

DANIELA FELÍCIO

**ALTERAÇÕES NA INGESTÃO DE ALIMENTO APÓS A
INJEÇÃO DE 8-OH-DPAT E MM-77 NO NÚCLEO ARQUEADO
DO HIPOTÁLAMO**

Dissertação apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Neurociências, como pré-requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre.

**Orientador: Dra. Marta
Aparecida Paschoalini**

Florianópolis-SC

2012

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária
da
Universidade Federal de Santa Catarina

F314a Felício, Daniela

Alterações na ingestão de alimento após a injeção de 8-OH-DEPAT e MM-77 no núcleo arqueado do hipotálamo [dissertação] / Daniela Felício ; orientadora, Marta Aparecida Paschoalini. - Florianópolis, SC, 2012.
108 p.: il., grafs., tabs.

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

Inclui referências

1. Neurociências. 2. Receptores de serotonina. 3. Ingestão de Alimentos. 4. Hipotálamo. 5. Ciclo Estral. I. Paschoalini, Marta Aparecida. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Neurociências. III. Título.

CDU 612.82



Serviço Público Federal

Universidade Federal de Santa Catarina

Centro de Ciências Biológicas

Programa de Pós-Graduação em Neurociências

Orientadora: Prof^a. Dra. Marta Aparecida Paschoalini

Mestrando: Daniela Felício

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: NEUROPSICOBIOLOGIA

**CONTROLE NEURAL DO METABOLISMO E
COMPORTAMENTO INGESTIVOS**

Título da Dissertação:

**ALTERAÇÕES NA INGESTÃO DE ALIMENTO APÓS A
INJEÇÃO DE 8-OH-DPAT E MM-77 NO NÚCLEO ARQUEADO
DO HIPOTÁLAMO**

Laboratório da Prof^a. Dra. Marta Aparecida Paschoalini, Prof. Dr.
José Marino-Neto, Prof^a. Dra. Mariana Terenzi

Departamento de Ciências Fisiológicas – CCB – UFSC

Florianópolis-SC

BANCA EXAMINADORA**MEMBROS TITULARES**

1. Prof^a. Dra. Marta Aparecida Paschoalini
Departamento de Ciências Fisiológicas – CCB - UFSC

2. Prof. Dr. Sérgio Steffens
Departamento de Ginecologia e Obstetrícia – CCS –
UFSC

3. Prof. Dr. Everson Nunes
Departamento de Ciências Fisiológicas – CCB - UFSC

4. Prof^a. Dra. Fernanda Barbosa Lima Cristian
Departamento de Ciências Fisiológicas – CCB – UFSC

MEMBRO SUPLENTE

1. Prof. Dr. Alex Rafacho
Departamento de Ciências Fisiológicas – CCB - UFSC

Florianópolis, 29 de fevereiro de 2012

Aos meus pais, Salete dos Santos Felício e Domingos Manoel Felício, meus maiores amores, aqueles que me incentivam, e que mesmo longe me dão forças para conquistar meus sonhos. E ao meu afilhado lindo, pois, apesar da ausência, você está em meus pensamentos sempre. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Durante esta trajetória acadêmica contei com a ajuda de muitas pessoas especiais e que com certeza foram fundamentais neste processo, permitindo não somente a execução deste trabalho, mas estando ao meu lado, me dando forças, palavras, gestos, carinhos nos momentos mais importantes. Para estes, meu sincero agradecimento e dizer que vocês fazem parte da minha vida:

Primeiramente a Deus, que está ao nosso lado sempre e me ilumina em tantos momentos difíceis, mas que me dá forças para seguir sempre.

À minha família (Minha mãe, meu pai, meu afilhado Carlos Eduardo, minha sobrinha Camille, e meu irmão Eduardo). Sei que muitas vezes estive ausente, mas o olhar de admiração de vocês em cada momento importante na minha vida reflete que tudo isso vale a pena. O amor que sinto por cada um de vocês é insubstituível e quero que saibam que sempre estiveram nos meus pensamentos e no meu coração todos estes anos. Obrigada pelos incentivos, e por dar sempre o melhor de vocês e muitas vezes até o que não podiam para que eu pudesse ser a pessoa e profissional que sou hoje. Quero dizer que cada conquista da minha vida dedicarei sempre a vocês. Só eu sei o quanto senti falta da companhia de vocês e o quanto os amo.

Meu especial agradecimento a professora Marta, não somente pela orientação durante a execução do projeto, mas principalmente porque confiou em mim desde o início, sem ao menos me conhecer. Mas quero agradecer principalmente por dois momentos: o primeiro ao final do ano de 2010 e o segundo nesses últimos meses. No primeiro momento, quando não mais dormia direito, com muitas preocupações e achava que o problema era comigo, pois as coisas não estavam dando certo, você com suas palavras acolhedoras, fez o papel mais que orientadora: me acalmou, e mesmo diante das dificuldades, disse que eu era capaz, que confiava em mim, e que eu precisava descansar. Lembro que chorei muito aquele dia na sua sala, mas aquele momento foi marcante para que eu continuasse firme e que te admirasse não somente pela profissional que és, mas pela pessoa e pelo coração que tens.

Obrigada pelos elogios e incentivos sempre. Não fui a melhor que podia ser, mas fui a melhor que consegui ser frente ao cansaço. Sei que sou pentelha, questionadora, e sempre quero sair da sua sala entendendo tudo. Pelas nossas risadas, mesmo em momentos sérios que estávamos cansadas e pelo seu carinho de sempre: um agradecimento de todo coração e dizer que você sempre será especial na minha vida, e pode contar comigo. Minha admiração pelo seu trabalho e o carinho que sinto por você hoje caminham juntos.

Agradeço aos meus amigos de pós-graduação e do departamento que sempre tornaram os momentos em laboratório mais leves, além do aprendizado contínuo e ajuda: Lucas, Fernanda, Tiago, Fernandinho, Crispim, Ana Paula Taschetto, Eduardo, Rafa, Laís, Fábio, Ana Paula e Renata. Um agradecimento de coração à ajuda e preocupação de quem me deu o apelido mais engraçado que já recebi. Larissa, obrigada pelas risadas e preocupações sempre.

Ao meu querido Anderson Savaris, que não somente se destaca pela sua capacidade intelectual admirável, mas pela pessoa que é. Obrigada por conseguir melhorar nossas condições de trabalho com seu talento de transformar tudo. Você foi essencial. Além das conversas profundas de sempre. Já te disse que o seu caminho será de sucesso e só depende de você.

À minha amiga e “colega de trabalho” Cristiane Lavado, com o qual compartilhei muitos momentos, dentro e fora do laboratório. Você sabe de cada momento, cada olhar, cada palavra, cada risada, cada lágrima que compartilhasse comigo. Tudo isso jamais será tirado da nossa história, que fica muito além de lembranças gostosas, mas de um futuro que acredito ser de companheirismo independente do caminho que trilharmos, da distância e das escolhas que o mundo nos levará. Aprendi muito contigo dentro e fora do laboratório. E se cheguei aqui hoje, foi pelo seu apoio lá no início e por não me deixar cair em tantos momentos. Meus sinceros agradecimentos de alguém que tem admiração pela pessoa e profissional que és. E dizer que este presente que o Mestrado me deu, quero ter sempre na minha vida. Te amo pentelha!

Ao Rodrigo Heleno, por seu apoio nos momentos difíceis. Cada parabéns frente aos meus planos e conquistas, o olhar de admiração, risadas, conversas, sejam elas profundas ou descontraídas, foram

essenciais nos momentos de cansaço. E foi por isso que te tornasse especial. Sem esquecer dos puxões de orelha quando eu ficava até tarde no Laboratório e das suas preocupações de sempre, muito obrigada. De coração! Conte sempre comigo.

À Sociarai Peruzo. Nunca pensei encontrar alguém que fosse tão parecida em atos, palavras e emoções. Só não somos mais, porque você viveu muitas coisas que eu ainda não vivi, mas que o mundo me encaminhará de mostrar os tantos ensinamentos que preciso aprender e o quanto preciso amadurecer. Mas nossos sentimentos e desejos são muito semelhantes. Aquele sonho de conquista e a sede de conhecimento. Às vezes é muito bom ter alguém ao meu lado que frente a um desabafo diz: eu te entendo. Pelas risadas tantas, pelos momentos de troca de experiências, que você bem sabe, pelos jantares deliciosos, pelas ajudas e desabafos nos momentos complicados. Em alguns momentos era quase um: SOS Soci! Brincadeiras à parte, tens um lugar especial no meu coração e quero que saibas que estarei sempre torcendo por ti, tu merece, pela pessoa e profissional capaz, inteligente, batalhadora e admirável que és.

Aos meus amigos amados que não estavam no laboratório mais que sempre foram especiais: Takeo, Cris Garcia, Geovana, Débora, Elisa, Ju Karl, Johana e Clarisse. Mesmo que a convivência tenha diminuído um pouco nos últimos meses, nossos encontros gostosos sempre me fizeram muito bem nesses momentos de cansaço. E dizer que vocês sempre serão especiais, e estarão sempre em meus pensamentos, minhas orações e no meu coração. Amo todos! E a você Jackson pela sua paciência sempre e os momentos gostosos de tranquilidade em meio à turbulência de finalização desta etapa.

À CAPES pelo apoio financeiro.

Aos animais que tornaram possível a realização deste trabalho.

EPÍGRAFE

Se for preciso ousar para tentar conquistar meus sonhos, não hesitarei. Se ele for essencial para que em meu coração haja sempre um sorriso, eu não deixarei de lutar, pois terei a certeza de que tentei. Mas sei que acima de tudo precisarei amar aquilo que sonho com todas as forças para que eu consiga convencer ele, meu sonho, de fazer parte da minha vida... Pois o amor remove montanhas.

Daniela Felício

RESUMO

FELÍCIO, D. Alterações na ingestão de alimento após a injeção de 8-OH-DPAT e MM-77 no Núcleo Arqueado do Hipotálamo. [Dissertação] Florianópolis: Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina; 2012

Estudos em nosso laboratório mostraram que 8-hidroxi-2-(di-*n*propilamino)-tetralina (8-OH-DPAT) injetado no Núcleo Arqueado (NARC) provocou hipofagia somente na fase de estro. Neste contexto, a proposta do presente estudo foi investigar a localização do receptor 5-HT_{1A} no circuito serotoninérgico do NARC por meio a injeção de um antagonista considerado de ação pós-sináptica, 1-(2-methoxyphenyl)-4-(4-succinimidobutyl) piperazine (MM-77), em ratas em diestro e estro. Ratas adaptadas a consumir uma dieta rica em sacarose 10% e com cânulas cronicamente implantadas no NARC foram pré-tratadas com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM-77 (doses de 0,37 e 0,74nmol) seguida pela injeção de 8-OH-DPAT (6nmol) ou veículo. Os resultados mostraram que ratas em diestro apresentaram um consumo de alimento maior do que o grupo em estro. A injeção isolada de 8-OH-DPAT no NARC provocou hipofagia nas duas fases do ciclo estral. Enquanto o tratamento do NARC com ambas as doses de MM-77 provocou hiperfagia nas ratas em estro, somente a maior dose provocou um discreto aumento no consumo de alimento nas ratas em diestro. Quando injetado após a dose menor de MM-77, o 8-OH-DPAT impediu o aparecimento da hiperfagia. Por outro lado, quando administrado com a dose maior de MM-77, o 8-OH-DPAT reduziu a intensidade da resposta hiperfágica induzida pelo MM-77. Em diestro, essa interação entre efeitos induzidos pelo MM-77 e pelo 8-OH-DPAT aparentemente esteve ausente uma vez que a redução no consumo de alimento induzido pela injeção de 8-OH-DPAT não foi afetada pelo tratamento prévio com MM-77 no NARC. No que se refere à duração do comportamento ingestivo, a injeção de 8-OH-DPAT suprimiu o aumento na duração da resposta ingestiva provocada pela menor dose de MM-77 e atenuou a elevação dessa resposta induzida pela maior dose de MM-77 nos animais em estro. Em diestro, a redução na duração da ingestão de alimento provocada pela injeção de 8-OH-DPAT não foi afetada pelo

tratamento prévio com MM-77, efeito semelhante àquele observado na resposta de ingestão de alimento. O aumento na latência para iniciar o consumo de alimento induzida pelo tratamento com 8-OH-DPAT no NARC de ratas em estro foi afetada pelo tratamento prévio com MM-77. Enquanto essa variável não foi afetada pelo MM-77 injetado isoladamente, a sua administração reduziu (dose menor) ou suprimiu (dose maior) a elevação na latência para iniciar o consumo de alimento induzido pelo 8-OH-DPAT. Por outro lado, este efeito não foi observado nas ratas em diestro. Esses resultados indicam que o MM-77 isolado remove uma influência inibitória sobre a ingestão de alimento quando injetado no NARC. Além disso, essa influência inibitória parece ser sensível ao nível de hormônios ovarianos no sangue porque os efeitos hiperfágicos do MM-77 foram mais intensos durante o estro. Os resultados também indicam que a ativação de receptores 5-HT_{1A}, que antecipam o final da alimentação, interfere com os efeitos desencadeados pelo MM-77, que isoladamente retarda a atuação dos sinais que induzem o término da resposta ingestiva. Considerando que o MM-77 seja um antagonista de receptor pós-sináptico, os dados do presente sugerem que o receptor 5-HT_{1A} estaria localizado em neurônios pré-sinápticos, pois, em estro e diestro, o MM-77 foi incapaz de impedir a redução da ingestão de alimento induzida pelo 8-OH-DPAT. Por outro lado, os efeitos do 8-OH-DPAT sobre a latência para iniciar o consumo de alimento (mecanismos de saciedade) parecem ser mediados por receptor 5-HT_{1A} pós-sináptico, uma vez que o tratamento prévio com MM-77 suprimiu o retardo na latência para iniciar a resposta ingestiva induzida pelo 8-OH-DPAT durante o estro.

Palavras-chave: Núcleo Arqueado; receptor 5-HT_{1A}; consumo de alimento; ciclo estral.

ABSTRACT

FELÍCIO, D. Changes in food intake after injection of 8-OH-DPAT and MM-77 into arcuate nucleus. Florianópolis: Pós-Graduação em Neurociências, Universidade Federal de Santa Catarina; 2012

Studies in our laboratory showed that 8-hydroxy-2-(di-npropilamino)-tetralin (8-OH-DPAT) injected into the arcuate nucleus (ARCN) caused hypophagia only at the stage of estrus. In this context, the purpose of this study was to investigate the location of the 5-HT_{1A} receptor in the NARC serotonergic circuit through the injection of an antagonist with considered post-synaptic action, 1 - (2-methoxyphenyl) -4 - (4-succinimidobutyl) piperazine (MM-77), in rats in diestrus and estrus. Rats adapted to consume a diet enriched with 10% sucrose bearing cannuli chronically implanted in ARCN were pre-treated with vehicle (5% ascorbic acid) or MM-77 (doses of 0.37 and 0.74 nmol) followed by injection of 8-OH-DPAT (6 nmol) or vehicle. The results showed that rats in diestrus had a higher food intake than the group in estrus. A single injection of 8-OH-DPAT in ARCN caused hypophagia in both phases of the estrous cycle. While the NARC treatment with both doses of MM-77 caused hyperphagia in female rats in estrus, only the highest dose caused a slight increase in food intake in rats in diestrus. When injected after the lower dose of MM-77, 8-OH-DPAT prevented the onset of hyperphagia. On the other hand, when administered with the higher dose of MM-77, 8-OH-DPAT reduced the intensity of the hyperphagic response induced by the MM-77. In diestrus, this interaction between the effects evoked by MM-77 and 8-OH-DPAT apparently has been absent since the reduction in food intake induced by injection of 8-OH-DPAT was not affected by pre-treatment with MM-77 in NARC. In addition, the injection of 8-OH-DPAT suppressed the increase in the duration of ingestive response caused by the lower dose of MM-77 and attenuated the elevation of this response induced by the higher dose of MM-77 in animals in estrus. In diestrus, the reduction in the duration of food intake induced by injection of 8-OH-DPAT was not affected by pre-treatment with MM-77, an effect similar to that was observed in response of food intake. The increase in latency to begin food intake induced by treatment with 8-OH-DPAT in ARCN of rats in estrus cycle

was affected by pre-treatment with MM-77. While this variable was not affected by MM-77 injected alone, its administration reduced (lower dose) or suppressed (higher dose) the increase in latency to begin food intake induced by 8-OH-DPAT. On the other hand, this effect was not observed in rats in diestrus. These results indicate that the MM-77 alone removes an inhibitory influence on food intake when injected into the ARC/N. Furthermore, this inhibitory influence seems to be sensitive to the level of ovarian hormones in the blood because the hyperphagic effects of MM-77 were more intense during estrus. The results also indicate that activation of 5-HT_{1A} receptors, in anticipation to the end of food intake, interferes with the effects triggered by MM-77, which alone slows the action of signals that induce the termination of ingestive response. Whereas the MM-77 is an antagonist of postsynaptic receptor, the present data suggest that 5-HT_{1A} receptor would be located in presynaptic neurons, because in both different estrous cycle stages evaluated, the MM-77 was unable to prevent the reduction of food intake induced by 8-OH-DPAT. On the other hand, the effects of 8-OH-DPAT on the latency to begin food intake (satiety mechanisms) appear to be mediated by 5-HT_{1A} postsynaptic receptor, since pretreatment with MM-77 suppressed the delay in the response latency to start feeding behavior induced by 8-OH-DPAT during estrus.

Keywords: Arcuate Nucleus; 5-HT_{1A} receptor; food intake; estrous cycle.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Controle do Apetite.....	23
Figura 2.	Controle Central do Apetite.....	25
Figura 3.	NARC: centro integrador da regulação da ingestão de alimentos.....	28
Figura 4.	Regulação da homeostase energética por de neurônios POMC e AgRP através do sistema melanocortina.....	30
Figura 5.	Síntese de 5-Hidroxitriptamina (5-HT) e seus metabólitos.....	34
Figura 6.	Padrões de Estradiol, Progesterona e LH em ratas durante o ciclo reprodutivo.....	41
Figura 7.	Microfotografia de um corte coronal (coloração pelo método de Nissl) do hipotálamo de rato, ilustrando o trajeto de uma cânula-guia e injetora no NARC.....	53
Figura 8.	Resposta de ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM-77 (nas doses de 0,37 e 0,74 nmol) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas em estro ou diestro.....	55
Figura 9.	Duração da ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM77 (nas doses de 0,37 e 0,74nmol) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas em estro ou diestro.....	58

Figura 10. Latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM77 (nas doses de 0,37 e 0,74nmol) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas em estro ou diestro.....60

Figura 11. Frequência de ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM77 (nas doses de 0,37 e 0,74nmol) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas em estro ou diestro.....62

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Efeitos de peptídeos, hormônios e neurotransmissores centrais e periféricos sobre a ingestão de alimentos.....	32
Quadro 2.	Efeitos da ativação de receptores 5-HT _{1A} , 5-HT _{2C} e 5-HT _{1B}	38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Duração de comportamentos ingestivos e não ingestivos durante 1h após o pré-tratamento do núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol) seguido 7 min após pela injeção posterior de veículo ou de 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas na fase de estro.....67
- Tabela 2.** Duração de comportamentos ingestivos e não ingestivos durante 1h após o pré-tratamento do núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol) seguido 7 min após pela injeção posterior de veículo ou de 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas na fase de diestro.....68
- Tabela 3.** Quantidade, Duração e Latência de consumo de água durante 1h após o tratamento com 8-OH-DPAT (6nmol) no núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) de ratas pré-tratadas com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol) durante a fase de estro.....69
- Tabela 4.** Quantidade, Duração, Latência e Frequência de consumo de água durante 1h após o tratamento com 8-OH-DPAT (6nmol) no núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) de ratas pré-tratadas com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol) durante a fase de diestro.....70

ABREVIATURAS

AgRP - Proteína relacionada ao *agouti*
AHL - Área hipotalâmica lateral
CART - Transcrito regulado pela cocaína e anfetamina
CCK - Colecistocinina
CRH - Hormônio liberador de corticotropina
DMN - Núcleo dorsomedial do hipotálamo
E2 - Estrogênio
GABA - Ácido gama-aminobutírico
GLP-1 - Peptídeo semelhante ao glucagon-1
MAO - Enzima monoamino oxidase
MCH - Hormônio concentrador de melanina
MET - Metergolina
MM-77 - 1-(2-methoxyphenyl)-4-(4-succinimidobutyl) piperazine
NARC - Núcleo arqueado do hipotálamo
NR - Núcleo da rafe
NDR - Núcleo dorsal da rafe
NPY - Neuropeptídeo Y
NTS - Núcleo trato solitário
OXM - Oxintomodulina
POMC - Pró-ópiomelanocortina
pBLA - Região posterior da amígdala basolateral
PP - Polipeptídeo pancreático
PFA - Área perifornical
PVN - Núcleo paraventricular do hipotálamo
PYY - Peptídeo YY
TRH - Hormônio liberados de tiroidotropina
VMN - Núcleo ventromedial do hipotálamo
WAY 100635 - Maleato de ciclo hexano carboxamida n-[2-[4-(2-metoxifenil)-1-piperazinil]etil]-n-(2-piridinil)
 α -MSH - Hormônio estimulante de α -melanócito
 β -MSH - Hormônio estimulante de β -melanócito
5-HT - 5-hidroxitriptofano; serotonina
8-OH-DPAT - 8-hidroxi-2-(di-*n*-propilamino)-tetralina
SNC - Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	21
1.1 Regulação central da ingestão de alimentos.....	24
1.2 Serotonina: subtipos e localização de receptores 5-HT.....	32
1.3 Serotonina e ingestão de alimentos	35
1.4 Serotonina e influência do ciclo ovariano	40
2. OBJETIVOS	45
2.1 Objetivos Gerais.....	45
2.2 Objetivos Específicos.....	45
3. MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1 Animais	46
3.2 Procedimentos cirúrgicos	46
3.3 Soluções e doses administradas	47
3.4 Injeções intracerebrais.....	48
3.5 Determinação da fase do ciclo estral.....	48
3.6 Procedimentos experimentais.....	49
3.7 Caixa de registro comportamental.....	50
3.8 Categorias comportamentais registradas	50
3.9 Histologia	51
3.10 Análise dos dados.....	52
4. RESULTADOS	53
4.1 Ingestão de alimento	53
4.2 Duração da ingestão de alimento	56
4.3 Latência para iniciar a ingestão de alimento	59

4.4	Frequência da ingestão de alimento.....	61
4.5	Duração na exploração do alimento.....	63
4.6	Duração dos demais comportamentos não ingestivos.....	64
4.7	Efeito dos tratamentos sobre a ingestão de água.....	66
5.	DISCUSSÃO	71
6.	CONCLUSÕES	82
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por respostas fisiológicas que melhor elucidem o mecanismo relacionado à regulação da ingestão de alimentos e do balanço energético corporal é um dos principais focos de estudo. Isso porque cada vez mais têm-se visto um aumento relevante nos casos de obesidade, sendo que a mesma está intimamente relacionada aos maiores riscos no desenvolvimento de algumas comorbidades e doenças, tais como: diabetes tipo II, acidente vascular cerebral, hiperlipidemia, hipertensão arterial sistêmica, doenças cardiovasculares e alguns tipos de cânceres (MUST et al., 1999; WHO, 1998; 2002; MEISTER, 2007; SIMPSON et al., 2009).

A ingestão de alimentos garante ao organismo, nutrientes adequados e substratos energéticos para as reações bioquímicas que contribuem nas oscilações do metabolismo celular. Este por sua vez é acompanhado por flutuações hormonais que podem regular a sensação de fome e o metabolismo (DIETRICH e HORVATH, 2009).

Uma série de sistemas complexos mantém a homeostase energética a fim de manter o peso corporal e disponibilizar energia suficiente para todos os processos metabólicos. Assim sendo, circuitos neuronais centrais são requeridos em conjunto a sinais periféricos, fazendo com que haja uma regulação de ingestão de alimentos a partir da sensação de fome e da saciedade, entre outros fatores (DIETRICH e HORVATH, 2009).

O ato de comer não somente envolve o instinto de sobrevivência, mas um mecanismo de recompensa, se tornando deste modo um comportamento complexo. Hoje, sabe-se, que além de áreas primárias como o hipotálamo e mesencéfalo estarem envolvidas com a alimentação, outras regiões também atuam neste processo de homeostase energética. Características organolépticas como cheiro e aparência, por exemplo, podem estimular áreas sensoriais, cujas informações se projetam para áreas menos superiores, o que leva a alimentação. Além disso, componentes psicológicos também podem influenciar a alimentação devido a projeções a partir do córtex. Apesar de existir uma complexa rede de sinalização que gerencia o metabolismo

energético, o hipotálamo e o mesencéfalo são constituídos por núcleos que são essenciais nesta regulação (DIETRICH e HORVATH, 2009).

No que diz respeito aos sinais periféricos relacionados com esta regulação, peptídeos e hormônios liberados pelo trato gastrointestinal (TGI) interagem com sinais neurais, modulando a ingestão de alimentos. Dentre estes, os mais estudados são a insulina, a leptina, a colecistocinina (CCK), o polipeptídeo pancreático (PP), o peptídeo YY (PYY), o peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), a oxintomodulina (OXM) e a grelina. O modo de atuação destes peptídeos e hormônios vai desde sua ação periférica à interação com receptores localizados no hipotálamo e tronco encefálico, que são regiões do Sistema Nervoso Central (SNC) que fazem parte do controle central do apetite. Esta interação ocorre devido a uma fragilidade da barreira hemato-encefálica na eminência mediana e área postrema, onde estruturas do SNC próximas como o núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) e núcleo do trato solitário (NTS), respectivamente, acabam recebendo influências destes fatores (CHAUDHRI et al., 2006; CHAPTINI e PEIKIN, 2008) (Figura 1).

Estes inúmeros peptídeos e hormônios estão relacionados a dois tipos de efeitos: anorexígenos e orexígenos. Os efeitos anorexígenos relacionados à redução da ingestão de alimento podem ser mediados pela oximodulina (OXM), peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), peptídeo YY (PYY), transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART), insulina, leptina, hormônio liberador de corticotropina (CRH), hormônio estimulante de α -melanócito (α -MSH), colecistocinina (CCK). Por outro lado, os efeitos orexígenos relacionados ao aumento da ingestão alimentar, podem ser mediados pelo cortisol, endorfinas, neuropeptídeos Y (NPY), orexinas A e B, grelina, proteína relacionada ao agouti (AgRP) (SCHWARTZ et al., 2000; MORTON et al., 2006; MEISTER, 2007).

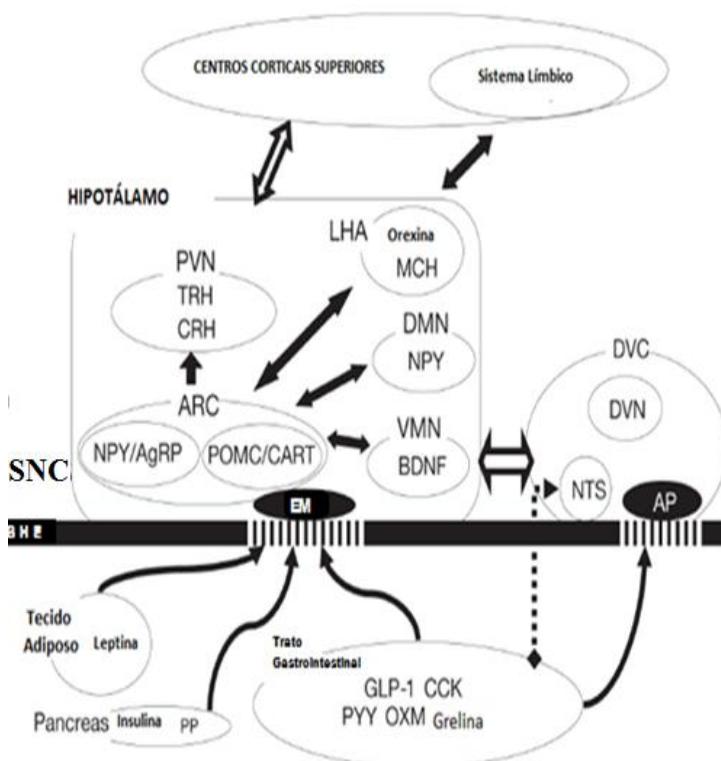


Figura 1. Controle do Apetite. A regulação do apetite é controlada por vias neurais complexas que tem conexões recíprocas entre o hipotálamo, tronco encefálico e áreas corticais superiores. Sinais periféricos podem atuar transmitindo informações por meio de vias neurais através do tronco encefálico e hipotálamo. Devido a uma fragilidade da barreira hemato-encefálica e área postrema, hormônios intestinais e sinais do tecido adiposo podem agir através da corrente sanguínea para influenciar a sinalização das vias que controlam o apetite, tais com neurônios que expressam NPY/AgRP e POMC/CART, dentro do NARC. Sinais oriundos de centros superiores são integrados com sinais periféricos no hipotálamo. SNC: Sistema Nervoso Central; NARC: Núcleo Arqueado; NPY/AgRP: Neuropeptídeo Y e Peptídeo relacionado ao *agouti*; POMC/CART: Pro-ópiomelanocortina e

transcrito regulado pela cocaína e anfetamina; PVN: Núcleo paraventricular; LHA: Área Hipotalâmica Lateral; DMN: Núcleo Dorsomedial; VMN: Núcleo Ventromedial; EM: Eminência Mediana; DVC: Complexo Dorso-Vagal; DVN: Núcleo Motor Dorsal do Vago; NTS: Núcleo do Trato Solitário; AP: Área Postrema; GI: Trato Gastrointestinal; TRH: Hormônio liberador da tireotrofina; CRH: Hormônio liberador da corticotropina; MCH: Hormônio Concentrador de Melanina; BDNF: Fator neurotrófico derivado do cérebro; GLP-1: Peptídeo semelhante ao glucagon; CCK: Colecistocinina; PP: Polipeptídeo Pancreático; PYY: Peptídeo YY; OXM: Oximodulina; BHE: Barreira Hemato-Encefálica. Adaptado de Suzuki et al., 2010

1.1 Regulação central da ingestão de alimentos

O tronco encefálico e o hipotálamo desempenham um papel central na regulação da homeostase energética e na ingestão de alimentos. Eles recebem sinais da periferia a partir do tecido adiposo e intestino via nervo vago e mediadores hormonais (CHAPTINI e PEIKIN, 2008)

A colecistocinina (CCK), por exemplo, é um polipeptídeo intestinal que quando liberado atua de forma com que seja finalizada a refeição (saciedade). Estes e outros sinais alcançam o núcleo do trato solitário (NTS) no tronco encefálico, via nervo vago e outras rotas. Em contraste, o tecido adiposo conforme sua proporção gera sinais humorais (insulina e leptina) que afetam diretamente o SNC e circuitos que controlam a homeostase energética. Estes hormônios podem atuar via receptores no NARC e afetam a alimentação e o gasto energético a longo prazo (SCHWARTZ et al., 2000; MORTON et al., 2006; BLEVINS e BASKIN, 2010)

No que diz respeito ao hipotálamo, este desempenha papel essencial no controle do apetite e no balanço energético (MEISTER, 2007; SUZUKI et al., 2010) Constituído por mais de 40 áreas e núcleos distintos, os principais envolvidos na regulação da ingestão do alimento são o núcleo arqueado (NARC), o núcleo paraventricular (PVN), o núcleo ventromedial (VMN) e o núcleo dorsomedial (DMN) e as áreas hipotalâmica lateral (AHL) e perifornical (PFA) (SCHWARTZ et al., 2000; MORTON et al., 2006; MURPHY e BLOOM, 2006; MEISTER,

2007; SIMPSON et al., 2009) (Figura 2). Além da ingestão de alimentos, o hipotálamo está relacionado a outras funções orgânicas importantes como sede, reprodução, temperatura, balanço hormonal e ritmos biológicos (MEISTER, 2007)

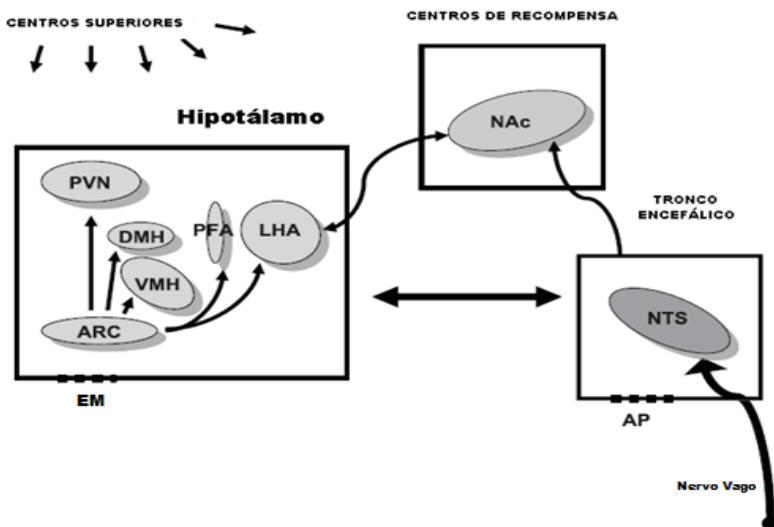


Figura 2. Controle Central do Apetite. AP: Área Postrema; EM: Eminência mediana; NAc: Núcleo accumbens; PFA: Área perifornical; NTS: Núcleo do Trato Solitário; AHL: Área Hipotalâmica Lateral; PVN: Núcleo Paraventricular; DMH: Hipotálamo Dorsomedial; VMH: Hipotálamo Ventromedial; ARC: Núcleo Arqueado. Adaptado de Wynne et al., 2005.

Alguns estudos iniciais sugeriram, a partir de experimentos com lesões e estimulações em núcleos hipotalâmicos, que o VMN teria um papel de centro da saciedade e a AHL de centro da fome (STELLAR, 1954 ; MAYER, 1967). No entanto, estudos subsequentes mostraram que outros núcleos hipotalâmicos e circuitos neuronais estão intimamente envolvidos na regulação do apetite, por meio de uma interação com o tronco encefálico e outros centros corticais superiores (SUZUKI et al., 2010). Além disso, a partir de estudos de lesão e

estimulação elétrica no hipotálamo, foram identificados vários núcleos que são importantes na regulação do comportamento alimentar. A destruição no VMN levou a um aumento da sensação de fome (com o incremento do número de refeições), o que pode levar a obesidade (HETHERINGTON e RANSON, 1940). Do mesmo modo, lesões no PVN e NARC, também resultaram em hiperfagia e obesidade (LEIBOWITZ et al., 1981; CHOI e DALLMAN, 1999). Entretanto, estudos de estimulação elétrica na AHL ativaram um controle motor que provoca a alimentação mesmo no estado saciado, enfatizando o papel deste núcleo na iniciação da alimentação e sinalização da fome (HERBERG e BLUNDELL, 1967).

Apesar de inúmeros estudos que mostram o envolvimento de diversas áreas cerebrais na ingestão de alimento, o NARC recebe sinais da periferia por meio do tronco encefálico e da barreira hemato-encefálica, e desta forma executa um papel integrador na regulação homeostática da ingestão de alimento (NISWENDER e SCHWARTZ, 2003; SMALL e BLOOM, 2004).

Deste modo, o NARC é conhecido por atuar como mestre na regulação do balanço energético em mamíferos adultos. O NARC está localizado no hipotálamo médio basal e se encontra nas adjacências do terceiro ventrículo, em uma área da barreira hemato-encefálica que é permeável a fatores periféricos, um local, portanto, ideal como sensor de fatores humorais e metabólicos vindos da periferia (BROADWELL e BRIGHTMAN, 1976; NORSTED et al., 2008; DIETRICH e HORVATH, 2009). Além disso, devido a sua proximidade com o terceiro ventrículo, o NARC também pode ser influenciado por fatores oriundos do fluido cerebrospinal, pelo qual é o principal caminho para a entrada de vários peptídeos e hormônios dentro do cérebro através da barreira hemato-encefálica (DIETRICH e HORVATH, 2009).

A fim de modular a atividade dos neurônios do NARC, alguns hormônios gastrintestinais, pancreáticos e do tecido adiposo são transportados pela barreira hemato-encefálica até este núcleo, são eles: insulina (BANKS et al., 1996), leptina (BANKS, 2004), grelina, colecistocinina (CCK), oxintomodulina (OXM) e peptídeo YY (KASTIN et al., 2002; NONAKA et al., 2003). Os neurônios do NARC projetam eferências para outros núcleos hipotalâmicos secundários, por exemplo, o PVN, a AHL e o VMN (Figura 2), onde pode ocorrer a

liberação de mais peptídeos orexígenos ou anorexígenos para modular a ingestão de alimento e o balanço energético (SCHWARTZ et al., 2000; STANLEY et al., 2005; BERTHOUD, 2007; VALASSI et al., 2007; CHAPTINI e PEIKIN, 2008).

Além disso, duas distintas populações neuronais no NARC têm sido estudadas e relacionadas a hormônios e peptídeos gastrointestinais e pancreáticos (CHAUDHRI et al., 2008). Estes neurônios apresentam efeitos opostos na regulação da ingestão alimentar, sendo que alguns aumentam a ingestão de alimentos, como os que expressam neuropeptídeo Y (NPY) e peptídeo relacionado ao *agouti* (AgRP); e outros reduzem o consumo alimentar, como os que expressam o hormônio estimulante α -melanócito (α -MSH, derivado da pró-ópiomelanocortina -POMC) e o transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART) (ELIAS et al., 1998; KRISTENSEN et al., 1998; MORTON et al., 2006; SUZUKI et al., 2010). Estas populações por sua vez, projetam-se para outros núcleos hipotalâmicos como o PVN, DMN, LHA e VMN (ELIAS et al., 1998; ELMQUIST et al., 1998; KALRA et al., 1999; BOURET et al., 2004; VALASSI et al., 2007; CHAPTINI e PEIKIN, 2008; SUZUKI et al., 2010). O hormônio estimulante α , β -melanócito (α - e β -MSH) atua nos receptores de melanocortina (MC3R e MC4R) e ativa respostas anorexígenas (FAN et al., 1997; BIEBERMANN et al., 2006; LEE et al., 2006). Por outro lado, AgRP é um antagonista competitivo MC3/4-R e reduz a sinalização MSH para promover a ingestão de alimentos (OLLMANN et al., 1997) (Figura 3).

Os axônios destes neurônios fazem conexão com neurônios de segunda ordem, localizados em parte no PVN por meio do qual, substâncias anorexígenas como hormônio liberador de corticotropina (CRH) e oxitocina são secretados; e AHL e PFA onde moléculas orexígenas como hormônio concentrador de melanina e orexinas são produzidas. Circuitos anabólicos são ativados quando os níveis de sinais provenientes do tecido adiposo caem, o que consequentemente leva a um aumento da liberação de peptídeos orexígenos a fim de restabelecer os estoques de energia (VALASSI et al., 2007).

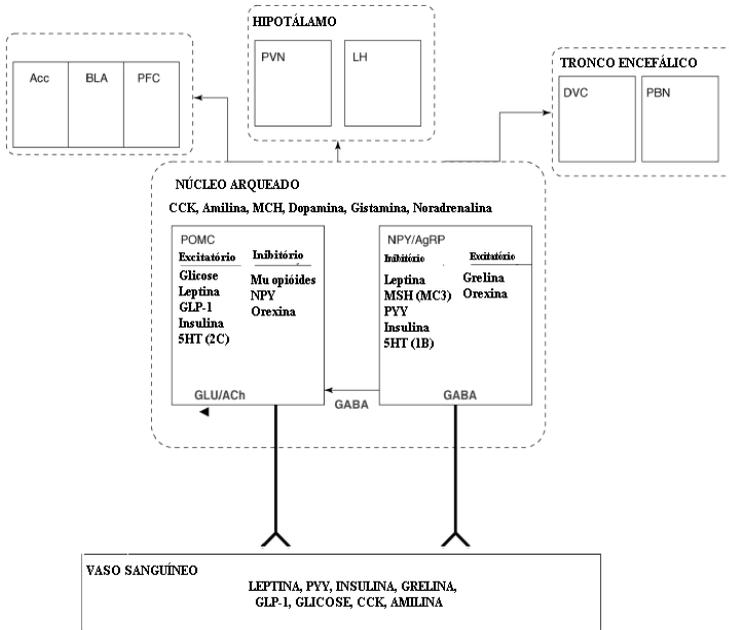


Figura 3. O NARC é o centro integrador da regulação da ingestão de alimentos. Sinais orexigênicos e anorexigênicos em neurônios POMC e AgRP-NPY diretamente afetam as propriedades eletrofisiológicas dos neurônios. Outros transmissores (CCK, Amilina, MCH, dopamina, Histamina, Noradrenalina) diretamente afetam as propriedades eletrofisiológicas dos neurônios do NARC, com os quais se projetam para vários circuitos neurais. DVC: Complexo Dorso-Vagal; NPY: Neuropeptídeo Y; 5-HT: Serotonina; MSH: Hormônio; PYY: Peptídeo YY; LH: Hipotálamo Lateral; PVN: Núcleo Paraventricular; Acc: Núcleo Accubens; BLA: Amígdala Basolateral; PFC: Área Perifornical; CCK: Colecistocinina; Adaptado de Adan et al. 2008

Os neurônios que expressam NPY/AgRP são inibidos pela leptina, insulina e PYY (SCHWARTZ et al., 2000; CHAPTINI e PEIKIN, 2008), sendo ativados pela grelina (NAKAZATO et al., 2001; WREN et al., 2001; COWLEY et al., 2003; FLIER, 2004). Alguns estudos mostram que a administração periférica de grelina aumenta a

expressão de NPY/AgRP no NARC e a ablação destes neurônios elimina os efeitos orexígenos provocados pela grelina (WANG et al., 2002; CHEN et al., 2004). Diferentemente destes neuropeptídeos, os neurônios que expressam peptídeos anorexígenos são inibidos pela grelina, e previnem a liberação de α -MSH (RIEDIGER et al., 2003; DE LARTIGUE et al., 2007).

Insulina e leptina apresentam receptores em neurônios POMC e AgRP e quando presentes aumentam a expressão de RNAm para POMC e reduzem os níveis de RNAm para AgRP. Além disso, ambas as populações neuronais expressam o neurotransmissor inibitório ácido gama-aminobutírico (GABA). Os neurônios do NARC que expressam NPY, quando ativados, liberam localmente GABA, para inibir os neurônios que expressam POMC (Figura 3). Sendo assim, o NARC parece ser o local de convergência de muitos dos sinais centrais e periféricos que regulam o balanço energético homeostático do organismo (Figura 3) (SCHWARTZ et al., 1992; HORVARTH et al., 1997; COWLEY et al., 2001; BENOIT et al., 2002; HENTGES et al., 2004; STANLEY et al., 2005; KITAMURA et al., 2006; VALASSI et al., 2007). Especificamente, a leptina regula positivamente neurônios que expressam α -MSH (agonista endógeno de melanocortina) e regula negativamente as células que contém antagonistas endógenos de melanocortina, AgRP (ELIAS et al., 1999) (Figura 4). A ativação de POMC aumenta a liberação de agonista de receptor de melanocortina endógeno α -MSH, que apresenta uma grande afinidade para MC4R, e por isso é considerado um mediador do balanço energético (FAN et al., 2000; FAROOQI et al., 2003).

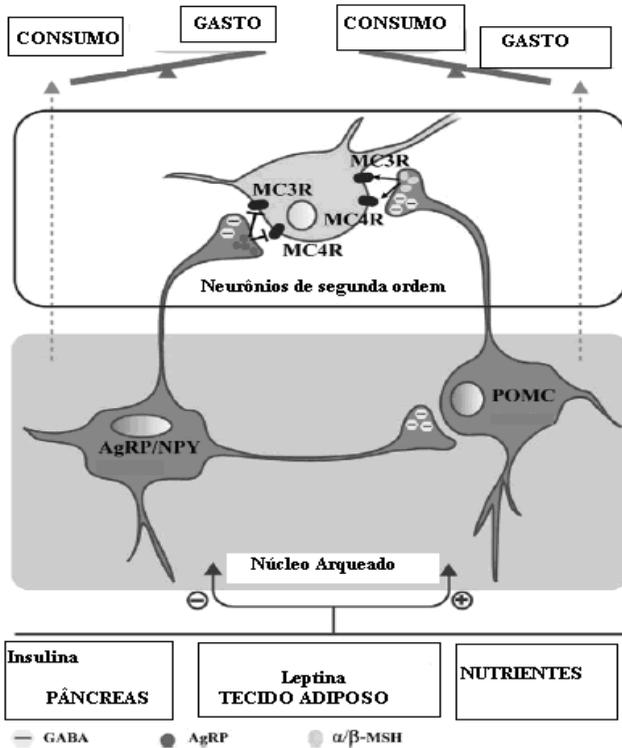


Figura 4. Regulação da homeostase energética por de neurônios POMC e AgRP através do sistema melanocortina. POMC e AgRP localizados no NARC, próximos a barreira hemato-encefálica, permite o acesso de vários sinais humorais. Ambas as populações neuronais exercem efeitos potentes no balanço energético mediado por seus neuropeptídeos, com os quais modulam os neurônios de segunda ordem. α - e β -MSH atuam no MC3R e MC4R a fim de reduzir o consumo de alimentos e aumentar o gasto energético. Neurônios que expressam AgRP atuam como um antagonista de MC3R e MC4R e promovem respostas opostas. Inibição gabaérgica tem sido descrita a partir de ambos neurônios, POMC e AgRP para neurônios efetores, bem como de neurônios AgRP para neurônios POMC. GABA: Ácido gama-aminobutírico; AgRP: peptídeo

relacionado ao agouti; α/β -MSH: Hormônio estimulador de melanócito alfa e beta. Adaptado de Sánchez-Lasheras et al., 2010.

Todos estes sinais hormonais, fisiológicos e neurais, atuam em diversos locais do SNC e se direcionam ao hipotálamo, onde existe um grande número de peptídeos e outros neurotransmissores que estão relacionados à ingestão alimentar (Quadro 1). Dentre tantas substâncias envolvidas neste controle estão as aminas: serotonina, noradrenalina, dopamina, histamina e alguns aminoácidos: ácido gama-aminobutírico (GABA), ácido glutâmico (glutamato) (KALRA et al., 1999; SARIKA ARORA, 2006).

No que se refere ao sistema nervoso central (SNC) de humanos, a 5-HT tem um importante papel em funções fisiológicas tais como sono, alimentação, comportamento sexual, regulação da temperatura, resposta ao estresse, memória, dor e cognição, assim como estados patológicos como distúrbios de humor, desordens relacionadas à ansiedade, e psicoses (POLTER e LI, 2010).

Desta forma, estudar o sistema serotoninérgico e suas relações no que diz respeito ao controle da ingestão de alimento (influência serotoninérgica na ingestão de alimentos, tipos de receptores 5-HT, influência das alterações hormonais que ocorrem nas diferentes fases do ciclo estral) é imprescindível e será descrita nos tópicos a seguir.

Quadro 1. Efeitos de peptídeos, hormônios e neurotransmissores centrais e periféricos sobre a ingestão de alimentos (Adaptado de Schwartz et al., 2000; Sarika Arora, 2006).

	Anorexígeno	Orexígeno
Central	Transcrito regulado pela cocaína e anfetamina (CART)	Neuropeptídeo Y(NPY)
	Hormônio estimulante do α -melanócito (α -MSH)	MCH
	Peptídeo semelhante ao Glucagon	Orexinas/Hipocretinas
	Fator Liberador de Corticotropina	Proteína relacionado ao <i>agouti</i> (AgRP)
	Insulina	Galanina
	Serotonina	Opióides Endógenos
	Neurotensina	Endocanabionóides Noradrenalina
Periférica	Peptídeo YY	Grelina
	Colecistocinina	
	Leptina	
	Amilina	
	Insulina	
	Peptídeo semelhante ao Glucagon (GLP)	
	Bombesina	

1.2 Serotonina: subtipos e localização de receptores 5-HT

A serotonina é um composto orgânico que foi encontrado primeiramente no sangue. Em 1948 a serotonina foi parcialmente purificada, cristalizada e nomeada por meio do sangue (RAPPORT e GREEN, 1948), já em 1953 ela foi descoberta no Sistema Nervoso Central (SNC) (TWAROG, 1953), sendo este um marco na história da neurociência. Inicialmente a serotonina foi identificada como uma substância vasoconstritora e de coagulação sanguínea, mas

posteriormente ela foi relacionada ao sistema digestivo, sistema hematopoiético e sistema nervoso central, sendo que a maior parte é encontrada nas células enterocromafins do trato gastrointestinal (KITSON, 2007).

Considerada uma amina biogênica, a serotonina (5-HT) é um importante neurotransmissor envolvido em diversas funções orgânicas, como dor: apetite, sexo, emoção, sono, memória; e tem sido associada a algumas doenças, como: transtornos de ansiedade, depressão, fobia social, esquizofrenia, transtorno compulsivo-obcessivo, desordens do pânico, hipertensão e transtornos de alimentação (GREEN, 2006).

Produzida a partir do L-triptofano pela enzima triptofano hidroxilase, a 5-HT não atravessa a barreira hemato-encefálica, e portanto, deve ser sintetizada no SNC. A principal região produtora localiza-se no tronco encefálico, especificamente no núcleo da rafe (WATTS, 2005). Após a liberação na fenda sináptica, a 5-HT pode atuar tanto em receptores pós-sinápticos, que levam a informação para outros neurônios, como em receptores pré-sinápticos que regulam a síntese e a liberação de 5-HT (BOHMAKER et al., 1992). O metabolismo da 5-HT ocorre pela ação de uma enzima mitocondrial chamada Monoamina Oxidase A que a converte em ácido 5-hidroxi-indolacético (KITSON, 2007) (Figura 5)

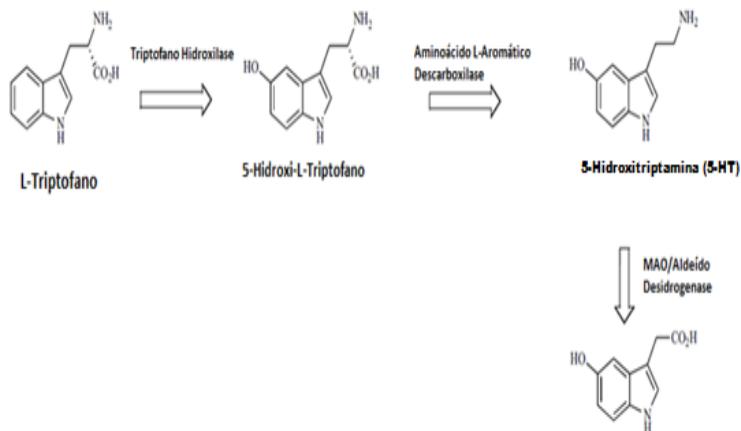


Figura 5. Síntese de 5-Hidroxitriptamina (5-HT) e seus metabólitos. Adaptado de Kitson, 2007

Sete classes de receptores para a 5-HT já foram descobertas: (5-HT₁₋₇), sendo divididas em 16 subtipos diferentes 5-HT₁ (5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} e 5-HT_{1F}), 5-HT₂ (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B} e 5-HT_{2C}), 5-HT₃ (5-HT_{3A}, 5-HT_{3B}, e 5-HT_{3C}), 5-HT₄, 5-HT₅ (5-HT_{5A}, 5-HT_{5B}), 5-HT₆ e 5-HT₇ (PAUWELS, 2003). Estes receptores estão principalmente acoplados a proteína G, que quando ativada por estímulos exteriores, pode migrar pelo citosol e ativar enzimas amplificadoras no meio intracelular, desencadeando uma cascata de eventos, o que caracteriza o processo de transdução de sinais. Por outro lado, o receptor 5-HT₃ está acoplado ao canal iônico, formado por proteínas transmembrana que permitem a passagem de íons pela camada lipídica da membrana plasmática. Apesar destes inúmeros receptores serotoninérgicos, o subtipo 5-HT_{1A} é o mais estudado e caracterizado se comparado aos demais (PESSOA-MAHANA, 2003; KITSON, 2007; MOURA e VIDAL, 2011).

Em mamíferos, os receptores 5-HT_{1A} são divididos em duas diferentes classes, conforme a sua localização. Receptores 5-HT_{1A} pré-

sinápticos estão localizados nos dendritos e corpo celular dos neurônios 5-HT que emergem do núcleo da rafe para inervar o cérebro e a medula espinhal medular (PAZOS e PALACIOS, 1985; VERGÉ et al. 1986; BARNES e SHARP, 1999). Os receptores somatodendríticos 5-HT_{1A} atuam como um autoreceptor inibitório porque sua estimulação resulta em diminuição dos disparos dos neurônios serotoninérgicos da rafe (SPROUSE e AGHAJANIAN, 1987; HJORTH e MAGNUSSON, 1988). Existem também receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos que estão localizados em áreas do cérebro que são inervadas por neurônios 5-HT, como o hipocampo, córtex entorrinal e frontal, septum lateral, amígdala, e várias regiões do hipotálamo e núcleos talâmicos (BARNES e SHARP, 1999; HJORTH e SHARP, 1991). No que se refere a estes dois tipos de receptores, sugere-se que agonistas 5-HT_{1A} em estruturas pré ou pós-sinápticas tenham diferentes efeitos dependendo dos modelos de ansiedade utilizados (ZHUANG et al., 1999).

No que diz respeito a sua localização, os receptores 5-HT_{1A} estão abundantemente presentes no giro denteado e área CA1 do hipocampo, no septum lateral, no córtex frontal e entorrinal, no núcleo dorsal da rafe, estriado, substância negra e cerebelo, e em menor expressão em algumas áreas talâmicas e hipotalâmicas (KITSON, 2007). Collin et al. (2002) verificaram a presença destes receptores em neurônios localizados no núcleo supra-óptico, PVN, VMH, assim como no NARC e AHL. Neurônios do NARC são modulados em parte por 5-HT, por meio dos seus receptores (ADAN et al., 2008).

1.3 Serotonina e ingestão de alimentos

O papel da serotonina na regulação da ingestão de alimento tem sido amplamente estudado (BLUNDELL 1986; DOURISH, 1995; SIMANSKY, 1996; BICKERDIKE et al., 1999), e ensaios clínicos atuais têm trazido evidências de que a 5-HT esteja envolvida em distúrbios alimentares, tais como obesidade, anorexia e bulimia nervosa (REIS et al., 2005; KAYE et al., 2005; LEIBOWITZ e ALEXANDER, 1998; ERLANSON-ALBERTSSON, 2005; OGDEN et al., 2006; SIMPSON et al., 2009).

A 5-HT atua de modo inibitório na modulação da ingestão de alimento e na regulação do peso corporal (MEISTER, 2007). Alguns

estudos têm demonstrado que o aumento na sua liberação central está relacionado a estados de hipofagia, ao suprimir o apetite; e que a redução na neurotransmissão serotonérgica por outro lado, esteja envolvida a um aumento no consumo de alimentos (BLUNDELL, 1986; HALFORD & BLUNDELL, 2000; INAM et al., 2008). Este neurotransmissor é originado a partir dos neurônios da rafe, que se projetam para inúmeros locais do SNC, entre eles o hipotálamo, que recebe transmissões serotonérgicas principalmente do núcleo dorsal da rafe (MEISTER, 2007). Em circuitos hipotalâmicos são encontrados vários tipos de receptores pós-sinápticos que são responsáveis pelos efeitos hipofágicos mediados pela 5-HT (BOVETTO e RICHARD, 1995).

Em meados de 1990, a d-fenfluramina, um inibidor da recaptação e indutor da liberação da 5-HT, foi prescrito para milhões de americanos para a perda de peso, porém devido a efeitos cardiovasculares adversos, o mesmo foi retirado do uso clínico em 1997 (CONNOLLI et al., 1997). Neste contexto, um inibidor da recaptação de noradrenalina (NA) e da serotonina, chamado de sibutramina, foi aprovado para uso no tratamento da obesidade com intuito de aumentar a saciedade e induzir um efeito termogênico que levaria a perda de peso (NONOGAKI, 2008). Entretanto, os mecanismos moleculares pelo qual a sibutramina e outras drogas para uso na perda de peso e aumento da saciedade ainda não foram totalmente esclarecidas. Baixas doses de agonistas de 5-HT afetam a fome quando injetadas no hipotálamo (LEIBOWITZ e ALEXANDER, 1998) e agentes farmacológicos que aumentam a atividade da 5-HT no SNC reduzem a fome e promovem perda de peso (MEISTER, 2007).

Alguns estudos mostram que a ativação de receptores 5-HT_{2C} ou 5-HT_{1B} reduzem a ingestão alimentar (DE VRY e SCHREIBER, 2000; DOURISH, 1995; SAMANIN et al., 1989; KENNETT e CURZON, 1988; BICKERDIKE et al., 1999; HEISLER et al., 2006; HEWITT et al., 2000; HALFORD e BLUNDELL, 1996; DALTON et al., 2006), enquanto a ativação de receptores 5-HT_{1A} pode causar hiperfagia (EBENEZER e SURUJBALLY, 2007; DOURISH et al., 1985; 1988; EBENEZER, 1992a; GILBERT e DOURISH, 1987; COSCINA et al., 2000; CURRIE e COSCINA, 1993; PARKER e COSCINA, 2001) ou redução na ingestão de alimento (Arkle e

Ebenezer, 2000; Ebenezer et al., 2007; López-Alonso et al., 2007; Ebenezer et al., 1999; Ebenezer, 1992b; Ebenezer e Tite, 2003; Ebenezer et al., 2001). Estes efeitos ingestivos parecem ser mediados primariamente por ativação de receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} presentes no núcleo da rafe, no complexo amigdalóide ou no hipotálamo (COSCINA et al., 2000; CURRIE e COSCINA, 1993; DE VRY e SCHREIBER, 2000; HUTSON et al., 1986; PARKER e COSCINA, 2001; PARKER et al., 2001; COLLIN et al., 2002; HEISLER et al., 2002; 2006).

Estudos sugerem que a ativação de receptores 5-HT_{2C} estimula neurônios do NARC que expressam o polipeptídeo pró-ópiomelanocortina (POMC), precursor do neuropeptídeo anorexígeno α -MSH. A ativação de receptores 5-HT_{1B} do NARC tanto inibe a atividade dos neurônios que expressam a proteína relacionada ao *agouti* (AgRP, orexígeno), quanto reduz os sinais inibitórios pós-sinápticos sobre neurônios que expressam o polipeptídeo POMC. Esse controle do sistema de melanocortinas pode representar um importante mecanismo, pelo qual a 5-HT reduz a ingestão de alimento (HEISLER, 2002; 2006)

Quadro 2. Efeitos da ativação de receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2C} e 5-HT_{1B}

Receptor 5-HT	Efeito na ingestão de alimento	Animais/via/estado nutricional	Autores
Ativação de receptor 5-HT _{1A}	Aumento	Ratos/NDR/NMR/saciados	Currie e Coscina, 1993
		Ratos/pBLA/saciados	Coscina et al., 2000
		Ratos/pBLA/saciados	Parker e Coscina, 2001
		Camundongos/ip/saciados	Ebenezer et al., 2007
	Redução	Ratos/PVN/dieta palatável	Mancilla-Diaz et al., 2005
		Ratos/NARC/ dieta palatável	Steffens et al., 2008
		Porcos/iv/jejum	Ebenezer et al., 2001
		Ratos/PVN/jejum	López-Alonso et al., 2007
Ativação de receptores 5-HT _{2C}	Redução	Ratos/PVN/ dieta palatável	López-Alonso et al., 2007
		Camundongos/ip/dieta normal	Dalton et al., 2006
Ativação de receptores 5-HT _{1B}	Redução	Camundongos/ip/dieta normal	Dalton et al., 2006
		Camundongo/ip/saciados	Halford e Blundell, 1996
		Ratos/ip/jejum	Lee e Simansky, 1997

Legendas: NDR: Núcleo Dorsal da Rafe; NMR: Núcleo Mediano da Rafe; pBLA: Amígdala Basolateral; PVN: Núcleo Paraventricular; NARC: Núcleo Arqueado do Hipotálamo.

O efeito hipofágico da 5-HT pode ser mediado em parte por receptores 5-HT_{2C}, visto que camundongos *knockout* para este receptor apresentaram-se hiperfágicos e obesos (NONOGAKI, 1998). Por outro lado, receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{1B}, encontrados em neurônios hipotalâmicos, têm sido relacionados ao controle da fome e possuem efeitos opostos no comportamento ingestivo (MEISTER, 2007).

Ao longo de trinta anos desde a descoberta da relação da serotonina com a ingestão de alimento, muitos estudos vêm sendo realizados por meio de microinjeções de drogas diretamente em núcleos cerebrais específicos (HALFORD et al., 2007). Estudos comportamentais revelam que agonistas do receptor 5-HT_{1A}, como o 8-OH-DPAT, aumentam a ingestão de alimento em animais não privados de alimento (EBENEZER e SURUJBALLY, 2007; DOURISH et al., 1985; 1988; EBENEZER, 1992a; GILBERT e DOURISH, 1987; COSCINA et al., 2000; CURRIE e COSCINA, 1993; PARKER e COSCINA, 2001), mas diminuem a alimentação em animais privados de alimento (ARKLE e EBENEZER, 2000; EBENEZER et al., 2007; LÓPEZ-ALONSO et al., 2007; EBENEZER et al., 1999; EBENEZER, 1992b; EBENEZER e TITE, 2003; EBENEZER et al., 2001) Estudos eletrofisiológicos e neuroquímicos sugerem que o aumento na ingestão de alimento observado após a administração do agonista dos receptores 5-HT_{1A} é mediado por uma ação em autoreceptores 5-HT_{1A} no núcleo da rafe (EBENEZER, 1992a). No entanto, não é claro se os efeitos hipofágicos desses agentes sejam mediados por uma ação em receptores 5-HT_{1A} pré ou pós-sinápticos (ARKLE e EBENEZER, 2000).

Estudos com ratos saciados mostraram uma elevação do consumo de alimento quando os animais foram tratados com 8-OH-DPAT, fato este que pode ser justificado pela ativação de receptores 5-HT_{1A} (autoreceptor somatodendrítico) encontrados no NMR e NDR, responsáveis por uma inibição da atividade neuronal serotoninérgica que leva a uma redução na liberação de 5-HT em áreas prosencefálicas (FLETCHER e COSCINA, 1993; CURRIE e COSCINA, 1996; COSCINA et al., 2000). Este mecanismo sugere um tônus inibitório serotoninérgico exercido por neurônios localizados nos núcleos da rafe sobre estruturas prosencefálicas que tem relação com o controle da ingestão de alimentos.

Como os receptores 5-HT_{1A} em neurônios imunoreativos nunca foram visualizados em fibras ou terminações neurais, parece que o controle da liberação, pela serotonina (5-HT), dos neuropeptídeos produzidos por neurônios do NARC pode ser mediado por receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos (COLLIN et al., 2002). Além disso, a 5-HT pode ser liberada em locais do NARC, onde receptores 5-HT_{1A} estão presentes, uma vez que fibras neurais serotoninérgicas foram encontradas bem próximas aos neurônios contendo receptores 5-HT_{1A} imunoreativos (COLLIN et al., 2002).

Neste contexto, alguns estudos mostraram que droga 1-(2-methoxyphenyl)-4-(4-succinimidobutyl) piperazine (MM-77), apresentou uma atividade antagonista em receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos (MOKROSZ et al., 1994; GRIEBEL et al., 2000; WESOLOWSKA et al., 2003), fato este de grande importância para a investigação aqui proposta.

1.4 Serotonina e influência do ciclo ovariano

O controle da alimentação por circuitos serotoninérgicos parece ser influenciado por alterações fisiológicas na concentração dos esteróides ovarianos que ocorrem durante o ciclo estral de ratas. Este ciclo tem duração média de 4-5 dias e é caracterizado por quatro fases: proestro, estro, metaestro e diestro, sendo que tal classificação pode ser determinada pelos tipos celulares observados no esfregaço vaginal. Por ser um ciclo ovulatório de poucos dias, ratas se tornam um bom modelo para estudar possíveis alterações que ocorrem no ciclo reprodutivo (FREEMAN, 1998; MARCONDES et al., 2005). Durante este ciclo, há uma alteração no nível de hormônios, como prolactina, progesterona, hormônio luteinizante, estrogênio e hormônio folículo estimulante, que influencia em vários comportamentos. O pico de liberação de estradiol que ocorre em proestro, ativa receptores que estimulam fatores de transcrição. Esta ativação faz com que os efeitos do estradiol perdurem 12 horas ou mais, o que contribui com as alterações de comportamento observadas em estro. Em ratas, variações na receptividade sexual, ingestão de alimento e exploração locomotora ocorrem durante a fase escura da ovulação, período este que coincide com o final do proestro e o início do estro. (BECKER et al, 2005).

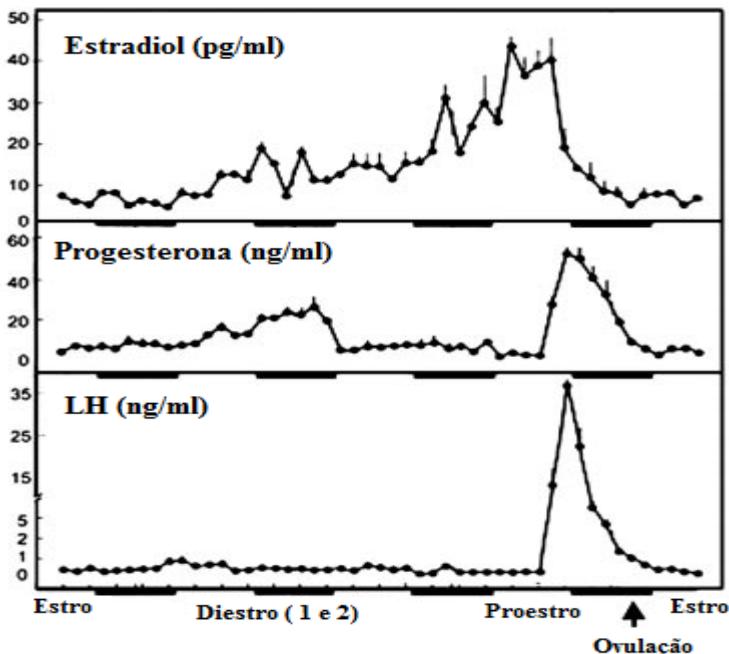


Figura 6. Padrões de Estradiol, Progesterona e LH em ratas durante o ciclo reprodutivo. Abreviações: LH: Hormônio Luteinizante. Adaptado de Becker et al., 2004.

O estradiol (E2) é sintetizado dentro do folículo ovariano e atua no sistema reprodutivo feminino. Além disso, existem outros locais de produção, como o tecido adiposo, que mantém os níveis do plasma, e o encéfalo (em algumas regiões hipotalâmicas e amígdala) (NELSON e BULUN, 2001; SHARPE, 1998). Relacionado a funções homeostáticas como reprodução, resposta ao estresse, fome, ciclo do sono, e regulação da temperatura, o E2 atua nestes sistemas por meio de receptores nucleares/intracelulares de E2 (receptores estrogênicos) $ER\alpha$ e $ER\beta$, que atuam como fatores de transcrição (QIU et al., 2003;2006). Deste modo, Musatov et al. (2007) verificaram que ratos que não expressavam $ER\alpha$ no VMN apresentaram uma alteração metabólica acompanhada por uma

redução no gasto energético, o que mostra o envolvimento deste hormônio na homeostase corporal.

No que se refere ao NARC, alguns estudos têm mostrado um envolvimento do E2 principalmente com os neurônios que expressam NPY/AgRP, e sua atuação na regulação da ingestão de alimentos ocorre por meio de uma inibição das células responsáveis pela fome (neurônios NPY/AgRP), além de modular a neurotransmissão de POMC (anorexígeno), o que leva a redução do apetite (HORVATH, 2005; GAO e HORVATH, 2008; KELLER et al., 2009). O E2 atua por meio de receptores encontrados no hipotálamo a fim de reduzir a sensação de fome, e pode mediar este efeito anorexígeno, entre outros fatores, pela diminuição da expressão e liberação do NPY no NARC, além de uma alteração na sensibilidade à administração central de leptina e um aumento da neurotransmissão serotoninérgica (WADE et al., 1985; UPHOUSE e SALAMANCA, 1991; SALAMANCA e UPHOUSE, 1992; CLEGG et al., 2006; BROWN e CLEGG, 2010).

O aumento na ingestão de alimento induzido pela injeção periférica de 8-OH-DPAT (agonista 5-HT_{1A}) em ratos em jejum é mais evidente em ratas na fase de diestro que em proestro ou estro (UPHOUSE et al, 1991). Além disso, a sensibilidade à influência tônica inibitória exercida pela 5-HT no controle da ingestão de alimento parece ser mais evidente durante o estro que em outras fases do ciclo estral em ratas. A infusão de metergolina (MET), antagonista não seletivo de receptores 5-HT, na região posterior da amígdala basolateral (pBLA) induz uma intensa redução no consumo de alimento em ratas no estro, comparado com os animais em diestro. Consequentemente, a sinalização inibitória da 5-HT sobre a ingestão de alimento parece ser mais intensa no estro em circuitos da pBLA (PARKER et al., 2002). Neste mesmo sentido, foi demonstrado que os efeitos anoréticos da fenfluramina são mais intensos em ratas no estro que em diestro, e que a resposta hipofágica induzida pela fenfluramina é intensificada pelo tratamento com estrogênios em ratas ooforectomizadas (ECKEL et al., 2005, RIVERA e ECKEL, 2005). Ainda em ratas ooforectomizadas, foi mostrado que o tratamento com estradiol atenua a hiperfagia induzida por 8-OH-DPAT (SALAMANCA e UPHOUSE, 1992).

A resposta hiperfágica observada após a ooforectomia é atribuída ao declínio dos níveis circulantes de estradiol (não de

progesterona), uma vez que somente a reposição de estradiol é capaz de reverter a ingestão de alimento em ratas ooforectomizadas (GEARY e ASARIAN, 1999). O estrogênio reduz a função de receptores 5-HT_{1A} localizados no núcleo dorsal da rafe e a secreção pré-ovulatória do estradiol em ratas reduz a expressão de receptores 5-HT_{1A} (MASWOOD et al., 1995). Também em ratas, o estrogênio diminuiu a capacidade do 8-OH-DPAT em inibir neurônios 5-HT localizados no núcleo dorsal da rafe (LAKOSKI e CUNNINGHAM, 1988). Em primatas não humanos, o tratamento com estrogênio e progesterona em animais ooforectomizados diminuiu a expressão de mRNA de auto-receptores 5-HT_{1A} no núcleo dorsal da rafe (PECINS-THOMPSON e BETHEA, 1999). No hipotálamo de macacas, o número de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos diminuiu após tratamento com estrogênio (LU e BETHEA, 2002). Adicionalmente, a ligação do receptor com proteína G após estimulação induzida pelo 8-OH-DPAT é reduzida por tratamento com hormônios ovarianos em ratas ou macacas ooforectomizadas (LU e BETHEA, 2002).

Asarian & Geary (2002) notaram que ratas ooforectimizadas apresentaram maior consumo de alimento acompanhado de um aumento no tamanho da refeição e redução da frequência de consumo. Entretanto, estes mesmos autores verificaram que após a injeção de estradiol houve uma redução na ingestão alimentar por meio de uma antecipação da finalização da refeição, características estas também evidenciadas em ratas intactas na fase de estro. Além disso, a administração de estradiol no NARC também causou uma redução na ingestão de alimento em ratas ooforectomizadas e permitiu assim, verificar que o NARC se constitui de um importante núcleo de efeito anorexígeno mediado pelo estradiol (SANTOLLO et al., 2011)

Estudos conduzidos neste laboratório avaliaram os efeitos das injeções locais de MET ou de 8-OH-DPAT (agonista de receptor 5-HT_{1A} e 5HT₇) no NARC sobre o comportamento ingestivo de ratas durante o período diurno da fase de estro e diestro, adaptadas a comer uma ração enriquecida com 10% de sacarose. Os resultados mostraram que 8-OH-DPAT injetado no NARC provocou hipofagia somente na fase de estro. A administração de MET no NARC não modificou a ingestão de alimentos durante as duas fases do ciclo estral. Durante a fase de estro, o tratamento com 8-OH-DPAT no NARC reduziu a

duração da resposta de ingestão de alimentação. A latência para iniciar a alimentação, a ingestão de água e comportamentos não-ingestivos não foram afetados pelo 8-OH-DPAT ou MET injetados no NARC em ambas as fases do ciclo estral. Estes resultados indicam que os receptores 5-HT_{1A} localizados no NARC participam dos mecanismos serotoninérgicos de controle da ingestão de alimento. Estes circuitos encontrados no NARC são, possivelmente, afetados por hormônios ovarianos que poderiam aumentar a sensibilidade dos neurônios do NARC para os efeitos hipofágicos de 8-OH-DPAT, ou aumentar a eficácia de sinais de saciedade que terminam a alimentação. Além disso, este estudo indicou que circuitos serotoninérgicos localizados no NARC não exercem uma atividade inibitória tônica sobre circuitos neuronais relacionados com a ingestão de alimento (STEFFENS et al., 2008).

Investigações posteriores mostraram que o pré-tratamento do núcleo NARC com WAY100635 (antagonista dos receptores 5-HT_{1A}) suprimiu a redução na duração da resposta de ingestão de alimento, evocadas pelo 8-OH-DPAT durante a fase de estro. Esses resultados reforçam a participação de receptores 5-HT_{1A} do NARC em circuitos serotoninérgicos de controle da ingestão de alimento e que estes circuitos são afetados por secreção dos hormônios ovarianos (STEFFENS et al., 2010).

Portanto, a proposta do presente estudo foi estender a investigação sobre a participação dos receptores 5-HT_{1A} do NARC no controle da ingestão de alimento avaliando a localização do receptor 5-HT_{1A} nesse circuito. Além disso, estudar a influência dos hormônios ovarianos nos comportamentos ingestivos é de grande importância, a fim de buscar maiores esclarecimentos das relações entre 5-HT e os hormônios ovarianos, e principalmente destacar a atuação destes em um núcleo que exerce papel-chave no controle ingestivo.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Este estudo teve como objetivo verificar uma possível influência dos hormônios gonadais sobre os efeitos da injeção intrahipotalâmica de MM-77 (1-(2-methoxyphenyl)-4-(4-succinimidobutyl) piperazine) e 8-OH-DPAT (8-hidroxi-2-(di-*n*-propilamino)-tetralina) em ratas.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Avaliar os efeitos da injeção de 8-OH-DPAT no NARC sobre a ingestão de alimento na fase estro e diestro de ratas

2.2.2 Avaliar os efeitos da injeção de MM-77 no NARC sobre a ingestão de alimento na fase estro e diestro de ratas

2.2.3 Avaliar os efeitos da injeção de OH-DPAT no NARC sobre a ingestão de alimento na fase estro e diestro de ratas pré-tratadas com MM-77

2.2.4 Determinar se existe diferença no consumo de alimentos nas diferentes fases do ciclo estral e entre diferentes tratamentos efetuados

2.2.5 Avaliar possíveis alterações na ingestão de água (quantidade ingerida, duração e latência para iniciar a resposta de consumo) bem como as durações para iniciar os comportamentos não ingestivos (exploração vertical, locomoção, auto-limpeza, exploração não locomotora e imobilidade)

2.2.6 Determinar se a hipofagia induzida pelo 8-OH-DPAT é revertida no pré-tratamento com MM-77 e avaliar uma possível relação do receptor 5HT_{1A} ser pós-sináptico no NARC.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos aqui realizados estavam de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Catarina (CEUA-UFSC), protocolo de pesquisa número PP00526-23080.027319/2010-15.

3.1 Animais

Foram utilizados 120 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) fêmeas, peso corporal entre 200 e 230g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina adaptados durante 7 dias às condições ambientais do biotério do laboratório, com temperatura controlada entre $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e um ciclo claro-escuro de 12 horas (luz das 7-19 h). Os animais foram mantidos em caixas polipropileno (49 x 34 x 16 cm), forradas com maravalha, com livre acesso à água e alimento granulado (CR-1, Nuvilab, Nuvital Nutrientes, Brasil) Composição de macronutrientes em 100 gramas de ração: Carboidratos (56g), Proteína (22g), Gordura (4,5g) e fibras (4,92g) *ad libitum*. Durante esse período os animais foram manipulados somente durante a limpeza das caixas, a cada dois dias.

3.2 Procedimentos cirúrgicos

Para a implantação da cânula guia os ratos foram anestesiados com uma mistura de xilazina/cetamina (13 mg/Kg de xilazina; 87 mg/Kg de cetamina) injetadas por via intraperitoneal. Em seguida, os animais foram adaptados ao aparelho estereotáxico (David Kopf *Instruments*, California, EUA), tendo a cabeça fixada por intermédio de barras posicionadas no conduto auditivo. Posteriormente, uma incisão longitudinal de aproximadamente 1cm foi realizada no escalpo com bisturi, seguida de ressecção com tesoura, de forma a expor a calota craniana. A calota craniana foi exposta pela ressecção do periósteo e seca com algodão cirúrgico, para permitir uma melhor adesão do

acrílico, e também, um algodão umedecido em água oxigenada foi passado sobre a sua superfície para permitir uma melhor visualização do bregma. A seguir, uma cânula guia feita a partir de um segmento de agulha hipodérmica de 23G (Becton Dickinson indústria cirúrgica – Brasil), com 0,7 mm de diâmetro externo e 18 mm de comprimento, foi posicionada 2 mm acima da região de interesse (NARC) de acordo com coordenadas descritas por Paxinos e Watson (2007): plano frontal - 3,6mm, plano sagital 0,2mm e plano horizontal 7,8mm. A cânula foi fixada à calota craniana por meio de um parafuso inoxidável de joalheiro no quadrante contra-lateral ao local onde foi inserida, e depois, envolvida por pó-acrílico (co-polímero metil metacrilato – Laboratório Artigos Odontológicos Clássicos Ltda. - Brasil) dissolvido no líquido acrílico auto-polimerizável (monômero de metil metacrilato – Laboratório Dencril – Brasil); deste modo, formando uma estrutura sólida capaz de resistir a possíveis choques mecânicos. Em cada cânula foi introduzido um mandril de aço inoxidável a fim de evitar sua obstrução. Imediatamente após os procedimentos cirúrgicos, os animais retornaram ao biotério onde foram mantidos individualmente em caixas de polipropileno, sendo manipulados para verificação da cânula guia e habituação ao manejo. Após um período de recuperação de 7 dias os procedimentos experimentais foram iniciados.

3.3 Soluções e doses administradas

As seguintes drogas e doses foram utilizadas:

1. Solução de ácido ascórbico 5% (estétil, livre de pirógenos, com o pH ajustado para 7,4) utilizada como controle e também como diluente das demais drogas deste estudo.
2. 8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) tetralina (8-OH-DPAT; agonista seletivo de receptor 5-HT_{1A} e 5-HT₇, Sigma Chemical Co., St Louis, EUA) na dose de 6 nmol por 0,2µl (dose efetiva em influenciar seletivamente o comportamento ingestivo (Steffens et al, 2008 e 2010)
3. 1-(2-methoxyphenyl)-4-(4-succinimidobutyl) piperazine (MM-77), antagonista seletivo de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos, Tocris Bioscience, EUA) , administrado 7 min antes do veículo

ou da dose efetiva de 8-OH-DPAT, na dose de 0,37 e 0,74 nmol por 0,2µl. (Mokrosz et al., 1994; Griebel et al., 2000; Wesolowska et al., 2003)

3.4 Injeções intracerebrais

A injeção intracerebral das drogas e do veículo foi realizada por meio de uma agulha injetora de 0,3 mm de diâmetro, confeccionada a partir de uma agulha gengival 30G (Injecta Produtos Odontológicos - Brasil) que foi introduzida na cânula-guia e conectada por um tubo de polietileno (PE10) a uma micro-seringa Hamilton (capacidade de 1 µl). A agulha injetora excedeu o tamanho da cânula-guia em 2 mm. Com o objetivo de minimizar variações na pressão intracerebral, as soluções foram administradas no período de 1 min, sendo o volume injetado sempre de 0,2 µl. Após a injeção, houve a espera de 1 min adicional para permitir a difusão da solução pelo parênquima cerebral. A partir do deslocamento de uma bolha de ar do tubo foi possível avaliar se a droga realmente foi injetada. Além disso, após a realização do experimento, um pouco de droga foi injetado em um papel para averiguar se a agulha não tinha sido obstruída durante a injeção. A administração das drogas foi realizada com os animais despertos, a partir do décimo dia após a implantação da cânula guia no NARC.

3.5 Determinação da fase do ciclo estral

A identificação das diferentes fases do ciclo estral foi feita através do esfregaço vaginal, coletado diariamente das 8-9h da manhã, tendo o seu início 5 dias após a cirurgia de implantação de cânula. As amostras foram coletadas com uma pipeta de plástico contendo 10 µL de solução salina (NaCl 0,9%) inserida no intróito vaginal da rata. O fluido vaginal contido no interior desta pipeta foi colocado em lâminas de vidro. Para cada animal foi usada uma lâmina diferente. Esta lâmina foi observada sob luz de um microscópio óptico, com lentes objetivas de 10 e 40x. A fase do ciclo estral foi determinada, utilizando-se os critérios padrões adotados por Becker et al (2005) ou Freeman (2006), que serão descritas a seguir. A fase de Metaestro foi caracterizada por leucócitos interpostos com pequenos nichos de células vaginais cornificadas e

anucleadas ou leucócitos interpostos com células epiteliais nucleadas. O Diestro foi caracterizado por leucócitos interpostos com células epiteliais nucleadas. O Proestro foi caracterizado por células epiteliais grandes, nucleadas, ausência de leucócitos e ocasionalmente, presença de pequenos nichos de células vaginais cornificadas. O Estro foi caracterizado por células epiteliais grandes e anucleadas e células vaginais escamosas cornificadas. As amostras de epitélio vaginal foram examinadas por dois observadores independentes para se caracterizar a fase do ciclo estral. A fase de diestro é precedida por baixos níveis plasmáticos de estradiol e o estro é precedido por uma alta secreção de estradiol (FREEMAN, 2006), assim foram escolhidas estas duas fases do ciclo estral para conduzir este projeto de pesquisa. Neste estudo, somente foram utilizadas as ratas com ciclo estral regular de 4 dias consecutivos, ou seja um ciclo estral.

3.6 Procedimentos experimentais

Sete dias após a implantação da cânula-guia, os animais foram habituados a ingerir uma dieta rica em carboidrato. Eles foram colocados dentro de uma caixa de registro comportamental, contendo em seu interior um recipiente de vidro (Placa de Petri, de 5 cm de diâmetro) com 20 g de ração enriquecida com sacarose 10% (FLETCHER, 1988) e uma garrafa de vidro com 100 ml de água, durante 3 dias consecutivos; tempo suficiente para os animais atingirem a ingestão máxima e estável dessa dieta. A ração rica em sacarose foi disponibilizada diariamente durante 1h/dia neste ambiente sempre no período matutino (08-12h). Após esse período, os animais tinham livre acesso à água e à ração comercial antes do experimento. Ao final do período de adaptação, ratas portando cânulas-guia no NARC, foram separadas em estro e diestro e receberam uma injeção de veículo (ácido ascórbico 5%) e, depois de 7 min, receberam outra injeção de veículo ou 8-OH-DPAT 6nmol; outro grupo, separado em estro e diestro recebeu uma injeção de MM-77, nas doses de 0,37 ou 0,74nmol e, após 7 min, recebeu outra injeção de veículo ou de 8-OH-DPAT 6nmol. Cada animal recebeu dois tratamentos com 7min de intervalo e foi examinado em uma única fase do ciclo estral. Imediatamente após o tratamento, cada animal foi colocado na caixa de registro e, por um período de 1 h,

foi realizado o registro digital dos comportamentos ingestivos e não ingestivos. Ao término da sessão experimental, a ração restante na caixa de registro foi recolhida e pesada, sendo o consumo de alimento avaliado pela diferença entre a quantidade de ração inicial e final. Todos os experimentos foram realizados entre as 08h00 e 12h00. O comportamento animal ao longo do experimento foi categorizado de acordo com Halford (1998).

3.7 Caixa de registro comportamental

A caixa registro comportamental é confeccionada em vidro transparente de 4 mm de espessura, possuindo as medidas de comprimento e de largura similares aos da caixa de hospedagem (49 X 34 cm), porém, tendo a medida de altura maior (40 cm) para evitar fugas. O chão da caixa e as três paredes laterais são cobertas com plástico adesivo preto. Uma parede lateral da caixa é mantida com vidro transparente onde está colocado um espelho em uma angulação que não permite ao animal visualizar sua imagem refletida durante o experimento, mas que possibilita ao experimentador a visualização lateral dos seus comportamentos e o registro digitalizado dos mesmos. Os registros foram realizados por meio de uma webcam (Microsoft LifeCam 3.0) colocada em uma altura de 60cm sobre o assoalho da caixa de registro acoplada a um computador, o que permitia uma visualização completa de todos os ângulos da referida caixa.

3.8 Categorias comportamentais registradas

Os registros digitalizados foram analisados com o auxílio do programa Etholog 2.25 (OTTONI, 2000). As variáveis avaliadas foram a latência (tempo em segundos para realizar pela primeira vez uma resposta comportamental), a frequência (número de vezes, durante os 60 minutos da sessão em que o animal exibiu determinada resposta) e a duração (tempo, em segundos, de execução de determinada resposta) dos seguintes comportamentos:

- **Ingestão do Alimento (comer):** quando o animal se aproxima do comedouro, e efetivamente ingere alimento sólido, com comportamentos característicos de deglutição.

- **Ingestão de Água (beber):** quando o animal se aproxima do bebedouro e lambe sua ponta;
- **Exploração do alimento:** quando o animal cheira ou manipula a ração, sem ingeri-la;
- **Exploração não locomotora:** quando o animal estiver ativamente explorando o ambiente com a cabeça, seja cheirando o ar ou o chão, sem tirar as quatro patas do local onde se encontra;
- **Exploração vertical:** quando o animal estiver explorando o ambiente apoiado somente nas patas traseiras, estando as patas dianteiras livres e não apoiadas no fundo da caixa (ereto).
- **Manutenção (autolimpeza):** quando o animal apresentar comportamentos típicos de auto limpeza, como: limpar a cabeça com as patas, limpar as unhas ou coçar o corpo com a boca;
- **Locomoção:** quando o animal estiver deambulando pela caixa, sem apresentar qualquer outro dos comportamentos já citado;
- **Imobilidade:** quando o animal permanecer imóvel, sem apresentar qualquer outro comportamento já citado.

3.9 Histologia

Ao final dos experimentos, os animais foram profundamente anestesiados com gás carbônico (CO₂) e foram perfundidos transcárdialmente com salina 0,9%, seguido de formol 10%. Depois de dissecados, os cérebros permaneceram imersos em formol 10% por um período de 5 a 7 dias, sendo posteriormente cortados em fatias de 100 µm de espessura por um micrótomo. Os cortes foram montados em lâminas gelatinizadas e permaneceram secando cerca de uma semana. Em seguida, foram coradas pelo método de Nissl e, então permaneceram secando por igual período de tempo, antes de serem analisadas ao Microscópio Óptico (MO). Posteriormente os cortes dispostos nas lâminas foram analisados e documentados por uma câmera atada ao microscópio de luz (lente objetivas de 100 a 400x). A reprodução gráfica dos cortes e dos pontos de injeção analisados ao MO foi realizada a partir do Atlas do cérebro do rato de Paxinos e Watson

(2007). Os dados provenientes de ratas que exibiam outras áreas hipotalâmicas marcadas, além do NARC, foram excluídos do estudo.

3.10 Análise dos dados

Os dados foram analisados por intermédio de uma análise de variância (ANOVA) de duas vias, tendo como fator 1 os tratamentos utilizados (Grupo controle (veículo), Veículo + 8-OH-DPAT 6nmol, Veículo + MM77 0,37, Veículo + MM77 0,74nmol, 8-OH-DPAT 6nmol+ MM77 0,37 e 8-OH-DPAT 6nmol + MM77 0,74nmol) e fator 2 as fases do ciclo estral (estro e diestro). Todos os testes foram seguidos pelo teste (*post hoc*) de Newman-Keuls. O nível de significância adotado nesses procedimentos foi de $p < 0,05$. Para isto foi utilizado o programa Statistica 8.0. Os dados foram expressos em média +- erro padrão da média (E.P.M) nos testes utilizados.

4. RESULTADOS

A localização dos 120 sítios de injeção das diferentes substâncias aplicadas no NARC é mostrada a seguir.

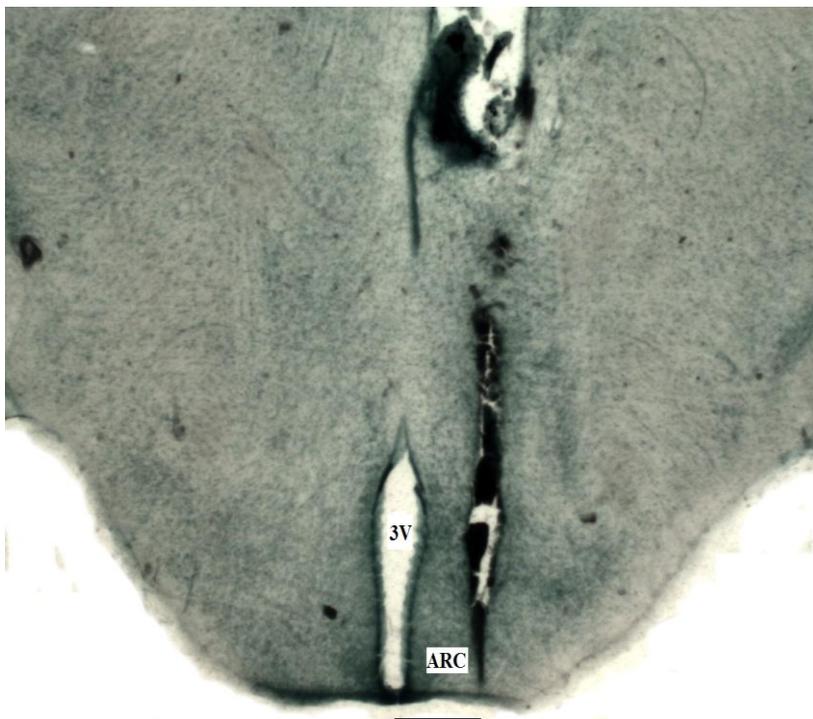


Figura 7: Microfotografia de um corte coronal (coloração pelo método de Nissl) do hipotálamo de rato, ilustrando o trajeto de uma cânula-guia e injetora no NARC. Barra de Escala: 600 μ m. Abreviações: 3V: Terceiro Ventrículo; ARC: Núcleo Arqueado.

4.1 Ingestão de alimento

A análise de variância (ANOVA) de duas vias indicou que a ingestão de alimento foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [F(5,108)=43; p=0,000000] e pelo ciclo estral [F(1,108)= 297;

$p=0,000000$] analisado. Ocorreu também uma interação significativa entre tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [$F(5,108)= 8$; $p=0,000000$]. Durante 1h da sessão experimental, as ratas do grupo controle em estro apresentaram um consumo da ração rica em carboidrato menor que as ratas controle em diestro. O tratamento com 8-OH-DPAT no NARC reduziu significativamente a ingestão de alimentos nas duas fases do ciclo estral avaliadas no presente estudo. O pré-tratamento com ambas as doses de MM-77 seguido pela injeção de veículo no NARC de ratas em estro provocou um aumento significativo na ingestão de alimento quando comparado ao grupo controle. Entretanto, essa resposta hiperfágica foi alterada pelo tratamento posterior do NARC com 8-OH-DPAT. Quando precedido pelo tratamento com a menor dose de MM-77, a injeção de 8-OH-DPAT no NARC normalizou o consumo de alimento, isto é, impediu a elevação do consumo induzida pelo MM-77. Quando precedido pelo tratamento com a maior dose de MM-77, a administração de 8-OH-DPAT provocou uma atenuação na intensidade da resposta hiperfágica (Figura 7). Em diestro, diferentemente do que ocorreu na fase de estro, a injeção da dose menor de MM-77 no NARC acompanhada pelo tratamento posterior do veículo não induziu alterações na ingestão de alimento estatisticamente diferentes do controle. Os resultados obtidos após a injeção de MM-77 na maior dose (0,74 nmol) seguida pelo tratamento com veículo no NARC mostraram que esse tratamento provocou um ligeiro aumento na ingestão de alimento, se comparados ao grupo controle. Em diestro, o pré-tratamento do NARC com ambas as doses de MM-77 não modificou a redução no consumo de alimento induzido pela administração posterior de 8-OH-DPAT. (Figura 7).

Ingestão de Alimento

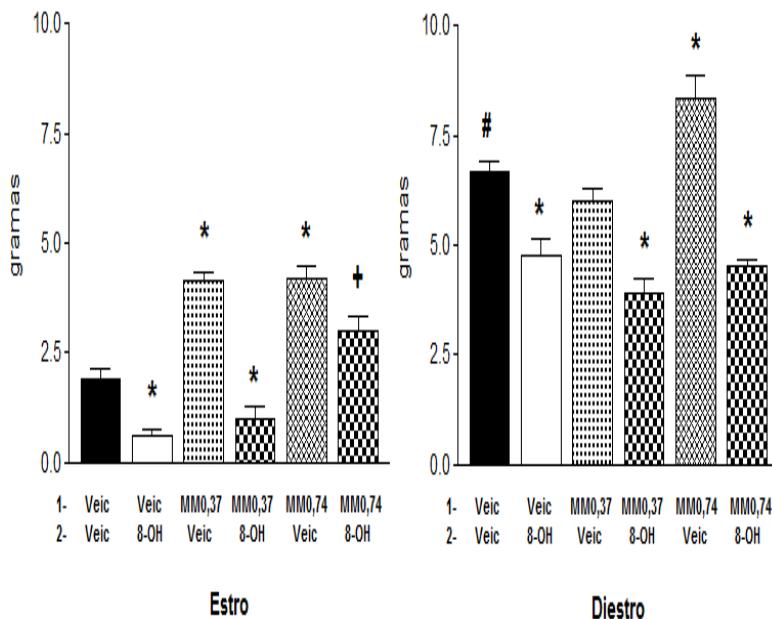


Figura 8. Resposta de ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM-77 (nas doses de 0,37 e 0,74 nmol/0,2µl) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol/0,2µl) em ratas em estro ou diestro. Todos os dados são expressos como média \pm erro padrão da média. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se nas tabelas 2 e 3. (*) $p < 0,05$ em comparação ao seu respectivo controle; (#) $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle em estro. (+) $p < 0,05$ em comparação a todos os tratamentos efetuados em estro. Abreviações: Veic: veículo; 8-OH: 8-OH-DPAT; MM: MM-77.

4.2 Duração da ingestão de alimento

A duração total do comportamento de ingestão do alimento foi afetada significativamente pelos tratamentos realizados [$F(5,108)=27$; $p=0,000000$], pelo ciclo estral [$F(1,108)= 65$; $p=0,000000$]; houve também uma significativa interação entre o tratamento realizado e as fases do ciclo estral analisadas no presente estudo [$F(5,108)=10$; $p=0,000000$]. As alterações na duração da ingestão de alimento acompanharam, com algumas exceções, as modificações ocorridas no consumo de alimento. Assim, ao avaliar os resultados obtidos nos dois ciclos estrais, pode-se notar uma diferença no tempo de ingestão de alimento, sendo que as ratas em estro apresentaram uma redução significativa no tempo total se comparado ao grupo em diestro. No que refere ao tratamento do NARC com 8-OH-DPAT, a redução na ingestão de alimento foi acompanhada por uma redução significativa na duração da ingestão nas ratas em fase diestro se comparado ao controle, diferentemente das ratas em estro que apesar de apresentarem uma redução na duração da ingestão, este valor não foi estatisticamente significativo (Figura 8). O aumento na ingestão de alimento provocado por ambas as doses de MM-77 injetadas antes do veículo no NARC foi acompanhado por um aumento significativo no tempo de ingestão de alimento exibido pelas ratas em estro. Assim como a ingestão de alimento, o tempo do comportamento ingestivo foi afetado pela menor dose de MM-77 acompanhado pela injeção do 8-OH-DPAT no NARC de ratas em estro, ao observar uma antecipação ao finalização do comportamento ingestivo se comparado ao grupo apenas tratado com a menor dose de MM-77. No entanto, quando as ratas em estro foram pré-tratadas com 0,74 nmol de MM-77 (maior dose) seguida pela injeção posterior de 8-OH DPAT no NARC ocorreu uma atenuação no aumento na duração da resposta ingestiva induzida pelo MM-77, acompanhando as alterações observadas no consumo de alimento (Figura 7). No que se refere à fase de diestro, observou-se uma redução significativa no tempo despendido para consumir alimento nos animais que receberam tratamento prévio do NARC com a menor dose de MM-77 (0,37nmol) acompanhado pelo tratamento posterior com o veículo, embora a quantidade de alimento ingerido após esse tratamento tenha sido similar ao controle. A duração da resposta de ingestão de alimento em diestro

não foi afetada pelo tratamento do NARC com a dose maior de MM-77 acompanhada pelo veículo, embora esse tratamento tenha provocado um ligeiro aumento no consumo de alimento. Ambas as doses de MM-77 injetadas no NARC não afetaram a redução na duração da ingestão de alimento provocada pela administração do 8-OH-DAPT, e, portanto, isso demonstra que os resultados encontrados acompanharam a redução do consumo de alimento provocado pelo 8-OH-DPAT, que também não foi afetado pelo tratamento prévio do NARC com MM-77 (Figura 8).

Duração da Ingestão do Alimento

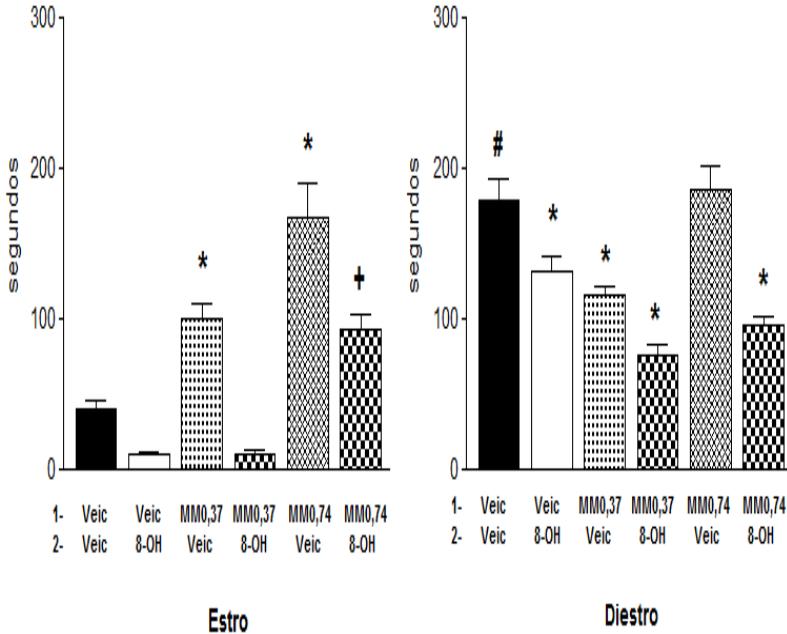


Figura 9. Duração da ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM77 (nas doses de 0,37 e 0,74nmol/0,2µl) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol/0,2µl) em ratas em estro ou diestro. Todos os dados são expressos como média ± erro padrão da média. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se nas tabelas 2 e 3. (*) $p < 0,05$ em comparação ao seu respectivo controle; (#) $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle em estro. (+) $p < 0,05$ em comparação ao controle, Veic + 8-OH, MM77 0,37+8-OH e MM77 0,74+Veic. Abreviações: Veic: veículo; 8-OH: 8-OH-DPAT; MM: MM-77

4.3 Latência para iniciar a ingestão de alimento

A análise de variância (ANOVA) de duas vias indicou que a latência para iniciar o consumo de alimento foi afetada pelo tratamento [F (5,108)=9; p=0,000000], pelo ciclo estral [F (1,108)=46; p=0,000000]; também ocorreu interação significativa entre tratamento e ciclo [F (5,108)=7; p=0,000004]. A latência para iniciar o primeiro episódio de consumo de alimento pelas ratas do grupo controle em estro não diferiu daquela apresentada pelas ratas do grupo controle em diestro. Em estro, a redução na ingestão de alimento induzida pelo 8-OH-DPAT foi acompanhada por um aumento significativo no tempo que o animal levou para realizar o primeiro comportamento ingestivo se comparado ao grupo controle. Não foi observada alteração significativa na latência para iniciar a ingestão de alimento dos animais em estro pré-tratados com as duas doses de MM-77 no NARC, de modo que o aumento no consumo de alimento provocado por essa droga não foi acompanhado por modificações na latência para iniciar esse comportamento. Por outro lado, o pré-tratamento do NARC com a menor dose de MM-77 seguida pela administração de 8-OH-DPAT normalizou o consumo de alimento, mas com retardo na latência para iniciar a resposta de ingestão; que ainda foi estatisticamente menor que a latência para iniciar o consumo de alimento induzido pelo tratamento isolado com 8-OH-DPAT. O tratamento prévio do NARC com a maior dose de MM-77 seguido pela injeção de 8-OH-DPAT não afetou o início da resposta ingestiva (Figura 9). As ratas em diestro não apresentaram diferenças estatísticas entre os tratamentos utilizados (Figura 9)

Latência da Ingestão de Alimento

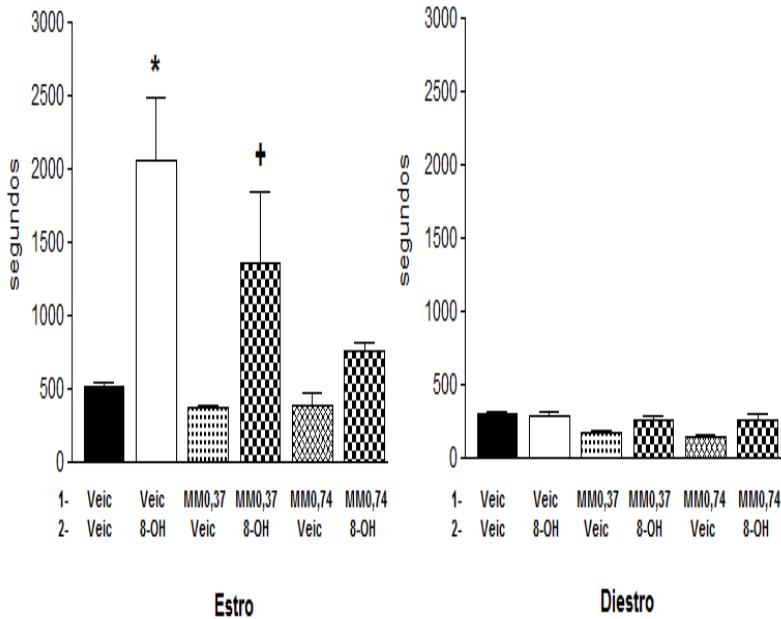


Figura 10. Latência para iniciar o primeiro episódio de ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM77 (nas doses de 0,37 e 0,74nmol/0,2µl) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol/0,2µl) em ratas em estro ou diestro. Todos os dados são expressos como média ± erro padrão da média. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se nas tabelas 2 e 3. (*) $p < 0,05$ em comparação ao seu respectivo controle; (#) $p < 0,05$ em comparação ao grupo controle em estro. (+) $p < 0,05$ em comparação aos demais tratamentos.

4.4 Frequência da ingestão de alimento

A frequência de ingestão de alimento foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [F (5,108)=27; p=0,000000] e pelo ciclo estral [F (1,108)=46; p=0,000000] analisado; também ocorreu interação entre o tratamento e as fases do ciclo estral [F (5,108)=25; p=0,010192]. A redução na ingestão de alimento, bem como o menor tempo total de ingestão, foi acompanhada por uma redução significativa na frequência de consumo por parte dos animais controle em estro, reafirmando a diferença entre os dois ciclos avaliados no presente estudo. Nos animais em estro, a mesma redução da ingestão de alimento provocada pela administração de 8-OH-DPAT no NARC foi acompanhada por uma redução significativa na frequência de ingestão de alimento se comparado ao controle, diferença esta que não foi observada na fase diestro. Em diestro, o número de vezes que o animal comeu não diferiu do controle, embora a injeção isolada de 8-OH-DPAT no NARC tenha reduzido o consumo de alimento (Figura 11). Nos animais em estro, as alterações na frequência induzidas pela injeção de MM-77 seguida pelo tratamento com veículo acompanharam os seus efeitos sobre o consumo, ou seja, ambas as doses de MM-77 provocaram um aumento significativo na frequência da ingestão de alimento em comparação ao grupo controle. A injeção de 8-OH-DPAT nos animais em estro, precedida pelo tratamento do NARC com a menor dose MM-77 resulta na redução da frequência dos episódios de ingestão de alimento, efeito similar ao induzido pelo 8-OH-DAPT isolado. O tratamento com 8-OH-DPAT precedido pela injeção da maior dose de MM-77 provocou alterações na frequência do consumo de alimento maiores do que aquelas provocadas pelo 8-OH-DPAT, mas que não foram estatisticamente diferentes do controle. (Figura 11). Em diestro, as mudanças na frequência induzidas pela injeção de MM-77 seguida pelo tratamento com o veículo também acompanharam os seus efeitos sobre o consumo. Após o tratamento do NARC com a dose menor de MM-77 não houve alteração na frequência, enquanto a injeção da dose maior de MM-77 elevou de forma significativa a frequência do consumo de alimento. O tratamento posterior com 8-OH-DPAT reduziu o consumo de alimento precedido ou não pela injeção de MM-77 no NARC de ratas em diestro, mas somente pode ser observada uma

redução no número de vezes que o animal consome alimento quando foi efetuado o tratamento prévio com a dose menor de MM-77 (Figura 10).

Frequência de Ingestão de Alimento

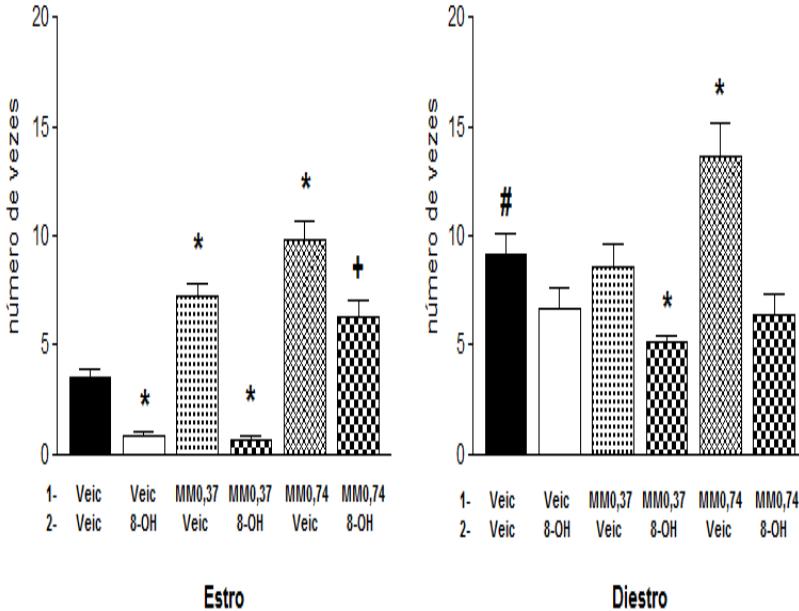


Figura 11. Frequência de ingestão de alimento após o pré-tratamento do NARC com veículo (ácido ascórbico 5%) ou MM77 (nas doses de 0,37 e 0,74nmol/0,2µl) seguido 7 min após pelo tratamento com veículo ou 8-OH-DPAT (6 nmol/0,2µl) em ratos em estró ou diestro. Todos os dados são expressos como média ± erro padrão da média. O número de animais utilizados em cada grupo encontra-se nas tabelas 2 e 3. (*) p<0,05 em comparação ao seu respectivo controle; (#) p<0,05 em comparação ao grupo controle em estró. (+)p<0,05 em comparação ao Veic+8-OH e MM-77 0,37+8-OH. Abreviações: Veic: veículo; 8-OH: 8-OH-DPAT; MM: MM-77

4.5 Duração na exploração do alimento

A duração da exploração do alimento foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [$F(5,108)=13$; $p=0,000000$] e pelo ciclo estral [$F(1,108)=6$; $p=0,009709$] analisado; também houve interação entre o tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [$F(5,108)=13$; $p=0,000000$]). Não foi observada uma diferença entre os ciclos estrais dos animais do grupo controle no que se refere a este comportamento (Tabelas 1 e 2). Na fase estro, a administração de 8-OH DPAT no NARC reduziu significativamente o tempo total de exploração ao alimento se comparado ao controle. Por outro lado, nos animais neste mesmo ciclo estral, quando tratados com a menor dose de MM-77 acompanhado pela injeção posterior do veículo não exibiram alterações na duração desse comportamento se comparado ao controle. No que se refere à injeção de MM-77 na maior dose, pode-se notar um aumento significativo na exploração da ração se comparado aos demais tratamentos. Já o pré-tratamento com a menor dose de MM-77 não afetou a redução na duração do tempo de exploração do alimento desencadeada pelo 8-OH-DPAT no NARC. Por sua vez, o tratamento prévio com a maior dose de MM-77 acompanhado pela injeção posterior de 8-OH-DPAT reverteu este efeito, e revelou um tempo significativamente maior se comparado ao tratamento com 8-OH-DPAT ou controle (Tabela 1). No que se refere aos animais em diestro, não houve diferenças significativas no tempo de exploração de alimento após a aplicação dos diferentes tratamentos no NARC (Tabela 2)

4.6 Duração dos demais comportamentos não ingestivos

A análise de variância de duas vias indicou que a exploração locomotora foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [F(5,108)=9; p=0,000000], além de ocorrer uma interação significativa entre tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [F(5,108)= 3; p=0,003544]. A exploração não locomotora foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [F(5,108)=4; p=0,001010], além de ocorrer uma interação significativa entre tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [F(5,108)= 4; p=0,000587]. No que diz respeito à autolimpeza também pode-se notar uma diferença significativa entre as drogas utilizadas [F(5,108)=12; p=0,000000], e uma interação significativa entre tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [F(5,108)= 3; p=0,007772]. Quanto a exploração vertical, observou-se uma diferença significativa entre os tratamentos [F(5,108)=14; p=0,000000] e também uma interação entre fases do ciclo estral e drogas utilizadas [F(5,108)=6; p=0,000027]. Por último a análise de variância também revelou que o comportamento de imobilidade foi afetado pelas drogas utilizadas [F(5,108)=24; p=0,000000], pelo ciclo estral [F(1,108)=30; p=0,000000]. Também ocorreu interação entre fases do ciclo estral e tratamentos utilizados [F(5,108)=13; p=0,000000].

Ao avaliar os comportamentos não ingestivos, verificou-se que os animais em estro tratados unicamente com 8-OH-DPAT no NARC apresentaram uma redução significativa na duração da exploração locomotora, vertical e autolimpeza. Este resultado vem ao encontro com o tempo em que os animais permaneceram imóveis, e desta forma, pode-se analisar que estes mesmos animais apresentaram um aumento significativo do tempo de imobilidade se comparado a todos os outros grupos tratados. Exceto pelo discreto aumento na exploração vertical induzida pelo tratamento prévio com a menor dose de MM-77 e posterior injeção de veículo e pela injeção previa da maior dose de MM-77 seguida pelo tratamento do NARC com 8-OH-DPAT, o tratamento com MM-77 acompanhado ou não pela injeção posterior de 8-OH-DPAT no NARC suprimiu essa redução na atividade motora induzida por esse agonista de receptor serotoninérgico, normalizando o quadro motor (Tabela 1). Nas ratas em diestro, a injeção isolada de 8-OH-DPAT no NARC reduziu as durações dos comportamentos de

autolimpeza e de exploração vertical. Por outro lado, a duração do comportamento de exploração não locomotora aumentou, enquanto a duração da imobilidade permaneceu inalterada. A diminuição na duração do comportamento de autolimpeza também ocorreu após a injeção de 8-OH-DPAT no NARC de ratas pré-tratadas ou não com MM-77. A elevação da exploração não locomotora induzida pela injeção de 8-OH-DPAT no NARC permaneceu inalterada após o pré-tratamento com MM-77 seguido pela injeção posterior de 8-OH-DPAT. (Tabela 2). As duas únicas diferenças estatísticas significantes encontradas nos comportamentos não ingestivos exibidos pelas ratas do grupo controle entre as fases de estro e diestro foi uma elevação significativa nas durações dos comportamentos de exploração não locomotora nos animais em estro e de autolimpeza nos animais em diestro (Tabelas 1 e 2)

4.7 Efeito dos tratamentos sobre a ingestão de água

A ingestão de água foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [F(5,108)=3; p=0,005618]; também ocorreu uma interação significativa entre o tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [F(5,108)=3; p=0,008806]. Ao avaliar a ingestão de água, pode-se perceber que os animais em estro não exibiram diferença entre os tratamentos realizados (Tabela 4). Por outro lado, nos animais em diestro, a única diferença estatística encontrada foi um discreto aumento, superior ao exibido pelos animais do grupo controle, no consumo de água após o tratamento prévio do NARC com maior dose de MM-77 seguido pela injeção posterior de 8-OH-DPAT (Tabela 5). Em relação à duração da ingestão de água, esta também foi afetada pelas drogas utilizadas [F(5,108)=5; p=0,000119].; e também ocorreu uma interação significativa entre o tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [F(5,108)=3; p=0,002780]. Pode-se notar que não houve diferença significativa entre os grupos de animais em estro ao avaliar a duração da ingestão de água pelos animais; entretanto, em diestro o tratamento dos animais com MM-77 0,74+8-OH-DPAT causou um aumento na duração da resposta ingestiva se comparado ao grupo controle (Tabelas 4 e 5). A latência para este comportamento foi afetada significativamente pelas drogas utilizadas [F(5,108)=4; p=0,000873]; também houve uma interação significativa entre o tratamento e as fases do ciclo estral estudadas [F(5,108)=2; p=0,042337]. A latência para iniciar o consumo de água não foi afetada por nenhum dos tratamentos efetuados no NARC de ratas em estro (Tabela 4). No que diz respeito ao tempo que o animal levou para realizar seu primeiro comportamento de ingestão de água, pode-se notar que nos animais em diestro e pré-tratados com a maior dose de MM-77 seguido da administração de 8-OH-DPAT no NARC esta variável foi significativamente menor que aquela exibida pelos animais do grupo controle. (Tabela 5).

Tabela 1. Duração de comportamentos ingestivos e não ingestivos durante 1h após o pré-tratamento do núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol/0,2µl) seguido 7 min após pela injeção posterior de veículo ou de 8-OH-DPAT (6 nmol/0,2µl) em ratas na fase de estro

Fase do Ciclo Estral	Estro					
	Veic + Veic (n=10)	Veic + 8-OH (n=10)	MM-77 0,37 + Veic (n=8)	MM-77 0,37 + 8-OH (n=8)	MM-77 0,74 + Veic (n=12)	MM-77 0,74 + 8-OH (n=8)
Exploração Alimento	47,71±6,18	13,37±2,99*	85,51±13,94	9,06±4,7*	152,1±16,93*	72,24±14,23
Locomoção	268,66±60,12	121,18±12,46*	169,04±31,33	159,23±11,8	343,31±29,04	304,16±23,77
Exploração não locomotora	2059,3±92,37 [#]	1846,8±32,88	2076,1±67,35	2202,1±58,33	1962,1±37,07	2049,7±54,07
AutoLimpeza	569,69±25,2 [#]	389,70±15,85*	458,83±46,75	472,41±23,37	506,72±25,00	487,23±29,43
Exploração Vertical	303,61±29,73	175,96±14,71*	474,98±52,87*	307,93±12,25	318,85±16,32	446,25±9,84*
Imobilidade	284,81±72,63	967,61±100,81*	231,65±102,3	410,48±36,8	136,53±31,22	130,16±19,42

Todos os dados são expressos em segundos (média ± erro padrão da média). Os números entre parênteses se referem ao total de animais examinados para cada tratamento. Durante o tratamento todos os animais exibiram atividade locomotora imediatamente após serem colocados na caixa experimental. (*) p<0,05 quando comparado ao veículo (Veic +Veic) injetado no mesmo local (#)p<0,05 quando comparado com os animais em diestro.

Tabela 2. Duração de comportamentos ingestivos e não ingestivos durante 1h após o pré-tratamento do núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol) seguido 7 min após pela injeção posterior de veículo ou de 8-OH-DPAT (6 nmol) em ratas na fase de diestro

Fase do Ciclo Estral		Diestro				
Tratamentos	Veic + Veic (n=12)	Veic + 8-OH (n=12)	MM77 0,37 + Veic (n=10)	MM77 0,37 + 8-OH (n=10)	MM77 0,74 + Veic (n=12)	MM77 0,74 + 8-OH (n=8)
Exploração Alimento	81,45±3,27	94,35±10,55	75,93±16,83	88,04±8,14	92,45±9,57	50,77±12,51
Locomoção	257,54±18,77	195,40±16,08	218,87±22,78	254,88±20,07	246,19±15,04	299,56±23,61
Exploração não locomotora	1756,1±149,35#	2172,8±32,8*	2282,9±67,35*	2122,1±58,33*	1940,2±37,07	2082,5±54,07*
AutoLimpeza	694,12±42,42#	500,78±26,08*	388,82±32,78*	457,82±10,81*	506,72±20,18*	487,23±50,36*
Exploração Vertical	354,16±41,05	223,56±25,48*	352,77±49,23	326,35±13,65	318,85±24,44	446,25±17,69
Imobilidade	106,79±21,81	277,9±28,36	155,73±74,10	228,43±9,32	169,64±28,27	181,29±46,94

Todos os dados são expressos em segundos (média ± erro padrão da média). Os números entre parênteses se referem ao total de animais examinados para cada tratamento. Durante o tratamento todos os animais exibiram atividade locomotora imediatamente após serem colocados na caixa experimental. (*) p<0,05 quando comparado ao veículo (Veic +Veic) injetado no mesmo local (#)p<0,05 quando comparado com os resultados em estro. Abreviações: Veic: veículo; 8-OH: 8-OH-DPAT.

Tabela 3. Quantidade, Duração e Latência de consumo de água durante 1h após o tratamento com 8-OH-DPAT (6nmol/0,2µl) no núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) de ratas pré-tratadas com o veículo (ácido ascórbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol/0,2µl) durante a fase de estro

Fase do Ciclo Estral	Estro					
	Veic + Veic (n=10)	Veic + 8-OH (n=10)	MM-77 0,37 + Veic (n=8)	MM-77 0,37 + 8-OH (n=8)	MM-77 0,74 + Veic (n=12)	MM-77 0,74 + 8-OH (n=8)
Quantidade (g)	0,1±0,1	0	0	0,25±0,16	0,33±0,14	0,25±0,16
Duração Água (seg)	0,25±0,259	0	0	1,44±0,95	1,92±0,98	1,54±1,05
Latência Água (seg)	3270,6±329,4	3600	3600	3312,3±199,67	2637,1±415,71	2902,4±456,73

Os números entre parênteses se referem ao total de animais examinados para cada tratamento. Durante o tratamento todos os animais exibiram atividade locomotora imediatamente após serem colocados na caixa experimental. Abreviações: Veic: veículo; 8-OH: 8-OH-DPAT.

Tabela 4. Quantidade, Duração, Latência e Frequência de consumo de água durante 1h após o tratamento com 8-OH-DPAT (6nmol/0,2µl) no núcleo arqueado do hipotálamo (NARC) de ratas pré-tratadas com o veículo (ácido ascorbico 5%) ou diferentes doses de MM-77 (0,37 e 0,74nmol/0,2µl) durante a fase de diestro

Fase do Ciclo Estral		Diestro					
Tratamentos		Veic + Veic (n=10)	Veic + 8- OH (n=10)	MM-77 0,37 + Veic (n=8)	MM-77 0,37 + 8- OH (n=8)	MM-77 0,74 + Veic (n=12)	MM-77 0,74 + 8-OH (n=8)
Quantidade (g)		0,083±0,08	0	0,5±0,16	0	0,16±0,11	0,62±0,18*
Duração (seg)	Água	0,14±0,149	0	2,31±0,85	0	0,85±0,61	6,16±2,25*
Latência (seg)	Água	3422,4±177,64	3600	2900,9±264,46	3600	3248,73±255,72	1825,8±594,79*

Os números entre parênteses se referem ao total de animais examinados para cada tratamento. Durante o tratamento todos os animais exibiram atividade locomotora imediatamente após serem colocados na caixa experimental. (*) p<0,05 quando comparado ao controle. Abreviações: Veic: veículo; 8-OH: 8-OH-DPAT.

5. DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo revelaram, ao avaliar as duas fases do ciclo analisadas, uma diferença significativa na ingestão de alimento nos animais que apenas foram tratados com o veículo no NARC. Foi possível notar que a ingestão de alimentos foi maior nos animais em diestro se comparado aos em estro. Essa maior quantidade de ração ingerida observada nos animais em diestro foi acompanhada por um aumento significativo da duração e frequência deste comportamento ingestivo se comparado as ratas em estro, sem alterar a latência para iniciar o consumo de alimento. Além disso, no que diz respeito aos comportamentos não-ingestivos, as ratas em diestro exibiram um maior tempo de autolimpeza e menor duração da exploração não locomotora do que as em estro. Parker et al.(2002) sob condições experimentais semelhantes: mesmo horário de coleta de esfregaços vaginais e a utilização de uma dieta altamente palatável rica em carboidrato, também verificaram um aumento do consumo de alimento e do peso dos animais em diestro em comparação com a fase de estro. Da mesma forma, Eckel et al. (2000; 2005) mostraram resultados similares ao realizar os procedimentos do período da manhã sem oferecer aos animais ração rica em sacarose. Além disso, estudos anteriores mostraram um aumento da atividade motora dos animais em estro (BROBECK et al., 1947; FINGER, 1969), resultados estes diferentes deste estudo onde as ratas em estro apresentaram menor tempo de autolimpeza.

Dados anteriormente obtidos neste laboratório não constataram diferenças significativas entre ratas em estro e diestro (STEFFENS et al., 2008). Este fato pode ser justificado pelo horário de realização dos procedimentos experimentais; neste estudo os mesmos foram realizados no período da manhã (início da fase clara do ciclo claro-escuro), diferentemente de Steffens et al.(2008) onde os experimentos aconteceram no meio da fase clara do ciclo claro-escuro. Variações na receptividade sexual, ingestão de alimento e exploração locomotora ocorrem durante a fase escura da ovulação. Esse período de alterações comportamentais coincide com o final do proestro e o início do estro (Becker et al, 2005). Dessa forma, a execução dos experimentos no início da manhã pode ter permitido registrar as variações na ingestão de

alimento de acordo com a fase do ciclo estral, menor em estro em relação ao diestro (ECKEL et al., 2000;2005; PARKER et al., 2002).

A liberação de estradiol é maior durante a fase periovulatória, sendo que os valores máximos começam 18h antes da ovulação, atingindo o pico 6-12h antes da ovulação, e na fase estro estes valores caem (BECKER et al., 2005). Entretanto, a ativação de receptores de estradiol estimula fatores de transcrição, o que faz com que os efeitos do estradiol perdurem 12 horas ou mais, e, portanto a redução na ingestão de alimento nos animais observada em estro é causada por uma liberação prévia de estradiol (DREWETT, 1974; BLAUSTEIN e WADE 1976; ASARIAN e GEARY 2002; ASARIAN e GEARY 2006). Estas alterações na liberação de hormônios ovarianos que ocorre em estro atuam no cérebro estimulando eventos hormonais que estão relacionados à ovulação e comportamentos sexuais (BECKER et al., 2005). Além disso, tem sido demonstrado que hormônios ovarianos exercem efeitos fásicos e tônicos inibitórios no consumo de alimento, ao reduzir a ingestão de alimentos por meio do tamanho da refeição (GEARY et al., 2001; MURPHY e ECKEL., 2001; LAVIANO et al., 1996; ECKEL et al., 1998; ECKEL et al., 2004), dados estes semelhantes aos obtidos neste estudo. Recentemente, um estudo realizado por Santollo et al. (2011) mostrou que a administração de estradiol no NARC de ratas ooforectomizadas reduziu a ingestão de alimento em 24h, resultados estes que sugerem que o NARC constitui de um importante núcleo de efeito anorexígeno mediado pelo estradiol. O estradiol atua por meio de receptores específicos encontrados no hipotálamo a fim de reduzir a sensação de fome, e pode mediar este efeito anorexígeno, entre outros fatores, pela diminuição da expressão e liberação do NPY no NARC, além de uma alteração na sensibilidade à administração central de leptina e um aumento da neurotransmissão serotoninérgica (WADE et al., 1985; SALAMANCA e UPHOUSE, 1992; 1991; CLEGG et al., 2006; BROWN e CLEGG, 2010)

A injeção de 8-OH-DPAT (agonista de receptor 5-HT_{1A} e 5HT₇) no NARC de ratas previamente tratadas com veículo confirmou a hipofagia induzida pelo 8-OH-DPAT em estro já verificada em estudos anteriores (STEFFENS et al., 2008). Entretanto, diferentemente dos resultados obtidos por Steffens et al. (2008) observou-se também que esta hipofagia ocorreu nos animais em diestro. Como anteriormente

relatado, o estudo de Steffens et al (2008) foi realizado no período vespertino diferentemente deste estudo cujos procedimentos experimentais foram realizados no período da manhã, ou seja, mais próximo do pico do estradiol e de seus efeitos sobre o comportamento ingestivo (BECKER et al. 2005), o que pode levar a uma alteração dos resultados.

Um aumento da ingestão de alimento foi observado após o tratamento periférico com 8-OH-DPAT em animais com livre acesso ao alimento (DOURISH et al., 1985; EBENEZER et al., 1999; EBENEZER et al., 2001; EBENEZER e TITE, 2003; EBENEZER e SURUJBALLY, 2007). Por outro lado, animais submetidos à restrição alimentar ou que receberam ração rica em sacarose, modelos estes diferentes, mas utilizados para incentivar o consumo de alimentos, mostraram-se hipofágicos após a injeção periférica de 8-OH-DPAT (DOURISH et al., 1985; EBENEZER et al., 1999; EBENEZER et al., 2001; SWIERGIEL e DUNN, 2000; EBENEZER e TITE, 2003).

Alguns estudos revelaram que o uso de agonistas de receptores $5HT_{1A}$ que provocam um aumento no consumo de ração normal em ratos saciados, pode levar a uma redução na ingestão de alimento palatável (SWIERGIEL e DUNN, 2000; EBENEZER e TITE, 2003). Mancilla-Diaz et al. (2005) mostraram que o tratamento do PVN com 5-HT reduz a ingestão de alimento palatável, porém sem alterar o consumo de proteína e gordura, o que concorda com os dados do presente trabalho. Lopez-Alonso et al. (2007) verificaram também que ratos que receberam injeção de 8-OH-DPAT no PVN tiveram um consumo menor de carboidrato. Deste modo, estas informações levam a acreditar que a ativação dos receptores $5HT_{1A}$ parece reduzir a ingestão de carboidratos e que tais receptores podem ser encontrados no PVN (MANCILLA-DIAZ et al., 2005, LOPEZ-ALONSO et al., 2007) e NARC (STEFFENS et al., 2008 e no presente estudo), confirmando que este efeito hipofágico mediado pelo 8-OH-DPAT parece estar presente em animais nestas condições experimentais. Além disso, Steffens et al. (2010) após a utilização de WAY100635 (um antagonista seletivo de receptor $5-HT_{1A}$) no NARC mostraram um bloqueio da hipofagia induzida pelo 8-OH-DPAT, e desta forma tais resultados sugerem que esta resposta seja mediada especificamente por receptor $5-HT_{1A}$.

A latência para iniciar o primeiro episódio de consumo de alimento pelas ratas que receberam 8-OH-DPAT em estro foi maior do que os demais tratamentos. Esta alteração na latência reflete o efeito da 5-HT sobre o início da resposta de ingestão de alimentos ao levar a uma maior saciedade, ou seja, a manutenção da inibição da fome. Além disso, o tratamento com o 8-OH-DPAT no NARC de animais em estro reduziu o número de episódios de ingestão de alimento. Na ratas em diestro, diferentemente dos animais em estro, a administração de 8-OH-DPAT não provocou alteração na latência para iniciar o consumo de alimento, mas reduziu a duração da resposta de ingestão de alimento nas ratas em diestro. Blundell et al. (1986) apontaram dois mecanismos envolvidos na regulação da ingestão de alimentos: um que regula o término da refeição por meio da plenitude gástrica e a redução do tamanho das refeições (saciação); e o segundo que controla o início do consumo de alimento, definido por esse autor como estado de saciedade, que seria o resultado de mecanismos que inibem o ato de comer, determinando o intervalo entre as refeições (manutenção). No presente estudo podemos verificar que a aplicação de 8-OH-DPAT no NARC de ratas, de modo geral, mostrou aumentar a saciação nas ratas em diestro, através de uma redução na duração do ato de comer e a saciedade nos animais em estro, por meio de um aumento do tempo que o animal levou para iniciar o comportamento ingestivo, bem como na redução no número de episódios ingestivos. Esses resultados indicam diferenças da ação dos circuitos serotoninérgicos sobre a ingestão de alimento, sendo que em estro a ativação desse circuito, mediada pela estimulação de receptores 5-HT_{1A}, provocaria o retardo dos sinais que permitem o início da alimentação; e em diestro esses sinais não estariam atuantes. Nos animais em diestro, a influência serotoninérgica induziria a antecipação do término da resposta ingestiva sem afetar os sinais que promovem o início da refeição.

Essa diferença na atuação dos circuitos serotoninérgicos em estro ou diestro poderia ser atribuída à influência dos hormônios ovarianos, já sugerida anteriormente por estudos de nosso laboratório. Embora diferentemente dos dados apresentados neste estudo, Steffens et al. (2008) mostraram que após a injeção de 8-OH-DPAT no NARC houve um aumento da saciação por meio da redução do tempo despendido para a ingestão de alimentos nas ratas em estro, mas não revelou diferenças

estatísticas neste comportamento nos animais em diestro e nem alteração no que se refere a latência. Alguns estudos mostram que neurônios serotoninérgicos apresentam alterações decorrentes da ação de esteróides ovarianos (BETHEA et al., 1998), o que pode justificar os dados encontrados. Uphouse et al. (1991) também mostrou que ratas em fase de diestro exibiram efeitos hiperfágicos mais significativos após a injeção de 8-OH-DPAT do que em estro, mostrando que a regulação do comportamento alimentar por circuitos serotoninérgicos em ratas, parece ser mediada por alterações fisiológicas dos esteróides ovarianos que ocorrem durante o ciclo estral.

Quanto à alteração dos demais comportamentos analisados pode-se verificar que a administração de 8-OH-DPAT reduziu o tempo de locomoção, exploração vertical e autolimpeza dos animais em estro, além de aumentar a permanência do animal em estado de imobilidade. Este efeito principalmente na imobilidade pode estar relacionado à seqüência comportamental da saciedade, cujas características são de alimentação-manutenção-descanso (HALFORD e BLUNDELL, 1996; GUNDLAH et al., 1998; HALFORD et al., 1998; LÓPEZ-ALONSO et al., 2007). A caracterização desta seqüência tem início com a substituição do comportamento alimentar seguido pela autolimpeza e termina com um período prolongado de descanso e/ou inatividade (HALFORD et al., 2007). Dados semelhantes foram encontrados por López-Alonso et al. (2007) no qual também foi verificada uma alteração nestes comportamentos quando ratos receberam administração central de 8-OH-DPAT. Atchley & Eckel (2006) verificaram que ratas privadas de alimento após a injeção de 8-OH-DPAT também ficaram menos ativas. Entretanto, tais efeitos nestes comportamentos mostraram-se bem característicos nas ratas em estro, diferentemente dos animais em diestro que exibiram apenas um aumento da exploração não locomotora, e uma diminuição da exploração vertical e autolimpeza.

Neurônios do NARC são modulados em parte por 5-HT (ADAN et al., 2008), e alguns estudos imunohistoquímicos mostraram receptores 5-HT em dendritos proximais e corpo celular neste núcleo hipotalâmico (COLLIN et al., 2002). Existem duas populações de neurônios no NARC que exercem efeitos contrários na ingestão de alimento: Neurônios que expressam peptídeos orexígenos, tais como NPY e AgRP e neurônios que expressam neuropeptídeos anorexígenos

como POMC (precursor de α -MSH) e CART (MORTON et al., 2006; SUZUKI et al., 2010). Ambas as populações se projetam para o PVN, embora o NARC também se conecte a outras áreas hipotalâmicas tais como DMN, LHA e VMN (SUZUKI et al., 2010). Como anteriormente sugerido por Steffens et al. (2008), este efeito hipofágico mediado pela administração de 8-OH-DPAT no NARC poderia ser justificado pela diminuição da liberação do NPY e AgRP e um aumento na liberação de α -MSH e CART.

Em relação ao tratamento nos animais com MM-77, um antagonista de receptor 5-HT_{1A} considerado pós-sináptico (MOKROSZ et al., 1994; GRIEBEL et al., 2000; WESOŁOWSKA et al., 2003), os resultados mostraram que o consumo de ração enriquecida exibido pelas ratas em estro, após tratamento com ambas as doses de MM-77 no NARC, ficou duas vezes acima do controle. Este resultado sugere que este antagonista impediu a ativação de uma influência inibitória, que estaria nessas condições experimentais atuando tonicamente sobre a ingestão de alimento. Essa inibição parece estar menos presente no NARC das ratas em diestro, visto que a menor dose de MM-77 não modificou a resposta ingestiva e, a dose maior aumentou ligeiramente (em 25%) o consumo de alimento. Além disso, a injeção de ambas as doses de MM-77 no NARC aumentou a duração e frequência de consumo deste comportamento ingestivo nas ratas em estro, o que, portanto, reflete o efeito desta droga no retardo da saciação destes animais. Por outro lado em diestro, apenas o número de vezes que o animal procurou alimento foi maior nos animais tratados com a maior dose de MM-77, não sendo observada alteração na latência e na duração do comportamento ingestivo nos animais tratados com a maior dose. O MM-77 administrado isoladamente não afetou a latência para iniciar a resposta ingestiva em ambas as fases do ciclo estral analisado, portanto, acredita-se que a mesma não tenha efeito sobre os sinais que induzem a saciedade.

Os dados comportamentais indicam que a resposta hiperfágica induzida por ambas as doses de MM-77 injetadas no NARC de animais em estro e diestro não foi acompanhada por aumento na duração do comportamento de imobilidade, um indicador de saciedade. Durante a fase de estro, a única alteração observada foi aumento na duração da exploração vertical após tratamento com a menor dose de MM-77 no

NARC. Em diestro, ocorreu uma redução discreta na duração do comportamento de autolimpeza após a injeção no NARC de ambas as doses de MM-77, sem afetar o comportamento de imobilidade. Nesse sentido, o processo natural de saciedade que incluiria a transição da alimentação para o repouso (HALFORD e BLUNDELL, 1996; GUNDLAH et al., 1998; HALFORD et al., 1998; LÓPEZ-ALONSO et al., 2007) parece ter sido afetado pela droga.

Os dados do presente estudo indicam que o MM-77 retarda a atuação dos sinais que induzem o término da refeição, levando a uma hiperfagia. Este retardo poderia ser atribuído ao bloqueio do receptor serotoninérgico 5-HT_{1A}, suprimindo uma possível influência inibitória sobre a ingestão de alimento mediada por esse receptor. Entretanto, Steffens et al., (2008; 2010) mostraram que o tratamento com MET (antagonista não seletivo de receptores 5HT) e WAY100635 (um antagonista seletivo de receptor 5-HT_{1A}) no NARC de ratas em estro ou diestro não provocou hiperfagia como o demonstrado neste estudo pelo MM-77. Estes resultados enfraquecem a possibilidade de que o efeito hiperfágico induzido pelo MM-77 injetado no NARC seja mediado pelo receptor 5-HT_{1A}, uma vez que evidências da literatura indicam que o MM-77 também pode ser um antagonista de receptor α 1-adrenérgico (ARKLE et al., 2005).

Alguns estudos mostraram que a injeção de noradrenalina periférica ou intra-perifornical reduziu o consumo de alimentos em animais privados de alimento ou que receberam uma dieta altamente palatável (MARGULES et al., 1970; RACCOTA, 1995). Tais autores sugeriram que este efeito seja mediado pela ativação de α -adrenoceptores. Wellman et al., (2000) estudaram os receptores α -adrenérgicos e afirmaram que a ativação de α 1-adrenoceptores estejam envolvidos com a redução do consumo de alimento e a ativação de α 2-adrenoceptores esteja relacionado a um aumento da ingestão de alimentos. Assim sendo, outros estudos mais específicos revelaram que a administração de agonistas α 1-adrenérgicos no PVN de animais não privados de alimento levaram a uma hipofagia (WELLMAN e DAVIES, 1991; DAVIES e WELLMAN, 1992; DAVIES et al., 1992; WELLMAN et al., 1993; MORIEN et al. 1993) e estes efeitos foram revertidos após tratamento dos animais com antagonistas α 1-adrenérgicos (WELLMAN e DAVIES, 1991; WELLMAN et al., 1993).

Esta hipofagia também foi verificada em alguns estudos realizados em outros sítios de injeção, onde animais que foram tratados com agonistas de receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos no NR tiveram uma redução no consumo de alimentos (MANSUR et al., 2011; RIBAS et al., 2012). Este efeito da noradrenalina na redução na ingestão de alimentos, mediado pela ativação de receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos, poderia também ser verificado em neurônios do NARC. Além disso, o hipotálamo contém uma variedade de outras substâncias, já anteriormente citadas, que influenciam na alimentação, entre elas o NPY e a leptina. Esses peptídeos podem alterar a ingestão de alimentos por um aumento ou diminuição nos níveis extracelulares de noradrenalina (CARO et al. 1996; KALRA, 1997). O aumento de leptina pode reduzir a atividade supressora da ingestão de alimentos mediada pela NA. Brunetti et al. (1999) relataram que a leptina reduzia a despolarização da membrana que facilita a liberação de NA a partir dos sinaptossomas de ratos. Desta forma podemos sugerir também que o bloqueio do receptor adrenérgico possa ter retirado a inibição tônica sobre a ingestão de alimento e resultou em hiperfagia nas ratas tratadas com MM-77 no NARC.

A injeção de 8-OH-DPAT no NARC atenuou a elevação na ingestão de alimento provocada pelo MM-77 em ratas em estro. Quando injetado após a dose menor de MM-77, o 8-OH-DPAT impediu o aparecimento da hiperfagia. Por outro lado, quando administrado com a dose maior de MM-77, o 8-OH-DPAT reduziu a intensidade da resposta hiperfágica induzida pelo MM-77. Em diestro, essa interação entre efeitos induzidos pelo MM-77 e pelo 8-OH-DPAT aparentemente esteve ausente uma vez que a redução no consumo de alimento induzido pela injeção de 8-OH-DPAT não foi afetada pelo tratamento prévio com MM-77 no NARC. Esses dados sugerem uma possível atenuação da influência tônica inibitória durante a fase de diestro e, por isso, uma menor interação entre o 8-OH-DPAT e o MM-77, com o predomínio do efeito hipofágico induzido pelo 8-OH-DPAT.

No que se refere à duração do comportamento ingestivo em estro, de modo similar ao que ocorreu com a ingestão de alimento, o tratamento com 8-OH-DPAT afetou a duração da resposta ingestiva induzida pelo MM-77. A injeção de 8-OH-DPAT suprimiu o aumento na duração da resposta ingestiva provocada pela menor dose de MM-77 e atenuou a elevação dessa resposta induzida pela maior dose de MM-77

nos animais em estro. Esses resultados indicam que a ativação de receptores 5-HT_{1A} pelo 8-OH-DPAT do NARC afetou os mecanismos que induzem o término da alimentação e que tinham sido engatilhados pela administração de MM-77 no NARC de ratas em estro. Em diestro, a redução na duração da ingestão de alimento provocada pela injeção de 8-OH-DPAT não foi afetada pelo tratamento prévio com MM-77, efeito semelhante àquele observado na resposta de ingestão de alimento. Esses resultados indicam que a antecipação dos sinais que induzem o término da refeição e ativados pela injeção de 8-OH-DPAT no NARC não foram afetados pela administração prévia de MM-77 durante o diestro. Por outro lado, o aumento na latência para iniciar o consumo de alimento induzida pelo tratamento com 8-OH-DPAT no NARC de ratas em estro foi afetada pelo tratamento prévio com MM-77. Enquanto essa variável não foi afetada pelo MM-77 injetado isoladamente, a sua administração reduziu (dose menor) ou suprimiu (dose maior) a elevação na latência para iniciar o consumo de alimento induzido pelo 8-OH-DPAT, sugerindo que os mecanismos que permitem o início da alimentação parecem incluir os receptores 5-HT_{1A} do NARC. Esse mecanismo parece atuar apenas na fase de estro, uma vez que a latência para iniciar o consumo de alimento não foi modificada por nenhum dos tratamentos efetuados em ratas em diestro.

Esses resultados indicam que a ingestão de alimento e duração dessa resposta, isto é, os mecanismos de saciação que levam a finalização da refeição, são afetados pelo MM-77 injetado no NARC. Além disso, os resultados também indicam que a ativação de receptores 5-HT_{1A}, que antecipam o final da alimentação, interfere com os efeitos desencadeados pelo MM-77, que retarda a atuação dos sinais que induzem o término da resposta ingestiva. Considerando que o MM-77 seja um antagonista de receptor pós-sináptico (MOKROSZ et al., 1994; GRIEBEL et al., 2000; WESOLOWSKA et al., 2003), os dados do presente estudo poderiam sugerir que o receptor 5-HT_{1A} estaria localizado em neurônios pré-sinápticos uma vez que tanto em estro como em diestro o efeito redutor da ingestão de alimento induzida pelo 8-OH-DPAT se fez presente, indicando que o MM-77 foi incapaz de impedir a ação do 8-OH-DPAT. Enquanto os efeitos do 8-OH-DPAT sobre a duração da ingestão de alimento, isto é, seus efeitos sobre os mecanismos de saciação, parecem ser mediados por receptor 5-HT_{1A}

pré-sináptico; os efeitos do 8-OH-DPAT sobre a latência para iniciar o consumo de alimento (mecanismos de saciedade) parecem ser mediados por receptor 5-HT_{1A} pós-sináptico, uma vez que o tratamento prévio com MM-77 suprimiu o retardo na latência para iniciar a resposta ingestiva induzida apelo 8-OH-DPAT durante o estro.

Quanto aos demais comportamentos não ingestivos verificou-se que os animais em estro apresentaram apenas uma elevação no tempo de exploração vertical quando foram tratados com a dose maior de MM-77 seguida pela injeção de 8-OH-DPAT no NARC. Portanto, o MM-77 impediu o processo natural da seqüência da saciedade e reverteu os efeitos mediados pelo 8-OH-DPAT que bem caracterizavam os mecanismos da saciedade, mostrando que a interação das drogas levou a um predomínio dos efeitos do MM-77 sobre os animais. Em diestro, houve um aumento da exploração não locomotora e uma redução da autolimpeza nos animais que receberam pré-tratamento com ambas as doses de MM-77 seguida da injeção de 8-OH-DPAT. Entretanto, nos animais em diestro a seqüência comportamental da saciedade já não tinha sido verificada após tratamento dos animais com 8-OH-DPAT.

No que diz respeito à ingestão de água, apenas os animais em diestro exibiram uma alteração neste comportamento quando receberam tratamento de MM-77 na maior dose e 8-OH-DPAT, ao verificar um aumento da quantidade, no tempo de duração e na latência para iniciar este comportamento. Esta alteração na ingestão de água, assim como sugerida quanto ao consumo de alimento, pode ser resultado de uma interação de neurônios serotoninérgicos e adrenérgicos. Camargo et al. (2010) após a injeção de diferentes doses de 8-OH-DPAT na área septal lateral percebeu que os ratos exibiram uma redução no consumo de água que era mais expressiva com o aumento da dose. Além disso, a injeção de um antagonista 5-HT_{1A} mostrou-se reverter tais efeitos mediados pelo 8-OH-DPAT, ao levar a um aumento significativo na ingestão de água quando as duas drogas foram injetadas na área septal. Villa et al. (2008) ao injetar 8-OH-DPAT e um antagonista de receptor 5-HT_{1A} no PVN em ratos privados de água também verificaram resultados semelhantes, o que sugere que os efeitos no consumo de água podem estar relacionados à ativação de receptores 5-HT_{1A}. Por outro lado, Tanaka (2002) verificou que o consumo de água aumentado verificado após a injeção de angiotensina II no órgão subfornical foi aumentado através da

injeção prévia de um agonista α -adrenérgico. Além disso, a injeção de um antagonista de angiotensina II ou receptor α -adrenérgico no núcleo pré-óptico mediano atenuou as respostas mediadas pela angiotensina I no órgão subfornical. Deste modo, qualquer alteração nos níveis de noradrenalina poderia interferir na ingestão de água.

Portanto, diante das evidências anteriormente citadas sugere-se que o receptor 5-HT_{1A} parece estar presente em neurônios pré e pós-sinápticos. Enquanto a ativação de receptores 5-HT_{1A} pré-sinápticos participaria dos mecanismos neurais envolvidos com o término da alimentação, os receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos estariam envolvidos com os mecanismos que regulam o início da resposta ingestiva. Além disso, a hiperfagia induzida pelo uso de MM-77 parece ser mediada por receptores adrenérgicos e não serotoninérgicos; entretanto, tal afirmação ainda merece ser melhor analisada, visto que são necessários outros estudos envolvendo doses maiores de MM-77 e a utilização neste caso de agonistas e antagonistas adrenérgicos para que estes resultados sejam consolidados. Além disso, os dados sugerem que o MM-77 pode constituir em uma droga potencial no controle da ingestão de alimento devido aos seus efeitos sobre o consumo alimentar, por meio da inibição de um tônus inibitório sobre a ingestão de alimento, quando injetado no NARC. Além disso, essa influência inibitória parece ser sensível ao nível de hormônios ovarianos presentes no sangue, pois os efeitos hiperfágicos do MM-77 isolado foram mais intensos durante a fase de estro.

6. CONCLUSÕES

Foi verificada diferença nos comportamentos ingestivos entre as duas fases estrais analisados nos animais que apenas receberam veículo, mostrando uma possível influência dos hormônios ovarianos na quantidade, duração e frequência de consumo de alimentos.

A administração de 8-OH-DPAT no NARC induz resposta hipofágica nas duas fases analisadas, porém por mecanismos distintos; em estro a possível ativação dos circuitos serotoninérgicos, mediada pela estimulação de receptores 5-HT_{1A}, ocorre por um retardo no início do comportamento da resposta ingestiva e um aumento dos episódios ingestivos (saciedade). E em diestro essa ativação ocorre por uma antecipação na finalização da refeição, mecanismo este relacionado ao processo de saciação. Estes efeitos parecem ser acompanhados por alterações nos comportamentos não ingestivos, que são característicos da seqüência da saciedade.

A injeção de MM-77 no NARC isolado provoca hiperfagia nos animais em ambas as doses em estro e apenas na maior dose em diestro. Além disso, esse efeito na ingestão de alimentos é mediado por retardo na finalização da refeição e aumento nos episódios ingestivos nos animais em estro. Não foram verificadas alterações decorrentes da injeção de MM-77 isolado nos processos que estão relacionados ao início da refeição (latência). Sugere-se que esta influência na ingestão de alimentos pode ser mediada por sistema serotoninérgico e adrenérgico.

Visto que o efeito redutor da ingestão de alimento induzido pelo 8-OH-DPAT se fez presente mesmo após pré-tratamento nos animais com MM-77 e que esta interação de drogas afetou os mecanismos que induzem o término da alimentação com predomínio dos efeitos mediados pelo 8-OH-DPAT, e considerando que o MM-77 é um antagonista de receptor 5-HT_{1A} pós-sináptico, sugere-se que estes efeitos sejam mediados por uma ativação de receptores 5-HT_{1A} pré-sinápticos. Por outro lado, o aumento na latência para iniciar o consumo de alimento induzido pelo tratamento com 8-OH-DPAT no NARC de ratas em estro foi afetada pelo tratamento prévio com MM-77, e sugere que os efeitos do 8-OH-DPAT sobre a latência para iniciar o consumo de alimento (mecanismos de saciedade) parecem ser mediados por receptor 5-HT_{1A} pós-sináptico.

Outros estudos são necessários utilizando outras doses de MM-77 e outros tipos de agonistas e antagonistas de receptores não serotoninérgicos injetados no NARC, sob mesmas condições experimentais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAN, R.A.H.; VANDERSCHUREN, L.J.M.J.; LA-FLEUR, S.E. Anti-obesity drugs and neural circuits of feeding. *Pharmacology in The Netherlands*, v.29, n.4, 208-217, 2008.

BANKS, W.A. The source of cerebral insulin. *Eur J Pharmacol.*, v.490, n.1-3, p.5-12, 2004.

ARKLE, M.; EBENEZER, I.S. Ipsapirone suppresses food intake in food-deprived rats by an action at 5-HT(1A) receptors. *Eur J Pharmacol*, v.408, p.273-276, 2000.

ARKLE, M.J.; ARKLE, S.; EBENEZER, I. A comparison of the effects of the 5-HT1A antagonists MM-77 and WAY-100635 on the mouse isolated vasa deferentia. *Autonomic & Autacoid Pharmacology*, v. 25, p.121-128, 2005.

ASARIAN, L.; GEARY, N. Cyclic estradiol treatment normalizes body weight and restores physiological patterns of spontaneous feeding and sexual receptivity in ovariectomized rats. *Horm. Behav*, v. 42, p. 461–471, 2002.

ASARIAN, L.; GEARY, N. Modulation of appetite by gonadal steroid hormones. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, v.361, p.1251-1263, 2006.

ATCHLEY, D.P.D.; ECKEL, L.A. Treatment with 8-OH-DPAT attenuates the weight loss associated with activity-based anorexia in female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, v.83, p. 547–553, 2006.

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

BECKER, J.B.; ARNOLD, A.P.; BERKLEY, K.J.; BLAUSTEIN, J.D.; ECKEL, L.A.; HAMPSON, E.; ET AL. Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology*, v.146, p.1650-1673, 2005.

BENOIT, S.C.; AIR, E.L. ; COOLEN, L.M.; STRAUSS, R.; JACKMAN, A.; CLEGG, D.J.; SEELEY, R.J.; WOODS, S.C. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins, *J Neurosci*, v.22, p.9048–9052, 2002.

BERTHOUD, H.R. Interactions between the "cognitive" and "metabolic" brain in the control of food intake. *Physiol Behav*, v.91, n.5, p.486-498, 2007.

BETHEA, C.L.; PECINS-THOMPSON, M.; SCHUTZER, W.E.; GUNDLAH, C.; LU, Z.N. Ovarian steroids and serotonin neural function. *Mol Neurobiol.*, v.18, n.2, p.87-123, 1998.

BICKERDIKE, M.J.; VICKERS, S.P.; DOURISH, C.T. 5-HT_{2C} receptor modulation and the treatment of obesity. *Diabetes Obes Metab*, v.1, p.207-214, 1999.

BIEBERMANN, H.; CASTAÑEDA, T.R.; VAN LANDEGHEM F.; VON DEIMLING, A.; ESCHER, F.; BRABANT, G.; ET AL A role for beta-melanocyte-stimulating hormone in human body-weight regulation. *Cell Metab*, v.3, p.141–146, 2006.

BLAUSTEIN, J. D.; WADE, G. N. Ovarian influences on the meal patterns of female rats. *Physiol Behav*, v.17, p. 201–208, 1976.

BLEVINS, J.E; BASKIN, D.G. Hypothalamic-Brainstem Circuits Controlling Eating. *Frontiers in Eating and Weight Regulation*, v.63, p.133-140, 2010.

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

BOHMARKER, K.; BORDI, F.; MELLER, E. The effects of pertussis toxin on dopamine D2 and serotonin 5-HT1A autoreceptor-mediated inhibition of neurotransmitter synthesis: relationship to receptor reserve. *Neuropharmacology*, v.31, p.451-459, 1992.

BOURET, S.G.; DRAPER, S.J.; SIMERLY, R.B. Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. *J Neurosci*, v.24, n.11, p.2797-2785, 2004.

BOVETTO, S.; RICHARD, D. Functional assessment of the 5-HT1A, 1B, 2A/2C and 5-HT3 receptor subtypes on food intake and metabolic rate in rats. *Am J Physiol*, v.268, p.14-20, 1995.

BROADWELL, R.D.; BRIGHTMAN, M.W. Entry of peroxidase into neurons of the central and peripheral nervous systems from extracerebral and cerebral blood. *J Comp Neurol*, n.166, p.257-283, 1976.

BROBECK, J.R.; WHEATLAND, M.; STROMINGER, J.L.; Variations in regulation of energy exchange associated with estrous, diestrous and pseudopregnancy in rats. *Endocrinology*, v.40, p.65-72, 1947.

BROWN, L.M.; CLEGG, D.J. Central effects of estradiol in the regulation of food intake, body weight, and adiposity. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, v.122, p.65-73, 2010.

BRUNETTI, L.; MICHELOTTO, B.; ORLANDO, G.; VACCA, M. Leptin inhibits norepinephrine and dopamine release from rat hypothalamic neuronal endings. *Eur J Pharmacol*, v.372, p.237, 1999.

CAMARGO, G.M.P.A.; CAMARGO, L.A.A.; SAAD, W.A. On a possible dual role for the lateral septal area 5-HT1A receptor system in the regulation of water intake and urinary excretion. *Behavioural Brain Research*, v.215, p.122-128, 2010.

CARO, J.F.; SINHA, M.K.; KOLACZYNSKI, J.W.; ZHANG, P.L.; CONSIDINE, R.V. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes*, v.45, p.1455, 1996.

COWLEY, M.A.; SMART, J.L.; RUBINSTEIN, M.; CERDÁN, M.G.; DIANO, S.; HORVATH, T.L.; CONE, R.D.; LOW, M.J. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, v.411, p. 480–484, 2001.

CHAUDHRI, O.B.; PARKINSON, J.R.; KUO, Y.T.; DRUCE, M.R.; HERLIHY, A.H.; BELL, J.D.; DHILLO, W.S.; STANLEY, S.A.; GHATEI, M.A.; BLOOM, S.R.. Differential hypothalamic neuronal activation following peripheral injection of GLP-1 and oxyntomodulin in mice detected by manganese-enhanced magnetic resonance imaging. *Biochem Biophys Res Commun*, v.350, p.298-306, 2006.

CHAUDHRI, O.B.; SALEM, V.; MURPHY, K.G.; BLOOM, S.R. Gastrointestinal satiety signals. *Annu Rev Physiol*, v.70, p.239-255, 2008.

CHAPTINI, L.; PEIKIN, S. Neuroendocrine regulation of food intake. *Current Opinion in Gastroenterology*, v.24, p. 223-229, 2008.

CHEN, H.Y.; TRUMBAUER, M.E.; CHEN, A.S.; WEINGARTH, D.T.; ADAMS, J.R.; FRAZIER, E.G.; ET AL Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*, v.145, p. 2607-2612, 2004.

CHOI, S.; DALLMAN, M.F. Hypothalamic obesity: multiple routes mediated by loss of function in medial cell groups. *Endocrinology*, v.140, p. 4081–4088, 1999.

CLEGG, D.J.; BROWN, L.M.; WOODS, S.C.; BENOIT, S.C. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes*, v.55, n.4, p.978–987, 2006.

COLLIN, M.; BÄCKBERG, M.; ÖNNESTAM, K.; MEISTER, B. 5-HT1A receptor immunoreactivity in hypothalamic neurons involved in body weight control. *Neuroreport*, v.13, p.945–951, 2002.

CONNOLLI, H.M.; CRARY, J.L.; MCGOON, M.D.; HENSRUD, D.D.; EDEARDS, B.S.; EDWARDS, W.D.; ET AL. Valvular heart disease associated with fenfluramine-phentermine. *N Engl J Med*, v.337, p.581, 1997.

COSCINA, D.V.; CURRIE, P.J.; BISHOP, C.; PARKER, G.C.; ROLLINS, B.L.; KING, B.M. Posterodorsal amygdala lesions reduce feeding stimulated by 8-OH-DPAT. *Brain Res*, v.883, p.243-249, 2000.

COWLEY, M.A.; SMART, J.L.; RUBINSTEIN, M.; CERDAN, M.G.; DIANO, S.; HORVATH, T.L. ET AL. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, v.411, p.480-484, 2001.

COWLEY, M.A.; SMITH, R.G.; DIANO, S.; TSCHOP, M.; PRONCHUK, N.; GROVE, K.L. ET AL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, v.37, p.649-661, 2003.

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

CURRIE, P.J.; COSCINA, D.V. Metergoline potentiates natural feeding and antagonizes the anorectic action of medial hypothalamic 5-hydroxytryptamine. *Pharmacol Biochem Behav*, v.53, p.1023–1028, 1996.

DAVIES, B.T.; WELLMAN, P.J.; DICARLO, B. *Brain Res Bull*, v.28, p.633-635, 1992.

DAVIES, B.T.; WELLMAN, P.J. Effects on ingestive behavior in rats of the alpha 1-adrenoceptor agonist cirazoline. *Eur J Pharmacol*, v.210, p.11-16, 1992.

DIETRICH, M.O.; HORVARTH, T.L. Feeding signals and brain circuitry. *European Journal of Neuroscience*, v.30, p. 1688-1696, 2009.

DREWETT, R. F. The meal patterns of the oestrous cycle and their motivational significance. *Q J Exp Psychol*, v.26, p. 489-494, 1974.

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

DE LARTIGUE, G.; DIMALINE, R.; VARRO, A.; DOCKRAY, G.J. Cocaine- and amphetamineregulated transcript: stimulation of expression in rat vagal afferent neurons by cholecystokinin and suppression by ghrelin. *J Neurosci*, v.27, p.2876-2882, 2007.

DE VRY, J; SCHREIBER, R. Effects of selected serotonin 5-HT (1) and 5-HT (2) receptor agonists on feeding behavior: possible mechanisms of action. *Neurosci Biobehav Rev*, v.24, p.341-353, 2000.

DOURISH, C.T.; HUTSON, P.H.; CURZON, G. Characteristics of feeding induced by the serotonin agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Brain Res Bull*, v.15, n.4, p.377-384, 1985.

DOURISH, C.T.; COOPER, S.J.; GILBERT, F.; COUGHLAN, J.; IVERSEN, S.D. The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT increases consumption of palatable wet mash and liquid diets in the rat. *Psychopharmacology*, v.94, p.58-63, 1988.

DOURISH, C.T. Multiple serotonin receptors: opportunities for new treatments for obesity? *Obes. Res*, Suppl 4, p.449-462, 1995.

ERLANSON-ALBERTSSON C. Appetite regulation and energy balance. *Acta Paediatr Suppl*, v.94, n.448, p.40-41, 2005.

EBENEZER, I.S. Effects of the 5-HT1A agonist, 8-OH-DPAT, on operant food intake in non-deprived rats. *Neuroreport*, v.3, p. 62–64, 1992a.

EBENEZER, I.S. Effects of the 5-HT1A agonist 8-OH-DPAT on food intake in food-deprived rats. *Neuroreport*, v.3, p.1019-1022, 1992b.

EBENEZER, I.S.; PARROTT, R.F.; VELLUCCI, S.V. Effects of the 5-HT1A receptor agonist 8-OH-DPAT on operant food intake in food-deprived pigs. *Physiol. Behav*, v.67, p.213-217, 1999.

EBENEZER, I.S.; VELLUCCI, S.V.; PARROTT, R.F. The differential effects of intravenously administered 8-OH-DPAT on operant food intake in satiated and food-deprived pigs are mediated by central 5-HT(1A) receptors. *Physiol. Behav*, v. 73, p.223-227, 2001.

EBENEZER, I.S.; TITE, R.M. Differential effects of the 5-HT1A agonist gepirone on food intake in rats may depend on their motivation to eat. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol*, v.25, p.727-731, 2003.

EBENEZER, I.S.; ARKLE, M.J.; TITE, R.M. 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin inhibits food intake in fasted rats by an action at 5-HT1A receptors. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, v.29, p.269-272, 2007.

ECKEL, L.A.; LANGHANS, W.; KAHLER, A.; CAMPFIELD, L.A.; SMITH, F.J.; GEARY, N. Chronic administration of OB protein decreases food intake by selectively reducing meal size in female rats. *Am J Physiol*, v.275, p.186–193, 1998.

ECKEL, L.A.; HOUP, T.A.; GEARY, N. Spontaneous meal patterns in female rats with and without access to running wheels. *Physiol Behav*, v.70, p.397-405, 2000.

ECKEL, L.A.; MOORE, S.R. Diet-induced hyperphagia in the rat is influenced by sex and exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.287, n.5, p.1080-1085, 2004.

ECKEL, L.A.; RIVERA, H.M.; ATCHLEY, D.P. The anorectic effect of fenfluramine is influenced by sex and stage of the estrous cycle in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, v.288, p.1486-1491, 2005.

ELMQUIST, J.K.; BJØRBAEK, C.; AHIMA, R.S.; FLIER, J.S.; SAPER, C.B. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J Comp Neurol*, v.395, p.535-547, 1998.

ELIAS, C.F.; LEE, C.; KELLY, J.; ASCHKENASI, C.; AHIMA, R.S.; COUCEYRO, P.R.; KUHAR, M.J.; SAPER, C.B.; ELMQUIST, J.K. Leptin activates hypothalamic CART neurons projecting to the spinal cord. *Neuron*, v.21, n.6, p.1375-1385, 1998.

FAN, W.; BOSTON, B.A.; KESTERSON, R.A.; HRUBY, V.J.; CONE, R.D. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*, v.385, p.165-168, 1997.

FAN, W.; DINULESCU, D.M.; BUTLER, A.A.; ZHOU, J.; MARKS, D.L.; CONE, R.D. The central melanocortin system can directly regulate serum insulin levels. *Endocrinology*, v.141, p.3072-3079, 2000.

FAROOQI, I.S.; KEOGH, J.M.; YEO, G.S.; LANK, E.J.; CHEETHAM, T.; O'RAHILLY, S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N Engl J Med*, v.348, n.12, p.1085-1095, 2003.

FLIER, J.S. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell*, v.116, p.337-350, 2004.

FINGER, F. Estrus and general activity in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, v. 68, n.3, p.461-466, 1969.

FLETCHER, P.J. Increased food intake in satiated rats induced by the 5-HT antagonists methysergide, metergoline and ritanserin. *Psychopharmacology*, v.96, p.237-242, 1988.

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. *Pharmacol Biochem Behav*, v.46, p.487-491, 1993.

FREEMAN, M.E. The ovarian cycle of the rat. In: E. Knobil & J. Neil. *Physiology of reproduction*. Raven Press Ltd, p. 1893-1928, 1988.

FREEMAN, M.E. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. In: Knobil, E; Neil, JD. *The physiology of reproduction*. San Diego (CA): Academic Press & Elsevier. Third edition, p.2327-2388, 2006.

GAO, Q; HORVATH, T.L. Cross talk between estrogen and leptin signalling in the hypothalamus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, v.294, p.817-E826, 2008.

GEARY, N.; ASARIAN, L. Cyclic estradiol treatment normalizes body weight and test meal size in ovariectomized rats. *Physiol Behav*, v.67, p.141-147, 1999.

GEARY, N. Estradiol, CCK and satiation. *Peptides*, v.22, n.8, p.1251-1263, 2001.

GILBERT, F.; DOURISH, C.T. Effects of the novel anxiolytics gepirone, buspirone and ipsapirone on free feeding and on feeding induced by 8-OH-DPAT. *Psychopharmacology*, v.93, p.349-352, 1987.

GREEN, A.R. Neuropharmacology of 5-hydroxytryptamine. *Br J Pharmacol*, v.147, p.S145-S152, 2006.

GRIEBEL, G.; RODGERS, R.J.; PERRAULT, G.; SANGER, D.J. The effects of compounds varying in selectivity as 5-HT(1A) receptor antagonists in three rat models of anxiety. *Neuropahrmacology*, v. 39, p.1848-1857, 2000

GUNDLAH, C.; SIMON, L.D.; AUERBACH, S.B. Differences in hypothalamic serotonin between estrous phases and gender: an in vivo microdialysis study. *Brain Res*, p.785:911-916, 1998.

HALFORD, J.C.; BLUNDEL, L J.E. The 5-HT1B receptor agonist CP-94,253 reduces food intake and preserves the behavioural satiety sequence. *Physiol Behav*, v.60, n.3, p.933-939, 1996.

HALFORD, J.C.; WANNINAYAKE, S.C.D.; BLUNDELL, J.E. Behavioral Satiety Sequence (BSS) for the Diagnosis of Drug Action on Food Intake. *Pharmacol Biochem Behav*, v.61, n.2, p.159-168, 1998.

HALFORD, J.C.; BLUNDEL, L J.E. Separate systems for serotonin and leptin in appetite control. *Ann Med*, v.32, n.3, p. 222-232, 2000.

HALFORD, J.C.G; HARROLD, J.A; BOYLAND, E.J; LAWTON, C.L; BLUNDELL, J.E. Serotonergic Drugs: Effects on Appetite Expression and Use for the Treatment of obesity. *Drugs*, v.67, n.1, p.27-55, 2007.

HEISLER, L.K.; COWLEY, M.A.; TECOTT, L.H.; FAN, W.; LOW, M.J.; SMART, J.L.; ET AL. Activation of central melanocortin pathways by fenfluramine. *Science*, v.297, p.609-611, 2002.

HEISLER, L.K.; JOBST, E.E.; SUTTON, G.M.; ZHOU, L.; BOROK, E.; THORNTON-JONES, Z.; ET AL. Serotonin Reciprocally Regulates Melanocortin Neurons to Modulate Food Intake. *Neuron*. v.51, p.239-249, 2006.

HENTGES, S.T.; NISHIYAMA, M.; OVERSTREET, L.S.; STENZEL-POORE, M.; WILLIAMS, J.T.; LOW, M.J. GABA release from proopiomelanocortin neurons. *J Neurosci*, v.24, p.1578-1583, 2004.

HERBERG, L.J.; BLUNDELL, J.E. Lateral hypothalamus: hoarding behavior elicited by electrical stimulation. *Science*, v.155, p.349-350, 1967.

HETHERINGTON, A.W.; RANSON, S.W. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat Rec*, v.78, p.149-172, 1940.

HEWITT, K.N.; LEE, M.D.; DOURISH, C.T.; CLIFTON, P.G. Serotonin 2_C receptor agonists and the behavioural satiety sequence in mice. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.691-700, 2000.

HJORTH, S.; MAGNUSSON, T. The 5-HT_{1A} receptor agonist, 8-OH-DPAT, preferentially activates cell body 5-HT autoreceptors in rats brain in vivo. Naunyn Schmiedebergs *Arch. Pharmacol*, v.338, p. 463-471, 1988.

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

HORVATH, T.L.; BECHMANN, I.; NAFTOLIN, F.; KALRA, S.P.; LERANTH, C. Heterogeneity in the neuropeptide Y-containing neurons of the rat arcuate nucleus: GABAergic and non-GABAergic subpopulations. *Brain Res*, 756: 283-286, 1997.

HORVATH, T.L. The hardship of obesity: a soft-wired hypothalamus. *Nat Neurosci*, v.8, p. 561-565, 2005.

HUTSON, P.H.; DOURISH, C.T.; CURZON, G. Neurochemical and behavioural evidence for mediation of the hyperphagic action of 8-OH-DPAT by 5-HT cell body autoreceptors. *Eur J Pharmacol*, v.129, p.347-352, 1986.

INAN, Q.A.; JABEEN, B.; HALEEM, M.A.; HALEEN, D.J. Long-term consumption of sugar-rich diet decreases the effectiveness of somatodendritic serotonin-1a receptors. *Nutritional Neuroscience*, v.11, n.6. p.277-282, 2008.

JIA, Y.; EL-HADDAD, M.; GENDY, A.; NGUYEN, T.; ROSS, M. G. Serotonin-Induced Region-Specific Responses of the Arcuate and Ventromedial Hypothalamic Nuclei. *International Journal of Neuroscience*, v.120, p.386–395, 2010.

KALRA, S.P.; DUBE, M.G.; PU, S.; XU, B.; HORVARTH T.L.; KALRA, P.S. Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev*, v.20, p.68-100, 1999.

KALRA, P.S. Appetite and body weight regulation: is it all in the brain? *Neuron*, v.19, p.227, 1997.

KASTIN, A.J.; AKERSTROM, V.; PAN, W. Interactions of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with the blood-brain barrier. *J Mol Neurosci*, v.18, n.1-2, p.7-14, 2002.

KAYE, W.H.; BAILER, U.F.; FRANK, G.K.; WAGNER, A.; HENRY, S.E. Brain imaging of serotonin after recovery from anorexia and bulimia nervosa. *Physiol Behav*, v.86, p.15–17, 2005.

KELLERT, B.A.; NGUYEN, M.C.; NGUYEN, C. ET AL. Estrogen rapidly attenuates cannabinoid-induced changes in energy homeostasis. *Eur J Pharmacol*, v.622, p.15–24, 2009.

KENNETT, G.A.; CURZON, G. Evidence that hypophagia induced by mCPP and TFMPP requires 5-HT_{1C} and 5-HT_{1B} receptors; hypophagia induced by RU 24969 only requires 5-HT_{1B} receptors. *Psychopharmacology*, v.96, n.1, p.93-100, 1988.

KITAMURA, T.; FENG, Y.; KITAMURA, Y.I.; CHUA, S.C.; XU, A.W.; BARSH, G.S.; ROSSETTI, L.; ACCILI, D. Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake. *Nat Med*, v.12, p.534–540, 2006.

KRISTENSEN, P.; JUDGE, M.E.; THIM, L.; RIBEL, U.; CHRISTJANSEN, K.N.; WULFF, B.S.; CLAUSEN, J.T.; JENSEN, P.B.; MADSEN, O.D.; VRANG, N.; LARSEN, P.J.; HASTRUP, S. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature*, v.393, p.72–76, 1998.

KITAMURA, T.; FENG, Y.; KITAMURA, Y.I.; CHUA, S.C.; XU, A.W.; BARSH, G.S.; ET AL. Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake. *Nat Med*, v.12, p.534–540, 2006.

LAKOSKI, J.M.; CUNNINGHAM, K.A. The interaction of cocaine with central serotonergic neuronal systems: cellular electrophysiologic approaches. *NIDA Res Monogr*, v.88, p.78–91, 1988.

LAVIANO, A.; MEGUID, M.M.; GLEASON, J.R.; YANG, Z.J.; RENVYLE, T. Comparison of long-term feeding pattern between male and female Fischer 344 rats: influence of estrous cycle. *Am J Physiol*, v.270, p.413–419, 1996.

LEIBOWITZ, S.F.; ALEXANDER, J.T. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biol Psychiatry*, v.44, p.851–864, 1998.

LEE, M.D.; SIMANSKY, K.J. CP-94, 253: a selective serotonin1B (5-HT1B) agonist that promotes satiety. *Psychopharmacology*, v.131, n.3, p.264–270, 1997.

LEE, Y.S.; CHALLIS, B.G.; THOMPSON, D.A.; YEO, G.S.; KEOGH, J.M.; MADONNA, M.E. ET AL. A POMC variant implicates betamelanocyte-stimulating hormone in the control of human energy balance. *Cell Metab*, v.3, p.135–140, 2006.

LEIBOWITZ, S.F. ET AL. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiol. Behav*, v.27, p.1031–1040, 1981.

LEIBOWITZ, S.F. ALEXANDER, J.T. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biol Psychiatry*, v.44, p.851-864, 1998.

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

LU, N.Z.; BETHEA, C.L. Ovarian steroid regulation of 5-HT_{1A} receptor binding and G protein activation in female monkeys. *Neuropsychopharmacology*, v.27, p.12-24, 2002.

MASWOOD, S.; STEWART, G.; UPHOUSE, L. Gender and estrous cycle effects of the 5-HT_{1A} agonist (8-OH-DPAT) on hypothalamic serotonin. *Pharmacol Biochem Behav*, v.51, p.807-813, 1995.

MANCILLA-DIAZ, J.M.; ESCARTIN-PEREZ, R.E.; LOPEZ-ALONSO, V.E.; FLORAN-GARDUÑO, B.; ROMANO-CAMACHO, J. Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the hypophagic effect of 5-HT on the structure of feeding behavior. *Med Sci Monit*, v.11, p.74-79, 2005.

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, p.498-503, 2011.

MARGULES, D.L. Alpha-adrenergic receptors in hypothalamus for the suppression of feeding behavior by satiety. *J Comp Physiol Psychol*, v.73, p.1-12, 1970.

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

MAYER, J. THOMAS, D.W. Regulation of food intake and obesity. *Science*, v.156, p. 328-337, 1967.

MEISTER, B. Neurotransmitters in key neurons of the hypothalamus that regulate feeding behavior and body weight. *Physiology & Behavior*, v.92, p.263-271, 2007.

MOKROSZ, J.J., PALUCHOWSKA, M.H., CHOJNACKA-WOJEIK,E., FILIP, M., CHARAKCHIEVA-MINOL, S., DERENWESOLEK,A., MOKROSZ, M.J. Structure-activity relationship studies of central nervous system agents. 4-[3-(Benzotriazol-1yl)propyl]-1-(2-methoxyphenyl) piperazine, a new putative 5-HT1A receptor antagonist and its analogs. *J Med Chem*, v.37, p.2754–2760, 1994.

MORIEN, A.; MCMAHON, L.; WELLMAN, P.J. Effects on food and water intake of the α -adrenoceptor agonists amidephrine and sk&f-89748. *Life Sciences*, v.53, p.169-174, 1993.

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, p.289–295, 2006.

MOURA, P.R.; VIDAL, F.A.P. Transdução de sinais: uma revisão sobre proteína G. *Scientia Medica*, v.21, n.1, p. 31-36, 2011.

MURPHY, M.; BARRANCO, J.; ECKEL, L.A. Time course of estradiol's inhibitor effect on meal size in female rats. *Appetite Abstr*, v.37, p.154, 2001.

MURPHY, K.G; BLOOM, S.R. Gut hormones and the regulation of energy homeostasis. *Nature*. v.444, p.854-859, 2006.

MUST, A.; SPADANO, J.; COAKLEY, E.H.; FIELD, A.E.; COLDITZ, G.; DIETZ, W.H. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA*, v.282, n.16, p.1523-1539, 1999.

MUSATOV, S.; CHEN, W.; PFAFF, D.W.; ET AL. Silencing of estrogen receptor α in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci, U S A*, v.104, p.2501–2506, 2007.

NAKAZATO, M.; MURAKAMI, N.; DATE, Y.; KOJIMA, M.; MATSUO, H.; KANGAWA, K.; MATSUKURA, S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, v.409, p.194–198, 2001.

NONAKA, N.; SHIODA, S.; NIEHOFF, M.L.; BANKS, W.A. Characterization of blood-brain barrier permeability to PYY3-36 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, v.306, n.3, p.948-953, 2003.

NELSON, L.R.; BULUN, S.E. Estrogen production and action. *J Am Acad Dermatol*, v.45, p.S116–S124, 2001.

NISWENDER, K.D.; SCHWARTZ, M.W. Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities. *Front Neuroendocrinol*, v.24, p.1-1, 2003.

NONOGAKI, K.; STRACK, A.M.; DALLMAN, M.F.; TECOTT, L.H. Leptin-independent hyperphagia and type 2 diabetes in mice with a mutated serotonin 5-HT_{2C} receptor gene. *Nat Med*, v.4, p. 1152-1156, 1998

NONOGAKI, K. 5-HT and NA reuptake inhibitors and appetite regulation: The role of central 5-HT network. *Immun. Endoc & Metabol Agents in Med Chem*, v.8, p.303-310, 2008.

NORSTED, E.; GOMUÇ, B.; MEISTER, B. Protein components of the blood-brain barrier (BBB) in the mediobasal hypothalamus. *J Chem. Neuroanat*, v.36, p.107-121, 2008.

OGDEN, C.L.; CARROLL, M.D.; CURTIN, L.R.; MCDOWELL, M.A.; TABAK, C.J.; FLEGAL, K.M. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *JAMA*, v.295, n.13, p.1549-1555, 2006.

OLLMANN, M.M.; WILSON, B.D.; YANG, Y.K.; KERNS, J.A.; CHEN, Y.; GANTZ, I.; BARSH, G.S. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agoutirelated protein. *Science*, v.278, p.135-138, 1997.

OTTONI, E.B. EthoLog 2.2: a tool for the transcription and timing of behaviour observation sessions. *Behav Res Meth Instrum Comput*, v.32, p.446-449, 2000.

PARKER, G.C.; COSCINA, D.V. Lesions of the posterior basolateral amygdala block feeding induced by systemic 8-OH-DPAT. *Pharmacol Biochem Behav*, v.68, p.729-734, 2001.

PARKER, G.C.; BALBOUL, R.; HOBDAV, J.A.; COSCINA, D.V. 5-HT receptor blockade in the posterior amygdala elicits feeding in female rats. *NeuroReport*, v.12, p.911-914, 2001.

PARKER, G.C.; BISHOP, C.; COSCINA, D.V. Estrous cycle and food availability affect feeding induced by amygdala 5-HT receptor blockade. *Pharmacol Biochem Behav*, v.71, p.701-707, 2002.

PAZOS, A.; PALACIOS, J.M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I serotonin-1 receptors. *Brain Res*, v.346, p.205-230, 1985.

PAUWELS, P.J. 5-HT receptors and their ligands. *Tocris Rev*, v.25, p.1-12, 2003.

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

PECINS-THOMPSON, M.; BETHEA, C.L. Ovarian steroid regulation of serotonin-1A autoreceptor messenger RNA expression in the dorsal raphe of rhesus macaques. *Neuroscience*, v.89, p.267-277, 1999.

PESSOA-MAHANA, H.; ARAYA-MATURANA, R.; SAITZ, C.; PESSOA- MAHAMA, H. *MiniReviews in Medicinal Chemistry*, v.3, p.77, 2003.

POLTER, A.M; Li, X. 5HT1A receptor-regulated signal transduction pathways in brain. *Cellular Signalling*, v.22, p. 1406-1412, 2010.

QIU, J.; BOSCH, M.A.; TOBIAS, S.C.; ET AL. Rapid signaling of estrogen in hypothalamic neurons involves a novel G-protein- coupled estrogen receptor that activates protein kinase C *J Neurosci*, v.23, p.9529–9540, 2003.

QIU, J.; BOSCH, M.A.; TOBIAS, S.C.; ET AL. A G-proteincoupled estrogen receptor is involved in hypothalamic control of energy homeostasis. *J Neurosci*, v.26, p.5649–5655, 2006.

RACOTTA, R.; SOTO-MORA, L.M.; PALACIOS, E.; QUEVEDO, L. Norepinefrine Inhibition of Water and food intake: Comparasion with vasopressin effects. *Physiology & Behavior*, v.57, n.1, p.141-145, 1995.

RIBAS, A.S.; FLORES, R.A.; 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, p. 220-229, 2012.

RIEDIGER, T.; TRAEBERT, M.; SCHMID, H.A.; ET AL. SITE-specific effects of ghrelin on the neuronal activity in the hypothalamic arcuate nucleus. *Neurosci Lett*, v.341, p.151–155, 2003.

RIVERA, H.M.; ECKEL, L.A. The anorectic effect of fenfluramine is increased by estradiol treatment in ovariectomized rats. *Physiol Behav*, v.86, p.331-337, 2005.

REIS, L.C; ALMEIDA, A.C; CEDRAZ-MEREEZ, P.L; OLIVARES, E.L; MARINHO, JR. A; THOMAZ, C.M. Evidence indicating participation of the serotonergic system in controlling feeding behavior in *Coturnix japonica* (Galliformes: Aves). *Braz J Biol*, v.65, p.353–361, 2005.

SALAMANCA, S.; UPHOUSE, L. Estradiol modulation of the hyperphagia induced by the 5-HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT, *Pharmacol Biochem Behav*, v.43, n.3, p.953–955, 1992.

SAKIRA ARORA, A. Role of neuropeptides in appetite regulation and obesity – A review. *Neuropeptides*, v.40, p.375–401, 2006.

SAMANIN, R.; MENNINI, T.; BENDOTTI, C., BARONE, D.; CACCIA, S.; GARATTINI, S. Evidence that central 5-HT₂ receptor do not play an important role in the anorectic activity of d-fenfluramine in the rat. *Neuropharmacology*, v.28, n.5, p.465-469, 1989.

SÁNCHEZ-LASHERAS, C.; KÖNNER, A.C.; BRÜNING, J.C. Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, v.31, p.4–15, 2010.

SANTOLLO, J.; TORREGROSSA, A.; ECKEL, L. Estradiol acts in the medial preoptic area, arcuate nucleus, and dorsal raphe nucleus to reduce food intake in ovariectomized rats. *Hormones and Behavior*, v.60, p.86-93, 2011.

SIMPSON, K.A; MARTIN, N.M; BLOOM, S.R. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v.53, n.2, p.120-128, 2009.

SCHWARTZ, M.W. Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology*, v.130, p.3608–3616, 1992.

SCHWARTZ, M.W.; WOODS, S.C.; PORTE, D. JR.; SEELEY, R.J.; BASKIN, D.G. Central nervous system control of food intake. *Nature*, v.404, p.661–67, 2000.

SHARPE, R.M. The roles of oestrogen in the male. *Trends Endocrinol Metab.* 9:371–377, 1998

SIMANSKY, K.J. Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behav Brain Res*, v.73, n.1-2, p.37-42, 1996.

SMALL, C.J; BLOOM, S.R. Gut hormones as peripheral anti obesity targets. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, v.3, n.5, p.379-88, 2004.

SPROUSE, J.S.; AGHAJANIAN, G.K. Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to the 5-HT1A and 5-HT1B agonists. *Synapse*, v.1, p.3–9, 1987.

STANLEY, S.; WYNNE, K.; MCGOWAN, B.; BLOOM, S. Hormonal regulation of food intake. *Physiol Rev*, v.85, n.4, p.1131, 2005.

STEFFENS, S.M.; DA CUNHA, I.C.; BECKMAN, D.; LOPES, A.P.; FARIA, M.S.; MARINO-NETO, J.; PASCHOALINI, M.A. The effects of metergoline and 8-OH-DPAT injections into arcuate nucleus and lateral hypothalamic area on feeding in female rats during the estrous cycle. *Physiol Behav*, v. 95, n.3, p.484-491, 2008.

STEFFENS, S.M. *Ingestão de alimento após a ativação de receptores 5-HT1A do núcleo arqueado do hipotálamo e da área hipotalâmica lateral de ratas em duas fases do ciclo estral*. 2009. Tese (Doutorado em Neurociências)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

STEFFENS, S.M.; BECKMAN, D.; FARIA, M.S.; MARINO-NETO, J.; PASCHOALINI, M.A. WAY100635 blocks the hypophagi induced by 8-OH-DPAT in the hypothalamic nuclei. *Physiology & Behavior*. v.99, p. 632-637, 2010.

STELLAR E. The physiology of motivation. *Psychol Rev*, v.61, p. 5-22, 1954

SUZUKI, K.; SIMPSON, K.A.; MINNION, J.S.; SHILLITO, J.C.; BLOOM, S.R. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocrine Journal*, v.57, n.5, p.359-372, 2010.

SWIERGIEL, A.H.; DUNN, A.J. Lack of evidence for a role of serotonin in interleukin-1-induced hypophagia. *Pharmacol Biochem Behav*, v.65, n.3, p.531-537, 2000.

SUZUKI, K.; SIMPSON, K.A.; MINNION, J.S.; SHILLITO, J.C.; BLOOM, S.R. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocrine Journal*, v.57, n.5, p.359-372, 2010.

TANAKA, J. Alfa-Adrenergic control of ANG II-induced drinking in the rat median preoptic nucleus. *Physiology & Behavior*, v.77, p.155-160, 2002.

TWAROG, B.M.; PAGE, I.H. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol*, v.175, p.157-161, 1953.

UPHOUSE, L.; SALAMANCA, S.; CALDAROLA-PASTUSZKA, M. Gender and estrous cycle differences in the response to the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT. *Pharmacol Biochem Behav*, v.40, n.4, p.901-906, 1991.

VALASSI, E.; SCACCHI, M.; CAVAGNINI, F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, v.18, n.2, p.158-168, 2008.

VERGÉ, D.; DAVAL, G.; MARCINKIEWICZ, M.; PATEY, A.; EL MESTIKAWY, S.; GOZLAN, H.; HAMON, M. Quantitative autoradiography of multi 5-HT₁ receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *J Neurosci*, v.6, p.3474-3482, 1986.

VILLA, P.S.; CAMARGO, G.M.A.; CAMARGO, L.A.A.; SAAD, W.A. Activation of serotonergic 5-HT_{1A} receptor in the paraventricular nucleus of the hypothalamus inhibs water intake and increases urinary excretion in water-deprived rats. *Regulatory Peptides*, v.150, p.14–20, 2008.

WADE, G.N.; GRAY, J.M.; BARTNESS, T.J. Gonadal influences on adiposity, *Int. J. Obes*, v.9 (Suppl. 1), p.83–92, 1985.

WATTS, S.W. 5-HT in systemic hypertension: foe, friend or fantasy? *Clin Sci*, v.108, p.399-412, 2005.

WREN, A.M.; SMALL, C.J.; ABBOTT, C.R.; DHILLO, W.S.; SEAL, L.J.; COHEN, M.A.; BATTERHAM, R.L.; TAHERI, S.; STANLEY, S.A.; GHATEI, M.A.; BLOOM, S.R. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats, *Diabetes*, v.50, n.11, p. 2540–2547, 2001.

WELLMAN, P.J.; DAVIES, B.T. Reversal of Phenylpropanolamine Anorexia in Rats by the Alpha-1 Receptor Antagonist Benoxathian. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, v.38, p.905-908, 1991.

WELLMAN, P.J.; DAVIES, B.T.; MORIEN, A.; MCMAHON, L. Modulation of feeding by hypothalamic paraventricular nucleus α - and α 2-adrenergic receptors. *Life Sciences*, v.53, p.669-679, 1993.

WELLMAN, P.J. Norepinefrine and the control of food intake. *Nutrition*, v.16, n.10, p.837-842, 2000.

WESOŁOWSKA A, PALUCHOWSKA M, CHOJNACKA-WÓJCIK E. Involvement of presynaptic 5-HT(1A) and benzodiazepine receptors in the anticonflict activity of 5-HT(1A) receptor antagonists. *Eur J Pharmacol*, v.471, p.27-34, 2003.

WYNNE, K.; STANLEY, S.; MCGOWAN, B.; BLOOM, S. Appetite Control. *Journal of Endocrinology*, v.184, p.291-318, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Consultation on Obesity. Preventing and Managing the Global Epidemic. Geneva: *World Health Organization*, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Genomics and World Health, *Report of the Advisory Committee on Health Research – Summary*. 2002.

ZHUANG, X.; GROSS, C. SANTARELLI, L.; COMPAN, V.; TRILLAT, A.C; HEN, R. Altered Emotional States in Knockout Mice Lacking 5-HT1A or 5-HT1B Receptors. *Neuropsychopharmacology*, v.21, n.2S, p. 52S – 60S, 1999.