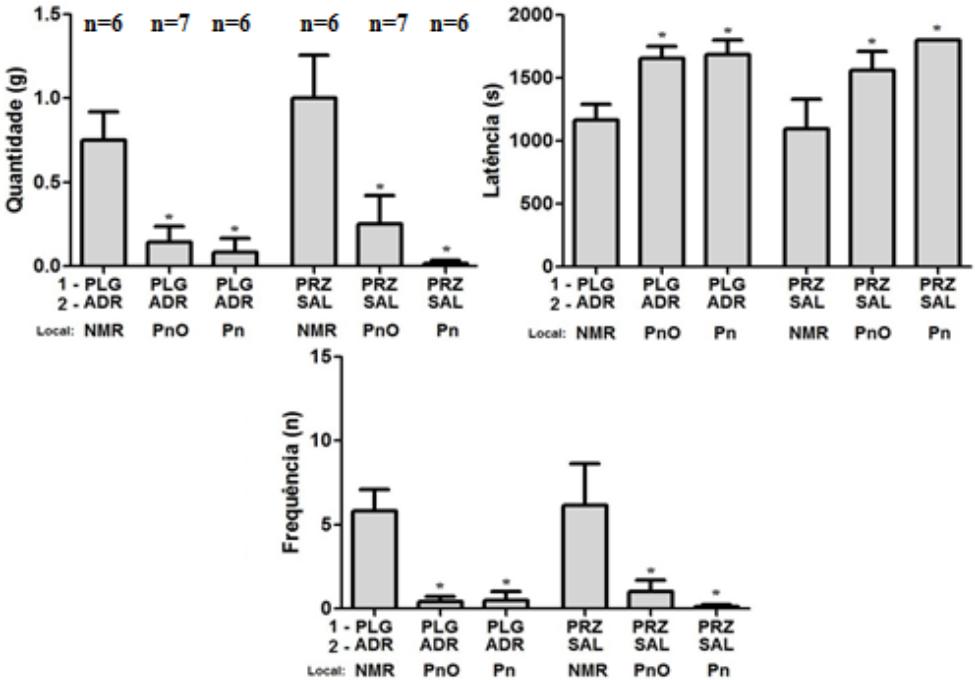


Figura 9. Injeção da ADR e da PRZ nas adjacências do NMR, PnO e Pn, para verificar se há especificidade da hiperfagia induzida por essas drogas no NMR. PLG=propilenoglicol, SAL=salina, ADR=adrenalina, PRZ=prazosina (20nmol), PnO=parte oral do núcleo pontino reticular, Pn=núcleos pontinos, * $p < 0,05$ em relação ao mesmo tratamento no NMR.

O pré-tratamento com a prazosina, seguida de ADR, foi capaz de aumentar a ingestão de alimento ($F_{3,21}=6,01$, $p=0,004$) em relação ao controle PLG, de maneira semelhante ao controle ADR. Acompanhou-se uma redução na latência para iniciar a ingestão ($F_{3,21}=19,03$, $p=0,000003$) em relação ao controle PLG, sendo que a dose de 40nmol conseguiu reduzir significativamente também em relação ao controle ADR. Também houve um aumento na frequência ($F_{3,21}=8,86$, $p=0,0005$) do comportamento ingestivo, sem alteração na duração do mesmo. Os histogramas com as variáveis ingestivas podem ser observados na Figura 7. Também houve aumento na frequência de exploração do alimento, de maneira semelhante ao controle ADR ($F_{3,21}=8,35$, $p=0,00076$).

Em relação às variáveis não ingestivas, os grupos pré-tratados com prazosina, seguida de ADR foram capazes de aumentar a frequência ($F_{3,21}=5,74$, $p=0,005$) e duração da exploração vertical ($F_{3,21}=4,28$, $p=0,017$). A dose de 20nmol reduziu a duração da exploração não locomotora ($F_{3,21}=4,36$, $p=0,016$), em relação ao controle PLG e ao controle ADR. A imobilidade também foi reduzida, sendo que a frequência ($F_{3,21}=4,12$, $p=0,019$) foi diminuída pelos grupos pré-tratados com o antagonista, e a duração foi reduzida tanto pelos grupos pré-tratados, quanto pelo controle ADR ($F_{3,21}=11,62$, $p=0,0001$).

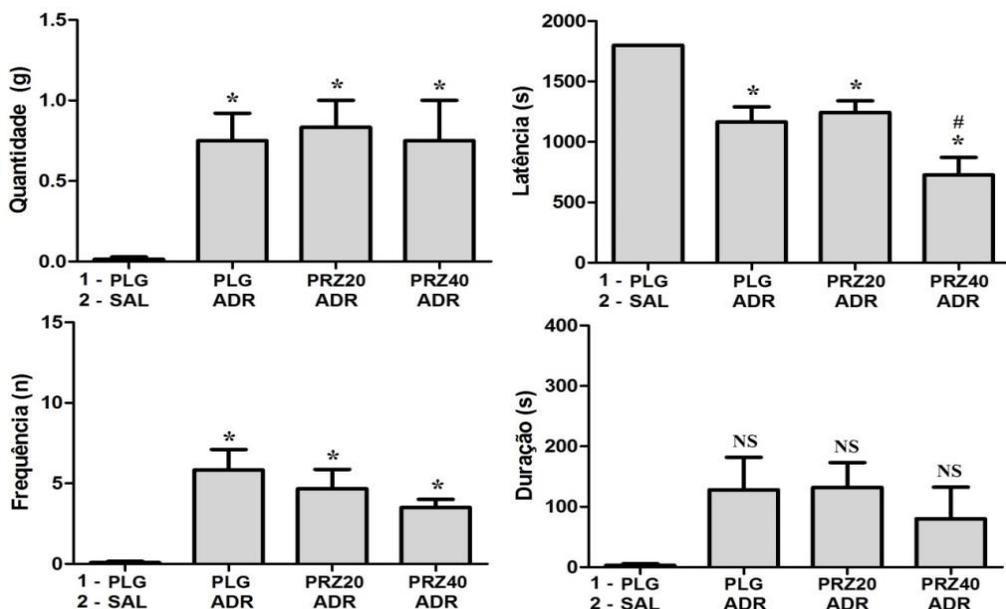


Figura 10. Efeitos do pré-tratamento com prazosina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados. PLG=propilenoglicol, SAL=salina, ADR=adrenalina PRZ20=prazosina 20nmol, PRZ40=prazosina 40nmol, NS=não significativo, * $p<0,05$ em relação ao controle (PLG-SAL), # $p<0,05$ em relação ao controle ADR (PLG-ADR).

Tabela 2. Efeitos da injeção do antagonista prazosina nas doses de 20 e 40 nmol, previamente à aplicação da ADR no NMR, nas variáveis de ingestão de água e não ingestivas.

| Variáveis | PLG-SAL (n=7) | PLG-ADR (n=6) | PRZ20-ADR (n=6) | PRZ40-ADR (n=6) | ANOVA |
|--------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------|
| Ing ág(ml) | 0,07±0,07 | 0,17±0,17 | 0,58±0,3 | 0,33±0,21 | F _{3,21} =1,31 NS |
| Ing ág Lat | 1592±208 | 1664±136 | 1274,6±246 | 1664,5±130 | F _{3,21} =0,93 NS |
| Ing ág Fr | 0,14±0,14 | 1,33±1,33 | 2,67±1,54 | 0,67±0,49 | F _{3,21} =1,19 NS |
| Ing ág Dr | 0,23±0,23 | 9,71±9,71 | 20,88±11,6 | 9,08±5,79 | F _{3,21} =1,22 NS |
| Expl alim Fr | 6,43±1,59 | 26,5±2,6* | 21,67±3,2* | 30,5±6,43* | F _{3,21} =8,35, p=0,00076 |
| Expl alimDr | 12,87±4,3 | 635,6±561 | 56,47±9,4 | 81,08±15,5 | F _{3,21} =1,18 NS |
| Expl vertFr | 22,14±3,8 | 42±9,86 | 51,17±6,8* | 58,5±5,9* | F _{3,21} =5,74, p=0,005 |
| Expl vertDr | 101,9±26 | 183,05±54 | 294±48,4* | 315±65,5* | F _{3,21} =4,28, p=0,017 |
| Auto limpFr | 13,14±2,4 | 12,83±3,6 | 19,17±2,26 | 12,67±2,22 | F _{3,21} =1,34 NS |
| Auto limpDr | 222±56,76 | 215±36,4 | 289,7±51,2 | 189,4±18,1 | F _{3,21} =4,03 NS |
| Locom Fr | 59,57±8,1 | 89,3±18,1 | 96,33±16,1 | 109,3±10,5 | F _{3,21} =2,59 NS |
| Locom Dr | 106,9±15 | 145±27,5 | 176,1±27,3 | 178,2±16,2 | F _{3,21} =2,46 NS |
| Expl nlocFr | 135,7±8,4 | 155±16,9 | 148,17±7,1 | 166,3±14,2 | F _{3,21} =1,18 NS |
| Expl nlocDr | 718,4±68 | 718±18,6 | 519,6±38*# | 789,9±70,1 | F _{3,21} =4,36, p=0,016 |
| Imobil Fr | 58±8,9 | 41±2,48 | 35,17±4,4* | 27,67±7,1* | F _{3,21} =4,12, p=0,019 |
| Imobil Dr | 638±78,1 | 317,5±61* | 211,4±70* | 157,6±37* | F _{3,21} =11,62, p=0,0001 |

Os valores são média ± EPM. Lat=latência, Fr=frequência, Dr=duração, Ing ág=ingestão de água, Expl alim=exploração de alimento, Expl vert=exploração vertical, Auto limp=auto limpeza, Locom=locomção, Expl nloc=exploração não locomotora, Imobil=imobilidade. * p<0,05, # p<0,05 em relação ao controle ADR.

4.2. Efeitos do antagonista de $\alpha 2$ -adrenoceptores, ioimbina, no NMR nas variáveis ingestivas e não ingestivas

A ioimbina por si só não foi capaz de alterar o comportamento ingestivo em ratos saciados, mostrando-se de forma semelhante ao controle PLG; a ingestão de água também não foi alterada (tabela 1).

Em relação às variáveis não ingestivas, o antagonista reduziu a frequência de locomoção ($F_{2,16}=4,08$, $p=0,037$) na dose de 40nmol e a duração da locomoção ($F_{2,16}=7,82$, $p=0,0043$) em ambas as doses. Além disso, a dose de 40nmol foi capaz de reduzir a duração da exploração não locomotora ($F_{2,16}=6,34$, $p=0,0094$).

Tabela 3. Efeitos da injeção do antagonista ioimbina nas doses de 20 e 40nmol nas variáveis ingestivas e não ingestivas.

| Variáveis | PLG-SAL (n=7) | IBN20-SAL (n=6) | IBN40-SAL (n=6) | ANOVA |
|--------------|------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|
| Ing alim (g) | 0±0 | 0±0 | 0±0 | $F_{2,16}=0$ NS |
| Ing alim Lat | 1800±0 | 1800±0 | 1800±0 | $F_{2,16}=0$ NS |
| Ing alim Fr | 0±0 | 0±0 | 0±0 | $F_{2,16}=0$ NS |
| Ing alim Dr | 0±0 | 0±0 | 0±0 | $F_{2,16}=0$ NS |
| Ing ág (ml) | 0,07±0,07 | 0±0 | 0±0 | $F_{2,16}=0,84$ NS |
| Ing ág Lat | 1592±208 | 1800±0 | 1800±0 | $F_{2,16}=0,84$ NS |
| Ing ág Fr | 0,14±0,14 | 0±0 | 0±0 | $F_{2,16}=0,84$ NS |
| Ing ág Dr | 0,23±0,23 | 0±0 | 0±0 | $F_{2,16}=0,84$ NS |
| Expl alim Fr | 6,43±1,59 | 11,5±2,75 | 11,67±3,2 | $F_{2,16}=1,47$ NS |
| Expl alim Dr | 12,87±4,3 | 31,62±10,9 | 23,25±5,49 | $F_{2,16}=1,74$ NS |
| Expl vert Fr | 22,14±3,8 | 18±5,34 | 22,5±4,3 | $F_{2,16}=0,3$ NS |
| Expl vert Dr | 101,9±26 | 53,52±19,6 | 76,51±16,99 | $F_{2,16}=1,23$ NS |
| Auto limp Fr | 13,14±2,4 | 8,83±3,24 | 15,83±3,94 | $F_{2,16}=1,16$ NS |
| Auto limp Dr | 221,7±57 | 8,83±3,24 | 264,26±54,4 | $F_{2,16}=0,5$ NS |
| Locom Fr | 59,57±8,1 | 41,17±4,64 | 35,17±5,04* | $F_{2,16}=4,08$, $p=0,037$ |
| Locom Dr | 106,9±15 | 63,04±6,3* | 48,5±6,92* | $F_{2,16}=7,82$, $p=0,0043$ |
| Expl nloc Fr | 135,7±8,4 | 115,67±8,7 | 115,17±9,88 | $F_{2,16}=1,79$ NS |
| Expl nloc Dr | 718,4±68 | 561,3±52,9 | 453,8±22,6* | $F_{2,16}=6,34$, $p=0,0094$ |
| Imobil Fr | 58±8,9 | 61,83±4,76 | 65,83±6,56 | $F_{2,16}=0,3$ NS |
| Imobil Dr | 638±78,11 | 916,2±133 | 939,1±84,18 | $F_{2,16}=2,92$ NS |

Os valores são média ± EPM. Lat=latência, Fr=frequência, Dr=duração, Ing ág=ingestão de água, Expl alim=exploração de alimento, Expl vert=exploração vertical, Auto limp=auto limpeza, Locom=locomoção, Expl nloc=exploração não locomotora, Imobil=imobilidade. * $p<0,05$.

Comparando os grupos pré-tratados com ioimbina seguida de ADR com o controle ADR, pode-se observar que a ioimbina bloqueou o efeito hiperfágico induzido pela ADR ($F_{3,21}=20,52$, $p=0,000002$), assim como aumentou a latência para iniciar a ingestão ($F_{3,21}=26,85$, $p=0,000000$), reduziu a frequência ($F_{3,21}=22,24$, $p=0,000001$) e a duração ($F_{3,21}=6,02$, $p=0,004$) de tal comportamento (Figura 8). Os grupos pré-tratados também foram capazes de reduzir o aumento na frequência de exploração do alimento causado pelo controle ADR ($F_{3,21}=7,81$, $p=0,0011$)

Em relação às variáveis não ingestivas o grupo pré-tratado na dose de 40nmol reduziu a duração da exploração não locomotora ($F_{3,21}=3,34$, $p=0,039$) em relação ao controle PLG e ao controle ADR. A duração da imobilidade foi reduzida pela ADR e o pré-tratamento com a ioimbina também reverteu essa redução ($F_{3,21}=7,84$, $p=0,0011$).

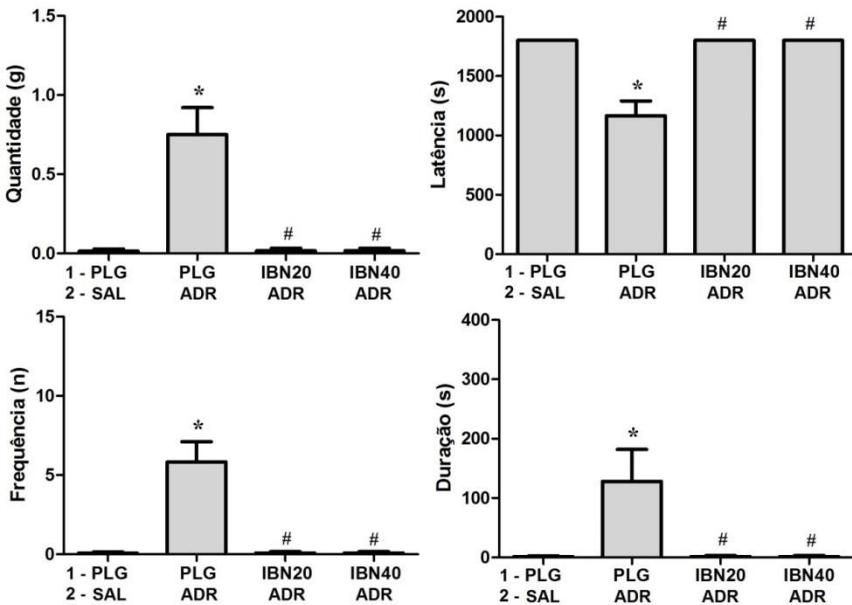


Figura 11. Efeitos do pré-tratamento com ioimbina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados. PLG=propilenoglicol, SAL=salina, IBN20=ioimbina 20nmol, IBN40=ioimbina 40nmol, NS=não significativo, * $p<0,05$ em relação ao controle (PLG-SAL), # $p<0,05$ em relação ao controle ADR (PLG-ADR).

Tabela 4. Efeitos do pré-tratamento com o antagonista ioimbina nas doses de 20 e 40 nmol, seguido da aplicação de ADR no NMR, nas variáveis de ingestão de água e não ingestivas.

| Variáveis | PLG-SAL (n=7) | PLG-ADR (n=6) | IBN20-ADR (n=6) | IBN40-ADR (n=6) | ANOVA |
|--------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------|
| Ing ág (ml) | 0,07±0,07 | 0,17±0,17 | 0,08±0,08 | 0±0 | F _{3,21} =0,47 NS |
| Ing ág Lat | 1591,6±208 | 1663,9±136 | 1625,6±174 | 1800±0 | F _{3,21} =0,33 NS |
| Ing ág Fr | 0,14±0,14 | 1,33±1,33 | 0,17±0,17 | 0±0 | F _{3,21} =0,89 NS |
| Ing ág Dr | 0,23±0,23 | 9,71±9,71 | 2,12±2,12 | 0±0 | F _{3,21} =0,9 NS |
| Expl alim Fr | 6,43±1,59 | 26,5±2,59* | 11,5±2,81# | 16,5±4,9*# | F _{3,21} =7,81, p=0,0011 |
| Expl alim Dr | 12,87±4,31 | 635,6±561 | 23,53±6,46 | 44,4±14,42 | F _{3,21} =1,26 NS |
| Expl vert Fr | 22,14±3,84 | 42±9,86 | 26,17±2,68 | 22,17±6,23 | F _{3,21} =2,34 NS |
| Expl vert Dr | 101,9±26,3 | 183,05±54 | 112,7±20,9 | 88,2±28,84 | F _{3,21} =1,47 NS |
| Auto limp Fr | 13,14±2,44 | 12,83±3,61 | 8,5±1,71 | 18,17±3,6 | F _{3,21} =1,76 NS |
| Auto limp Dr | 221,7±56,8 | 215,1±36,4 | 145,1±21,9 | 225,4±23,2 | F _{3,21} =0,9 NS |
| Locom Fr | 59,57±8,13 | 89,33±18,1 | 70,17±7,45 | 52,67±9,43 | F _{3,21} =1,92 NS |
| Locom Dr | 106,9±15,3 | 145,1±27,5 | 106,2±13,1 | 80,8±15* | F _{3,21} =1,99 NS |
| Expl nloc Fr | 135,7±8,43 | 155,3±16,9 | 139,2±10,4 | 122,8±13,2 | F _{3,21} =1,13 NS |
| Expl nloc Dr | 718,4±67,7 | 718±18,6 | 643,7±80,2 | 478,3±58*# | F _{3,21} =3,34, p=0,039 |
| Imobil Fr | 58±8,9 | 41±2,48 | 55,17±4,04 | 61,67±5,65 | F _{3,21} =2,1 NS |
| Imobil Dr | 638±78,11 | 317,45±61* | 768±98,3# | 883,2±100# | F _{3,21} =7,84, p=0,0011 |

Os valores são média ± EPM. Lat=latência, Fr=frequência, Dr=duração, Ing ág=ingestão de água, Expl alim=exploração de alimento, Expl vert=exploração vertical, Auto limp=auto limpeza, Locom=locomomoção, Expl nloc=exploração não locomotora, Imobil=imobilidade. * p<0,05, # p<0,05 em relação ao controle ADR.

4.3. Efeitos do antagonista não seletivo de $\alpha 1$ e $\alpha 2$ -adrenoceptores, fentolamina, no NMR nas variáveis ingestivas e não ingestivas

A inativação simultânea de $\alpha 1$ e $\alpha 2$ -adrenoceptores, após a injeção de fentolamina, não foi capaz de alterar o comportamento ingestivo, a ingestão de água e nenhuma variável não ingestiva (Tabela 5).

Tabela 5. Efeitos da injeção do antagonista fentolamina nas doses de 20 e 40nmol nas variáveis ingestivas e não ingestivas.

| Variáveis | SAL-SAL (n=7) | FNT20-SAL (n=6) | FNT40-SAL (n=6) | ANOVA |
|--------------|------------------|--------------------|--------------------|----------------------------|
| Ing alim (g) | 0±0 | 0±0 | 0±0 | F _{2,16} =0 NS |
| Ing alim Lat | 1800±0 | 1800±0 | 1800±0 | F _{2,16} =0 NS |
| Ing alim Fr | 0±0 | 0±0 | 0±0 | F _{2,16} =0 NS |
| Ing alim Dr | 0±0 | 0±0 | 0±0 | F _{2,16} =0 NS |
| Ing ág (ml) | 0±0 | 0±0 | 0,17±0,11 | F _{2,16} =2,74 NS |
| Ing ág Lat | 1800±0 | 1800±0 | 1591,82±137,1 | F _{2,16} =2,52 NS |
| Ing ág Fr | 0±0 | 0±0 | 1±0,68 | F _{2,16} =2,35 NS |
| Ing ág Dr | 0±0 | 0±0 | 6,56±4,17 | F _{2,16} =2,7 NS |
| Expl alim Fr | 9,86±1,53 | 7,17±1,92 | 9,33±2,7 | F _{2,16} =0,48 NS |
| Expl alim Dr | 18,08±2,9 | 13,73±3,73 | 18,27±5,52 | F _{2,16} =0,39 NS |
| Expl vert Fr | 21±2,76 | 29,17±8,2 | 19±5,79 | F _{2,16} =0,84 NS |
| Expl vert Dr | 56,18±9,8 | 162,6±59,12 | 87,57±31,44 | F _{2,16} =2,19 NS |
| Auto limp Fr | 14,71±6,2 | 12,5±3 | 13,33±3,11 | F _{2,16} =0,06 NS |
| Auto limp Dr | 259±80,7 | 179,35±30,6 | 208,42±46,22 | F _{2,16} =0,47 NS |
| Locom Fr | 50,1±9,95 | 44,33±8,37 | 50±14,58 | F _{2,16} =0,09 NS |
| Locom Dr | 81,61±16 | 80,78±14,83 | 75,3±20 | F _{2,16} =0,04 NS |
| Expl nloc Fr | 123,6±14 | 110,5±15,32 | 123,17±14,58 | F _{2,16} =0,25 NS |
| Expl nloc Dr | 541,6±38 | 563,7±36,97 | 575,14±86,4 | F _{2,16} =0,09 NS |
| Imobil Fr | 58±4,72 | 56,17±6,33 | 62,67±3,47 | F _{2,16} =0,43 NS |
| Imobil Dr | 843±69,6 | 800,2±110,8 | 834,19±119 | F _{2,16} =0,05 NS |

Os valores são média ± EPM. Lat=latência, Fr=frequência, Dr=duração, Ing ág=ingestão de água, Expl alim=exploração de alimento, Expl vert=exploração vertical, Auto limp=auto limpeza, Locom=locomção, Expl nloc=exploração não locomotora, Imobil=imobilidade. * p<0,05.

Comparando os grupos pré-tratados com fentolamina, seguida de ADR com o controle ADR, pode-se observar que a droga bloqueou o

efeito hiperfágico induzido pela ADR ($F_{3,21}=5,26$, $p=0,0073$), não alterando a redução na latência para iniciar a ingestão causada pela ADR ($F_{3,21}=3,91$, $p=0,023$), e nem a redução na frequência ($F_{3,21}=3,52$, $p=0,033$) de tal comportamento. A duração da ingestão não foi alterada pelos tratamentos ($F_{3,21}=2,74$, $p=0,069$) (Figura 12). A ADR foi capaz de aumentar a frequência ($F_{3,21}=3,12$, $p=0,048$) e duração ($F_{3,21}=3,85$, $p=0,024$) da exploração do alimento, o que não foi observado nos grupos pré-tratados pelo antagonista. A ingestão de água também foi aumentada pelo grupo controle ADR e revertida pelo pré-tratamento com a fentolamina ($F_{3,21}=9,4$, $p=0,00039$), assim como a latência para iniciar a ingestão de água ($F_{3,21}=7,52$, $p=0,0013$), a frequência ($F_{3,21}=7,57$, $p=0,0013$) e a duração ($F_{3,21}=3,76$, $p=0,026$) de tal comportamento (Figura 13).

Em relação às variáveis não ingestivas, a dose de 40nmol do grupo pré-tratado com o antagonista conseguiu aumentar a exploração vertical, tanto frequência ($F_{3,21}=4,35$, $p=0,016$), quanto duração ($F_{3,21}=6,82$, $p=0,0022$) diferentemente do grupo controle ADR. Esse mesmo grupo de 40nmol também aumentou a duração da locomoção ($F_{3,21}=3,41$, $p=0,037$). Todos os grupos reduziram a duração da imobilidade ($F_{3,21}=7,66$, $p=0,0012$) em relação ao controle PLG.

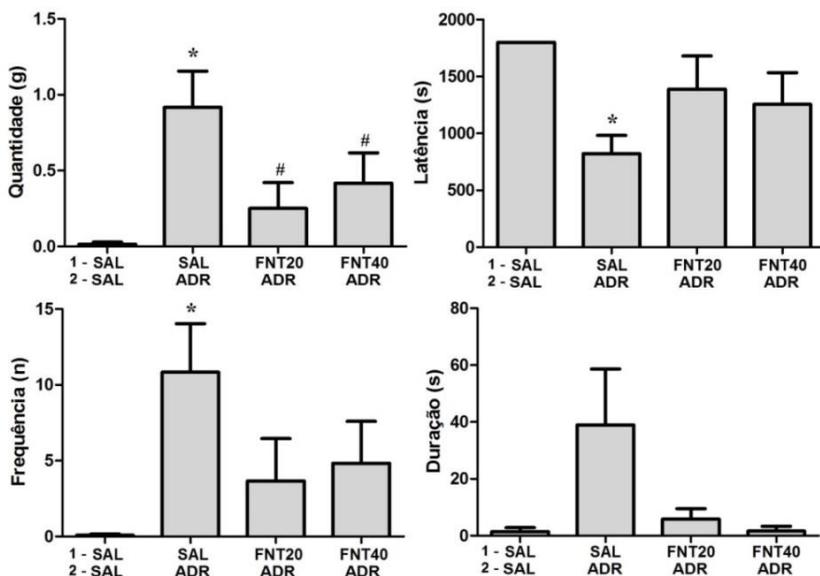


Figura 12. Efeitos do pré-tratamento com fentolamina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de alimentos em ratos saciados. PLG=propilenoglicol, SAL=salina, FNT20=fentolamina 20nmol, FNT40=fentolamina 40nmol, NS=não significativo, * $p<0,05$ em relação ao controle (PLG-SAL), # $p<0,05$ em relação ao controle ADR (PLG-ADR).

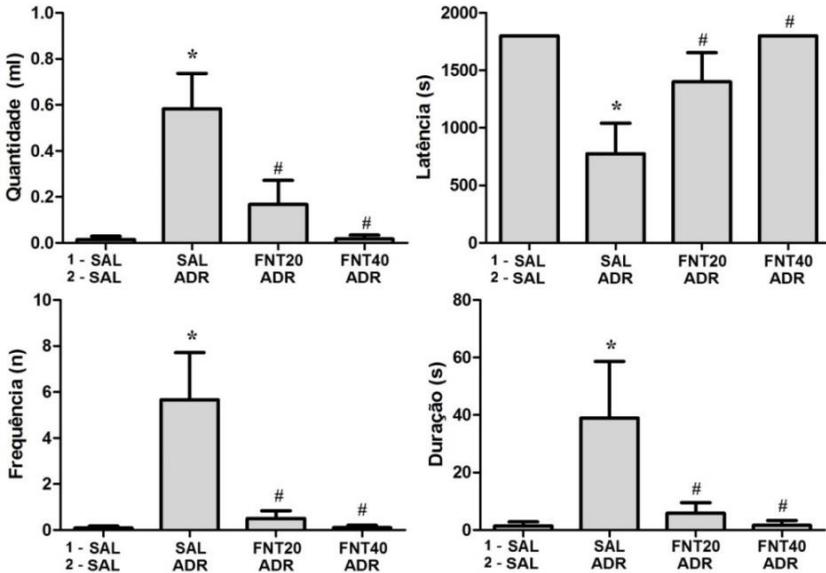


Figura 13. Efeitos do pré-tratamento com fentolamina, seguido da injeção de ADR no NMR sobre a ingestão de água em ratos saciados. PLG=propilenoglicol, SAL=salina, FNT20=fentolamina 20nmol, FNT40=fentolamina 40nmol, NS=não significativo, * $p<0,05$ em relação ao controle (PLG-SAL), # $p<0,05$ em relação ao controle ADR (PLG-ADR).

Tabela 6. Efeitos do pré-tratamento com o antagonista fentolamina nas doses de 20 e 40 nmol, seguido da aplicação de ADR no NMR, nas variáveis não ingestivas.

| Variáveis | SAL-SAL (n=7) | SAL-ADR (n=6) | FNT20-ADR (n=6) | FNT40-ADR (n=6) | ANOVA |
|--------------|------------------|------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------------|
| Expl alim Fr | 9,86±1,53 | 32,33±9,1* | 20,83±4,99 | 19,67±3,38 | F _{3,21} =3,12, p=0,048 |
| Expl alim Dr | 18,08±2,9 | 134,14±46* | 66,19±17,01 | 61,89±15,5 | F _{3,21} =3,85, p=0,024 |
| Expl vert Fr | 21±2,76 | 26,5±4,43 | 42,17±6,86 | 59±14,5*# | F _{3,21} =4,35, p=0,016 |
| Expl vert Dr | 56,18±9,8 | 91,09±14 | 179,09±36,09 | 294±74,9*# | F _{3,21} =6,82, p=0,0022 |
| Auto limp Fr | 14,71±6,2 | 12,5±2,63 | 14,33±3,52 | 15,83±4,7 | F _{3,21} =0,08 NS |
| Auto limp Dr | 259±80,7 | 171,13±34 | 300,34±80,36 | 206,13±56 | F _{3,21} =0,69 NS |
| Locom Fr | 50,1±9,95 | 69,33±12,1 | 72,83±8,75 | 101,7±18,6 | F _{3,21} =2,86 NS |
| Locom Dr | 81,61±16 | 127,6±16,4 | 122,37±17,27 | 164,6±25* | F _{3,21} =3,41, p=0,037 |
| Expl nloc Fr | 123,6±14 | 142±14,3 | 130,67±14,2 | 147±16,04 | F _{3,21} =0,55 NS |
| Expl nloc Dr | 541,6±38 | 715,7±96,2 | 541,84±18,53 | 618,46±43 | F _{3,21} =2,2 NS |
| Imobil Fr | 58±4,72 | 43,33±3,69 | 43±10,08 | 37,83±5,19 | F _{3,21} =2,02 NS |
| Imobil Dr | 843±69,6 | 332±55,9* | 507,9±104,4* | 361,3±112* | F _{3,21} =7,66, p=0,0012 |

Os valores são média ± EPM. Lat=latência, Fr=frequência, Dr=duração, Ing ág=ingestão de água, Expl alim=exploração de alimento, Expl vert=exploração vertical, Auto limp=auto limpeza, Locom=locomoção, Expl nloc=exploração não locomotora, Imobil=imobilidade. * p<0,05, # p<0,05 em relação ao controle ADR.

5. DISCUSSÃO

5.1. Antagonista seletivo de $\alpha 1$ -adrenoceptores, prazosina

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que o bloqueio de $\alpha 1$ -adrenoceptores no NMR, através da injeção de prazosina nas doses de 20 e 40nmol, causa hiperfagia em ratos sem privação de alimento, além de reduzir a latência para iniciar o consumo e aumentar a frequência do comportamento ingestivo (esse último apenas na dose de 20nmol). Uma resposta hiperfágica também foi obtida em estudo prévio de nosso laboratório, após administração de prazosina na dose de 40nmol no NMR (MANSUR *et al.*, 2011b), entretanto, esse estudo observou também um aumento na duração da ingestão, que não foi alterada no presente estudo.

A hiperfagia causada pela injeção de prazosina no NMR pode ser explicada, uma vez que estudos demonstram redução da frequência de disparo de neurônios serotoninérgicos do NMR após o bloqueio de $\alpha 1$ -adrenoceptores (ADELL e ARTIGAS, 1999). De forma oposta, a ativação desses receptores no NMR aumenta a liberação de 5-HT em seus terminais axonais em áreas de projeção (ADELL e ARTIGAS, 1999), que representa um sinal inibitório para a ingestão de alimento em vias centrais (HEISLER *et al.*, 2006). Em adição, a injeção do agonista fenilefrina não alterou o comportamento ingestivo em ratos saciados (MANSUR *et al.*, 2011a), sendo associado a um tônus adrenérgico alto, que seria um facilitador do tônus serotoninérgico, via $\alpha 1$ -adrenoceptores (ADELL E ARTIGAS, 1999).

Por outro lado, o tônus serotoninérgico em ratos com restrição alimentar é menor do que em ratos saciados (HAIDER e HALLEM, 2000; HAPPE *et al.*, 2004; KANG *et al.*, 2001; KAYE, 2008; KELLEY *et al.*, 2005). Em ratos privados de alimento, a injeção de fenilefrina no NMR causou redução na quantidade de alimento ingerido (RIBAS *et al.*, 2012). Sugere-se, também, que a hipofagia induzida pela administração de ADR em ratos em restrição de alimento pode ser mediada pela ativação de $\alpha 1$ -adrenoceptores e seus efeitos facilitatórios sobre neurônios serotoninérgicos do NMR (ADELL e ARTIGAS, 1999; GALLAGER e AGHAJANIAN, 1982; MAIDEL *et al.*, 2007).

No presente estudo, o tratamento do NMR com ADR em ratos saciados causou aumento na ingestão de alimento, como também apresentado em estudo prévio de nosso laboratório (DOS SANTOS, *et al.*, 2009). Os dados aqui presentes também demonstram que o pré-

tratamento do NMR com prazosina, seguido da administração de ADR, não modifica a hiperfagia causada por cada droga isoladamente, embora a latência para iniciar o consumo de alimento nos animais pré-tratados com a maior dose de prazosina (40nmol) tenha sido menor do que o tratamento com ADR ou prazosina isolados. A ausência de um incremento na quantidade de alimento ingerido após a administração dos dois compostos em conjunto pode ser devido a processos de saciação. Quando a comida ou a água chegam ao estômago, o sistema nervoso recebe informações sobre um aumento no volume gástrico (RITTER, 2004) e essa distensão gástrica parece promover o término da resposta ingestiva (PHILLIPS e POWLEY, 2000), impedindo que o animal saciado coma mais. Entretanto, os animais pré-tratados com prazosina na dose de 40nmol começaram a comer antes, indicando que o tratamento conjunto possa ter uma influência na determinação do intervalo entre os episódios ingestivos.

A ingestão de água manteve-se inalterada após tratamento com prazosina seguida ou não de ADR. Os comportamentos de ingestão de alimento e água parecem estar relacionados (WIRTSHAFTER, 2001), entretanto, o intervalo de avaliação no presente estudo foi curto (30 minutos). Possivelmente, com avaliação em um tempo maior, o consumo de água induzido pelo consumo de alimento poderia ter sido observado. Estudos também demonstram que o NMR tem influência sobre consumo de água (WIRTSHAFTER, 2001), já que a injeção de agonistas GABAérgicos aumenta a ingestão de líquido, mesmo sem a presença do alimento (KLITENICK e WIRTSHAFTER, 1988; WIRTSHAFTER, STRATFORD e PITZER, 1993).

A prazosina foi capaz de aumentar a exploração do alimento, sendo que esse resultado não havia sido descrito por um estudo anterior de nosso laboratório (MANSUR *et al.*, 2011b). Nos animais pré-tratados com prazosina, seguida de ADR, a frequência de exploração do alimento também foi aumentada, assim como a exploração vertical; e por outro lado, a imobilidade foi reduzida. Esses resultados indicam que o bloqueio do receptor $\alpha 1$, simultâneo à ativação do $\alpha 2$, além de alterar o comportamento ingestivo, altera também o comportamento motor. Essas alterações não foram observadas em estudo prévio de nosso laboratório (MANSUR *et al.*, 2011b). Nesse estudo, os ratos não eram habituados ao ambiente experimental nos dias anteriores ao experimento. No presente estudo, com a habituação, os animais controle tendem a reduzir sua mobilidade pela caixa, uma vez que se trata de um ambiente conhecido (VIANNA *et al.*, 2000). Os presentes dados sugerem que,

embora alterada, a locomoção não interferiu na ingestão de alimento dos animais, uma vez que a hiperfagia foi observada.

Outros estudos que também avaliaram as influências do NMR no comportamento ingestivo em ratos, também descrevem que o mesmo pode aumentar a locomoção, como após a aplicação de agonistas GABAérgicos (SAINATI e LORENS, 1982; WIRTSHAFTER e KLITENICK, 1989; WIRTSHAFTER, KLITENICK e ASIN, 1987). Entretanto, a ingestão de alimento observada parece não ser uma consequência automática da hiperatividade apresentada pelos animais (WIRTSHAFTER, 2001).

5.2. Antagonista seletivo de $\alpha 2$ -adrenoceptores, ioimbina

No presente estudo, a ioimbina, antagonista de $\alpha 2$ -adrenoceptores, não alterou o comportamento ingestivo quando injetada isoladamente. O mesmo resultado foi encontrado em um estudo recente de nosso laboratório (MANSUR *et al.*, 2011b). Acredita-se que a droga, ao bloquear tal receptor, iniba a recaptção da catecolamina endógena, aumentando sua quantidade na sinapse, que aumenta o efeito excitatório sobre os neurônios serotoninérgicos do NMR, mediado por $\alpha 1$ -adrenoceptores (ADELL e ARTIGAS, 1999), inibindo a resposta ingestiva. Esses receptores $\alpha 1$ parecem já estar tonicamente ativados (ADELL e ARTIGAS, 1999) e um incremento nessa ativação parece não alterar o comportamento ingestivo.

Reforçando essa sugestão, um estudo recente de nosso laboratório demonstrou que a ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores no NMR, através da injeção do agonista seletivo clonidina, leva à hiperfagia em ratos com alimentação livre (MANSUR *et al.*, 2010). Nesse caso, a ativação do referido receptor levaria a uma queda na disponibilidade da catecolamina na sinapse, reduzindo o tônus excitatório exercido sobre os neurônios serotoninérgicos e, assim, inibindo a liberação de 5-HT em suas áreas de projeção (ADELL e ARTIGAS, 1999). Por outro lado, a injeção de clonidina no NMR de ratos privados de alimento não alterou o comportamento ingestivo (RIBAS *et al.*, 2012).

No presente estudo, ratos tiveram os $\alpha 2$ -adrenoceptores do NMR previamente bloqueados com a ioimbina, seguida da injeção de ADR. Nesse experimento, foi possível observar que a hiperfagia causada pela ADR foi bloqueada. Tanto o aumento na quantidade, na frequência, na duração e redução na latência para iniciar o consumo de alimento causados pela ADR foram bloqueados pelo antagonista. Esses

dados reforçam a hipótese de que a hiperfagia induzida pela ADR em animais saciados é devida à ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores. Um estudo recente do nosso laboratório também demonstrou que a hiperfagia provocada pela injeção de clonidina é bloqueada quando os receptores $\alpha 2$ são previamente bloqueados pela ioimbina (MANSUR *et al.*, 2011b).

A ioimbina foi capaz de reduzir a atividade motora, caracterizado pela redução na locomoção e na duração da exploração não locomotora (na dose de 40nmol). Entretanto, a droga não modificou a imobilidade, não caracterizando, portanto, um efeito sedativo. Já os animais pré-tratados com o antagonista, seguido da injeção de ADR reduziram o aumento na frequência de exploração de alimento induzido pela ADR; a dose de 40nmol do antagonista reduziu a duração da locomoção e da exploração não locomotora. Além disso, ambas as doses dos grupos pré-tratados reverteram a queda na duração da imobilidade causada pela ADR. Esses dados não foram observados em estudos prévios (MANSUR *et al.*, 2011b) e, novamente, relacionamos isso com a ausência da habituação dos animais ao ambiente experimental. Os dados aqui presentes parecem indicar que a inibição de $\alpha 2$ -adrenoceptores na maior dose (40nmol), ao menos em animais habituados, reduz o comportamento locomotor. Por outro lado, a menor dose do antagonista foi capaz de bloquear a ingestão sem alterar o comportamento locomotor, indicando que a ausência do comportamento ingestivo não foi consequência de uma queda no comportamento locomotor.

5.3. Antagonista não seletivo de α -adrenoceptores, fentolamina

O antagonista não seletivo de α -adrenoceptores, fentolamina, não foi capaz de alterar o comportamento ingestivo, quando injetado sozinho. Nesse caso, o antagonista injetado tem a capacidade de bloquear tanto $\alpha 1$ quanto $\alpha 2$ -adrenoceptores. Ao contrário do bloqueio de receptores $\alpha 1$, que causou hiperfagia, o bloqueio simultâneo dos dois receptores α não modificou a resposta ingestiva. A redução na recaptação de catecolamina endógena pelo terminal pré-sináptico (pelo bloqueio do receptor $\alpha 2$) e sua consequente maior disponibilidade na sinapse parece anular o efeito hiperfágico induzido pelo bloqueio isolado do receptor $\alpha 1$. Também, um número mínimo de receptores $\alpha 1$ não bloqueados parece ser capaz de manter o tônus inibitório sobre a ingestão de alimentos. Da mesma forma, nenhuma variável não ingestiva foi alterada.

O pré-tratamento com fentolamina foi capaz de suprimir a resposta hiperfágica induzida pela ADR. Aqui, novamente, a fentolamina parece ter bloqueado os $\alpha 2$ -adrenoceptores, que parecem ser responsáveis pela hiperfagia induzida pela ADR e uma parte dos receptores $\alpha 1$. Alguns receptores $\alpha 1$ ainda não bloqueados parecem ser capazes de manter o tônus que inibe a ingestão de alimento.

Diferentemente dos animais pré-tratados com propilenoglicol, a injeção de ADR em animais pré-tratados com salina, provocou aumento na ingestão de água. Essa resposta foi acompanhada por redução na latência para início da ingestão de água, como havia sido descrito anteriormente em estudo de nosso laboratório (DOS SANTOS *et al.*, 2009). Além disso, houve também aumento na frequência e na duração da resposta. A resposta de ingestão de água foi bloqueada pela fentolamina, sugerindo que a ADR modifica a ingestão de água, por meio da ativação de receptores α , sendo difícil precisar o subtipo de receptor α , uma vez que os outros grupos foram tratados com propilenoglicol e o mesmo parece impedir o aparecimento dessa resposta dipsogênica provocada pela ADR.

Em relação às variáveis não ingestivas, o pré-tratamento com a fentolamina na dose maior (40nmol) demonstrou uma atividade motora aumentada, caracterizada pelo aumento a exploração vertical, e a duração da locomoção. Tantos os grupos pré-tratados, quanto a ADR, reduziram a duração da imobilidade. Como a dose menor do antagonista não alterou o comportamento motor, parece que esse aumento provocado pela dose de 40nmol não está sobrepondo a ingestão de alimento. Os dados ainda sugerem que parece haver um bloqueio parcial de $\alpha 1$ -adrenoceptores, porque embora não tenha sido observada a resposta ingestiva, o tratamento simultâneo com a ADR aumenta a atividade locomotora, como observado na presença da prazosina.

5.4. O papel do NMR na resposta ingestiva mediada por α -adrenoceptores

O presente estudo sustenta a sugestão de que, em ratos saciados, aferências catecolaminérgicas chegam ao NMR, onde exercem uma ativação tônica dos $\alpha 1$ -adrenoceptores em neurônios ali presentes, provavelmente serotoninérgicos. Essa ativação faz com que os terminais axonais desses neurônios, provavelmente localizados em núcleos hipotalâmicos, liberem a 5-HT, um sinal que conhecidamente inibe a ingestão de alimentos (LAM *et al.*, 2010). Por outro lado, a ativação de

$\alpha 2$ -adrenoceptores no NMR reduz a liberação de noradrenalina na sinapse e assim reduz ativação tônica de neurônios serotoninérgicos e a redução de 5-HT no hipotálamo leva à hiperfagia.

As respostas ingestivas observadas após a manipulação de α -adrenoceptores é restrita ao NMR. A aplicação de ADR e de PRZ (na dose de 20nmol) nas regiões vizinhas ao NMR (Pn e PnO) não altera o comportamento ingestivo. A ativação de receptores $\alpha 2$ pela clonidina também causa hiperfagia apenas quando injetada no NMR (MANSUR et al., 2010). Isso nos leva a acreditar que os efeitos observados no presente estudo não são devido à dispersão da droga às áreas vizinhas do NMR.

Sabe-se que parte dos neurônios da rafe são GABAérgicos e eles inibem os neurônios serotoninérgicos, diminuindo a liberação de 5-HT (ADELL *et al.*, 2002; FORCHETTI e MEEK, 1981). Estudos prévios demonstram que a injeção de agonistas GABAérgicos no NMR causa um aumento na ingestão de alimento e água (FLETCHER, 1994; KLITENICK e WIRTSHAFTER, 1988; WIRTSHAFTER, STRATFORD e PITZER, 1993). Além disso, a injeção de antagonistas glutamatérgicos no NMR também causa hiperfagia em ratos saciados e agonistas glutamatérgicos causam redução na ingesta em ratos privados de alimentos (WIRTSHAFTER e KREBS, 1990). Esses dados levam à sugestão de que a hiperfagia mediada pela ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores possa ser mediada por interneurônios GABAérgicos ou neurônios glutamatérgicos localizados no NMR. O modelo aceito até hoje está desenhado e explicado na figura 14, juntamente com a presente sugestão da presença desses outros neurônios modulando a ação da ativação de receptores $\alpha 2$. Estudos demonstram a presença desses receptores em neurônios GABAérgicos em outras regiões, como no prosencéfalo basal (HOLMBERG *et al.*, 1999; MIDIRROUSTA, MAINVILLE e JONES, 2004). Um estudo também demonstra que, ao menos na área tegmental ventral, a liberação de glutamato é controlada pré-sinápticamente pelo receptor $\alpha 2$ (JIMÉNEZ-RIVERA, *et al.*, 2012).

Com base em estudos da literatura, sugerimos a participação de núcleos hipotalâmicos na resposta ingestiva obtida no presente trabalho. Entretanto, existe a evidência de que outras áreas prosencefálicas podem mediar o controle da ingestão de alimento promovido pela 5-HT. Estudos demonstram que a injeção local de 5-HT no hipotálamo não bloqueia o comportamento hiperfágico promovido pela droga 8-OH-DPAT (FLETCHER e COSCINA, 1993). Isso sugere que a queda na 5-HT induzida por esse agonista 5-HT_{1A} está ocorrendo em áreas extra-

hipotalâmicas, como por exemplo, no núcleo accumbens e amígdala (PARKER e COSCINA, 2001). De fato, estudos confirmam que a amígdala inibe a hiperfagia e o ganho de massa corporal por mecanismos serotoninérgicos (PARKER e COSCINA, 2001).

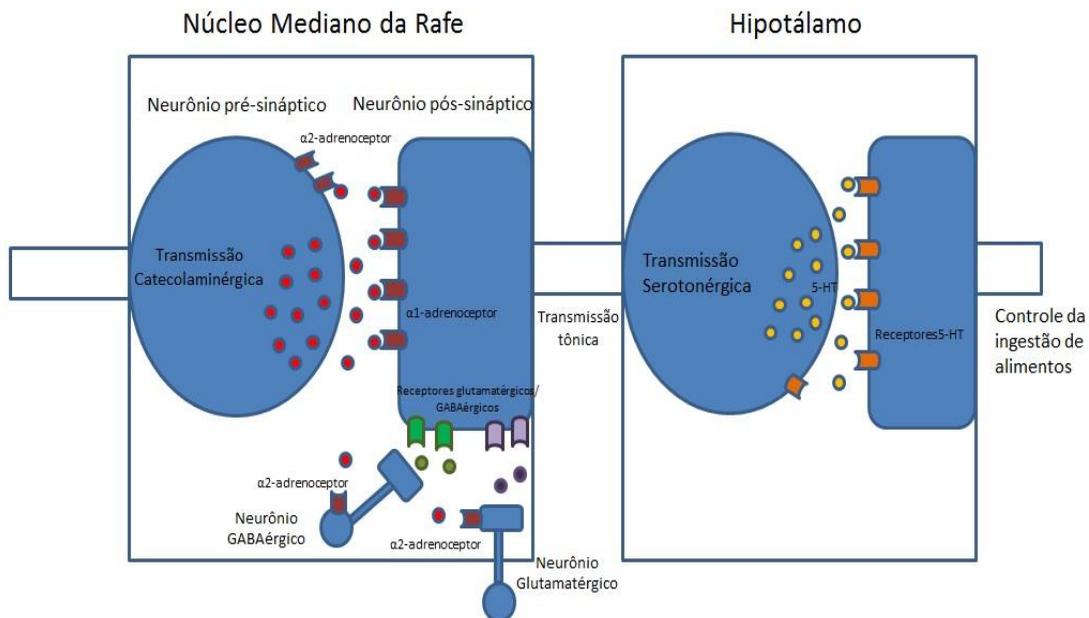


Figura 14: Desenho esquemático mostrando a função do NMR no controle da ingestão de alimento em ratos saciados. Aferências catecolaminérgicas chegam ao NMR, ativando tonicamente $\alpha 1$ -adrenoceptores em neurônios ali presentes, provavelmente serotoninérgicos. Essa ativação faz com que os terminais axonais desses neurônios liberem 5-HT. Por outro lado, a ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores localizados nos terminais catecolaminérgicos pré-sinápticos reduz a liberação de noradrenalina, reduzindo ativação tônica de neurônios serotoninérgicos, levando à hiperfagia. O presente estudo especula que os receptores $\alpha 2$ também podem estar localizados nos corpos dos interneurônios GABAérgicos e sua ativação pode levar à liberação do neurotransmissor GABA, que inibe os neurônios serotoninérgicos e também levaria ao aumento na ingestão. Se localizados no terminal pré-sináptico de neurônios glutamatérgicos, a ativação de receptores $\alpha 2$ pode reduzir a liberação de glutamato, que deixará de ativar os neurônios serotoninérgicos e essa perda de um sinal excitatório

também pode contribuir para a redução da 5-HT nas áreas de projeção do NMR, levando à hiperfagia.

Diversos estudos vêm sendo realizados buscando o desenvolvimento de técnicas para o tratamento da obesidade e distúrbios da ingestão de alimento. Drogas que tenham como alvo vias da leptina, grelina, insulina, melanocortina ou NPY são promissoras (MORTON *et al.*, 2006). Compostos que estimulem a liberação ou inibam a recaptção de 5-HT também são um potencial alvo para o tratamento (HALFORD *et al.*, 2010). O presente estudo não teve pretensão de estudar qualquer tratamento para distúrbios alimentares. Entretanto, ressaltamos a importância do estudo da neurotransmissão e de vias que influenciam a ingestão de alimentos, para compreensão desse complexo sistema.

6. CONCLUSÃO

Os presentes dados corroboram a importância do NMR sobre a ingestão de alimentos e reforçam que há uma ativação tônica basal de $\alpha 1$ -adrenoceptores, que tem efeito facilitatório na liberação um sinal inibitório da ingestão de alimento, provavelmente a serotonina. O bloqueio desses receptores parece ser suficiente para promover hiperfagia em ratos saciados. Por outro lado, a ativação de $\alpha 2$ -adrenoceptores aumenta a recaptação da catecolamina na sinapse, reduzindo a liberação desse sinal inibitório e levando à hiperfagia. A ADR parece agir por esse receptor, uma vez que a injeção do antagonista seletivo, ioimbina, suprime a resposta ingestiva. Quando os receptores $\alpha 1$ e $\alpha 2$ são bloqueados simultaneamente, a presença de alguns $\alpha 1$ não bloqueados parece ser suficiente para manter o tônus inibitório, mesmo após a injeção da ADR. Por fim, cabe ressaltar que a ADR também parece influenciar a ingestão de água, por ativação de α -adrenoceptores.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADELL, A.; ARTIGAS, F. Regulation of the release of 5-hydroxytryptamine in the median raphe nucleus of the rat by catecholaminergic afferents. **European Journal of Neuroscience**, v. 11, n. 7, p. 2305-2311, 1999.

ADELL, A.; CELADA, P.; TERESA-ABELLAN, M.; ARTIGAS, F. Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. **Brain Research Review**, v.39, n. 2-3, p. 154-180, 2002.

BAKER KG, HALLIDAY GM, HORNUNG JP, GEFFEN LB, COTTON RGH, TÖRK I. Distribution, morphology and number of monoamine-synthesizing and substance P-containing neurons in the human dorsal raphe nucleus. **Neuroscience**, v. 42, n. 3, p. 757-775, 1991.

BENELAM, B. Satiation, satiety and their effects on eating behaviour. **Nutrition Bulletin**, v. 34, n. 2, p. 126–173, 2009.

BERGER, M.; GRAY, J. A.; ROTH, B. L. The Expanded Biology of Serotonin. **Annual Review of Medicine**, v. 60, p. 355–366, 2009.

BLUNDELL, J. E. Serotonin manipulations and the structure of feeding behaviour. **Appetite**, v. 7, p. 39-56, 1986.

BOWKER, R. M.; WESTLUND, K. N.; SULLIVAN, M. C.; WILBER, J. F.; COULTER, J. D. Descending serotonergic, peptidergic and cholinergic pathways from the raphe nuclei: a multiple transmitter complex. **Brain research**, v. 288, n. 1-2, p. 33-48, 1983.

BREISCH, S. T.; ZEMLAN, F. P.; HOEBEL, B. G. Hyperphagia and obesity following serotonin depletion by intraventricular p-chlorophenylalanine. **Science**, v. 192, n. 4237, p. 382-385, 1976.

CAINS, S.; BLOMELEY, C. P.; BRACCI, E. Serotonin inhibits low-threshold spike interneurons in the striatum. **Journal of Physiology**, v. 590, n. 10, p. 2241-2252, 2012.

CONE, R. D.; COWLEY, M. A.; BUTLER, A. A.; FAN, W.; MARKS, D. L.; LOW, M. J. The arcuate nucleus as a conduit for diverse signals relevant to energy homeostasis. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 25, n. 5, p. S63-S67, 2001.

CONRAD, L. C.; LEONARD, C. M.; PFAFF, D. W. Connections of the median and dorsal raphe nuclei in the rat: an autoradiographic and degeneration study. **Journal of Comparative Neurology**, v. 156, n. 2, p. 179–205, 1974.

CURRIE, P. J.; FLETCHER, P. J.; COSCINA, D. V. Administration of 8-OH-DPAT into the midbrain raphe nuclei: effects on medial hypothalamic NE-induced feeding. **American Journal of Physiology**, v. 266, n. 5, p. 1645-1651, 1994.

DAHLSTRÖM, A.; FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brainstem neurons. **Acta Physiologica Scandinavica Supplementum**, v. 62, n. 232, p. 1–55, 1964.

DESCARRIES, L.; WATKINS, K.; GARCÍA, S.; BEAUDET, A. The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of adult rat: A light and electron microscope radioautographic study. **Journal of Comparative Neurology**, v. 207, n. 3, p. 239–254, 1982.

DOS SANTOS, R. L. D.; MANSUR, S. S.; STEFFENS, S. M.; FARIA, M. S.; MARINO-NETO J.; PASCHOALINI, M.A. Food intake increased after injection of adrenaline into the median raphe nucleus of free-feeding rats. **Behavioural Brain Research**, v. 197, n. 2, p. 411–416, 2009.

DRUCE, M. R.; SMALL, C. J.; BLOOM, S. R. Minireview: gut peptides regulating satiety. **Endocrinology**, v. 145 n. 6, p. 2660–2665, 2004.

FLETCHER, P. J. Effects of 8-OH-DPAT, 5-CT and muscimol on behavior maintained by a DRL20 schedule of reinforcement, following microinjection into the dorsal or median raphe nuclei. **Behavioural Pharmacology**, v. 5, n. 3, p. 326–336, 1994.

FLETCHER, P. J.; COSCINA, D. V. Injecting 5-HT into the PVN does not prevent feeding induced by injecting 8-OH-DPAT into the raphe. **Pharmacology, Biochemistry & Behavior**, v. 46, n. 2, p. 487-491, 1993.

FORCHETTI, C.M.; MEEK, J. L. Evidence for a tonic GABAergic control of serotonin neurons in the median raphe nucleus. **Brain Research**, v. 206, n. 1, p. 208-212, 1981.

FUXE, K. Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. III. The monoamine nerve terminal. **Cell & Tissue Research**, v. 65, n. 4, p. 573-596, 1965.

GALLAGER, D. W.; AGHAJANIAN, G. K. Effect of antipsychotic drugs on the firing of dorsal raphe cells. I. Role of adrenergic system. **European Journal of Pharmacology**, v. 39, n. 2, p. 341-355, 1976.

GARFIELD, A. S.; HEISLER, L. K. Pharmacological targeting of the serotonergic system for the treatment of obesity. **Journal of Physiology**, v. 587, n. 1, p. 49-60, 2009.

GRILL, H. J.; DONAHEY, J. C. K.; KING, L.; KAPLAN, J. M. Contribution of caudal brainstem to D-Fenfluramide anorexia. **Psychopharmacology**, v. 130, n. 4, p. 375-381, 1997.

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**, v. 6, n. 6, p. 1061-1067, 2000.

HALFORD, J. C. G.; BOYLAND, E. J.; BLUNDELL, J. E.; KIRKHAM, T. C.; HARROLD, J. A. Pharmacological management of appetite expression in obesity. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 6, n. 5, p. 255-269, 2010.

HALFORD, J. C. G.; HARROLD, J. A.; LAWTON, C. L.; BLUNDELL, J. E. Serotonin (5-HT) drugs: effects on appetite expression and use for the treatment of obesity. **Current Drug Targets**, v. 6, n. 2, p. 201-213, 2005.

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 & Behavior**, v. 61, n. 2, p. 159-168, 1998.

HAPPE, H. K.; COULTER, C. L.; GERETY, M. E.; SANDERS, J. D.; O'ROURKE, M.; BYLUND, D. B.; MURRIN, L. C. Alpha-2 adrenergic receptor development in rat CNS: an autoradiographic study. **Neuroscience**, v. 123, n. 1, p. 167-178, 2004.

HEISLER, L. K.; JOBST, E. E.; SUTTON, G. M.; ZHOU, L.; BOROK, E.; et al. Serotonin reciprocally regulates melanocortin neurons to modulate food intake. **Neuron**, v. 51, n. 2, p. 239-249, 2006.

HEISLER, L. K.; PRONCHUK, N.; NONOGAKI, K.; ZHOU, L.; RABER, J.; TUNG, L.; YEO, G. S.; O'RAHILLY, S.; COLMERS, W. F.; ELMQUIST, J. K.; TECOTT, L. H. Serotonin activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis via serotonin 2C receptor stimulation. **Journal of Neuroscience**, v. 27, n. 26, p. 6956-6964, 2007.

HENSLER, J. G. Serotonergic modulation of the limbic system. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 30, n. 2, p. 203-214, 2006.

HOLMBERG, M.; SCHEININ, M.; KUROSE, H.; MIETTINEN, R. Adrenergic alpha2C-receptors reside in rat striatal GABAergic projection neurons: comparison of radioligand binding and immunohistochemistry. **Neuroscience**, v. 93, n. 4, p. 1323-1333, 1999.

HOPWOOD, S. E.; STAMFORD, J. A. Noradrenergic modulation of serotonin release in rat dorsal and median raphe nuclei via α_1 and α_2A adrenoceptors. **Neuropharmacology**, v. 41, n. 4, p. 433-442, 2001.

HORNUNG, J. P. The human raphe nuclei and the serotonergic system. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 26, n. 4, p.331-343, 2003.

HOYER, D.; HANNON, J. P.; MARTIN, G. R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 71, n. 4, p. 533-554, 2002.

JACOBS, B. L.; AZMITIA, E. C. Structure and Function of the Brain Serotonin System. **Physiological Reviews**, v. 72, n. 1, p. 165-229, 1992.

JIMÉNEZ-RIVERA, C. A.; FIGUEROA, J.; VÁZQUEZ, R.; VÉLEZ, M.; SCHWARZ, D.; VELÁSQUEZ-MARTINEZ, M. C.; ARENCIBIA-ALBITE, F. Presynaptic inhibition of glutamate transmission by alpha-2 receptors in the VTA. **European Journal of Neuroscience**, v. 35, n. 9, p. 1406–1415, 2012.

JONNAKUTY, C.; GRAGNOLI, A. C. What do we know about serotonin? **Journal of Cellular Physiology**, v. 217, n. 2, p. 301–306, 2008.

KANG, M.; PARK, C.; AHN, H.; HUH, Y. Ectopic expression of serotonin-positive neurons in the hypothalamus associated with a significant serotonin decrease in the midbrain of food restricted rats. **Neuroscience Letters**, v. 314, n. 1-2, p. 25–28, 2001.

KAPLAN, J. M.; SONG, S.; GRILL, H. J. Serotonin receptors in the caudal brainstem are necessary and sufficient for the anorectic effect of peripherally administered mCPP. **Psychopharmacology**, v. 137, n. 1, p. 43-49, 1998.

KAYE, W. Neurobiology of anorexia and bulimia nervosa. **Physiology & Behavior**, v. 94, n. 1, p. 121–135, 2008.

KELLY, 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**, v. 86, n. 5, p. 773–795, 2005.

KLITENICK, M. A.; WIRTSHAFTER, D. Comparative studies of the ingestive behaviors produced by microinjections of muscimol into the midbrain raphe nuclei of the ventral tegmental area of the rat. **Life Sciences**, v. 42, n. 7, p. 775-782, 1988.

KÖHLER, C; STEINBUSCH, H. Identification of serotonin and non-serotonin-containing neurons of the mid-brain raphe projecting to the entorhinal area and the hippocampal formation: combined

immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat brain. **Neuroscience**, v. 7, n. 4, p. 951-975, 1982.

LAM, D. D.; GARFIELD, A. S.; MARSTON, O. J.; SHAW, J.; HEISLER, L. K. Brain serotonin system in the coordination of food intake and body weight. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v.97, n. 1, p. 84–91, 2010.

LAM, D. D.; Zhou, L.; Vegge, A.; Xiu, P. Y.; Christensen, B. T.; Osundiji, M. A.; Yueh, C. Y.; Evans, M. L.; Heisler, L. K. Distribution and neurochemical characterization of neurons within the nucleus of the solitary tract responsive to serotonin agonist-induced hypophagia. **Behavioural Brain Research**, v. 196, n. 1, p. 139–143, 2009.

MAIDEL, S.; LUCINDA, A. M.; AQUINO, V. W.; FARIA, M. S.; PASCHOALINI, M. A. The adrenaline microinjection into the median raphe nucleus induced hypophagic effect in rats submitted to food restriction regimen. **Neuroscience Letters**, v. 422, n. 2, p. 123–127, 2007.

MANSUR, S. S.; TERENCE, M. G.; MARINO-NETO, J.; FARIA, M. S.; PASCHOALINI, M. A. Changes in food intake and anxiety-like behaviors after clonidine injected into the median raphe nucleus. **Behavioural Brain Research**, v. 212, n. 1, p. 71–77, 2010.

MANSUR, S. S.; TERENCE, M. G.; MARINO-NETO, J.; FARIA, M. S.; PASCHOALINI, M. A. Phenylephrine into the median raphe nucleus evokes an anxiolytic-like effect in free-feeding rats but does not alter food intake in free feeding rats. **Behavioural Brain Research**, v. 217, n. 1, p. 209–214, 2011a.

MANSUR, S. S.; TERENCE, M. G.; MARINO-NETO, J.; FARIA, M. S.; PASCHOALINI, M. A. Alpha1 receptor antagonist in the median raphe nucleus evoked hyperphagia in free-feeding rats. **Appetite**, v. 57, n. 2, p. 498–503, 2011b.

MANSUR, S. S. Efeitos das injeções de agonistas e antagonistas adrenérgicos no Núcleo Mediano da Rafe sobre comportamentos relacionados à ansiedade e ingestão de alimento em ratos. 2011. 85 f. Tese (Doutorado em Neurociências) – Departamento de Ciências

Fisiológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

MARSTON, O. J.; GARFIELD, A. S.; HEISLER, L. K. Role of central serotonin and melanocortin systems in the control of energy balance. **European Journal of Pharmacology**, v. 660, n. 1, p. 70-79, 2011.

MODIRROUSTA, M.; MAINVILLE, L.; JONES, B. E. Gabaergic neurons with alpha2-adrenergic receptors in basal forebrain and preoptic area express C-FOS during sleep. **Neuroscience**, v. 129, n. 3, p. 803–810, 2004.

MOKLER, D. J.; DUGAL, J. R.; HOFFMAN, J. M.; MORGANE, P. J. Functional interrelations between nucleus raphé dorsalis and nucleus raphé medianus: a dual probe microdialysis study of glutamate-stimulated serotonin release. **Brain Research Bulletin**, v. 78, n. 4-5, p. 132-138, 2009.

MORTON, G. J.; CUMMINGS, D. E.; BASKIN, D. G.; BARSH, G. S.; SCHWARTZ, M. W. Central nervous system control of food intake and body weight. **Nature**, v. 443, n. 7109, p. 289-295, 2006.

NEARY, N. M.; GOLDSTONE, A. P.; BLOOM, S. R. Appetite regulation: from the gut to the hypothalamus. **Clinical Endocrinology**, v. 60, p. 153–160, 2004.

OTTONI, E. B. Etholog 2.2: a tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. **Behavior Research Methods Instruments & Computers**, v. 32, n. 3, p. 446–449, 2000.

PARKER, G. C.; COSCINA, D. V. Lesions of the posterior basolateral amygdala block feeding induced by systemic 8-OH-DPAT. **Pharmacology, Biochemistry & Behavior**, v. 68, n. 4, p. 729-734, 2001.

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

PENINGTON, N. J.; KELLY, J. S.; FOX, A. P. A study of the mechanism of Ca²⁺ current inhibition produced by serotonin in rat

dorsal raphe neurons. **Journal of Neuroscience**, v. 11, n. 11, p. 3594-3609, 1991.

PERRIN, D.; MAMET, J.; GELOEN, A.; MOREL, G.; DALMAZ, Y.; PEQUIGNOT, J. M. Sympathetic and brain monoaminergic regulation of energy balance in obesity-resistant rats. **Autonomic Neuroscience**, v. 109, n. 1-2, p. 1-9, 2003.

PHILIPP, M.; HEIN, L. Adrenergic receptor knockout mice: distinct functions of 9 receptor subtypes. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 101, n. 1, p. 65-74, 2004.

PHILLIPS, R. J.; POWLEY, T. L. Tension and stretch receptors in gastrointestinal smooth muscle: re-evaluating vagal mechanoreceptor electrophysiology. **Brain Research Reviews**, v. 34, n. 1-2, p. 1-26, 2000.

PIÑEYRO, G.; BLIER, P. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. **Pharmacological Reviews**, v. 51, n. 3, p. 533-591, 1999.

PYTLIAK, M.; VARGOVÁ, V.; MECHÍROVÁ, V.; FELŠÖCI, M. Serotonin Receptors – From Molecular Biology to Clinical Applications. **Physiological Research**, v. 60, n. 1, p. 15-25, 2011.

RAMOS, E. J. B.; MEGUID, M. M.; CAMPOS, A. C. L.; COELHO, J. C. U. Neuropeptide Y, [alpha]-melanocyte-stimulating hormone, and monoamines in food intake regulation. **Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 269-279, 2005.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

RIBAS, A. S.; FLORES, R. A.; DE NAZARETH, A. M.; FARIA, M. S.; TERENCE, M. G.; MARINO-NETO, J.; PASCHOALINI, M. A. Feeding behaviour after injection of α -adrenergic receptor agonists into the median raphe nucleus of food-deprived rats. **Physiology & Behavior**, v. 105, n. 2, p. 220-229, 2012.

RINAMAN, L.; BAKER, E. A.; HOFFMAN, G. E.; STRICKER, E. M.; VERBALIS, J. G. Medullary c-Fos activation in rats after ingestion of a satiating meal. **American Journal of Physiology**, v. 275, n. 1, p. R262–R268, 1998.

RITTER, R. C. Gastrointestinal mechanisms of satiation for food. **Physiology & Behavior**, v. 81, n. 2, p. 249–273, 2004.

ROUQUIER, L.; CLAUSTRE, Y.; BENAVIDES, J. Alpha 1-Adrenoceptor antagonists differentially control serotonin release in the hippocampus and striatum: a microdialysis study. **European Journal of Pharmacology**, v. 261, n. 1-2, p. 59-64, 1994.

SAAVEDRA, J. M.; GROBECKER, H.; ZIVIN, J. Catecholamines in the raphe nuclei of the rat. **Brain Research**, v. 114, n. 2, p. 339–345, 1976.

SAHU, A. Minireview: a hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. **Endocrinology**, v. 145, n. 6, p. 2613-2620, 2004.

SAINATI, S.; LORENZ, S. A. Intra-raphé muscimol-induced hyperactivity depends on ascending serotonin projections. **Pharmacology, Biochemistry & Behavior**, v. 17, n.5, p.973-986, 1982.

SALLER, C. F.; STRICKER, E. M. Hyperphagia and increased growth in rats after intraventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. **Science**, v. 192, n. 4237, p. 385-387, 1976.

TEJANI-BUTT, S. M. [3H]nisoxetine: a radioligand for quantitation of norepinephrine uptake sites by autoradiography or by homogenate binding. **Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics**, v. 260, n. 1, p. 427-436, 1992.

VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 18, n. 2, p. 158-168, 2008.

VERTES, R. P.; FORTIN, W. J.; CRANE, A. M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 407, n. 4, p. 555-582, 1999.

VIANNA, M. R. M.; ALONSO, M.; VIOLA, H.; QUEVEDO, J.; DE PARIS, F. Role of Hippocampal Signaling Pathways in Long-Term Memory Formation of a Nonassociative Learning Task in the Rat. **Learning & Memory**, v. 7, n. 5, p. 333-340, 2000.

WADE, J. M.; JUNEJA, P.; MACKAY, A. W.; GRAHAM, J.; HAVEL, P. J.; TECOTT, L. H.; GOULDING, E. H. Synergistic impairment of glucose homeostasis in ob/ob mice lacking functional serotonin 2C receptors. **Endocrinology**, v. 149, n. 3, p. 955-961, 2008.

WARD, S. J.; LEFEVER, T. W.; JACKSON, C.; TALLARIDA, R. J.; WALKER, E. A. Effects of a cannabinoid1 receptor antagonist and serotonin2C receptor agonist alone and in combination on motivation for palatable food: a dose-addition analysis study in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 325, n. 2, p. 567-576, 2008.

WILLING, A. E.; BERTHOUD, H. R. Gastric distension-induced c-fos expression in catecholaminergic neurons of rat dorsal vagal complex. **American Journal of Physiology**, v. 272, n. 1, p. R59-R67, 1997.

WILLOUGHBY, J. O.; BLESSING, W. W. Origin of serotonin innervation of the arcuate and ventromedial hypothalamic region. **Brain Research**, v. 418, n. 1, p. 170-173, 1987.

WIRTSHAFTER, D. The control of ingestive behavior by the median raphe nucleus. **Appetite**, v. 36, n. 1, p. 99-105, 2001.

WIRTSHAFTER, D.; DAVIS, J. D.; STRATFORD, T. R. Inactivation of the Median Raphe Nucleus Increases Intake of Sucrose Solutions: A Microstructural Analysis. **Behavioral Neuroscience**, v. 125, n. 4, p. 529-540, 2011.

WIRTSHAFTER, D.; KLITENICK, M. A. Comparative studies of locomotor behavior following microinjections of muscimol into various

sites in the paramedian tegmentum. **Pharmacology, Biochemistry & Behavior**, v. 32, n. 3, p. 625-628, 1989.

WIRTSHAFTER, D.; KLITENICK, M. A.; ASIN, K. E. Evidence against serotonin involvement in the hyperactivity produced by injections of muscimol into the median raphe nucleus. **Pharmacology, Biochemistry & Behavior**, v. 27, n. 1, p. 45-52, 1987.

WIRTSHAFTER, D.; KREBS, J. Control of food intake by kainate/quisqualate receptors in the median raphe nucleus. **Psychopharmacology**, v. 101, n. 1, p. 137-141, 1990.

WIRTSHAFTER, D.; STRATFORD, T. R.; PITZER, M. R. Studies on the behavioral activation produced by stimulation of GABA-B receptors in the median raphe nucleus. **Behavioural Brain Research**, v. 59, n. 1-2, p. 83-93, 1993.