

UFRRJ

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

CIÊNCIAS CLÍNICAS

DISSERTAÇÃO

**Depleção Cerebral de Serotonina Durante o
Período Neonatal Programa a Homeostase
Metabólica Energética e a Expressão
Comportamental de Ratos Adultos**

Rodrigo Mencialha Moreira

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CIÊNCIAS CLÍNICAS

DEPLEÇÃO CEREBRAL DE SEROTONINA DURANTE O
PERÍODO NEONATAL PROGRAMA A HOMEOSTASE
METABÓLICA ENERGÉTICA E A EXPRESSÃO
COMPORTAMENTAL DE RATOS ADULTOS

RODRIGO MENCALHA MOREIRA

Sob a Orientação do professor

LUIS CARLOS REIS

e Co-orientação do Professor

WELLINGTON DA SILVA CÔRTEZ

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae em Medicina Veterinária**, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Ciências Clínicas

Seropédica, RJ

Agosto de 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(CIÊNCIAS CLÍNICAS)

RODRIGO MENCALHA MOREIRA

Dissertação/Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária** no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Patologia e Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO (TESE) APROVADA EM ----/----/----- (Data da defesa)

Luis Carlos Reis. Ph.D. UFRuralRJ
(Orientador)

Emerson Lopes Olivares. Ph.D. UFRuralRJ

Fabio Fagundes da Rocha. Ph.D. UFRuralRJ

Patrícia Fidelis de Oliveira Ph.D. UFU

DEDICATÓRIA

Aos meus amados pais, Antonio e Cidinéia, a minha família, a minha namorada, e aos meus verdadeiros amigos, com todo o meu amor e carinho pelo apoio incondicional a minha formação acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Luis Carlos Reis, nosso eterno mestre, que me acolheu em um difícil momento da minha vida, e, sobretudo, pela confiança depositada na realização, “em tempo recorde”, do nosso projeto de pesquisa. Pelo exemplo de dedicação e humildade que nos faz refletir a cada dia sobre os valores do ser humano. Pela amizade e respeito conquistado durante este árduo período de trabalho.

Ao Prof. Dr. Wellington da Silva Côrtes, pelo esforço memorável de orientação que antecedeu o ingresso na pós-graduação. Pelo exemplo de bondade, paciência, dedicação e, sobretudo, pelo seu incrível caráter.

Ao Prof. Msc. Edgard Salomão Jr, meu eterno orientador, que me fez despertar o interesse pela docência e participou ativamente do meu crescimento intelectual. Pela amizade, orientação e pelo exemplo de dedicação incondicional a Medicina Veterinária.

As Professoras Dr. Rosana Botelho e Dr. Marta Fernanda pela amizade e pelo apoio nos momentos de “depressão” e desilusão. Pelas inúmeras oportunidades de exercer o estágio a docência e pelo incentivo na jornada acadêmica.

Ao Prof. Dr. Fábio Fagundes da Rocha, pelo auxílio fundamental na avaliação dos testes envolvendo os modelos comportamentais.

Aos todos os professores do Departamento de Ciências Fisiológicas (DCF) pelo apoio incondicional para realização do meu experimento.

Aos Professores Doutores Emerson Lopes Olivares, Frederico Argollo Vanderlinde, Eduardo Borges Viana, Marcelo Abidu e Aivaldo Henrique da Fonseca, professores marcantes da minha graduação, pela influência na escolha da vida acadêmica.

Aos amigos e agregados do laboratório, André, Iracema, Gislaine, Fabrícia, Danilo, Cláudio e demais, pelos muitos dias de convivência, trabalho e lazer. Pela acolhida fantástica e amizade recíproca ao longo desse período.

Ao acadêmico de Medicina Veterinária, André de Souza Mecawi, meu “orientador”, pela magnífica ajuda ao longo desse período e pelos diversos ensinamentos proporcionados.

A Cidália, bibliotecária da Fundação Educacional Dom André Arcoverde, pelas inúmeras gentilezas que prestou ao longo desse período.

Aos companheiros da “Bolha”, Victor, Vinícius, Pablo, Guilherme, Igor, Rômulo e Agustinho pelos dias memoráveis e inesquecíveis de convívio. Pela amizade eterna que surgiu nesse grupo. Amo demais todos vocês!!!!

À minha namorada “obesa”, Patrícia, por todo amor e carinho a mim dedicados. Pela paciência extrema que teve ao longo desses sete meses e companherismo inacreditável.

Aos meus grandes amigos, Rafael Teixeira e Danilo Lustrino, por toda ajuda e incentivo em difíceis momentos vividos ao longo desse período.

Aos meus pais, Antonio e Cidinéia, e toda a minha família, que por mais três anos compartilharam comigo as dificuldades enfrentadas, as derrotas e as vitórias conquistadas.

A Deus, o mestre dos mestres, o grande maestro dessa orquestra chamada VIDA. Pela serenidade, paz e dignidade proporcionadas. Meu senhor e meu Deus, EU TE AMO!

Aos animais utilizados neste trabalho, que mesmo em silêncio, proporcionaram a cada dia novos conhecimentos a comunidade científica.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, a minha eterna e amada Rural, por me acolher durante esses sete anos. Esta relação parece ter chegado ao fim, porém, algo me diz para não lhe dar um adeus e sim um até breve!

“Toda uma corrente de acontecimentos brota da decisão, fazendo surgir a nosso favor toda a sorte de incidentes, encontros e assistência material que nenhum homem sonharia que viesse em sua direção. Qualquer coisa que possa fazer, ou sonhe que, possa fazer, comece a fazê-la agora. A ousadia tem em si genialidade, força e magia.”

Goethe

RESUMO

MENCALHA, Rodrigo. **Depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal programa a homeostase metabólica energética e a expressão comportamental de ratos adultos.** 2008. 81p Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

A depleção cerebral de serotonina (5-HT) durante o período neonatal acarreta uma alteração plástica na citoarquitetura do sistema serotoninérgico influenciando diretamente o desenvolvimento ontogênico de diversos sistemas cerebrais. Nesta dissertação objetivou-se elucidar a influência da depleção cerebral de 5-HT durante o período neonatal sobre a programação metabólica energética e expressão comportamental de ratos adultos. A depleção cerebral de 5-HT foi evocada com a administração subcutânea (s.c) de 100 mg. Kg⁻¹, de para-clorofenilalanina (pCPA), um inibidor competitivo da enzima triptofano hidroxilase, do oitavo ao décimo sexto dias pós-natais. A fim de investigar a influência da pCPA, durante e após o tratamento, sobre a programação metabólica do indivíduo, foram avaliadas a ingestão de leite e o ganho de peso corporal do período neonatal à vida adulta. Ademais, avaliando indiretamente esta influência sobre o metabolismo energético, foram investigadas as repercussões sobre a homeostase glicêmica através da mensuração basal e sob jejum da glicemia do rato adulto. Em relação ao comportamento ingestivo foram realizados protocolos em condições basais e sob jejum. Nestes ensaios experimentais foram avaliadas as ingestões de água, ração, sacarose 2% e NaCl 0,3 M. Outrossim, foram mensuradas as ingestões de NaCl 0,3 M após depleção de sódio (furosemida 20mg. Kg⁻¹, s.c) e de água após estímulo hipertônico (NaCl 1,0 M, s.c). A expressão comportamental foi avaliada através de modelos envolvidos com aspectos afetivo-comportamentais. Nesta análise, foi investigado o status de ansiedade dos ratos através dos testes de campo aberto, labirinto em cruz elevado (LCE), interação social e natação forçada. Os resultados demonstraram que o tratamento com pCPA diminui a ingestão de leite (P<0,001) e conseqüentemente o ganho de peso corporal no período neonatal (P<0,001), sustentando-se menor até a vida adulta (P<0,01). A homeostase glicêmica também foi afetada refletida nos menores níveis glicêmicos em machos-pCPA (P<0,01) e fêmeas pCPA (P<0,001) após jejum alimentar de 24 horas. Em relação às ingestões basais, foi observado um maior apetite por sódio em fêmeas-pCPA (P<0,05), além de uma maior procura pela solução de sacarose 2% em ambas as fêmeas (P<0,001). Sob jejum alimentar, foi observada uma menor ingestão cumulativa de ração em machos-pCPA aos 120 min (P<0,05) e maior ingestão em fêmeas-pCPA aos 60 (P<0,05) e 120 min (P<0,01). Ademais, após jejum hídrico, foi notada uma maior ingestão cumulativa de água em fêmeas-pCPA aos 120 min (P<0,05) em relação aos machos-pCPA. Observou-se ainda uma maior ingestão de água nos machos-pCPA aos 120 e 180 min (P<0,001) após estímulo hipertônico, porém, não foi observada diferença significativa na resposta natriorexigênica em ratos sódio-depletados. Além disso, foi observada uma evidente atividade ansiolítica no LCE expressa pelo maior tempo gasto no braço aberto (B.A) (P<0,05), maior número de episódios de head-dipping no B.A (P<0,001), menos episódios de S.AP. (P<0,001) e grooming (P<0,01). Em resumo, estes resultados demonstram que a depleção de 5-HT durante o período neonatal programa a homeostase metabólica energética e a expressão comportamental de ratos adultos.

Palavras-chave: serotonina, desenvolvimento ontogênico, programação metabólica.

ABSTRACT

MENCALHA, Rodrigo. **Brain serotonin depletion during neonatal period programme energetic metabolic homeostasis and behavioral expression of adulthood rats.** 2008. 81p. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine, Clinical Sciences) Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

Brain serotonin (5-HT) depletion during the neonatal period lead a plastic cytoarchitecture change of the serotonergic system influencing directly several brain systems ontogeny development. This dissertation was aimed to elucidate the influence of brain 5-HT depletion during the neonatal period on the metabolic programming and the behavioral expression of adulthood rats. Brain 5-HT depletion was raised with the subcutaneous (s.c) administration of 100 mg. Kg⁻¹ para-chlorophenylalanine (pCPA), a competitive inhibitor of the tryptophan hydroxylase enzyme, from the eighth at sixteenth post-natal days. In order to investigate the influence of pCPA on the subject metabolic programming, during and after treatment, the milk intake and body weight gain from the neonatal period to adulthood were evaluated. Furthermore, evaluating indirectly this influence on the energetic metabolism, the repercussions on the glycemic homeostasis through of the glycemia baseline measurements and under fasting in the adult rat were investigated. Around the ingestive behavior, baseline conditions paradigm and under fasting were made. In these experimental trials, water intake, ration, 2% sucrose and 0.3M NaCl were evaluated. Also, the 0.3 M NaCl intake after sodium depletion (furosemide 20mg. Kg⁻¹, s.c) and water intake after hypertonic stimulus (1.0 M NaCl, s.c) were measured. The behavioral expression was evaluated through models involved with emotional-behavioral signals. In this analysis, the rat's anxiety status was investigated through of open field test, elevated plus-maze (EPM), social interaction and forced swimming. The results showed that treatment with pCPA reduces milk intake (P<0.001) and therefore the body weight gain in the neonatal period (P<0.001), claiming to be smaller until adulthood (P<0.01). The glycemic homeostasis was also affected reflected in lower pCPA-male (P<0.01) and pCPA-female (P<0.001) levels after 24 hours of fasting. About to baseline intake, a higher pCPA-female sodium appetite (P<0.05), related to a greater demand for 2% sucrose solution in both females (P<0,001) were observed. Under fasting, a lower male-pCPA cumulative ration intake at 60 min (P<0.05) and a higher female pCPA at 60 (P<0.05) and 120 min (P<0.01) were observed. Furthermore, after water deprivation, a higher pCPA-female cumulative water intake at 120 min (P<0.05) compared with pCPA-male was rated. Was also observed a greater pCPA-male water intake at 120 and 180 min (P<0.001) after hypertonic stimulus, however, it was not observed significant difference in the natriorexigenic responses in sodium depleted rats. In addition, pCPA male showed a evident anxiolytic activity in EPM test expressed by the higher time spent in the open arm (O.A) (P<0.05), higher head-dipping in the O.A episodes (P<0.001), less S.A.P. (P<0.001) and grooming episodes (P<0.01). Therefore, these results showed that 5-HT depletion during the neonatal period programme the energetic metabolic homeostasis and the behavioral expression of adulthood rats.

Key words: serotonin, ontogeny development, metabolic programming.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação do Teste de Campo Aberto.....	40
Tabela 2 – Avaliação do Teste de Labirinto em Cruz Elevado (LCE).....	43
Tabela 3 – Avaliação do Teste de Interação Social.....	46
Tabela 4 – Avaliação do Teste de Natação Forçada.....	47
Tabela 5 – Ingestão Basal de Alimento.....	48
Tabela 6 – Ingestão Basal de NaCl 0,3 M.....	50
Tabela 7 – Ingestão Basal de Sacarose 2%.....	52
Tabela 8 – Ingestão de Água Destilada Após Indução de Hipernatremia.....	62
Tabela 9 – Ingestão de NaCl 0,3 M na Depleção de Sódio.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Síntese e metabolismo da serotonina.....	3
Figura 2 - Receptores serotoninérgicos e respectivas ações intracelulares.....	4
Figura 3 - Projeções serotoninérgicas.....	6
Figura 4 – Teste de campo aberto.....	24
Figura 5 – Teste de labirinto em cruz elevado (LCE).....	25
Figura 6 – Teste de natação forçada.....	26
Figura 7 – Gaiolas metabólicas.....	29
Figura 8 - Percentual da ingestão de leite em ratos neonatos durante o período correspondente ao tratamento com pCPA (8-16 DPN) em relação à linha de base, que corresponde à ingestão basal de leite do grupo controle e tratado.....	32
Figura 9 - Peso corporal de ratos neonatos do grupo controle e tratado durante o período correspondente ao tratamento com pCPA (8-16 DPN).....	33
Figura 10 - Ganho de peso corporal de ratos neonatos do grupo controle e tratado durante o período correspondente ao tratamento com pCPA (8-16 DPN).....	34
Figura 11A - Avaliação semanal do ganho de peso corporal de ratos do desmame (21 DPN) à vida adulta (56 DPN).....	36
Figura 11B - Avaliação semanal do ganho de peso corporal de ratas do desmame (21 DPN) à vida adulta (56 DPN).....	36
Figura 12 - Avaliação do peso corporal de ratos na vida adulta (56 DPN).....	37
Figura 13 - Número de quadrantes periféricos, médios e quadrante central explorados pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do campo aberto.....	39
Figura 14 - Episódios de grooming realizados pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do campo aberto.....	39
Figura 15A - Número de entradas nos braços aberto e fechado realizadas pelos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado (LCE).....	44
Figura 15B - Tempo gasto no braço aberto expresso em porcentagem realizado pelos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado (LCE).....	44

Figura 16 - Número de head-dippings nos braços aberto e fechado, realizados pelos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado.....	45
Figura 17 - Número de S.A.P. realizados pelos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado.....	45
Figura 18 - Ingestão cumulativa de água nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação hídrica.....	53
Figura 19 - Ingestão cumulativa de ração nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar..	55
Figura 20 - Ingestão cumulativa de sacarose 2% nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por sacarose.....	56
Figura 21 - Ingestão cumulativa de água nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por sacarose.....	57
Figura 22 - Preferência por sacarose 2% nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por sacarose.....	58
Figura 23 - Ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por NaCl 0,3 M.....	59
Figura 24 - Ingestão cumulativa de água nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por NaCl 0,3 M.....	60
Figura 25 - Preferência por NaCl 0,3 M nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por NaCl 0,3 M.....	61
Figura 26 - Avaliação da glicemia basal e sob jejum nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN) e expressão do delta glicemia.....	65

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

5,7-DHT	5,7 dihidroxitriptamina
5-HT	5 hidroxitriptamina
5-HT1A	Receptor 1A de 5 hidroxitriptamina
5-HT1B	Receptor 1B de 5 hidroxitriptamina
5-HT2A	Receptor 2A de 5 hidroxitriptamina
5-HT2C	Receptor 2C de 5 hidroxitriptamina
5-HT3	Receptor 3 de 5 hidroxitriptamina
8-OH-DPAT	Agonista de 5-HT1A
ADX	Adrenalectomizados
AHL	rea hipotalâmica lateral
ANG I	Angiotensina I
ANG II	Angiotensina II
ANP	Peptídeo natriurético atrial
AP	rea postrema
AT1	Receptor de angiotensina 1
CRF	Hormônio liberador de corticotropina
DNR	Núcleo dorsal da rafe mesencefálica
DPN	Dia pós-natal
FEC	Fluido extracelular
G	Grupo
GABA	cido gama amino butírico
icv	intracerebroventricular
IMMO	Tempo de imobilidade
H.D.	Head-dipping
LCE	Labirinto em cruz elevado
M	Molar
MAO	Monoaminaoxidase
MnPod	Núcleo mediano pr-óptico dorsal
MnPov	Núcleo mediano pr-óptico ventral
NMR	Núcleo medial da rafe mesencefálica

NPBL	Núcleo parabraquial lateral
NTS	Núcleo do trato solitário
OCF	Córtex orbitofrontal
OT	Ocitocina
p.c	Peso corporal
pCPA	para-clorofenilalanina
PEG	polietilenoglicol
PVN	Núcleo paraventricular
SAD	Desordens sazonais afetivas
S.A.P.	Stretched attend posture
s.c	Subcutâneo
SDAR	Receptor somatodendrítico
SFO	Órgão subfornicial
SHR	Ratos hipertensos espontaneamente
SNC	Sistema nervoso central
SON	Núcleo supra-óptico
SRAA	Sistema renina angiotensina aldosterona
TPH	Triptofano- hidroxilase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	1
2.1 Sistema Serotonérgico.....	1
2.2 Regulação Hidroeletrólítica.....	6
2.3 Regulação do Apetite por Sódio.....	8
2.4 Regulação da Ingestão Alimentar e do Balanço Energético.....	11
2.5 Regulação da Sede e da Ingestão de Água.....	12
2.6 Regulação da Emoção e Processos do Controle Comportamental.....	15
2.7 Depleção de Serotonina.....	17
3. OBJETIVOS	20
3.1 Objetivo Geral.....	20
3.2 Objetivos Específicos.....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 Animais.....	21
4.2 Drogas.....	21
4.3 Desmame.....	21
4.4 Tratamento.....	22
4.5 Avaliações.....	22
4.6 Protocolos Experimentais.....	22
4.7 Procedimentos Experimentais.....	22
4.7.1 Avaliações neonatais.....	22
4.7.1.1 ingestão de leite.....	22
4.7.2 Avaliações basais.....	23
4.7.2.1 experimentos envolvendo a atividade afetivo-comportamental.....	23
4.7.2.2 experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: ingestões basais.....	27
4.7.3 Avaliações sob estímulos.....	28
4.7.3.1 experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: ingestões sob jejum.....	28
4.7.3.2 experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: ingestões sob estímulos específicos sobre a indução do apetite por sódio e da sede.....	29
4.7.4 Avaliações glicêmicas.....	30
4.7.4.1 experimentos envolvendo a glicemia: mensuração basal e sob jejum.....	30
4.8 Análise Estatística.....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Avaliações do Peso Corporal e da Ingestão de Leite.....	31
5.1.1 Avaliação da ingestão de leite durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN).....	31
5.1.2 Avaliação do peso corporal durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN).....	33
5.1.3 Avaliação do ganho do peso corporal durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN)	34
5.1.4 Avaliação semanal do peso corporal do desmame (21 DPN) a vida adulta (56 DPN).....	35
5.1.5 Avaliação do peso corporal na vida adulta (56 DPN).....	37
5.1.6 Avaliação da taxa de mortalidade durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN).....	38
5.2 Avaliações Basais.....	38
5.2.1 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos na vida adulta no teste do campo aberto.....	38
5.2.2 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos adultos no teste do labirinto em cruz elevado (LCE).....	41
5.2.3 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos adultos no teste de interação social.....	46
5.2.4 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos adultos no teste de natação forçada.....	47
5.2.5 Avaliação da ingestão basal de alimento durante a vida adulta (60-75 DPN).....	48

5.2.6	Avaliação da ingestão basal de NaCl 0.3 M durante a vida adulta (60-75 DPN).....	49
5.2.7	Avaliação da ingestão basal de sacarose 2% durante a vida adulta (60-75 DPN).....	51
5.3	Avaliações Sob Estímulos.....	53
5.3.1	Avaliação da Ingestão de água sob privação hídrica durante a vida adulta (60-75 DPN).....	53
5.3.2	Avaliação da Ingestão de ração sob privação alimentar (ração e água) durante a vida adulta (60-75 DPN)	54
5.3.3	Avaliação da Ingestão de sacarose 2% sob privação alimentar (ração e água) durante a vida adulta (60-75 DPN)	56
5.3.4	Avaliação da ingestão de NaCl 0.3 M sob privação alimentar (ração e água) durante a vida adulta (60-75 DPN)	58
5.3.5	Avaliação da Ingestão de água após indução de hipernatremia (NaCl 1.0 M) durante a vida adulta (60-75 DPN)	62
5.3.6	Avaliação da Ingestão de NaCl 0.3 M após depleção de sódio durante a vida adulta (60-75 DPN)	63
5.3.7	Avaliação da glicemia basal em ratos durante a vida adulta (60-75 DPN).....	65
5.3.8	Avaliação da glicemia sob jejum em ratos durante a vida adulta (60-75 DPN).....	65
6.	CONCLUSÕES.....	66
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

1 INTRODUÇÃO

O sistema serotoninérgico exerce um papel bem conhecido sobre a homeostase orgânica. Além de atuar sobre a modulação da motilidade gastrointestinal e função plaquetária, a serotonina (5-HT) participa efetivamente da regulação hidroeletrólítica, modulando a sede e o apetite por sódio, ingestão alimentar, balanço energético, regulação da emoção e processos do controle comportamental. Ademais, este neurotransmissor participa efetivamente do desenvolvimento ontogênico de diversos sistemas cerebrais.

A depleção de 5-HT cerebral durante o período neonatal pode acarretar conseqüências irreversíveis ou duradouras ao indivíduo adulto em virtude de uma alteração plástica na citoarquitetura do sistema serotoninérgico. Portanto, é reforçada a hipótese que esta mudança na plasticidade neuronal possa alterar a programação metabólica energética dos seres. Este complexo fenômeno epigenético que acontece durante um período crítico da vida (i.e. lactação), é capaz de fornecer um fenótipo racional ao organismo através de ativação gênica. Além disso, também se postula a hipótese que esta alteração plástica do sistema serotoninérgico possa alterar a expressão comportamental dos indivíduos.

Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal, com para-clorofenilalanina (pCPA), sobre o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais, correlacionando suas repercussões com a homeostase metabólica energética e expressão comportamental de ratos adultos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sistema Serotoninérgico

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) é uma indolamina, produto da hidroxilação e descarboxilação do aminoácido L-triptofano. A maior parte da 5-HT no organismo é encontrada nas células enterocromafins do trato gastrointestinal, sendo o restante encontrado nas plaquetas e no sistema nervoso central (SNC). Diversos estudos têm mostrado sua participação na modulação da motilidade gastrointestinal, tônus vascular periférico, tônus vascular cerebral, além de exercer importante função plaquetária e na fisiopatologia de diversas desordens de humor, vômito, enxaquecas, síndrome do intestino irritável e hipertensão sistêmica e pulmonar (MOHAMMAD-ZADEH *et al.*, 2008).

Fisiologicamente, a serotonina exerce seus efeitos conjuntamente com uma modulação geral da atividade psíquica. Assim sendo, a 5-HT influencia quase todas as funções cerebrais, inibindo-a de forma direta ou estimulando o sistema GABA com participação sobre a regulação do humor, sono, atividade sexual, apetite, ritmo circadiano, funções neuroendócrinas, temperatura corporal, sensibilidade à dor, atividade motora e funções cognitivas (MOHAMMAD-ZADEH *et al.*, 2008).

Neurônios serotoninérgicos da rafe mesencefálica constituem um pequeno grupo de células multipolares que são distribuídas na linha mediana cerebral particularmente localizados nos núcleos mediano (NMR) e dorsal da rafe (NDR) (AZMITIA & SEGAL,

1978; AZMITIA, 2001; ABRAMS *et al.*, 2004). Reis, (2007) enfatizou o NDR como sendo o mais proeminente núcleo serotoninérgico cerebral, localizado na parte ventral da substância cinzenta periaquedutal cerebral, estendendo-se caudalmente até a porção rostral da ponte. Os neurônios serotoninérgicos do NDR são organizados em aglomerados celulares, em diversas subdivisões topográficas. A área ventromedial rostral é uma dessas regiões que possuem um contingente celular que é projetado para regiões prosencefálicas envolvidas com a regulação hidroeletrolítica e cardiovascular (AZMITIA & SEGAL, 1978; KUHN *et al.*, 1980; BOSLER & DESCARRIES, 1988; JACOBS & AZMITIA, 1992; AZMITIA, 2001). As projeções ascendentes do NDR são organizadas de maneira onipresente em conexão com uma extensiva distribuição cooperativa nas zonas terminais (AZMITIA, 1987, 2001). De acordo com a concepção da autora supracitada, múltiplos subtipos de neurônios serotoninérgicos participam da coordenação integrada de diferentes sistemas, como por exemplo, autonômico, neuroendócrino e comportamental (AZMITIA, 1987, 2001; JACOBS & AZMITIA, 1992). Estudos eletrofisiológicos mostraram diferentes subtipos de neurônios serotoninérgicos envolvidos exclusivamente em modelos comportamentais. Esta observação postula a hipótese que subpopulações de neurônios serotoninérgicos topograficamente organizados possam conter propriedades funcionais exclusivas associadas com a modulação de sistemas específicos prosencefálicos (ABRAMS *et al.*, 2004). Neurônios serotoninérgicos sintetizam 5-HT a partir do aminoácido triptofano (AZMITIA, 1987, 2001; BOADLE-BIBER, 1993; RUDDICK *et al.*, 2006) (Fig. 1). A transmissão serotoninérgica e subsequente liberação sináptica de 5-HT ocorrem de acordo com um modelo rítmico gerado espontaneamente e pode ser modulado por um auto-feed-back somatodendrítico (AZMITIA, 1987, 2001). Este fino sistema modulador é mediado através da ativação de auto-receptores 5-HT_{1A} somatodendríticos (SDAR) (BLIER *et al.*, 1998). A ação da 5-HT neste receptor evoca um decréscimo na taxa de ativação e subsequente decréscimo no *turnover* de 5-HT. Contudo, há um aumento da 5-HT nas sinapses somatodendríticas. Ocorre ainda um decréscimo proporcional na liberação deste neurotransmissor nas zonas terminais dos neurônios serotoninérgicos ascendentes no NDR (HUTSON *et al.*, 1989; INVERNIZZI *et al.*, 1991).

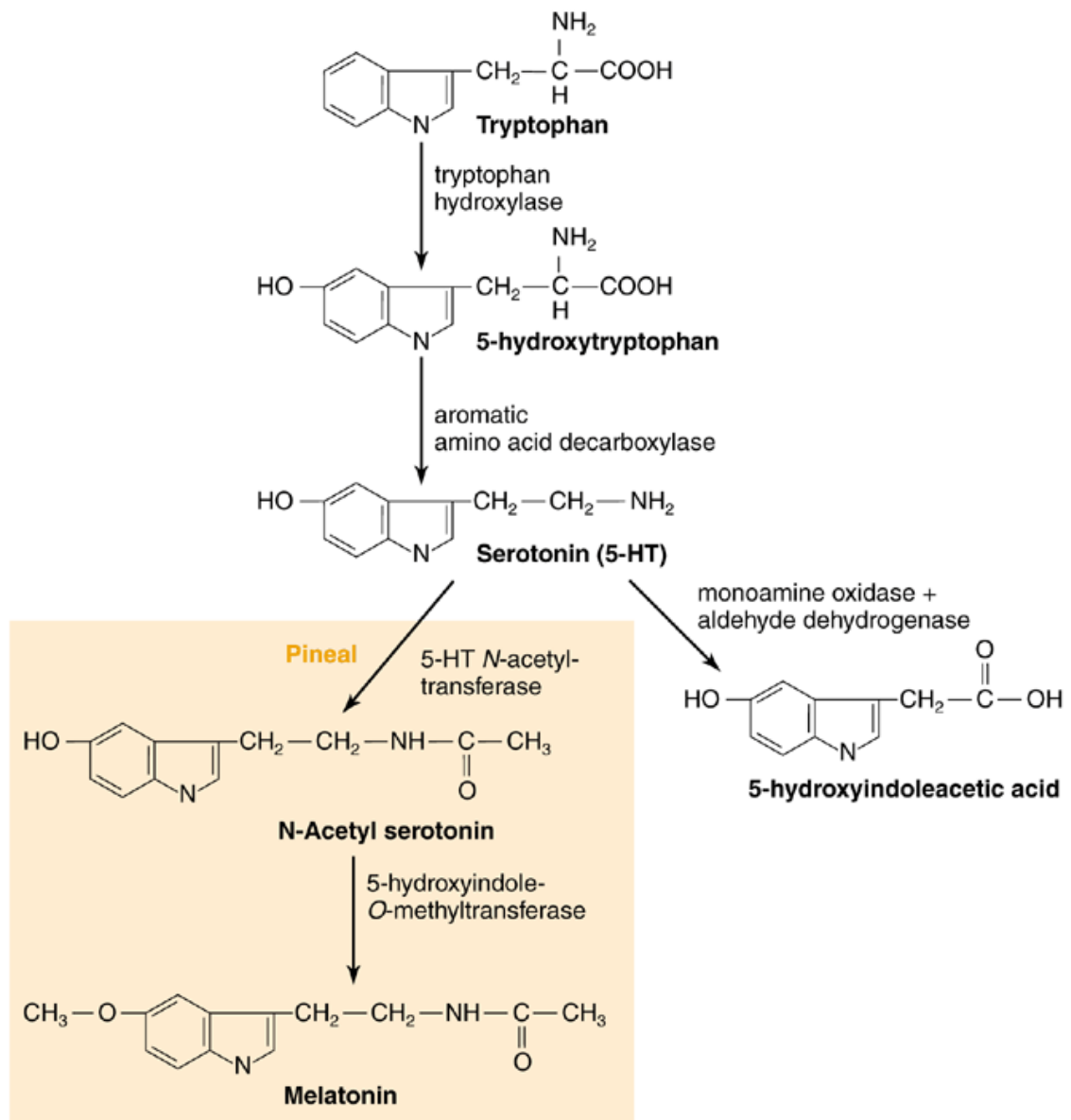


Figura 1. Síntese e Metabolismo da Serotonina. A serotonina é sintetizada a partir do aminoácido essencial triptofano. Este aminoácido é hidroxilado na posição 5 do anel aromático, pela enzima triptofano hidroxilase, dando origem ao 5-hidroxitriptofano (5-HTP). O 5-HTP é descarboxilado, pela enzima L-aromático aminoácido descarboxilase, dando finalmente origem a 5-hidroxitriptamina (5-HT ou serotonina). A 5-HT é metabolizada através de uma desaminação realizada pela enzima monoamina oxidase e desidrogenada pela enzima aldeído desidrogenase originando seu metabólito principal, o ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (LAM & HESLER, 2007).

A serotonina possui diversos receptores que são amplamente distribuídos pelo organismo. Esses receptores são divididos em 7 famílias, entre eles: 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₅, 5-HT₆, 5-HT₇. Com exceção do receptor 5-HT₃, pertencente à família de receptores acoplados a canais iônicos seletivamente permeáveis a sódio (Na⁺), potássio (K⁺) e cálcio (Ca⁺), os demais receptores estão incluídos na superfamília de receptores acoplados a proteína G (metabotrópicos). Sua estimulação afeta vários sistemas enzimáticos incluindo adenilato ciclase, fosfolipase A e C e canais de cátions, especialmente canais de K⁺ e Ca⁺⁺, através da ativação de proteínas G específicas (Fig. 2).

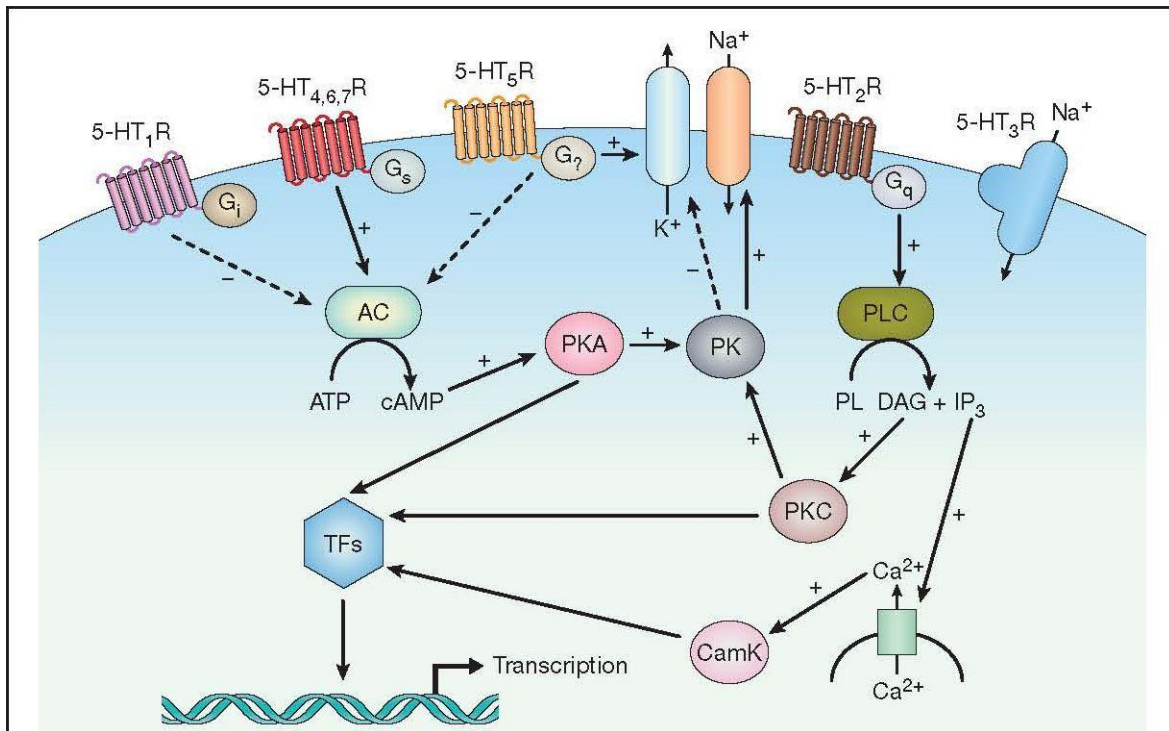


Figura 2. Receptores serotoninérgicos e respectivas ações intracelulares. Os receptores serotoninérgicos (5-HTRs) são agrupados em sete famílias baseados nas vias efeitoras intracelulares e seqüência homóloga. Com exceção aos 5-HT₃Rs, todos os receptores serotoninérgicos são acoplados a proteína G. Os 5-HT₄Rs, 5-HT₆Rs e 5-HT₇Rs são acoplados a G_s ativando a adenilato ciclase (AC). A AC sintetiza AMPc a partir do ATP. O AMPc ativa uma proteína quinase dependente de AMPc, também conhecida como proteína quinase A (PKA). A PKA fosforila proteínas quinases intermediárias (PKs), as quais modulam a atividade de canais catiônicos, resultando em despolarização neuronal. Em contraste, os 5-HT₁Rs são acoplados a G_i, a qual inibe AC, resultando em hiperpolarização. Os 5-HT₂Rs são acoplados a G_q, a qual ativa a fosfolipase C (PLC). A PLC cliva fosfolípidos (PL) a diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP₃). O DAG ativa a proteína quinase C (PKC), recrutando PK intermediárias para modular canais catiônicos e conseqüentemente promover despolarização neuronal. O IP₃ atua liberando Ca⁺² dos estoques intracelulares, auxiliando também na despolarização. Este Ca⁺² ativa o complexo Ca⁺²/calmodulina-proteína quinase-dependente, que, conjuntamente a PKA e PKC, influencia a transcrição através da fosforilação de fatores de transcrição (TFs). Os 5-HT₅Rs acoplam-se negativamente a AC e positivamente aos canais de Ca⁺² IP₃-sensíveis. 5-HT₃Rs são ligantes não seletivos de canais catiônicos que resultam em rápida despolarização quando ativados. Linhas pontilhadas indicam efeitos inibitórios (LAM & HESLER, 2007).

Existem no mínimo 14 subtipos diferentes de receptores serotoninérgicos que foram clonados de tecidos de mamíferos (BANES & SHARP, 1999; RAYMOND *et al.*, 2001). A família 5-HT1 contém receptores que são acoplados negativamente a adenililato ciclase e inclui os receptores 5-HT 1A, 1B, 1D, 1E e 1F. O receptor 5-HT1A foi o primeiro a ser clonado e além de inibir a síntese de AMPc também leva a hiperpolarização da célula através da ativação de canais de potássio. Agonistas 5-HT1A induzem inibição da PKA e da fosforilação do fator de transcrição em culturas de neurônios hipocâmpais. Este receptor nos núcleos da rafe atua como auto-receptor enquanto que nas áreas alvo dos neurônios serotoninérgicos, como o hipocampo, ele corresponde a heteroreceptores localizados em terminais pós-sinápticos (LANFUMEY & HAMON, 2000). O receptor 5-HT1B é expresso tanto em neurônios serotoninérgicos como não serotoninérgicos, atuando como auto-receptores e heteroreceptores, respectivamente. Este receptor está distribuído em diferentes regiões do SNC e encontra-se predominantemente ao nível pré-sináptico (SARI, 2004). Em diversos tipos celulares este receptor também está associado à via das ERKs (RAYMOND *et al.*, 2001). O receptor 5-HT1D é conhecido por suas funções inibitórias atuando como auto-receptor nos terminais serotoninérgicos (BANES & SHARP, 1999) inibindo a liberação de serotonina na rafe mesencefálica, hipocampo e córtex frontal (RAYMOND *et al.*, 2001). A família 5-HT2 possui três subtipos de receptores sendo eles classificados como 5-HT2A, 5-HT2B e 5-HT2C. Eles atuam ativando a fosfolipase C aumentando os níveis de Ca^{++} intracelular (BANES & SHARP, 1999). O receptor 5-HT3, como mencionado anteriormente, é um canal iônico seletivamente permeável a íons Na^+ , K^+ e Ca^{++} , sendo distribuído tanto centralmente como periféricamente nos tecidos (BARNES & SHARP, 1999). Os receptores 5-HT4, 5-HT6 e 5-HT7 estão acoplados a proteína 41 Gs a qual ativa a adenililato ciclase. A família do receptor 5-HT5 contém dois subtipos 5-HT5A e 5-HT5B. Acredita-se que o tipo 5-HT5A esteja acoplado negativamente a adenililato ciclase enquanto que o 5-HT5B está ligado a outro sistema efetor ainda não muito bem caracterizado (BANES & SHARP, 1999). O NDR especialmente contém subtipos de neurônios serotoninérgicos os quais são projetados para áreas em regiões prosencefálicas relacionadas com a composição eletrolítica, volume do fluido extracelular, bem como com a resposta cardiovascular (AZMITIA E SEGAL, 1978; BOSLER & DECARRIES, 1988, AZMITIA, 2001). Entre elas, a área hipotalâmica lateral (AHL), órgão subfornicial (SFO), órgão vasculoso da lâmina terminal (OVLT), núcleos medianos pré-ópticos dorsal (MnPOd) e ventral (MnPOv), núcleo paraventricular (PVN) e núcleo supra-óptico (SON) são as áreas mais proeminentes inervadas por neurônios serotoninérgicos. Neurônios produtores de 5-HT constituem o primeiro sistema neuronal primordial da placa cortical. Estes neurônios representam um grupo celular entre os primeiros a sofrerem diferenciação cerebral e exercem um papel importante na neurogênese (AZMITIA, 2001), interagindo com múltiplos tipos celulares e subtipos de receptores (AZMITIA, 1987, 2001; HOYER *et al.*, 2002). Além disso, a distribuição onipotente dos terminais e a diversidade de receptores cerebrais de 5-HT têm reservado a elaboração da hipótese que o sistema serotoninérgico possa interferir praticamente em todos os mecanismos integrativos de plasticidade neuronal, como por exemplo, autonômico, neuroendócrino, comportamental e cognitivo (AZMITIA & SEGAL, 1978; AZMITIA, 1987, 2001; JACOBS & AZMITIA, 1992).

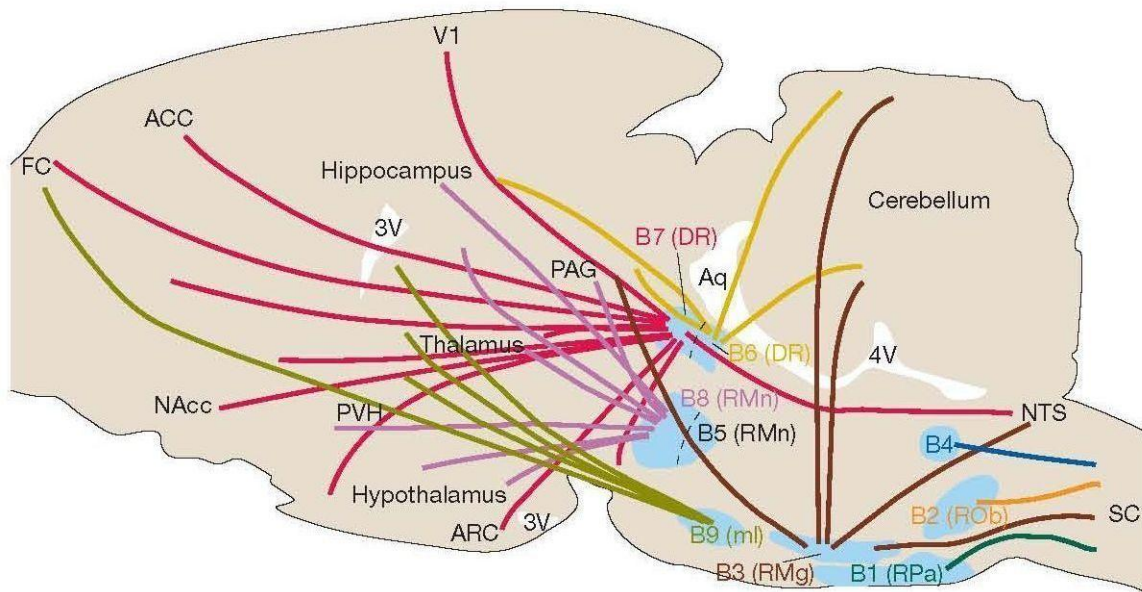


Figura 3. Projeções Serotoninérgicas. Neurônios serotoninérgicos são projetados virtualmente para todas as áreas do cérebro. Estes neurônios são agrupados em nove grupos anatômicos no núcleo da rafe cerebral: os grupos caudais, B1-4, que dão origem a maioria das projeções descendentes; os grupos rostrais, B5-9, que dão origem a maioria das projeções ascendentes. A figura mostra fibras representativas indicando vias serotoninérgicas cerebrais do rato em diferentes cores. O grupo celular (B1-9) está representado nas áreas em azul. Abreviações: 3V, terceiro ventrículo; 4V, quarto ventrículo; ACC, córtex anterior cingulado; Aq, aqueduto; ARC, núcleo hipotalâmico arqueado; DR, núcleo dorsal da rafe; FC, córtex frontal; ml, leminisco medial; NAcc, núcleo accumbens; NTS, núcleo do trato solitário; PAG, substância cinzenta periaquedutal; PVH, núcleo hipotalâmico paraventricular; RMg, núcleo magno da rafe; RMn, núcleo mediano da rafe; Rob, núcleo obscuro da rafe; RPa, núcleo pálido da rafe; SC, medula espinhal; V1, córtex visual primário (LAM & HESLER, 2007).

2.2 Regulação Hidroeletrólítica

O sistema serotoninérgico é co-responsável pela regulação do equilíbrio hidroeletrólítico. Estruturas das regiões prosencefálicas envolvidas no controle hidroeletrólítico e cardiocirculatório são reciprocamente responsáveis pela inervação da rafe mediana cerebral (TANAKA *et al.*, 1998, 2001; CELADA *et al.*, 2002). O contingente de neurônios sensíveis a angiotensina II (ANG-II) do SFO projeta neurônios serotoninérgicos para o NDR (TANAKA *et al.*, 1998). Esta avaliação foi realizada em um estudo onde foi concluído que neurônios sensíveis a ANG-II do SFO monitoram os níveis circulantes de ANG II e depois transmitem a informação para o NDR.

Este mesmo grupo de pesquisadores demonstrou que em um evento hemorrágico, com sabido aumento no nível plasmático de ANG II, se excitam neurônios serotoninérgicos do NDR os quais projetam fibras para o SFO, onde o aumento do *turnover* de 5-HT foi detectado de uma forma mais contundente (TANAKA *et al.*, 2001). Como tal, incrementando-se os níveis plasmáticos de ANG II também se reflete no decréscimo do volume do FEC (fluido extracelular) aumentado por hiponatremia e isto é plausível, adicionalmente, para admitir que a restauração do volume circulante

seja correlacionada com alterações no *turnover* de 5-HT no NDR. Neste contexto, múltiplos subtipos de receptores 5-HT (5-HT1A, 5-HT2A e 5-HT2C) são farmacologicamente identificados no SFO (SCROGIN *et al.*, 1998). Neste estudo, os autores relataram que a liberação de 5-HT no SFO pode ser relacionada com o controle da secreção de vasopressina. Contudo, considerando o papel do SFO na expressão por apetite ao sódio e a identificação de receptores AT1 (angiotensina) nesta estrutura, a hipótese da transmissão serotoninérgica nesta estrutura influenciando a atividade angiotensinérgica não pode ser excluída.

Ademais, outro grupo de pesquisadores evidenciou, através de microdiálises, que injeções de ANG II no SFO reduzem 5-HT extracelular e seus níveis metabólitos (TANAKA *et al.*, 2004). Além disso, a existência de uma possível alça de feedback entre SFO e a rafe também é sugerida. Esta suposição é baseada na observação de sítios ligantes da ANG-II e receptores AT1 identificados no NDR (MOULIK *et al.*, 2002). É possível uma interação entre o ANP carregado no sangue ou ANP liberado sinapticamente pelo NDR. Alterações experimentais na homeostase hidrossalina influenciam os níveis de ANP no NDR (PALKOVITS *et al.*, 1990). Um decréscimo significativo nos níveis de ANP foi detectado no NDR após o desenvolvimento de hipertensão em ratos em comparação aos controles normotensivos (BAHNER *et al.*, 1988). Estas demonstrações reforçam a possibilidade que estas estruturas procencefálicas e mesencefálicas reciprocamente ativam informações durante alterações homeostáticas para a regulação da ingestão de água e sal e ajuste cardiocirculatório (LIND, 1986).

Analisando concomitantemente, as observações acima constituem evidências circunstanciais para a existência de um circuito neuronal SFO-NDR-SFO que deve ser atribuído a regulação do balanço hidroeletrólítico e cardiovascular como proposto outrora (REIS *et al.*, 1994, CAVALCANTE-LIMA *et al.*, 2005a, b). Adicionalmente, não se pode desprezar a possibilidade de outra interação recíproca entre áreas prosencefálicas e rafe mediana, particularmente entre OVLT, MnPO, AHL e NDR. Estas especulações experimentais, realizadas por Tanaka *et al.* (2004), aumentam a possibilidade de que outros sinais humorais (níveis plasmáticos de ANP e OT) bem como a liberação neural desses peptídeos em estruturas da *lamina terminalis*, integram sistemas que monitoram o status hidroeletrólítico. A relação neuroanatômica mencionada anteriormente pressupõe a elaboração de interações funcionais complexas entre estruturas cerebrais prosencefálicas e mesencefálicas. Isto diz respeito ao controle das funções autonômicas, neuroendócrinas e comportamentais durante alterações homeostáticas presentes no ambiente.

Lesões eletrolíticas do NDR e MNR em ratos normohidratados induzem antinatriurese, mas sem causar alterações significativas na resposta excretora de potássio e diurese (REIS, *et al.*, 1994). Neste estudo, a diminuição da excreção urinária de sódio perdurou por quatro dias após a lesão e a resposta antinatriurética foi mais intensa em ratos com lesão no NDR do que no MNR. A antinatriurese em ratos NDR-lesionados se correlaciona com uma drástica redução nos níveis plasmáticos de ANP, em condições basais e após expansão do volume sanguíneo. Foi demonstrado que ao final da semana ratos NDR-lesionados recuperaram os valores normais da excreção de sódio bem como os níveis de ANP plasmático. A depleção cerebral de serotonina instalada pela administração intra-cerebroventricular (icv) de pCPA, similarmente, evocou a redução urinária de sódio. A resposta antinatriurética foi expressa entre os dias 3-7 após a administração central de pCPA. Adicionalmente, ratos 5-HT-depletados apresentaram baixos níveis de ANP em condições basais e durante a expansão do

volume sanguíneo. Estas observações levantam a hipótese que neurônios-NDR, serotoninérgicos, regulam a excreção renal de sódio pelo controle da liberação de ANP (REIS *et al.*, 1994).

2.3 Regulação do Apetite por Sódio

O sistema serotoninérgico exerce um papel primordial na regulação do apetite por sódio e regulação da sede (REIS, 2007). Após déficit prolongado de sódio causado por restrição na dieta alimentar, sistemas sensoriais são ativados conduzindo a sinalização humoral. Em contraste, quando o sódio é oferecido em excesso ultrapassando o *set point* fisiológico, a um incremento no volume do fluido extracelular envolvendo uma depressão da atividade do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA). Esta resposta é seguida por um concomitante aumento da liberação do peptídeo natriurético atrial (ANP), e provavelmente, ocitocina (OT), e conseqüente inibição do apetite por sódio (McCANN *et al.*, 2003).

A primeira avaliação direta abordou à influência do sistema serotoninérgico no apetite ao sódio, realizada em ratos sistemicamente tratados com agentes serotoninérgicos (agonistas 5-HT, liberadores 5-HT ou inibidores pré-sinápticos da recaptção 5-HT). Assim, a administração periférica aguda de agonistas (5-HT_{2C}, MK212 e mCPP), liberadores 5-HT (fenfluramina) ou inibidores pré-sinápticos da recaptção 5-HT (fluoxetina), reduzem seletivamente o consumo de salina hipertônica em ratos desidratados (NEILL & COOPER, 1989). Inversamente, baixas doses de agonistas 5-HT_{1A}, 8-OH-DPAT e gepirona administrados sistemicamente, incrementam a ingestão de salina hipertônica em ratos reidratados, em um teste de 30 minutos, com ausência de efeito na ingestão de água (COOPER *et al.*, 1988). Dados similares foram obtidos de observações feitas em ratos sódio-depletados e tratados com dexfenfluramina, um liberador de 5-HT cerebral, e metergolina, um antagonista 5-HT₂ (ROUAH-ROSILIO *et al.*, 1994). Neste estudo, foi demonstrado que a administração de dexfenfluramina reduziu drasticamente a ingestão de NaCl 3% em ratos sódio-depletados, assim como, o consumo espontâneo de NaCl 1,8%, sem nenhum efeito na ingestão de água. Adicionalmente, foi evidenciado que administração de metergolina incrementou a ingestão de salina hipertônica em circunstâncias livres em ratos com um prévio histórico de depleção de sódio ou não. De acordo com Rouah-Rosilio *et al.* (1994) estes dados dão suporte à hipótese que o sistema de transmissão serotoninérgica exerce uma inibição tônica no consumo de sal.

O tratamento agudo sistêmico com o liberador de 5-HT cerebral, fenfluramina, inibidor da recaptção 5-HT, fluoxetina, ou agonistas de receptores 5-HT_{2C}, MK212 e mCPP, reduziram significativamente a ingestão de salina hipertônica, em ambos, ratos alimento-deprivados, ratos fluido-deprivados e ratos sódio-depletados (BADAUÊ-PASSOS *et al.*, 2003). Administração i.c.v de agonistas 5-HT confirmaram as observações obtidas com o tratamento sistêmico e introduziram a provável participação de outro receptor 5-HT. Assim, a estimulação central dos receptores 5-HT_{2C} e 5-HT₃, através da microinjeção i.c.v de mCPP e m-CPBG, respectivamente, diminuiram a ingestão de salina hipertônica em ratos sódio-depletados (CASTRO *et al.*, 2003). Baseando-se nesses resultados, pode ser admitida a hipótese que o sistema serotoninérgico participa efetivamente da regulação do apetite por sódio, (I) após a depleção de sódio, inibindo a indução por necessidade de ingestão de sal, e (II) em

condições basais, inibindo a indução livre de ingestão de sal. Por outro lado, Cooper & Ciccocioppo (1993) mostraram que a administração aguda de agonistas 5-HT_{1A}, ipsapirona, gepirona, e 8-hidroxi-2(di-npropilamino) tetralina (8-OH-DPAT) induzem um incremento na ingestão de sal em dois testes de privação hídrica em ratos. Os autores atribuíram esses resultados como consequência de uma ação inibitória de agonistas 5-HT_{1A}, na SDAR, o qual resulta na redução da atividade serotoninérgica central. Um recente estudo mostrou de um modo oposto que o tratamento crônico com 8-OH-DPAT diminuiu a ingestão de sal em ratos sódio-depletados (BADAUÊ-PASSOS *et al.*, dados não publicados). Este resultado possivelmente foi alcançado através da dessensibilização da SDAR produzido pela exposição crônica a agonistas 5-HT_{1A} como demonstrado em outra oportunidade (BLIER & DE MONTIGNY, 1990; HADDJERI *et al.*, 1999).

A depleção de 5-HT cerebral e a lesão do NDR incrementou a ingestão de salina hipertônica em condições basais e após alterações hidroeletrólíticas (REIS, 2007). Para avaliar a participação de vias serotoninérgicas na modulação do apetite ao sódio, dois modelos experimentais foram usados por este grupo: (I) depleção 5-HT cerebral, através da administração sistêmica de pCPA (350mg. Kg⁻¹, durante dois dias, ip) e (II) lesões eletrólíticas ou excitotóxicas do NDR. A redução do índice cerebral de 5-HT potencializa drasticamente a resposta natriorexigênica evocada pela depleção de sódio em ratos tratados com furosemida (LIMA *et al.*, 2004). Curiosamente, a resposta exagerada ao apetite por sódio ocorreu três dias após a administração de pCPA. Em contraste, sete dias após o tratamento com pCPA, a resposta natriorexigênica tornou-se menor que os valores do grupo controle, provavelmente devido a uma superexpressão de TPH (triptofano-hidroxilase) ou elevação dos níveis de transportadores RNAm, como foi sugerido anteriormente (COOPER *et al.*, 1996; RATTRAY *et al.*, 1996). Estes resultados corroboram com a hipótese que a depleção transitória de 5-HT ativa o seu ciclo de restauração cuja evolução influencia o comportamento por ingestão de sal sobre condições hiponatremicas e hipovolêmicas.

A administração periférica de isoproterenol (um potente agente dipsogênico, o qual atua sobre a liberação de renina e estímulo hipotensor) em ratos pCPA-tratados, induziu intensa ingestão de água e salina hipertônica enquanto que nos ratos-controle foi observada a clássica resposta dipsogênica (LIMA *et al.*, 2004). Lesões eletrólíticas da porção ventral do NDR induziram um incremento na ingestão de salina hipertônica, em condições basais. Entretanto, estes procedimentos experimentais foram realizados por três dias. A ingestão de água foi também mais intensa da terceira hora até a décima segunda hora pós-lesão, quando se tornou igual aos valores controle até o terceiro dia de experimento (OLIVARES *et al.*, 2003). Lesões eletrólíticas de ratos NDR-lesionados indicaram uma resposta dipsogênica e natriorexigênica mais intensa provocado por furosemida associada a baixas doses de captopril. Estas observações forneceram a conclusão que lesões NDR-eletrólíticas suprimem uma atividade ascendente inibitória do apetite por sódio. As lesões eletrólíticas selecionadas para o estudo foram limitadas a área ventro-medial do NDR onde existe um contingente expressivo de pericário que se projetam para o prosencéfalo. Entretanto, neste procedimento a passagem de fibras axonais e neurônios não-serotoninérgicos também foram lesionados. Por esta razão, estudos subsequentes foram realizados para circunscrever a lesão somente no pericário localizado na sub-região dorsal-ventral-medial do NDR através de microinjeções do aminoácido excitatório, ácido ibotênico.

Lesões excitotóxicas do NDR produzem qualitativamente as mesmas respostas alcançadas com lesões eletrólíticas e depleção de serotonina cerebral, rendendo as

interpretações mais acuradas concernindo o envolvimento de neurônios genuínos desta estrutura (CAVALCANTE-LIMA *et al.*, 2005a, b). Lesão do NDR induzidas pelo ácido ibotênico incrementou a ingestão de salina hipertônica que se iniciou no terceiro dia de injeção do ácido ibotênico e foi mantida num platô de 20 ml a do décimo primeiro dia, sustentando-se por muitos dias. A ingestão de água não foi significativamente alterada, conseqüentemente, a preferência por sódio foi sustentada em altos valores durante todo período de observação. Quando ratos NDR-lesionados (dias 21 e 35 pós-injeção/intra-NDR) foram privados de fluidos e alimento, uma intensa ingestão de salina hipertônica foi observada quando a resposta dipsogênica foi comparada ao controle. A resposta dipsogênica evocada por isoproterenol mostrou que os ratos lesionados (7, 21 e 35 dias após lesão ibotênica) apresentaram um alto apetite por sódio, quando a ingestão de água foi comparada com os controles. A alta ingestão cumulativa de salina hipertônica foi mantida por um longo período até o segundo dia de observação, quando valores controle foram sustentados dentro de baixos níveis durante todo o período. Resultados similares foram obtidos com a administração subcutânea de polietilenoglicol (PEG). Ação coloidosmótica da PEG evoca uma hipovolemia associada à desidratação extracelular. Nesta condição, ratos NDR-lesionados (21 dias após injeção de ácido ibotênico) exibiram um precoce e intenso apetite por sódio em relação ao controle. A resposta dipsogênica foi deflagrada de forma semelhante ao controle, sendo maior depois de decorrido 5 horas da apresentação de fluidos. Por outro lado, ratos lesionados e depletados exibiram uma associação entre uma intensa resposta natriorexigênica e uma alta ingestão de água quando comparada ao controle.

O tratamento crônico com baixas doses de captopril, similarmente a sua adição a água, incrementou níveis plasmáticos de ANG I devido à ação periférica (FITZSIMONS, 1998). Esta condição induz uma supressão do feedback negativo nas células justaglomerulares, subsequente hipernatremia, e baixos níveis plasmáticos de ANG II. Assim, uma alta disponibilidade de ANG I cerebral, permite um incremento da sua conversão central para ANG II, particularmente no SFO. Neste contexto, isso resulta em um incremento do apetite por sódio. Neste paradigma, ratos lesionados com ácido ibotênico, após seis dias, exibiram um alto consumo de salina hipertônica e incremento no apetite por sódio. Vinte e quatro horas após a remoção de captopril da dieta, o consumo de salina hipertônica foi menor do que os níveis pré-tratamento. A ingestão de água praticamente não se diferiu entre os grupos. Nos grupos de ratos lesionados (21-35 dias pós-lesão) 48h após o término das observações experimentais, mais de 50% deles prensaram e morderam um cristal de NaCl oferecido na ponta das pinças. Analisando como um todo, resultados obtidos a partir da depleção de serotonina cerebral e lesão eletrolítica ou exocitotóxica do NDR, divulgou-se uma alta sensibilidade cerebral a modelos experimentais que evocaram incremento nos níveis plasmáticos de ANG II ou atividade angiotensinérgica central. Esta observação levou a suspeita que o déficit na transmissão ascendente serotoninérgica represente a supressão de uma importante via modulatória no apetite ao sódio. Isto é apelativo para compararmos este modelo experimental, ao menos parcialmente, com condição funcional espontânea de ratos hipertensivos (SHR).

Ratos SHR desenvolvem um intenso apetite por sódio associado com incremento na sensibilidade angiotensinérgica no *loci cerebral* relacionado com a homeostase cardiocirculatória e eletrolítica (STOCKER *et al.*, 2003). Isto é importante porque estas alterações tem sido concomitantes com um déficit no *turnover* de 5-HT em regiões prosencefálicas. Alternativamente, as vias ascendentes serotoninérgicas podem constituir um sistema modulador envolvido com a liberação de ANP. A primeira

observação indireta favorável desta suposição foi realizada em um trabalho onde foi demonstramos que depleção de 5-HT cerebral e as lesões do NDR induz um déficit nos níveis de ANP, em condições basais, ou após a expansão do volume sanguíneo (REIS *et al.*, 1994). Isto pode ser considerado o fator predisponente para o incremento do apetite por sódio, desenvolvidos em ratos 5-HT-depletados ou NDR-lesionados. Uma a duas semanas após os procedimentos experimentais, os ratos já tinham recuperado a capacidade da regulação da excreção de sódio. Contudo, estudos mais recentes (CAVALCANTE-LIMA *et al.*, 2005a, b) evidenciaram que um intenso apetite por sódio persistiu por um longo período em ratos lesionado, indicando que outros sistemas modulatórios possam estar envolvidos. Um deles pode ser representado pela ação da OT no SFO. Estudos mostraram o papel inibitório da OT no apetite por sódio (BLACKBURN, *et al.*, 1995; STRICKER & VERBALIS, 1996). Este sistema homeostático pode ser responsável por ajustes no volume do FEC através do aumento da excreção renal de sódio e um decréscimo na ingestão de sal (SOARES *et al.*, 1999; ANTUNES-RODRIGUES *et al.*, 2004).

Estudos imunorreativos da proteína Fos mostraram que neurônios do NDR, *area postrema* (AP) e núcleo para-braquial lateral (NPBL) e também a porção magnocelular do núcleo para-ventricular (PVN), particularmente os neurônios produtores de OT, são intensamente marcados, em ratos sódio-depletados com livre acesso a salina hipertônica (FRANCHINI & VIVAS, 1995; FRANCHINI *et al.*, 2002). Esta subregião é densamente innervada por fibras serotoninérgicas projetadas para o NDR e assim a estimulação serotoninérgica induz um incremento da liberação de OT (AZMITIA & SEGAL, 1978; SAYDOFFET *et al.*, 1991; JORGENSEN *et al.*, 2003). Conseqüentemente, o papel do sistema serotoninérgico no apetite por sódio pode envolver a estimulação de neurônios ocitocinérgicos em um contexto fisiológico ainda não identificado. Evidências recentes de Hiyama *et al.* (2004) mostraram que o SFO é o local primário sensível aos níveis de sódio associado com a ingestão de sódio. Neste estudo os autores descobriram que os especializados canais de sódio voltagem-dependentes constituem um sensível mecanismo envolvido que evita o comportamento salino em ratos desidratados. Significativo é que tais mecanismos funcionam de um modo independente comparativamente ao mecanismo de apetite por sódio induzido por ANG II no SFO. Lesões no NDR ou depleção de 5-HT cerebral potenciou o apetite por sódio induzido por múltiplos paradigmas, incluindo desidratação. Conseqüentemente, vias ascendentes serotoninérgicas intactas também podem modular a aversão ao comportamento salino na desidratação, e possivelmente outras condições relacionadas à depleção de sódio (inibindo).

2.4 Regulação da Ingestão Alimentar e do Balanço Energético

A serotonina é uma importante reguladora da ingestão alimentar e do balanço energético. No cérebro, fibras serotoninérgicas dos núcleos da rafe mesencefálica são projetadas para os principais centros alimentares, onde a serotonina atua distalmente em receptores específicos para modular a atividade de vários sistemas serotoninérgicos e vias autonômicas. Deste modo, o comportamento de ingestão e o gasto energético são diretamente afetados por esta indolamina. Este importante neurotransmissor, liberados pelas células enterocromoafins, também parece regular a homeostase energética através de mecanismos periféricos. Efeitos serotoninérgicos sobre o balanço energético levam a

influências secundárias na homeostase da glicose, baseada em uma bem estabelecida ligação entre obesidade e resistência a insulina. Contudo, vias serotoninérgicas também podem afetar diretamente a homeostase da glicose através da regulação de eferentes autonômicos e/ou ação em tecidos periféricos. Muitos compostos serotoninérgicos têm sido avaliados para uso clínico no tratamento da obesidade e diabetes tipo 2 (LAM & HEISLER, 2007).

Algumas evidências têm relacionado à transmissão serotoninérgica com o comportamento alimentar. O núcleo basomedial hipotalâmico e a área hipotalâmica lateral, estruturas relacionadas ao controle do comportamento alimentar, são inervados por neurônios serotoninérgicos da rafe mesencefálica (AZMITIA & SEGAL, 1978). Estudos envolvendo agentes que atuam de diferentes formas no sistema serotoninérgico (BLUNDELL, 1984; 1991) corroboram com a hipótese da relação direta da serotonina na modulação do apetite. Receptores pós-sinápticos 5-HT_{1B} e 5-HT_{2C} são os mais relevantes na resposta anorexigênica em mamíferos e aves (BLUNDELL, 1984, 1991). Adicionalmente, hiperfagia e obesidade acarretada após depleção de serotonina, através de um inibidor da enzima triptofano hidroxilase ou após lesões neurotóxicas de neurônios serotoninérgicos, reforçam esta hipótese serotoninérgica (SALLER & STRICKER, 1976).

Sabidamente, outros dois sistemas estão envolvidos com a ingestão alimentar, o hormônio leptina e o neuropeptídeo orexina A que é expresso no hipotálamo lateral após jejum e subsequente depleção energética (RODGERS *et al.*, 2002). A leptina reduz a ingestão alimentar e adicionalmente estimula mecanismos dentro do hipotálamo basomedial para oxidação da gordura, que concerne balanço energético e, conseqüentemente, mantendo o peso corporal (GRILL & KAPLAN, 2002). O subconjunto de neurônios serotoninérgicos no núcleo da rafe co-expressa o transporte de RNAm de serotonina e o RNAm do receptor de leptina (FINN *et al.*, 2001). Recentemente, foi evidenciado a recaptação de leptina por neurônios serotoninérgicos do NDR (FERNÁNDEZ-GALAZ *et al.*, 2002) e demonstrado que o efeito hipofágico da leptina é mediado por atividade serotoninérgica e subsequente estimulação de receptores 5-HT_{2C} (YAMADA *et al.*, 2003). Por outro lado, receptores de orexina A foram identificados nos neurônios serotoninérgicos do NDR em que a sua excitação possivelmente constitui um ciclo de feedback negativo para o controle da ingestão alimentar, particularmente de carboidratos (BROWN *et al.*, 2001).

2.5 Regulação da Sede e da Ingestão de Água

A regulação homeostática da ingestão de fluídos pelo cérebro é multifatorial. Sinais osmóticos, iônicos, hormonais, e nervosos são convergidos e integrados pelo SNC. Regiões clássicas envolvidas neste controle hídrico são os órgãos circumventriculares (OVLT e SFO) situados na parede anterior do terceiro ventrículo (*lamina terminalis*). A saciedade ou extinção da sede na seqüência da ingestão de água envolve a participação de outras vias neurais sensoriais e integradoras que também interagem com este circuito (McKINLEY & JOHNSON, 2004).

Adicionalmente ao controle do apetite por sódio, o sistema serotoninérgico é envolvido na regulação da sede e na ingestão de água (REIS, 2007). A administração icv de MK212, um agonista 5-HT_{2C}, induziu a ingestão de água após privação hídrica (REIS *et al.*, 1990a, b, 1992). De outro modo, foi demonstrada em um estudo que lesões

eletrolíticas do NDR, induziram uma intensa resposta dipsogênica em ratos com acesso somente a água (REIS *et al.*, 1994). Em ambas as condições, após injeção central de agonistas 5-HT ou lesão do NDR, os ratos tiveram livre acesso somente a água.

O núcleo parabraquial lateral (NPBL) é um importante circuito pontino envolvido na regulação do apetite por sódio (MENANI *et al.*, 1996, 1998a, b). As fibras aferentes mais densas para o NPBL são oriundas da AP e NTS. Conseqüentemente, o NPBL recebe sinais sensoriais que convergem em direção ao NTS. Adicionalmente, sinalizações viscerais e plasmáticas e informação do fluido cérebro espinhal são integradas na AP. Um contingente particular de neurônios oriundos da AP e NTS são produtores de 5-HT, porém, eles não representam neurônios serotoninérgicos clássicos como os da região mesencefálica (AZMITIA & SEGAL, 1978; PARENT *et al.*, 1981, AZMITIA, 1987, FRANCHINI *et al.*, 2002). O grupo de fibras projetadas do NDR que constituem a inervação eferente do NPBL é composto por típicos neurônios serotoninérgicos e não serotoninérgicos (PETROV *et al.*, 1992a, b). Por outro lado, o NPBL envia fibras peptidérgicas para o NDR. Conseqüentemente, muitos estudos mostraram que impulsos serotoninérgicos para o NPBL é relevante especificamente para o controle do apetite por sódio (MENANI *et al.*, 1996; JOHNSON & THURNHORST, 1997; McKINLEY & JOHNSON, 2004). Este importante papel atribuído ao NPBL é parcialmente conseqüência da sua posição estratégica, a qual permite uma troca de informação com outro relevante núcleo como NDR, bem como AP e NTS. A administração bilateral do antagonista 5-HT₁/5-HT₂, metilsergida ou agonista 5-HT_{2A}/5-HT_{2C}, DOI, no NPBL influencia o aumento do apetite por sódio por diversos paradigmas experimentais. O incremento da ingestão de salina hipertônica provocado por microinjeções i.c.v de ANG II ou de furosemida associada ao captopril s.c foi evocado pela administração de antagonistas 5-HT_{1/2} intra-NPBL. Em contraste, administração de DOI no NPBL diminuiu a ingestão de salina hipertônica induzido por furosemida associada ao captopril (MENANI *et al.*, 1996). Resultados similares foram obtidos em modelos de ingestão de sal induzido por DOCA, privação hídrica, depleção de sódio ou estimulação beta-adrenérgica (MENANI *et al.*, 1998a, DE GOBBI *et al.*, 2000). Estes autores demonstraram que o antagonista de AT₁, losartan, administrado dentro do SFO reduziu a ingestão adicional de sal causado pelo bloqueio dos receptores 5-HT_{1/2} do NPBL em ratos tratados com furosemida associada ao captopril (COLOMBARI *et al.*, 1996, MENANI *et al.*, 1998b). Adicionalmente, foi evidenciado que a estimulação colinérgica com administração i.c.v de carbacol, que classicamente evoca uma resposta dipsogênica, induziu uma intensa ingestão de salina hipertônica após o bloqueio dos receptores 5-HT_{1/2} no NPBL (MENANI *et al.*, 2002). Estas observações mostram claramente o papel funcional do NPBL onde são encontrados mecanismos serotoninérgicos inibitórios do apetite por sódio (MENANI *et al.*, 1996, McKINLEY & JOHNSON, 2004). Como examinado acima, o NPBL faz parte de um sistema inibitório de coordenação do apetite por sódio que também pode incorporar AP e NDR para o controle integrativo da ingestão de sal.

Neurônios serotoninérgicos no NDR são mediadores das respostas neuroendócrinas e comportamentais em condições estressoras (GRAEFF *et al.*, 1997; MAIER & WATKINS, 1998; CHAOULOFF, 2000; LOWRY, 2002). Neste contexto, a administração intra-NDR de agonistas de receptores de hormônio liberador de corticotropina 1 (CRF1) inibe a atividade serotoninérgica enquanto que agonistas CRF2 incrementam o efluxo de 5-HT na região ântero-cerebral (KIRBY *et al.*, 2000; AMAT *et al.*, 2004). Por outro lado, a administração de hormônios corticosteróides, uma manobra que imita a condição de estresse, influencia o índice de TPH cerebral. O

tratamento agudo de ratos adrenalectomizados (ADX) com glicocorticóide, dexametasona, induziu um incremento nos níveis de RNAm de TPH na rafe (AZMITIA *et al.*, 1993). Ao contrário, durante o tratamento crônico de ratos-ADX com dexametasona por uma semana há um grande decréscimo nos níveis de RNAm de TPH no NDR (CLARK & RUSSO, 1997). Este último achado constitui uma evidência importante que o estresse crônico é capaz de reduzir o *turnover* de 5-HT no *loci cerebral*. É razoável conjecturar que o estresse crônico está ligado com a depleção de 5-HT cerebral e hipofunção serotoninérgica. Entre as desordens afetivas, a depressão pode coexistir com o desenvolvimento de distúrbios circulatórios (BRASZKO *et al.*, 2003). Nesta condição é freqüente o diagnóstico de hipofunção serotoninérgica realizada através da prova de capacidade de liberação de prolactina após administração de um liberador de 5-HT (MELTZER & LOWY, 1987). Isto significa que a depleção de triptofano e serotonina é um amplo paradigma envolvido no estudo de mecanismos relacionados com o sistema serotoninérgico e no desenvolvimento da depressão (NEUMEISTER, 2003; ELHWUEGI, 2004; O'REARDON *et al.*, 2004). Isto é convincente para especular que os conflitos durante a interação com o meio ambiente possam gerar distúrbios na regulação do volume do FEC e na pressão sanguínea. Estas perturbações homeostáticas podem ser relacionadas com o déficit de transmissão serotoninérgica para regiões cerebrais implicadas com o controle autonômico, neuroendócrino e comportamental do balanço cardiocirculatório e hidroeletrólítico. Neste contexto, alguns relatos têm mostrado que pacientes depressivos freqüentemente desenvolvem hipertensão (BRAZKO *et al.*, 2003). Por outro lado, no modelo de depleção de 5-HT cerebral através de administração i.p de pCPA ou lesão no NDR, foi demonstrado a expressão de uma exagerada resposta natriorexigênica após depleção de sódio em ratos (OLIVARES *et al.*, 2003; LIMA *et al.*, 2004; CAVALCANTE-LIMA *et al.*, 2005a, b). Entretanto, não existem estudos sistemáticos correlacionando o desenvolvimento do excessivo consumo de sal e a incidência de hipertensão em pacientes depressivos com déficit na atividade serotoninérgica.

Projeções neurais do sistema serotoninérgico são distribuídas por todo o encéfalo durante o desenvolvimento ontogênico do sistema nervoso. De acordo com Azmitia, literalmente todas as atividades cerebrais podem sofrer influência serotoninérgica, dos níveis homeostáticos, autonômico, neuroendócrino e comportamental até funções cognitivas. Consequentemente, quando se refere à regulação do balanço hidroeletrólítico é possível que a atividade serotoninérgica estenda-se a todos os níveis de coordenação da função cerebral. Quando essa atividade regula a excreção eletrolítica através da atividade eferente do controle autonômico para os túbulos renais e pela secreção de ANP, circuitos serotoninérgicos do NDR, possivelmente integram o NPBL, que parece ser responsável pela estimulação de diferentes mecanismos da inibição do apetite por sódio. Reis (2007) propôs que de acordo com o controle da saciedade por sal, as evidências recentes convergem para cinco possibilidades: 1) vias serotoninérgicas podem interagir com neurônios ANPérgicos da *lamina terminalis* excitando o circuito neural de saciedade ao sódio após o período de ingestão de sal; 2) a estimulação da liberação de ANP cardíaco, por mecanismo neuroendócrino, mediado por estruturas da *lamina terminalis* que pode contribuir também por algum contexto em modular o apetite por sódio; 3) vias serotoninérgicas ascendentes podem modular a atividade dos neurônios ANG-II-sensíveis do SFO implicados com a ativação de circuitos excitatórios do apetite por sódio durante o déficit de volume do FEC; 4) neurônios serotoninérgicos do NDR podem ser indiretamente envolvidos na modulação do apetite por sódio através da

ativação de neurônios ocitocinérgicos que devem transmitir sinais inibitórios para expressão deste comportamento; 5) após evidências recentes no qual canais de sódio sensíveis (HIYAMA *et al.*, 2002, 2004) são envolvidos com o comportamento salino aversivo, é aceitável postular que as vias serotoninérgicas ascendentes possam também modular o apetite por sódio na desidratação e, possivelmente, em outras condições relacionadas à depleção de sódio. Até este momento, não há conhecimentos substanciais, que demonstrem o envolvimento do sistema serotoninérgico no controle de detecção e reconhecimento do paladar salino. Somente em um estudo, o reconhecimento e percepção do paladar foram avaliados através de quatro sensações gustatórias primárias (doce, amargo, sal e azedo) em pacientes com distúrbios sazonais afetivos (SAD) (ARBISI *et al.*, 1996). Usualmente esta condição é expressa com um incremento do apetite associado à fome por carboidrato que são sintomas característicos de SAD e são atribuídos ao decréscimo da função serotoninérgica central (WURTMAN & WURTMAN, 1989). Eles concluíram que a chegada do inverno exerceu efeitos significativos na detecção de doce, amargo e azedo e não influenciou a detecção de sal. Diversos aspectos permanecem para serem elucidados, entre os quais, como pacientes portadores de SAD se comportariam em vista do modelo de depleção de volume e hiponatremia no que concerne a detecção do paladar salino.

A relação entre estímulos viscero-sensoriais (depleção de volume, decréscimo da carga de filtração de sódio ao longo da mácula densa, etc), níveis plasmáticos de ANG II, ANP, OT e vias serotoninérgicas ascendentes foi demonstrada ilustramente por Reis (2007). Relações recíprocas entre SFO e NDR e entre NDR e NPBL também foram representadas mostrando a plasticidade das reações comportamentais adaptativas induzidas por depleção de volume através da (i) sinalização das alterações viscero-sensoriais e (ii) monitoração dos níveis plasmáticos de ANG II, ANP e OT executados por estruturas prosencefálicas. Entretanto, permanecem para ser elucidados: (i) a relação funcional recíproca entre NDR e NPBL (ii) a origem da transmissão dos sinais viscero-sensoriais no déficit da concentração de sódio e volume do FEC e da carga de filtração de sódio nos túbulos renais e (iii) a existência de sinais de estruturas prosencefálicas para regiões mesencefálicas, transmitindo informações sobre monitoração da concentração plasmática de sódio, ANG II, ANP e outros fatores humorais. Os contextos fisiológicos precisam ser investigados para esclarecer com estes sistemas homeostáticos funcionam. Além disso, qual é curso temporal da ativação desses fatores e, a correlação clínica entre o distúrbio funcional de cada sistema.

2.6 Regulação da Emoção e Processos do Controle Comportamental

A serotonina foi durante muito tempo relacionada com uma ampla variedade de processos emocionais, cognitivos e comportamentais. Entretanto, sua precisa contribuição continua ainda sem total esclarecimento (COOLS *et al.*, 2008).

Dentre os neurotransmissores monoaminérgicos, a 5-HT apresenta provavelmente o maior desafio em termos de dedução do seu principal papel. Considerando a diversidade de ramificações neuroanatômicas dos núcleos dorsal e mediano da rafe mesencefálica para virtualmente todas as regiões do cérebro e, pelo fato de suas ações serem mediadas por pelo menos 17 receptores distintos, torna-se difícil discernir suas ações adjacentes em um princípio simples (COOLS *et al.*, 2008).

Não há dúvida da importância da 5-HT, não só em termos de modulação da atividade motora e sensorial, mas também em relação ao seu papel central na cognição e

emoção e sua implicação nos transtornos afetivos, tais como ansiedade e depressão. Dado o impacto que estudos funcionais serotoninérgicos obtiveram em modelos recentes de reforço da aprendizagem e de controle cognitivo, muitos pesquisadores concentraram as suas atenções para investigações funcionais da 5-HT em humanos, apesar de a variedade de métodos para manipular a função serotoninérgica em seres humanos é muito mais restrita do que aquela para modelos animais.

Alguma parte do ímpeto no avanço do entendimento da fisiologia da serotonina veio a partir da necessidade de explicar um grande paradoxo clínico, ou seja, por um lado, os efeitos ansiolíticos dos benzodiazepínicos, que reduzem a transmissão serotoninérgica (DEAKIN & GRAEFF, 1991), e, por outro lado, os bons resultados, em longo prazo, da utilização dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (SSRIs), que aumentam a transmissão serotoninérgica, na depressão e pânico (GRIEBEL, 1995; HOLLANDER, 1998). Este paradoxo é pertinente dado que a ansiedade é muitas vezes co-morbidade da depressão, e que ambos os distúrbios estão associados ao aumento aversivo do processo e da sensibilidade ao estresse. A serotonina também está envolvida em distúrbios de caráter impulsivos. Seus níveis estão reduzidos em pacientes com manias, agressões decorrentes de alcoolismo e também em depressivos que tentaram suicídio (THAKORE *et al.*, 1996; EVENDEN, 1999).

Estes achados são relacionados com hipóteses, derivadas de estudos com animais, que a serotonina medeia à inibição comportamental (SOUBRIÉ, 1986). A redução da ansiedade pode ser interpretada como a remoção da repressão comportamental. Isto proporciona uma ligação entre o potencial dos benzodiazepínicos de redução da ansiedade e falhas no controle dos impulsos visto em seqüência na redução da transmissão serotoninérgica. A discussão continua em torno da possibilidade da desinibição comportamental associada com baixos níveis de 5-HT ser melhor explicada em termos motivacionais ou motor, ou seja, se ele reflete remoção da ansiedade ou resposta facilitadora por si só. Qualquer destas explicações poderia envolver um relacionamento mutuamente inibitório com mecanismos neuromoduladores dopaminérgicos, por exemplo, na amígdala, núcleo accumbens ou o putamen caudado, que envolve o comportamento do apetite, efeitos de recompensa ou reforço e controle motor.

Na última década do século passado, Deakin & Graeff (1991) tentaram resolver este paradoxo com a hipótese que a ansiedade, o pânico e a depressão surgem a partir de distintos sistemas neurais. Cools *et al.* (2007) em sua revisão, reformularam esta controvérsia em uma análise mais contemporânea que focou sobre os efeitos paradoxais da serotonina envolvida em processos aversivos e controles inibitórios. Baseados nessa análise, este grupo de pesquisadores levantou a hipótese que em nível subcortical, a atividade serotoninérgica pode promover um processo motivacional oposto aquele mediado pela atividade dopaminérgica. Entretanto, modulações serotoninérgicas diretas do córtex orbitofrontal (OCF), podem estar envolvidas com uma diferente função, como por exemplo, facilitando o controle inibitório descendente de mecanismos subcorticais que regulam os processos emocionais e comportamentais.

2.7 Depleção de Serotonina

A serotonina ou 5-hidroxitriptamina (5-HT) realiza um importante papel no desenvolvimento ontogênico do SNC de mamíferos (AZMITIA & GANNON, 1986) tendo importante participação na proliferação celular, migração celular, diferenciação neuronal, sinaptogênese e prevenção da morte celular programada (LAUDER & KREBS, 1976; LAUDER, 1990; WHITAKER-AZMITIA *et al.*, 1996; LAVDAS *et al.*, 1997; YAN *et al.*, 1997a, b).

O inibidor enzimático mais utilizado em trabalhos experimentais é a para-clorofenilalanina (pCPA). *In vivo*, a pCPA inibe irreversivelmente a enzima triptofano hidroxilase, via enzimática limitante na síntese de 5-HT (NAKAMURA & HASEGAWA, 2007). A pCPA incorpora-se à enzima para produzir uma proteína inativa. Esta inativação produz marcante depleção de estoques de serotonina no cérebro, tecidos periféricos e sangue de ratos e cães (KOE & WEISSMAN, 1966). Seu pico de ação é alcançado rapidamente, 2-3 dias após a administração, podendo diminuir até 90% os níveis de serotonina. Ao contrário das outras drogas utilizadas para depletar a serotonina, como anfetaminas, dihidroxitriptamina que são neurotoxinas, a pCPA não produz dano à inervação serotoninérgica. Mesmo com a acentuada diminuição dos níveis de serotonina, os níveis de outras catecolaminas sofrem pouca ação desta droga, deixando evidente a especificidade da pCPA (KOE, 1971).

Evidências envolvendo a 5-HT no desenvolvimento do SNC são baseadas em experimentos com neurotoxinas capazes de depletar este neurotransmissor. Lauder & Krebs (1976) demonstraram que o tratamento materno durante o segundo trimestre gestacional com pCPA induziu um retardo na diferenciação embrionária de neurônios em ratos. Recentemente, alterações morfológicas pós-natais foram encontradas na cortical neuronal de camundongos após tratamento com pCPA no nono dia gestacional (KHOZHAI *et al.*, 2006). Estudos em animais neonatos revelaram outro exemplo do efeito da depleção de 5-HT no desenvolvimento neuronal, demonstrando um decréscimo permanente no número de espinhas das células dendríticas do hipocampo em ratos expostos a para-cloroanfetamina (PCA) ou 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT) nos dias três e quatro pós-natais (DPN) (YAN *et al.*, 1997a, b).

De fato, as diferentes anomalias que aparecem no desenvolvimento neuronal resultado da depleção de serotonina nos períodos pré-natal e natal são bem caracterizadas (CASES *et al.*, 1996; YAN *et al.*, 1997a, b; VITALIS *et al.*, 1998; ALVAREZ *et al.*, 2002; ESAKI *et al.*, 2005; UEDA *et al.*, 2005; KHOZHAI *et al.*, 2006; HOHMANN *et al.*, 2007), entretanto, pouco se sabe ainda sobre a correlação entre as conseqüências fisiológicas e comportamentais. Farabollini *et al.* (1988) reportaram que ratos machos adultos submetidos ao tratamento com pCPA durante a segunda semana pós-natal mostram clara redução da ansiedade baseada em testes comportamentais. Neste estudo, o tratamento com pCPA durante a primeira semana pós-natal não produziu efeitos significativos. Por outro lado, Hohmann *et al.* (2007) demonstraram que a injeção de 5,7-DHT no feixe medial prosencefálico (PD 1) resultou na degradação na inervação serotoninérgica para o córtex e hipocampo, além de exacerbar a ansiedade no rato adulto. Foi relatado ainda que tal tratamento não acarretou déficit cognitivo. Volpe *et al.* (1992) e Ueda *et al.* (2005) também não obtiveram êxito em obter dados para discussão em relação ao retardo da aprendizagem de ratos albinos expostos a 5,7-DHT na PD 3, embora tenha havido considerável perda de neurônios serotoninérgicos (VOLPE *et al.*, 1992) e um decréscimo na neurogênese do *gyrus*

dentato (UEDA *et al.*, 2005) resultante da administração de 5,7-DHT. Em relação aos experimentos pré-natais, Butkevich *et al.* (2005) demonstraram que o tratamento com pCPA no dia nove de gestação realçou o impacto do estresse de limitação maternal durante o último trimestre de gestação com produção de dor induzida por formalina na prole do rato adulto. O tratamento exclusivamente materno no mesmo dia de gestação com pCPA produziu anormalidades morfológicas no núcleo dorsal da rafe, porém, com efeitos mínimos sobre os aspectos comportamentais. Estes dados conjuntamente com resultados similares obtidos em experimentos com ratos neonatos indicam que a depleção de 5-HT durante o desenvolvimento precoce tem um significativo efeito em estruturas cerebrais específicas, quando os comportamentos correspondentes permanecem inalterados.

Vataeva *et al.* (2007) examinaram a hipótese de que o tratamento pré-natal com pCPA sobre o comportamento do rato depende do tempo de exposição à droga durante o período gestacional. Os achados mais relevantes deste estudo revelaram que a administração de pCPA em ratas gestantes pode causar alterações comportamentais nos seus descendentes, dependendo consideravelmente do período gestacional de exposição à droga. Este estudo mostrou ainda que os efeitos pré-natais da pCPA, nos ratos submetidos ao teste de campo aberto, foram mais expressivos quando as ratas eram expostas entre os dias gestacionais 14-17 do que entre os dias 8-11. Além disso, apenas a ninhada tratada entre esses dias mostrou um aumento da imobilidade no teste de natação forçada e um significativo prejuízo no aprendizado no teste do labirinto de Morris. Estes dados provam adicionalmente que a influência adversa pode exercer maiores efeitos severos na função cerebral durante o segundo trimestre do que no último semestre da gestação (PETERS, 1988; LORDI *et al.*, 1997; VATEAVA *et al.*, 2001).

Uma possível explicação para as diversas formas de alterações nas funções cerebrais pela depleção de serotonina advém supostamente de diferentes mecanismos 5-HT-dependentes de regulação do desenvolvimento embrionário cerebral em dois períodos gestacionais. Os níveis embrionários de 5-HT no rato permanecem baixos durante o início da gestação. É possível, que neste período, a serotonina possa ser essencial para diferenciação de estruturas cerebrais. As evidências levam a crer que a 5-HT embrionária no início da gestação é de origem materna (CÔTÉ *et al.*, 2007) e a depleção deste neurotransmissor durante este período provavelmente acarrete um retardamento embrionário somático e desenvolvimento cerebral como um todo. O incremento de 5-HT, particularmente em estruturas cerebrais embrionárias, acontece no último trimestre de gestação (VITALIS & PARNAVELAS, 2003). Com isso, o tratamento pré-natal com pCPA nos dias gestacionais 14-17 corresponde ao período em que a 5-HT pode especificamente afetar a maturação neuronal no córtex frontal, estruturas hipocámpais e amígdala que estão envolvidos no controle comportamental. Estes achados mostram que o tratamento materno durante a gestação com pCPA acarreta alterações comportamentais na vida adulta da ninhada que pode ser amplamente comparada com aquelas causadas pelo stress pré-natal (WEINSTOCK, 2002). Isto inclui um aumento da atividade motora no teste de campo aberto, revelado previamente em outros estudos usando diferentes formas de estresse materno (PETERS, 1986; VATAEVA, 2001). Ratos pré-natais tratados com pCPA, assim como animais estressados no período pré-natal (ALONSO *et al.*, 1991), têm um aumento da imobilidade no teste de natação forçada de Porsolt e podem ser considerados como um modelo animal de comportamento depressivo. Este teste é sensível as principais classes de agentes antidepressivos, como os componentes tricíclicos (amitriptilina), inibidores da MAO (monoamina oxidase), antidepressivos atípicos e inibidores seletivos da

recaptação de serotonina. E finalmente, como no caso de estresse pré-natal (LORDI *et al.*, 1997; VALLÉE *et al.*, 1999; BOWMAN *et al.*, 2004) a administração materna de pCPA induz déficit da habilidade de aprendizado nos seus descendentes. Todos esses dados indicam que experimentos com exposição materna de pCPA são apropriados como modelos de estudos dos mecanismos responsáveis pela ação do estresse materno no desenvolvimento cerebral e comportamental da sua ninhada. No geral, os presentes achados corroboram com o envolvimento da 5-HT na regulação comportamental associada à depressão, desempenho da memória e atividade locomotora no campo aberto. Um importante papel da 5-HT nas manifestações depressivas é pontualmente documentado por Nemeroff (1998), porém, menor é o conhecimento sobre o papel da 5-HT no aprendizado e memória (BUHOT *et al.*, 2003). Neumeister (2003) também revisou o papel do triptofano na depressão. Escassos dados disponíveis indicam a participação da 5-HT sobre o comportamento no campo aberto. Não obstante, o efeito do tratamento com inibidores da MAO que induzem uma redução significativa da densidade do terminal serotoninérgico e incrementa a atividade locomotora em ratos no teste do campo aberto foi previamente reportado por Whitaker-Azmitia *et al.* (1994). Esses achados demonstram que o tratamento pré-natal com pCPA, o qual leva a depleção de serotonina cerebral, induzem alterações comportamentais. Contudo, para concluir que as alterações comportamentais observadas em estudos prévios (VATAEVA *et al.*, 2007) são produzidas unicamente por depleção de 5-HT necessita-se de mais investigações. Outra interpretação que também não se pode desprezar norteia a evidência que a pCPA produz um não tão significativo, mas um apreciável efeito nas catecolaminas cerebrais (VATAEVA *et al.*, 2007). O incremento da atividade motora tem sido por muito tempo atribuído a alterações no sistema dopaminérgico. Esta hipótese é baseada em observações de hiperatividade em animais com lesões no sistema dopaminérgico e a eficácia de agentes dopaminomiméticos, como a anfetamina, em diminuir a hiperatividade em seres humanos e em modelos animais de hiperatividade (ARNSTEN, 2006; ADVOKAT, 2007). Atualmente há uma clara indicação da contribuição da 5-HT nesta patologia comportamental. Brus *et al.* (2004) acharam em ratos que as alterações na atividade motora foram substancialmente pronunciadas quando ambos os neurônios serotoninérgicos e dopaminérgicos foram lesados no período sensível do desenvolvimento.

Os efeitos pré-natais de pCPA no comportamento da vida adulta podem envolver uma variedade de fatores, como pela manipulação da transmissão de 5-HT que pode alterar o número de neurotransmissores e sistemas endócrinos (ALVES *et al.*, 2002). Adicionalmente, ação de drogas (incluindo pCPA) no embrião é dependente de graus consideráveis dos seus efeitos no organismo materno. Existem evidências que as conhecidas modificações nos componentes hormonais maternos exerçam um significativo papel nas alterações do desenvolvimento cerebral embrionário no estresse induzido (WEINSTOCK, 2002; VILTART *et al.*, 2006). Em animais adultos, a administração de PCPA mostrou produzir elevação nos níveis hormonais do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (CHUNG *et al.*, 1999). Isto mostra que o tratamento de ratas gestantes com pCPA pode ser acompanhado por um incremento de seus níveis de corticosterona plasmática, contudo, existe a necessidade de trabalhos realizados na área antes da compreensão completa de como esses mecanismos regulatórios são alterados após o tratamento materno com pCPA e como a 5-HT regula o desenvolvimento cerebral sob condições normais e sob estresse.

No período neonatal, a depleção sistêmica da inervação cortical serotoninérgica atrasa a modulação talamocortical (BLUE *et al.*, 1991) e diminui o tamanho da área do

barro (BENNETT-CLARKE *et al.*, 1994). Fato interessante é que o incremento da neurotransmissão serotoninérgica durante o período crítico também altera o desenvolvimento do campo barrado (VITALLIS *et al.*, 1998; SALICHON *et al.*, 2001). A importância da serotonina na maturação talamocortical é nortada pela expressão transitória da alta afinidade nos sítios de recaptação de serotonina, e receptores aferentes talamocorticais 5-HT1B na área do campo barrado durante as primeiras semanas pós-natais (BENNETT-CLARKE *et al.*, 1991; BENNETT-CLARKE *et al.*, 1993; HANSSON *et al.*, 1998). A depleção neonatal de serotonina pela administração de pCA ou 5,7-DHT conduz a poucas espinhas e uma tendência da diminuição da árvore dendrítica nos neurônios do *gyrus dentato* (YAN *et al.*, 1997). Esta depleção serotoninérgica nos dias 10-20 pós-natais acarreta diminuição permanente da expressão na MAP-2 no hipocampo, sugerindo alterar assim a formação dendrítica (MAZER *et al.*, 1997). Efeitos no desenvolvimento neuroquímico da cortical de interneurônios (DURING & HORNUNG, 2000) e aumento da LTP no córtex pré-frontal (OHASHI *et al.*, 2003) também foram observados após depleção serotoninérgica neonatal. Em conjunto, estes dados morfológicos fornecem um seguro suporte que as alterações na morfogênese e na plasticidade possam estar envolvidas em alterações na saúde mental com envolvimento serotoninérgico. Mazer *et al.* (1997) demonstraram um déficit substancial no aprendizado espacial de ratos serotonina-depletados entre os dias 10-20 do período neonatal.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Avaliar indiretamente a influência da depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal sobre o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais, correlacionando suas repercussões com a homeostase metabólica energética e expressão comportamental de ratos adultos

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar indiretamente o metabolismo energético dos ratos adultos através das mensurações basais e sob jejum da glicemia correlacionando a influência da depleção neonatal de serotonina com os mecanismos compensatórios glicêmicos
- Avaliar a expressão de comportamentos motivados (ingestão de ração e fluidos) em condições basais, sob jejum e sob estímulos específicos correlacionando a influência da depleção neonatal de serotonina com o apetite e saciedade sob diferentes circunstâncias
- Avaliar a ingestão neonatal de leite durante o tratamento com pCPA correlacionando a influência da depleção de serotonina com o apetite e a saciedade do neonato
- Avaliar o ganho de peso corporal do período neonatal a vida adulta correlacionando a influência da depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal com a programação metabólica energética dos indivíduos adultos

- Avaliar a taxa de mortalidade durante o tratamento com pCPA
- Avaliar a expressão de comportamentos afetivos correlacionando a influência do tratamento com pCPA com o status de ansiedade do rato adulto

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados ratos Wistar, entre o oitavo e décimo sexto dias pós-natal (DPN), provenientes de seis ninhadas diferentes, com 5 a 12 animais, para o tratamento de depleção neonatal de serotonina com p-clorofenilalanina (pCPA). Os neonatos permaneceram em gaiolas com seus progenitores até o vigésimo primeiro dia pós-natal onde foram desmamados e alocados em caixas de acrílico brancas de acordo com a ninhada e sexo. No período correspondente ao início da fase adulta (60-75 DPN) foram realizados os estudos experimentais.

Os ratos permaneceram acomodados durante este estudo em gaiolas metabólicas com acesso a bebedouros volumétricos contendo água destilada e ração *ad libitum* por um período de sete dias para habituação, sendo manuseados diariamente. As salas de manutenção e experimentação tinham ambiente climatizado (temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade $60 \pm 10\%$) com ciclo claro-escuro 12-12h. Após os experimentos os animais foram eutanasiados com overdose barbitúrica (Tiopental Sódico 100 mg. Kg^{-1}).

Todos os procedimentos, aos quais os animais utilizados neste estudo foram submetidos, estavam de acordo com as normas e princípios éticos preconizados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, que segue o Guide for the Care and Use of Laboratory animals (NIH Publicação N° 85-23, revisado 1996).

4.2 Drogas

Para a indução de depleção neonatal de serotonina, foi utilizado a pCPA, 4-cloro-DL-fenil-alanina, (Sigma-Aldrich), um inibidor competitivo da enzima triptofano hidroxilase, etapa esta limitante na biossíntese da serotonina. O fármaco foi diluído em solução salina fisiológica e permaneceu sob refrigeração em alíquotas contendo 10mg/ml. Para indução da depleção de sódio, foi utilizado o diurético inibidor do co-transportador de $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ presente no ramo ascendente espesso da alça de Henle, furosemida (Lasix[®]), na sua forma original.

4.3 Desmame

No vigésimo primeiro DPN, foi realizado o desmame dos animais, que foram alocados em caixas de acrílico individuais, de acordo com a ninhada e sexo, onde permaneceram até o período de avaliações (60-75 DPN).

4.4 Tratamento

Os animais foram alocados em dois grupos experimentais, o grupo controle e o grupo tratado. Os animais controle receberam injeções diárias de solução salina (NaCl 0,9%) por via subcutânea isovolumetricamente ao grupo tratado que receberam injeções diárias de pCPA, na dose de 100mg. Kg⁻¹ diluído em solução salina fisiológica. Ambos os grupos foram tratados do oitavo ao décimo sexto dia pós-natal (DPN).

4.5 Avaliações

Os animais durante o período de tratamento (8-16 DPN) foram avaliados diariamente quanto à taxa de mortalidade, ganho de peso corporal e ingestão de leite. Após o período do tratamento os animais foram avaliados semanalmente quanto ao ganho de peso corporal.

No período em que os animais foram considerados adultos (60-75 DPN), ocorreram às avaliações que envolveram o comportamento ingestivo e atividade afetivo-comportamental. Os animais foram submetidos a protocolos consagrados na literatura para avaliação da ingestão basal e sob estímulos de fluídos/alimentos e modelos comportamentais envolvidos com a ansiedade. A fim de evitar possíveis influências com a presença dos avaliadores, todos os testes envolvendo os modelos comportamentais foram filmados e os videotapes analisados posteriormente. Durante todo esse período os ratos permaneceram em gaiolas metabólicas alocadas em salas climatizadas (temperatura de 24 ± 2°C e umidade 60 ± 10%) com ciclo claro-escuro 12-12h.

4.6 Protocolos Experimentais

A fim de observar os ratos durante suas atividades normais, as avaliações aconteceram entre 19 e 23 horas, quando as atividades viscerosensoriais (gustatórias, olfatórias e receptores de volume) e movimentos hedônicos parecem estar aumentados no rato (REF).

4.7 Procedimentos Experimentais

4.7.1 Avaliações neonatais

4.7.1.1 ingestão de leite

A avaliação da ingestão neonatal de leite foi realizada segundo adaptação do protocolo descrito por Perillan *et al.* (2007). O dia do nascimento dos animais foi designado como dia zero. A ninhada, usualmente 8-12 filhotes, foi mantida intacta até o

dia do teste. O protocolo consistiu em quatro etapas: A) Privação: Quatro horas antes do teste, a ninhada foi ajustada para oito filhotes, que foram separados da mãe durante as últimas duas horas e alocados em caixas acrílicas com maravalha sob aquecimento com auxílio de uma lâmpada de 25-W. A temperatura cutânea foi monitorada através de um termistor e mantida a 33°C. B) Pesagem: Os neonatos foram pesados com auxílio de uma balança de precisão antes e depois da privação. C) Ingestão: Os neonatos foram realocados junto as suas progenitoras durante uma hora e posteriormente repesados. D) Cálculo da ingestão: Ao final do período do teste os ratos foram repesados individualmente e a porcentagem de ganho de peso foi calculada tomando como base a média percentual de ganho de peso dos animais em relação à média percentual da ingestão basal (dia zero), considerada 100%. O ganho de peso corporal foi usado como a mensuração da ingestão de leite, uma vez que não havia nenhuma outra fonte de ganho de peso. De acordo com Wirth & Epstein (1976) que primeiramente designaram este teste de ingestão, perdas por evaporação presume-se ser a mesma para todos os neonatos, tratados ou controles, e que não há excreção espontânea em ratos lactantes.

4.7.2 Avaliações basais

4.7.2.1 experimentos envolvendo a atividade afetivo-comportamental

Foram realizados quatro modelos experimentais como descritos a seguir.

1- Campo Aberto

Este teste é um simples protocolo, cuja avaliação dos seus componentes têm sido amplamente utilizada para mensuração de emocionalidade, exploração (MATTO & ALLIKMETS, 1999), atividade geral ou locomotora (COURVOISIER *et al.*, 1996), medo (COURVOISIER *et al.*, 1996) e ansiedade. Neste experimento os animais foram submetidos individualmente a análise de sua capacidade locomotora/exploratória e avaliados através de diferentes parâmetros. Este teste é considerado um excelente modelo sensível a drogas/atividade ansiolítica (PRUT & BELZUNG, 2003). O ensaio experimental foi realizado em uma sala escura com luz vermelha onde os ratos foram individualmente inseridos em uma caixa de acrílico branca (80 x 80 x 30 cm) dividida igualmente em 25 quadrantes. Durante 5 minutos eles puderam livremente explorar os quadrantes, onde foram avaliados os seguintes parâmetros comportamentais: ambulação, tempo de imobilidade, grooming (tempo gasto e episódios), atividade vertical e emissão de bolo fecal. A ambulação foi avaliada quantificando o número de quadrantes periféricos, médios e central explorados pelos animais.

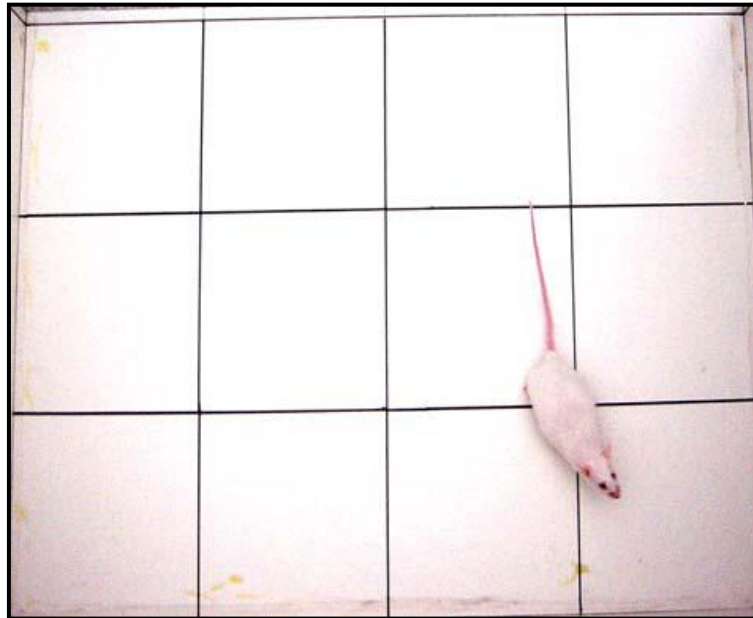


Figura 4. Teste de campo aberto

2- Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

O LCE tem sido amplamente utilizado em roedores como um protocolo de avaliação do medo, ansiedade (PELLOW *et al.*, 1985), e mais recentemente, da avaliação de risco em camundongos (RODGERS *et al.*, 1996) e ratos (MIKICS *et al.*, 2005). O teste do labirinto em cruz elevado consiste em dois braços opostos (50 x 10 cm) cruzados por dois braços opostos fechados de mesmas dimensões e com 40 cm de altura. Os braços são conectados por uma plataforma central (10 x 10 cm) dando ao aparato um aspecto de sinal de soma. O aparato permaneceu elevado por uma altura de 50 cm do piso em uma sala com luz vermelha. Os ratos foram inseridos individualmente na plataforma central da cruz com a cabeça voltada para um dos braços fechados. O tempo gasto e o número de entradas feitas pelos ratos, nos braços abertos e fechados do aparato foram registrados durante 5 minutos. A entrada no braço é definida quando os quatro membros do animal estão em um dos braços da cruz. Adicionalmente, stretched attend posture (S.A.P.) e head-dipping (H.D.) nos braços abertos e na área protegida (braços fechados e plataforma central) foram avaliados. As medidas comportamentais registradas no LCE como citado acima foram: frequência de entradas e o tempo despedido nos braços fechados e nos abertos. A frequência total de entradas foi obtida pela soma simples das frequências de entrada nos braços abertos e nos fechados. Para análise estatística dos dados e confecção dos gráficos a porcentagem de entrada no braço aberto foi calculada dividindo-se a frequência de entrada pela frequência total de entradas, e esse índice multiplicado por 100. De maneira semelhante foi calculada a porcentagem de tempo em que os animais permanecerem nos braços em relação ao somatório do tempo de permanência nos braços abertos e fechados, sendo o quociente obtido multiplicado por 100. Foram também registrados no labirinto medidas de avaliação etológica como o número de head-dipping (imersão de cabeça), rearing (movimento vertical), que avaliam a atividade exploratória. Estas são medidas do comportamento de avaliação de risco (Rodgers & Cole, 1993), assim como o tempo de permanência na plataforma central (que correlaciona com uma tomada de decisão) e o número de bolos fecais (emocionalidade). Um aumento seletivo nos parâmetros

correspondentes aos braços abertos (entrada e tempo) revela um efeito ansiolítico, e o inverso é verdade. O número de entradas no braço fechado avalia a atividade motora dos animais.

Este teste é considerado um excelente modelo de avaliação do status de ansiedade, particularmente, envolvendo a transmissão GABAérgica (RODGERS & DALVI, 1997). Além disso, durante este teste é possível avaliar aspectos que envolvem emocionalidade e a tomada de decisão dos animais que está diretamente relacionado com o status de ansiedade.



Figura 5. Teste de labirinto em cruz elevado

3- Interação Social

Neste experimento os animais foram submetidos individualmente a interagir com outro animal desconhecido do mesmo sexo em uma caixa de acrílico (60 x 60 x 30 cm) com um piso sólido. A análise realizada para quantificar o tempo de interação do modelo experimental abrangeu os episódios de grooming, cheirar, seguir, chutar, socar, montar ou permitir a monta. Os ratos foram pareados baseados no teste e inseridos na área de testes por 10 minutos.

4- Natação Forçada

Neste experimento os animais foram submetidos individualmente à análise do status depressivo, através de um modelo adaptado de Porsolt *et al.* (1977) que abrangeu a latência da tentativa de escape por cima e o período de imobilidade (IMMO) que foram avaliados durante um período de 5 minutos. Neste teste, os ratos foram inseridos

individualmente dentro de um cilindro de acrílico de 25 cm de diâmetro contendo água a 25°C e uma profundidade de 30 cm, sendo incapazes de escapar ou tocar no fundo do cilindro. Vinte e quatro horas antes, os ratos foram submetidos em ordem a 15 min de sessões de nado forçado para reconhecimento e adaptação do teste programado. No dia seguinte, os ratos foram submetidos ao teste válido da natação forçada.



Figura 6. Teste de natação forçada

4.7.2.2 experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: ingestões basais

Foram realizados três experimentos a fim de avaliar a ingestão basal dos animais.

1- Ingestão de alimento

A ingestão basal de alimento foi mensurada por um período de 24 horas a fim de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre o apetite e saciedade. Durante esta avaliação os animais tiveram acesso *ad libitum* à ração moída nos comedouros e água destilada em buretas volumétricas graduadas. Para análise dos resultados as vasilhas contendo as rações foram pesadas imediatamente antes da introdução dos ratos nas gaiolas metabólicas e após um período de 24 horas.

2- Ingestão de água e salina

Com o objetivo de avaliar a resposta dipsogênica e o apetite por sódio, a preferência dos animais por água ou NaCl 0.3 M, solução normalmente aversiva a percepção gustatória do rato, foram mensuradas por um período de 24 horas sendo ofertadas em buretas volumétricas graduadas. Os fluidos e a ração em *pellets* foram ofertados *ad libitum*.

3- Ingestão de água e sacarose

Durante este experimento foi mensurada a preferência dos animais por água ou sacarose por um período de 24 horas, sendo ofertadas em buretas volumétricas graduadas. Os fluidos e a ração em *pellets* foram ofertados *ad libitum*.

4.7.3 Avaliações sob estímulos

4.7.3.1 Experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: Ingestões sob jejum

Foram realizados três experimentos a fim de avaliar a ingestão sob jejum dos animais. Os protocolos utilizados foram baseados naqueles descritos outrora por Reis *et al.* 1990; Badauê-Passos *et al.* 2001; De-Luca *et al.* 2002.

1- Privação Hídrica

Nesta condição, a ingestão de água foi mensurada após 24 horas de privação hídrica com objetivo de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre o fenômeno da sede no animal em jejum. Durante este período o acesso a ração foi oferecida *ad libitum*.

2- Privação Alimentar

Nesta condição, a ingestão de ração foi mensurada após 24 horas de privação alimentar com objetivo de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre o apetite e a saciedade no animal em jejum. Durante este período não houve acesso a ingestão de fluidos.

3- Ingestão de sacarose

Nesta condição, a ingestão de sacarose e água foi mensurada após 24 horas de privação alimentar com objetivo de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre a preferência entre água e sacarose 2% no animal em jejum. Durante este período não houve acesso a ingestão de fluidos.

4- Ingestão de salina

Nesta condição, a ingestão de NaCl 0.3 M e água foram mensuradas após 24 horas de privação alimentar com objetivo de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre a preferência entre água e NaCl 0.3 M no animal em jejum. Durante este período não houve acesso a ingestão de fluidos.



Figura 7 - Gaiolas metabólicas

4.7.3.2 experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: ingestões sob estímulos específicos sobre a indução do apetite por sódio e da sede

Foram realizados dois experimentos a fim de avaliar a ingestão em animais sódio-depletados e após estímulo de hipertonicidade.

1- Indução da sede

Com o objetivo de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre a sensação da sede, os animais receberam por via subcutânea solução salina hipertônica (1M) a fim de induzir uma hipertonicidade plasmática. Durante este experimento os animais tiveram acesso *ad libitum* à ração e água destilada. Após um período de 24 horas, a ingestão de água foi mensurada em quatro momentos distintos: 30, 60, 120 e 180 minutos. Neste protocolo os animais receberam administração tópica de Cloridrato de Lidocaína 2% sem vasoconstrictor (0.1 – 0.2 ml s.c) seguido de NaCl 1M (1ml/100g. p.c⁻¹). A utilização prévia deste anestésico local é recomendada pela possibilidade de irritação cutânea por parte da solução de salina hipertônica (Penny *et al.* 2005).

Posteriormente, os animais retornaram as gaiolas metabólicas com acesso aos fluidos e alimento.

2- Depleção de sódio e privação hidrossalina

Com o objetivo de avaliar a influência da depleção de serotonina sobre o apetite por sódio em animais hiponatrêmicos, os ratos receberam por via subcutânea Furosemida (20 mg. Kg⁻¹) a fim de induzir hiponatremia pela espoliação de sódio peculiar a este fármaco. Este diurético foi administrado 24 horas antes da reapresentação dos fluidos. Durante este experimento os animais tiveram acesso *ad libitum* à dieta hiponatrêmica (farinha de milho) e permaneceram sob privação hídrica. Após um período de 24 horas, o apetite por sódio foi avaliado mensurando-se a ingestão de NaCl 0.3 M em quatro momentos distintos: 30, 60, 120 e 180 minutos.

4.7.4 Avaliações glicêmicas

4.7.4.1 experimentos envolvendo a glicemia: mensuração basal e sob jejum

A coleta das amostras de sangue foi realizada com auxílio de uma agulha hipodérmica que foi introduzida na base da cauda dos animais. Em seguida, uma fita de glicosímetro foi cuidadosamente posicionada sobre a gotícula de sangue proveniente da coleta e conectada ao equipamento responsável pela leitura.

1- Mensuração basal

A mensuração da glicemia basal dos animais foi realizada com auxílio de um glicosímetro portátil no primeiro dia de experimento.

2- Mensuração sob jejum

A mensuração da glicemia sob jejum dos animais foi realizada com auxílio de um glicosímetro portátil onde estes permaneceram sob privação alimentar por um período de 24 horas.

4.8 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram expressos em valores de média e erro padrão da média. Para comparação entre mais de dois grupos sob apenas um fator de variação comum, foi realizada a análise da variância para variáveis paramétricas por ANOVA uma via, seguida pela determinação da significância das diferenças entre os grupos, pelo teste de Bonferroni. Mais de dois grupos submetidos à interferência simultânea de dois fatores de variação, foram analisados por ANOVA duas vias, seguida do teste de Bonferroni. Para comparação entre dois grupos com um único fator de variação, utilizou-se o teste *t de student*. O nível crítico fixado foi de 5% ($P < 0,05$) para se admitir uma diferença de médias como estatisticamente significativa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliações do Peso Corporal e da Ingestão de Leite

5.1.1 Avaliação da ingestão de leite durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN)

Durante o tratamento com pCPA houve uma diminuição significativa da média percentual da ingestão de leite nos dias quatro e seis da avaliação, em relação à média percentual da ingestão basal dos animais ($29,4 \pm 12,3$ versus $213,7 \pm 14,4$ % $P < 0,001$ e $25,0 \pm 10,7$ versus $115,8 \pm 22,0$ %; $P < 0,001$) (Fig. 8).

Estes resultados indicam que possa ocorrer uma influência da depleção neonatal de serotonina sobre o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais (AZMITIA, 1999) que participam do controle metabólico e energético dos indivíduos. Ademais, o próprio sistema serotoninérgico, envolvido diretamente com o comportamento ingestivo (MEDEIROS *et al.*, 2005), parece estar supra-regulado. Com esta hipótese, haveria um aumento da expressão da leptina com subsequente diminuição da ingestão alimentar nos neonatos tratados com pCPA. Além disso, este hormônio suscita um estímulo do hipotálamo basomedial, que é diretamente envolvido com a regulação da oxidação de gordura, balanço energético e com o peso corporal (GRILL & KAPLAN, 2002; BLUNDELL *et al.*, 2001; McMINN *et al.*, 2000). Este efeito anorexigênico da leptina mediado por atividade serotoninérgica deve-se a estimulação de receptores 5-HT_{2C} (YAMADA *et al.*, 2003). Estas recentes evidências justificam a participação da circuitaria do NDR em mecanismos envolvidos com o controle do apetite e da saciedade. No entanto, não se pode descartar o envolvimento de outros sistemas cerebrais co-participadores para explicar estes resultados.

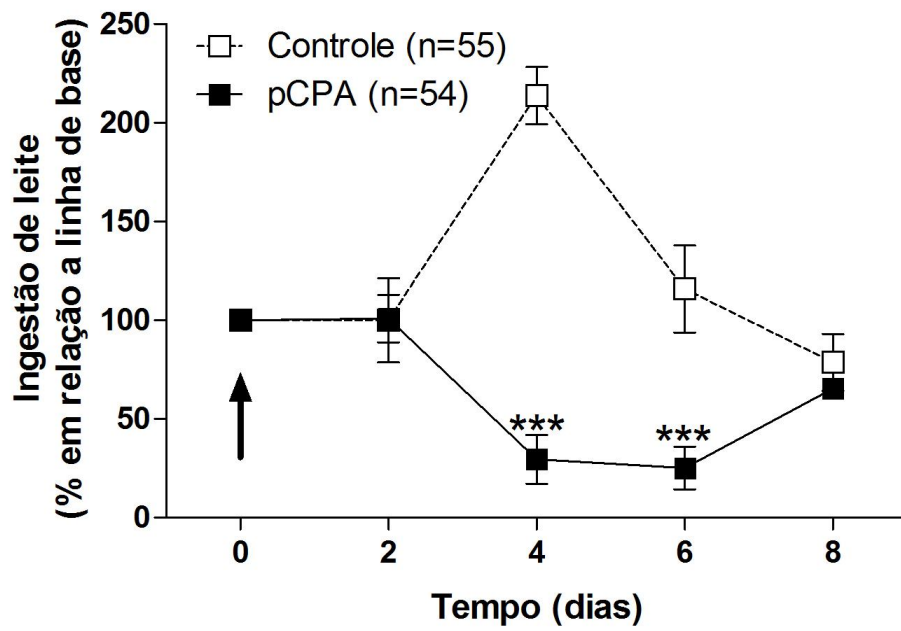


Figura 8. Percentual da ingestão de leite em ratos neonatos durante o período correspondente ao tratamento com pCPA (8-16 DPN) em relação à linha de base, que corresponde à ingestão basal de leite do grupo controle e tratado. (↑) início do tratamento; (***) $P < 0,001$, comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

5.1.2 Avaliação do peso corporal durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN)

O tratamento neonatal com pCPA não interferiu significativamente no peso corporal do 1º ao 5º dia do protocolo. Entretanto, foi considerado significativamente menor nos dias seis ($22,0 \pm 0,5$ versus $24,4 \pm 0,6$ g; $P < 0,05$), sete ($23,4 \pm 0,5$ versus $26,6 \pm 0,6$ g; $P < 0,001$), oito ($24,7 \pm 0,6$ versus $28,1 \pm 0,6$ g; $P < 0,001$) e nove ($25,3 \pm 0,5$ versus $30,1 \pm 0,7$ g; $P < 0,001$) do tratamento em relação ao grupo controle (Fig. 9).

Estes resultados se correlacionam com a menor ingestão de leite observada nos animais tratados com pCPA, discutido anteriormente, indicando a influência da depleção neonatal de serotonina sobre o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais (AZMITIA, 1999) que participam do controle metabólico e energético dos indivíduos.

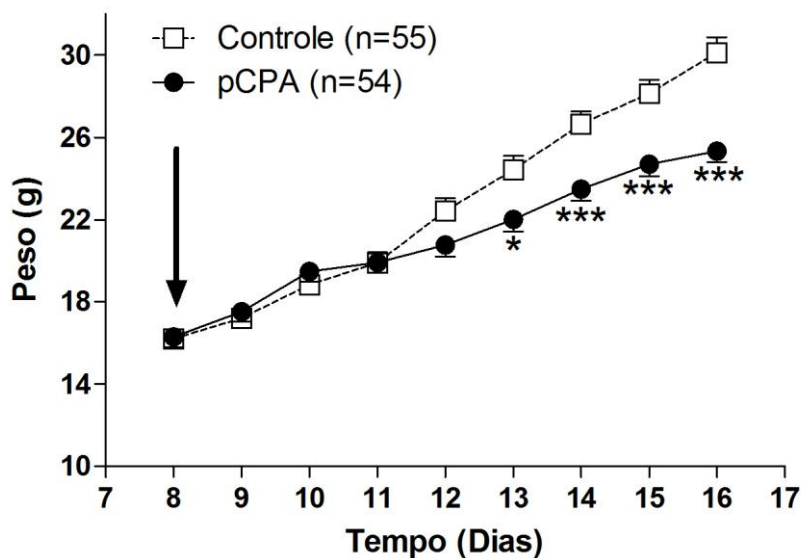


Figura 9. Peso corporal de ratos neonatos do grupo controle e tratado durante o período correspondente ao tratamento com pCPA (8-16 DPN). (↓) início do tratamento (*) $P < 0,05$ e (***) $P < 0,001$, comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

5.1.3 Avaliação do ganho de peso corporal durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN)

Durante o tratamento com pCPA o ganho de peso corporal foi significativamente menor em relação ao grupo controle ($9,2 \pm 0,7$ versus $15,7 \pm 0,5$ g; $P < 0,001$) (Fig. 10).

Estes resultados se correlacionam com a menor ingestão de leite observada nos animais tratados com pCPA, discutido anteriormente, indicando a influência da depleção neonatal de serotonina sobre o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais (AZMITIA, 1999) que participam do controle metabólico e energético dos indivíduos.

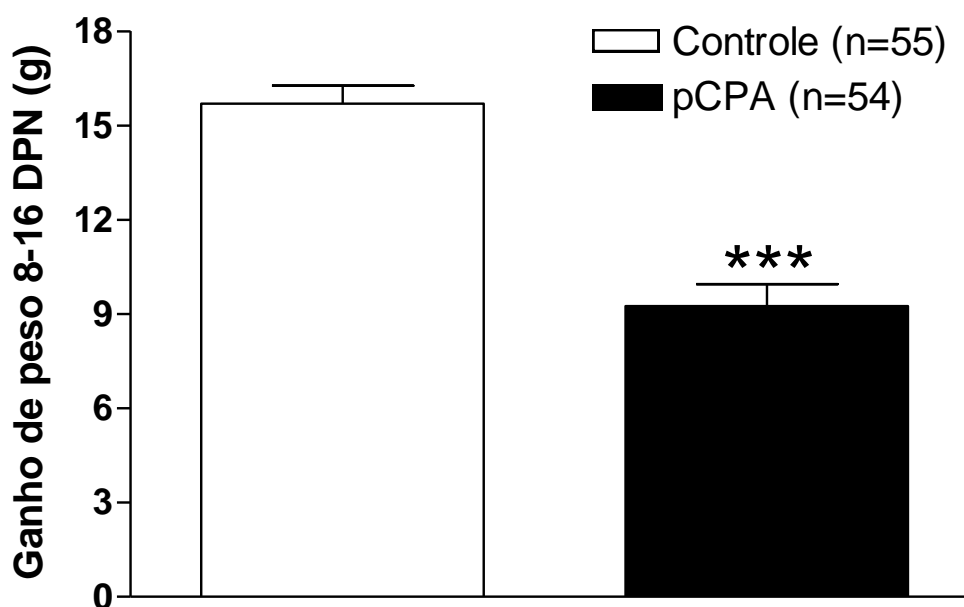


Figura 10. Ganho de peso corporal de ratos neonatos do grupo controle e tratado durante o período correspondente ao tratamento com pCPA (8-16 DPN). (***) $P < 0,001$, comparado ao grupo controle (Teste t não pareado).

5.1.4 Avaliação semanal do peso corporal do desmame (21 DPN) a vida adulta (56 DPN)

O peso corporal foi significativamente maior nos machos tratados ($95,3 \pm 3,5$ *versus* $80,0 \pm 3,6$ g; $P < 0,05$) (Fig.11A) em relação aos machos do grupo controle no 28º dia de vida, entretanto, foi significativamente menor nos dias 42 ($150,0 \pm 2,3$ *versus* $161,1 \pm 5,6$ g; $P < 0,05$) e 56 ($228,2 \pm 4,9$ *versus* $253,3 \pm 5,1$ g; $P < 0,05$) (Fig.11A). Em relação às fêmeas, o peso corporal foi significativamente menor nos dias 21 ($37,7 \pm 2,7$ *versus* $49,2 \pm 3,5$ g; $P < 0,05$) e 56 ($167,0 \pm 6,3$ *versus* $185,0 \pm 4,0$ g; $P < 0,05$) (Fig.11B).

Os resultados obtidos durante esta avaliação evidenciam que mesmo após o desmame os animais tratados com pCPA permaneceram com o peso corporal menor em relação aos animais do grupo controle até a vida adulta. Estes dados corroboram com a hipótese que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal acarretou alterações na programação metabólica e energética dos indivíduos em função da sua influência no desenvolvimento ontogênico dos sistemas cerebrais envolvidos. Segundo de Moura & Passos (2005) a programação metabólica é um fenômeno epigenético de cunho hormonal, genético, físico, psicológico ou qualquer outro evento estressor acarretado durante um período crítica da vida, como a gestação e a lactação, que tenha habilidade de modificar de maneira prolongada certas funções fisiológicas. Este processo foi preservado pela seleção natural como uma importante ferramenta adaptativa para a sobrevivência de organismos que vivem em áreas de difícil acesso ao alimento. Portanto, uma má nutrição durante a gestação ou lactação é capaz de ativar diferentes genes que fornecem um fenótipo racional ao organismo. Em resumo, é plausível conjecturar que o decréscimo dos níveis cerebrais de 5-HT durante o desenvolvimento neuronal possa ter acarretado uma alteração plástica na citoarquitetura do sistema serotoninérgico cerebral (AZMITIA, 1999) que ocasionou esta suposta modificação na programação metabólica e energética dos indivíduos.

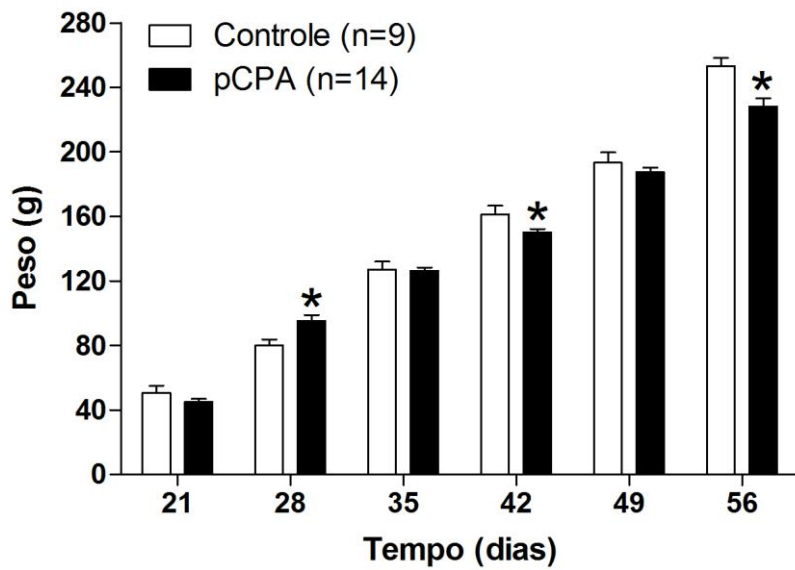


Figura 11A. Avaliação semanal do ganho de peso corporal de ratos do desmame (21 DPN) à vida adulta (56 DPN). (*) $P < 0,05$, comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

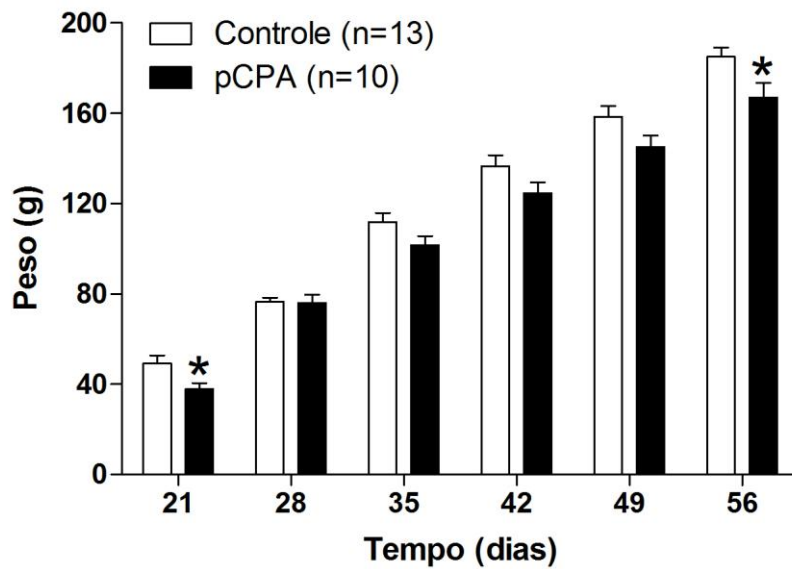


Figura 11B. Avaliação semanal do ganho de peso corporal de ratas do desmame (21 DPN) à vida adulta (56 DPN). (*) $P < 0,05$, comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

5.1.5 Avaliação do peso corporal na vida adulta (56 DPN)

O peso corporal foi significativamente menor nos machos tratados ($228,2 \pm 4,9$ versus $253,3 \pm 5,1$ g; $P < 0,001$) em relação aos machos do grupo controle e nas fêmeas tratadas ($167,5 \pm 6,3$ versus $185,0 \pm 4,0$ g; $P < 0,001$) em comparação as fêmeas do grupo controle (Fig. 12).

Os resultados desta avaliação são similares aos obtidos no item 5.1.4 e, portanto, foi discutido anteriormente.

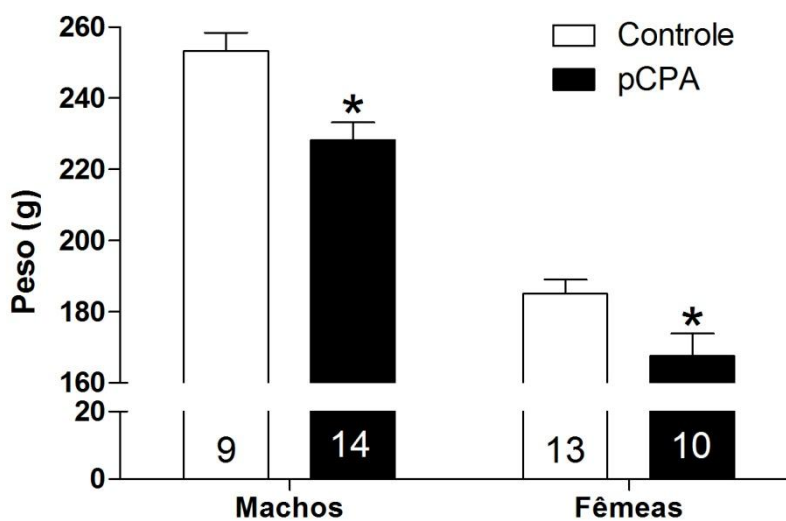


Figura 12. Avaliação do peso corporal de ratos na vida adulta (56 DPN). (*) $P < 0,05$, comparado ao grupo controle (Teste t não pareado).

5.1.6 Avaliação da taxa de mortalidade durante o tratamento com pCPA (8-16 DPN)

Durante o tratamento com pCPA não houve incidência de óbitos em nenhum dos grupos experimentais.

Este resultado demonstra que a depleção precoce de serotonina cerebral, com pCPA (KOE & WEISMANN, 1966), não acarreta danos letais nos indivíduos mesmo durante este período crítico de maturação de diversos sistemas cerebrais.

5.2 Avaliações basais

5.2.1 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos na vida adulta no teste do campo aberto

Ocorreu um aumento significativo do número de quadrantes periféricos explorados pelas fêmeas do grupo tratado em relação às fêmeas do grupo controle ($137,7 \pm 8,5$ versus $101,8 \pm 3,8$; $P < 0,01$) e em relação aos machos tratados ($137,7 \pm 8,5$ versus $96,0 \pm 4,8$; $P < 0,01$) (Fig. 13). Houve também um aumento significativo no número de quadrantes médios explorados pelas fêmeas tratadas em relação aos machos tratados ($22,5 \pm 2,1$ versus $13,5 \pm 1,6$; $P < 0,01$) (Fig. 13). Em contrapartida, a análise do número de vezes que o quadrante central foi explorado não foi estatisticamente significativa entre os grupos (Fig. 13). Em relação ao número de grooming houve uma diferença significativa entre os machos tratados em comparação aos machos do grupo controle ($6,0 \pm 0,5$ versus $2,4 \pm 0,3$; $P < 0,001$) e em relação às fêmeas tratadas ($6,0 \pm 0,5$ versus $1,0 \pm 0,4$; $P < 0,001$) (Fig. 14). No entanto, avaliando o tempo gasto nos episódios de grooming houve apenas uma diferença significativa dos machos tratados em relação às fêmeas tratadas ($12,8 \pm 4,2$ versus $1,5 \pm 0,9$; $P < 0,05$) (Tab. 1). O tempo de imobilidade foi significativamente menor nos machos tratados em comparação aos machos do grupo controle ($45,7 \pm 2,9$ versus $66,7 \pm 8,4$; $P < 0,05$), havendo ainda uma diferença significativa entre estes em relação às fêmeas do grupo controle ($66,7 \pm 8,4$ versus $37,7 \pm 1,6$; $P < 0,01$) (Tab. 1). Não houve diferença significativa no número de movimentos verticais realizados pelos dois grupos experimentais (Tab. 1).

Os resultados acima nos permitem especular a existência de um aumento da atividade motora das fêmeas do grupo tratado com pCPA em função da maior atividade exploratória dos quadrantes periféricos (WALSH & CUMMINS, 1976). Estes dados corroboram com a discussão de Adlard & Smart (1974) que demonstraram aumento da atividade locomotora em ratos adultos tratados no período neonatal com pCPA. Ademais, não se pode descartar a hipótese da influência das diferentes fases do ciclo estral sobre esta atividade motora (LIGHTFOOT, 2008; MORGAN & PFAFF, 2002), tendo em vista que as ratas deste estudo eram inteiras e sem controle estral.

Em relação aos machos, não foi observado nenhuma alteração significativa de cunho motor. Entretanto, o maior número de episódios de grooming realizados pelos animais tratados com pCPA postula a hipótese que houve uma atividade ansiogênica, pois, este parâmetro etológico parece ser um indicador da percepção de estresse e reatividade (SPRUIJT *et al.*, 1992).

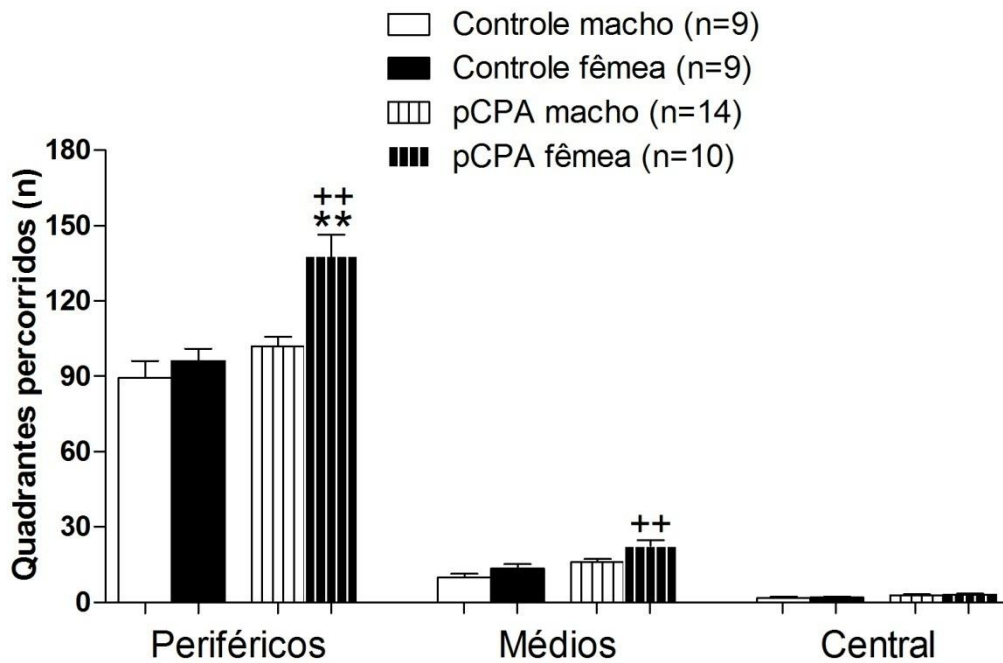


Figura 13. Número de quadrantes periféricos, médios e quadrante central explorados pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do campo aberto (**) $P < 0,01$, comparado ao grupo controle e (++) $P < 0,01$, comparado ao grupo de machos tratados com pCPA (ANOVA uma via).

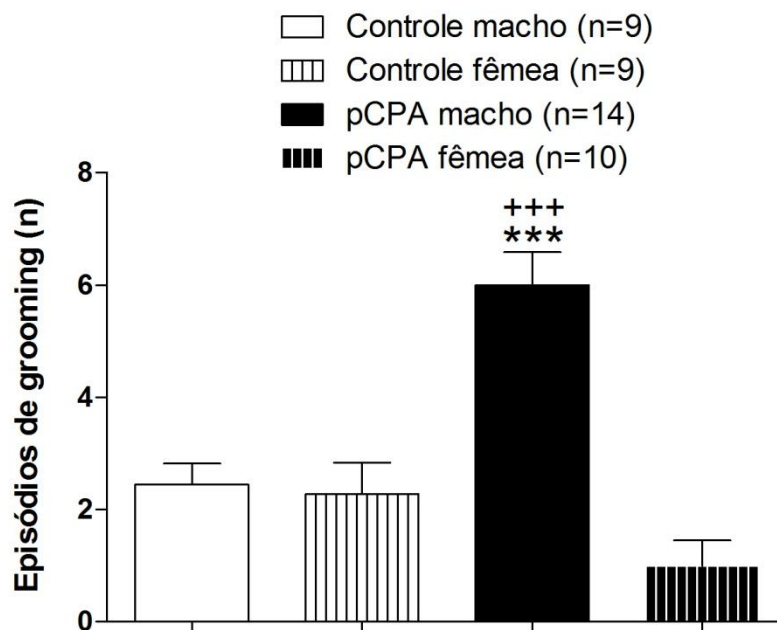


Figura 14. Episódios de grooming realizados pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do campo aberto (***) $P < 0,001$, comparado ao grupo controle e (+++) $P < 0,001$, comparado ao grupo tratamento (ANOVA uma via).

Tabela 1 Avaliação do teste de campo aberto

Variáveis	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
Quadrantes percorridos (n)				
Periféricos	89,2± 6,8	101,8 ± 3,8	96,0 ± 4,8	137,7 ± 8,5***++
Médios	9,8 ± 1,5	15,9 ± 1,3	13,5 ± 1,6	22,5 ± 2,1++
Central	1,6±0,5	2,9±0,3	1,9±0,3	3,1±0,4
Grooming				
Episódios	2,4±0,3	2,2±0,5	6,0±0,5 ⁺⁺⁺ ***	1,0±0,4
Tempo gasto (s)	2,6±0,8	1,5±0,3	12,8±4,2+	1,5±0,9
Movimento vertical	24,8±2,5	25,0±1,9	25,2±1,5	26,8±2,3
Tempo de imobilidade (s)	66,7±8,4++	37,7±1,6	45,7±2,9*	36,9±6,9

Influência do tratamento neonatal com pCPA no teste de campo aberto. Dados são representados como média ± SEM. (***)P<0,001 e (*)P<0,05, comparando ao grupo controle; (+++)P<0,001 e (+)P(*)P<0,05, comparando entre o grupo controle (ANOVA uma via).

5.2.2 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos adultos no teste do labirinto em cruz elevado (LCE)

Ocorreu um aumento significativo do número de entradas das fêmeas tratadas no braço aberto em relação as do grupo controle ($7,8 \pm 0,3$ versus $4,9 \pm 0,4$; $P < 0,001$) e em comparação aos machos tratados ($7,8 \pm 0,3$ versus $4,6 \pm 0,4$; $P < 0,001$) (Fig. 15A). Além disso, houve um aumento significativo do número de entradas no braço fechado das fêmeas tratadas em relação as do grupo controle ($10,2 \pm 0,6$ versus $6,2 \pm 0,4$; $P < 0,001$) e em comparação aos machos tratados ($7,8 \pm 0,3$ versus $5,0 \pm 0,3$; $P < 0,001$) (Fig. 15A). Ademais, o tempo gasto pelos machos tratados no braço aberto foi significativamente maior em comparação aos do grupo controle ($148,8 \pm 8,8$ versus $99,7 \pm 21,4$ s; $P < 0,05$) e significativamente maior nas fêmeas tratadas em relação as do grupo controle ($140,7 \pm 3,1$ versus $78,0 \pm 7,9$ s; $P < 0,01$) (Tab. 2). O tempo gasto pelas fêmeas do grupo tratado no braço fechado foi significativamente menor do que as fêmeas do grupo controle ($102,9 \pm 3,6$ versus $162,2 \pm 9,6$ s; $P < 0,01$) (Tab. 2). A porcentagem do número de entradas no braço aberto não foi estatisticamente significativa em nenhum dos grupos experimentais, em contrapartida, esta porcentagem relacionada ao tempo gasto pelas fêmeas do grupo tratado no braço aberto foi significativamente maior em relação às fêmeas do grupo controle ($58,2 \pm 0,8$ versus $32,9 \pm 3,3\%$; $P < 0,001$) e em relação aos machos tratados e controles ($53,6 \pm 2,8$ versus $36,2 \pm 5,2$; $P < 0,05$) (Tab. 2 e Fig 15B). O número de H.D. realizado pelos machos tratados no braço aberto foi significativamente maior em comparação aos machos do grupo controle ($12,9 \pm 1,3$ versus $5,0 \pm 1,4$; $P < 0,001$), que foi significativamente menor em relação às fêmeas do grupo controle ($5,0 \pm 1,4$ versus $12,9 \pm 1,3$; $P < 0,001$) (Fig. 16). Em relação ao número de H.D. na área protegida, as fêmeas do grupo tratado realizaram um menor número de episódios, estatisticamente significativo, em relação às fêmeas do grupo controle ($4,7 \pm 0,7$ versus $8,3 \pm 0,6$; $P < 0,01$) (Fig. 15). O número de S.A.P. foi significativamente menor nos machos do grupo tratado em relação aos machos do grupo controle ($2,5 \pm 0,5$ versus $8,0 \pm 1,4$; $P < 0,001$) e significativamente menor nas fêmeas tratadas em comparação às fêmeas do grupo controle ($2,2 \pm 0,2$ versus $9,4 \pm 0,6$; $P < 0,001$) (Fig. 17). O número de movimentos verticais realizado pelos machos tratados foi significativamente menor em relação aos do grupo controle ($9,8 \pm 1,1$ versus $17,1 \pm 2,0$; $P < 0,01$) (Tab. 2). O número de grooming foi significativamente menor nos machos do grupo tratado em relação aos do grupo controle ($2,1 \pm 0,2$ versus $4,4 \pm 0,6$; $P < 0,01$) (Tab. 2). Em relação aos bolos fecais emitidos não houve diferença estatisticamente significativa (Tab. 2).

A partir dos resultados obtidos nos machos tratados com pCPA ficou evidente a presença de uma atividade ansiolítica refletida no maior tempo gasto no braço aberto do aparato, além de diferenças significativas nos parâmetros etológicos: maior número de head-dipping no braço aberto e menor número de grooming e S.A.P. Ademais, o tempo de permanência dos machos nos braços fechados não foi significativo em relação aos do grupo controle. Em relação às fêmeas tratadas com pCPA, os resultados nos permitem especular a existência de uma atividade ansiolítica refletida em um maior número de entradas e maior tempo de permanência no braço aberto, além da redução de parâmetros etológicos como o head-dipping na área protegida e S.A.P (CRUZ *et al.*, 1994; RODGERS E JOHNSON, 1995; RAMOS *et al.*, 1997). Esta observação corrobora com os dados obtidos por Wilson *et al.* (1992) que observaram uma atividade ansiolítica em fêmeas intactas e androgenizadas tratadas com pCPA no mesmo período neonatal. Estes

dados reforçam a hipótese de que realmente ocorreu uma atividade ansiolítica nas fêmeas, porém, associado ao incremento da atividade motora. Esta atividade ansiolítica observada nos animais tratados com pCPA corrobora com os resultados obtidos por Farabollini *et al.* (1988) que realizaram o tratamento de depleção de serotonina no mesmo período neonatal.

Entretanto, em função do aumento da atividade motora, refletida pelo maior número de entradas e menor tempo de permanência no braço fechado pode-se conjecturar que esta suposta atividade ansiolítica esteja sendo influenciada pelo incremento da atividade motora. Neste caso, é provável que esta redução dos parâmetros etológicos e maior tempo despendido no braço aberto do aparato não sejam reflexos de uma atividade ansiolítica, mas sim da exacerbação da atividade motora. Ademais, como já foi observado um aumento da atividade motora no teste do campo aberto, mesmo sendo sobre influência estral, torna-se plausível acreditar que a atividade ansiolítica observada no LCE possa ter sofrido influência pelo incremento da atividade motora.

Além disso, estes resultados ansiolíticos observados principalmente no LCE são similares aos descritos outrora (FARABOLLINI *et al.*, 1988; VATAEVA *et al.*, 2007) que correlacionaram níveis diminuídos de 5-HT cerebral durante os períodos pré-natal e neonatal levam a comportamentos ansiolíticos na vida adulta. Portanto, é plausível conjecturar que o decréscimo dos níveis cerebrais de 5-HT durante o desenvolvimento neuronal possa ter acarretado uma alteração plástica na citoarquitetura do sistema serotoninérgico cerebral (AZMITIA, 1999).

Tabela 2 Avaliação do teste de labirinto em cruz elevado (LCE)

Variáveis	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
Número de entradas				
B.A.	3,2± 0,4	4,9 ± 0,4	4,6 ± 0,4	7,8 ± 0,3****+++
B.F.	4,7 ± 0,4	6,2 ± 0,4	5,0 ± 0,3	10.2 ± 0,6****+++
Tempo gasto (s)				
B.A.	99,7±21,4	78,0±7,9	148,8±8,8*	140,7±3,1**
B.F.	165,9±19,9	162,2±9,6	141,9±9,0	102,9±3,6**
B.A./B.F.+B.A. (%)				
Número de entradas	40,3±3,9	42,4±2,1	46,8±1,6	43,9±1,6
Tempo gasto (s)	36,2±9,2	32,9±3,3	53,6±2,8*	58,2±0,8***
H.D. no B.A (n)	5,0±1,4+++	13,0±0,7	12,9±1,3***	15,3±0,9
H.D. área protegida (n)	7,2±0,9	8,3±0,6	5,0±0,5	4,7±0,7**
S.A.P. (n)	8,0±1,4	9,4±0,6	2,5±0,5***	2,2±0,2***
Movimentos verticais (n)	17,1±2,0	16,0±1,1	9,8±1,1**	13,0±0,7
Grooming (n)	4,4±0,6	2,8±0,5	2,1±0,2**	2,5±0,4
Bolos fecais (n)	3,1±0,5	3,3±0,2	1,5±0,4	2,0±0,4

Influência do tratamento neonatal com pCPA no teste de labirinto em cruz elevado (LCE). Dados são representados como média ± SEM. B.A. = braço aberto; B.F. = braço fechado; H.D. = Head-dipping; S.A.P. = stretched attend posture. (***)P<0,001, (**)P<0,01 e (*)P<0,05, comparando ao grupo controle; (+++)P<0,001, comparando entre o grupo controle (ANOVA uma via).

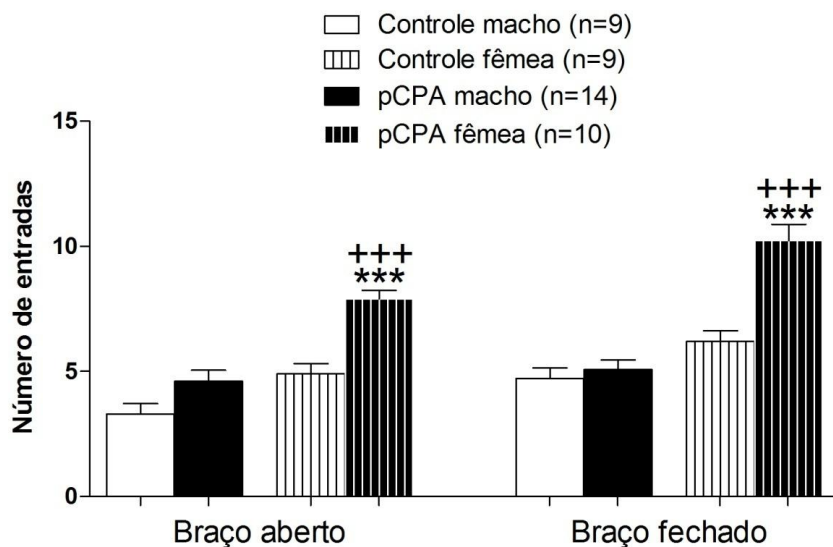


Figura 15A. Número de entradas nos braços aberto e fechado realizadas pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado (LCE). (***) $P < 0,001$, comparado ao grupo controle e (+++) $P < 0,001$, comparado ao grupo tratamento (ANOVA uma via).

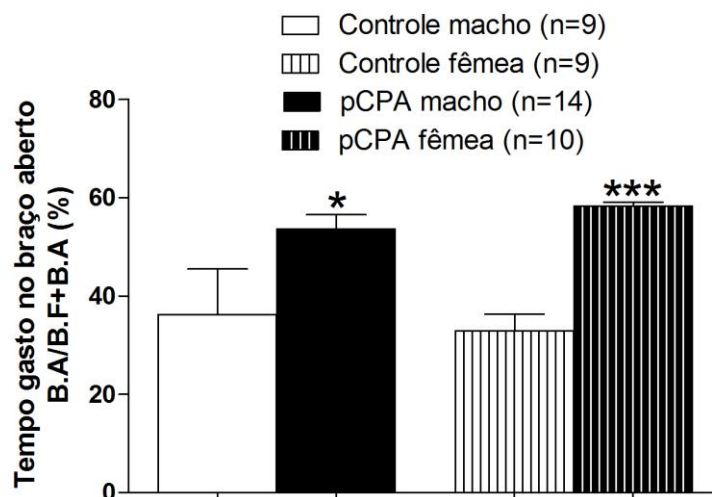


Figura 15B. Tempo gasto no braço aberto expresso em porcentagem realizado pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado (LCE). B.A = braço aberto e B.F = braço fechado; (***) $P < 0,001$, (*) $P < 0,05$ comparado ao grupo controle (ANOVA uma via).

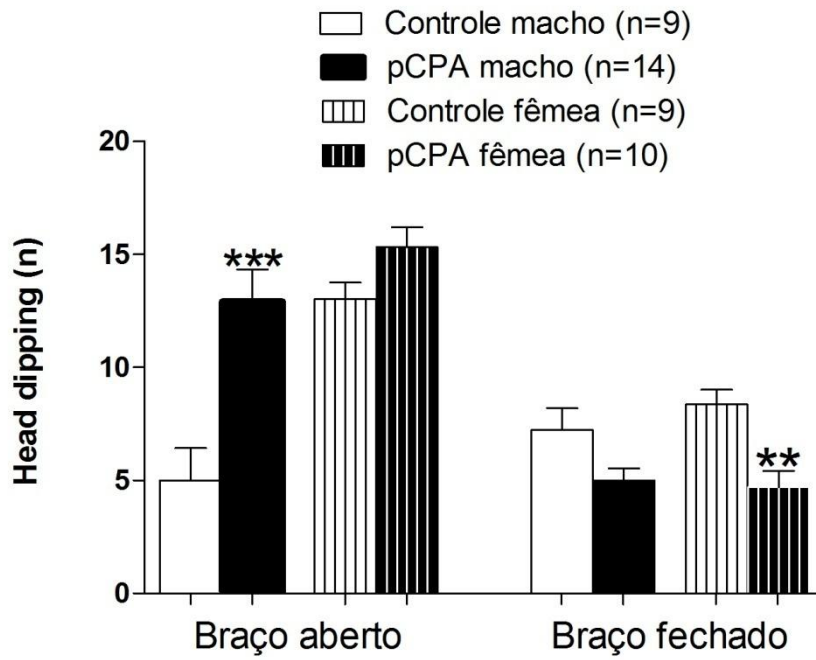


Figura 16. Número de head-dipping nos braços aberto e fechado, realizados pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado (LCE). (***) $P < 0,001$ e (**) $P < 0,01$ comparado ao grupo controle (ANOVA uma via).

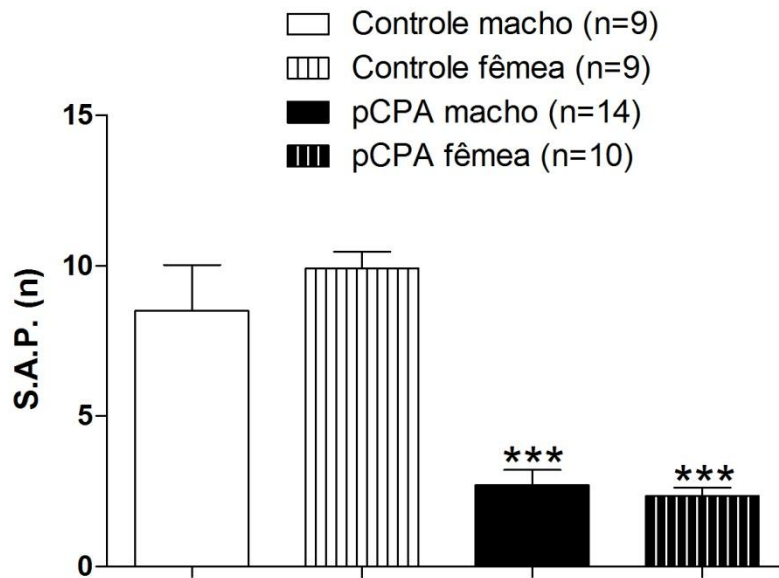


Figura 17. Número de S.A.P. realizados pelos ratos dos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do teste do labirinto em cruz elevado (LCE). S.A.P. = stretched attend posture; (***) $P < 0,001$ comparado ao grupo controle (ANOVA uma via).

5.2.3 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos adultos no teste de interação social

Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos no tempo gasto de interação social (Tab. 3).

Estes resultados postulam a hipótese que não houve influência do tratamento neonatal com pCPA sobre o modelo de interação social nos animais adultos. Para explicar estes diferentes resultados de cunho ansiolítico, devem-se levar em consideração os diversos tipos de ansiedade avaliados pelos diferentes testes comportamentais. O teste de interação social tem sido proposto como um modelo que avalia de uma forma geral as desordens de ansiedade, enquanto que primariamente a avaliação no LCE reflete alguns aspectos relacionados a desordens de pânico (CHEETA *et al.*, 2000). Também têm sido descrito que a resposta as diferentes classes farmacológicas nestes modelos possam variar. Entretanto, estes modelos são altamente sensíveis para avaliar os efeitos ansiolíticos de drogas a transmissão GABAérgica (FILE & SETH, 2003; RODGERS *et al.*, 1997). Ademais, o papel exercido por outros neurotransmissores, como a serotonina, não foram completamente elucidados.

Além disso, neste modelo de interação social, foi observado clinicamente um efeito ansiogênico com o tratamento agudo com antidepressivos, porém, um efeito ansiolítico foi obtido com a administração de agonistas de receptores 5-HT_{1A} e de antidepressivos como a paroxetina (FILE & SETH, 2003). Estes resultados fornecem um suporte farmacológico para a hipótese de que diferentes vias neurobiológicas possam estar envolvidas em cada modelo comportamental e podem explicar as diferenças de respostas acarretadas pela depleção cerebral no período neonatal de serotonina com pCPA nos diferentes testes realizados.

Tabela 3 Avaliação do teste interação social

	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
Tempo de interação (s)	111,7±16,6	105,3±9,5	112,6±8,1	125,1±13,8

Influência do tratamento neonatal com pCPA no teste de interação social. Dados são representados como média ± SEM. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos (ANOVA uma via).

5.2.4 Avaliação da influência do tratamento neonatal com pCPA em ratos adultos no teste de natação forçada

Houve um menor tempo de imobilidade dos machos tratados com pCPA em relação aos machos do grupo controle ($109,0 \pm 7,8$ versus $158,1 \pm 18,2$ S; $P < 0,01$) e em relação às fêmeas tratadas com pCPA em comparação às fêmeas do grupo controle ($85,3 \pm 13,1$ versus $168,0 \pm 3,4$; $P < 0,001$) (Fig. 14). Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa no tempo de latência dos animais em ambos os grupos experimentais.

Apesar de se tratar de um modelo que primariamente avalia a susceptibilidade do desenvolvimento de depressão em roedores (PETIT-DEMOULIERE *et al.*, 2005), faz-se necessário conjecturar que devido à inter-relação de diversos sistemas envolvidos com a ansiedade (e.x. sistema serotoninérgico) estes resultados postulam a hipótese da existência de uma atividade ansiolítica nos animais tratados com pCPA refletida no menor tempo de imobilidade dos animais durante a realização do teste da natação forçada (BORSINI, 1995). Estes dados reforçam a já referida hipótese, uma vez que esses resultados são normalmente imputados ao estado do sistema serotoninérgico cerebral e são desafiados por ensaios afetivos, tal como anteriormente proposto (BROEKKAMP *et al.*, 1989).

Tabela 4 Avaliação do teste da natação forçada

	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
Tempo de imobilidade (s)	158,1±18,2	168,0±3,4	109,0±7,8**	85,3±13,1***
Latência (s)	34,2±8,7	25,0±3,5	44,8±7,0	33,4±4,7

Influência do tratamento neonatal com pCPA no teste da natação forçada. Dados são representados como média \pm SEM. (***) $P < 0,001$; (**) $P < 0,01$ comparado ao grupo controle (ANOVA uma via).

Experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: Ingestões basais

5.2.5 Avaliação da ingestão basal de alimento durante a vida adulta (60-75 DPN)

O tratamento com pCPA não influenciou de forma significativa a ingestão de ração ($6,1 \pm 0,3$ versus $6,7 \pm 0,6$ g/100g) e água ($7,9 \pm 0,5$ versus $7,9 \pm 0,6$ ml/100g) em ratos machos adultos e ração ($7,6 \pm 0,6$ versus $7,2 \pm 0,2$ g/100g) e água ($9,1 \pm 0,9$ versus $9,1 \pm 0,5$ ml/100g) em ratas adultas (Tab.5).

Estes resultados postulam a hipótese que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal, apesar da suposta supra-regulação do sistema serotoninérgico e alteração na programação metabólica energética do indivíduo adulto, não altera de forma significativa a ingestão basal de alimentos (ração e água).

Tabela 5 Ingestão basal de alimento

Variável	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
Ração	$6,7 \pm 0,6$	$7,2 \pm 0,2$	$6,1 \pm 0,3$	$7,6 \pm 0,6$
Água	$7,9 \pm 0,6$	$9,1 \pm 0,5$	$7,9 \pm 0,5$	$9,1 \pm 0,9$

Influência do tratamento neonatal com pCPA sobre a ingestão basal de alimento em ratos adultos. Dados são representados como média \pm SEM. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os grupos (ANOVA uma via).

5.2.6 Avaliação da ingestão basal de NaCl 0.3 M durante a vida adulta (60-75 DPN)

Houve uma maior ingestão basal de NaCl 0.3 M em fêmeas do grupo tratado em relação às fêmeas do grupo controle ($6,9 \pm 1,1$ versus $3,4 \pm 0,7$ ml/100g $P < 0,05$) e em comparação aos machos do grupo tratado ($7,9 \pm 0,5$ versus $7,9 \pm 0,6$ ml/100g $P < 0,01$). Analisando a preferência pela solução de NaCl 0,3 M, houve uma maior procura por parte das fêmeas tratadas em relação aos machos tratados ($41,7 \pm 4,7$ versus $22,9 \pm 3,6$ %). (Tab. 6).

Estes resultados corroboram com os dados obtidos por Chow *et al.* (1992) e Curtis *et al.* (2004) que propuseram a existência de um dimorfismo sexual na ingestão de sódio, norteador por uma característica sexual secundária modulada pela testosterona. Este primeiro grupo de pesquisadores observou que ratos orquiectomizados no período neonatal ingerem solução salina de maneira semelhante às fêmeas durante a vida adulta. Ademais, não foi observado alteração na ingestão de sódio nos animais adultos orquiectomizados ou ovariectomizados. Entretanto, quando estes animais, adultos e castrados, receberam testosterona, a ingestão basal de NaCl foi suprimida em ambos os sexos enquanto que a ingestão induzida de NaCl foi reduzida somente em fêmeas. Estes dados indicam que a ingestão de sódio em ratos é um comportamento sexualmente dimórfico que é organizado no período neonatal e pode ser ativamente suprimida no rato adulto pela testosterona. Por outro lado, Kensicki *et al.* (2002) demonstraram que o incremento nos níveis plasmáticos de estradiol acarreta um aumento significativo da ingestão de sódio em ratas normotensas e hipertensas.

Em suma, a partir dos dados obtidos neste protocolo, é possível especular que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal possa ter influenciado o apetite por sódio em ratas adultas. Entretanto, deve-se ressaltar que este estudo foi realizado com animais intactos, machos e fêmeas, e sem controle de ciclo estral. Portanto, deve-se especular a presença de animais em diferentes fases de ciclo estral que possam estar influenciando diretamente na avaliação dos resultados.

Tabela 6 Ingestão basal de NaCl 0,3 M

Tempo	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
NaCl (ml/100g)	2,3± 0,6	3,4 ± 0,7	2,2 ± 0,7	6,9 ± 1,1* ++
Água (ml/100g)	6,5 ± 0,9	10,6 ± 1,1	8,2 ± 0,5	9,4 ± 1,2
Preferência (%)	25,6±6,4	22,9±3,6	18,3±4,6	41,7±4,7 +

Influência do tratamento neonatal com pCPA sobre a ingestão basal de NaCl 0.3 M em ratos adultos. Dados representados como média ± SEM. (*)P<0,05, comparando ao grupo controle; (+)P<0,05 e (++)P<0,01, comparando entre o grupo tratado. (ANOVA uma via).

5.2.7 Avaliação da ingestão basal de sacarose 2% durante a vida adulta (60-75 DPN)

Houve uma maior procura pela solução de sacarose 2% em fêmeas do grupo tratado em relação aos machos do grupo tratado ($30,7 \pm 2,6$ versus $11,8 \pm 2,3$ ml/100g $P < 0,001$) e das fêmeas do grupo controle em relação aos machos controle ($32,8 \pm 3,0$ versus $12,1 \pm 3,8$ ml/100g $P < 0,01$) (Tab. 7).

Estes resultados contradizem os obtidos por Curtis *et al.* (2004) que observaram uma menor ingestão de sacarose nas fêmeas intactas e ovariectomizadas em relação aos machos, porém, corroboram com os dados obtidos por Konkle *et al.* (2003) que relataram uma maior ingestão e preferência pela solução de sacarose em fêmeas intactas, sob controle de ciclo estral e estresse induzido. Ademais, a diferença sexual na percepção gustatória sugere um papel dos hormônios reprodutivos, em especial o estradiol (CLARKE & OSSENKOPP, 1998). Estes autores demonstraram ainda uma diferença significativa na resposta ingestiva de ratas no diestro e proestro em relação aos machos, e menor resposta aversiva em comparação aos machos e fêmeas durante o estro e metaestro.

Em resumo, a partir dos dados obtidos neste protocolo, é possível especular que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal não tenha influenciado a procura por sacarose em fêmeas adultas. Entretanto, deve-se ressaltar novamente que este estudo foi realizado com animais intactos, machos e fêmeas, e sem controle de ciclo estral. Portanto, deve-se especular a presença de animais em diferentes fases de ciclo estral que possam estar influenciando diretamente na avaliação dos resultados.

Tabela 7 Ingestão basal de sacarose 2%

Tempo	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
Sacarose (ml/100g)	12,1± 3,8	32,8 ± 3,0 ⁺⁺⁺	11,8 ± 2,2	30,7 ± 2,6+++
Água (ml/100g)	3,7 ± 1,2	3,6 ± 1,5	5,0 ± 0,9	4,9 ± 1,1
Preferência (%)	59,3±14,6	90,2±4,1	66,0±8,1	85,8±2,9

Influência do tratamento neonatal com pCPA sobre a ingestão basal de sacarose 2% em ratos adultos. Dados são representados como média ± SEM. (+++)P<0,001, comparando entre o grupo tratado. (ANOVA uma via).

5.3 Avaliações Sob Estímulos

Experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: Ingestões sob jejum

5.3.1 Avaliação da Ingestão de água sob privação hídrica durante a vida adulta (60-75 DPN)

Na ingestão cumulativa de água, sob privação hídrica, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais em nenhum dos momentos avaliados (30, 60 e 120 minutos) (Fig. 18).

Estes resultados postulam a hipótese que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal, apesar da suposta supra-regulação do sistema serotoninérgico e alteração na programação metabólica energética do indivíduo adulto, não altera de forma significativa a ingestão de água sob privação hídrica. Ademais, esta hipótese reforça a existência de uma regulação multifatorial na ingestão de fluidos como descrito outrora (McKINLEY & JOHNSON, 2004).

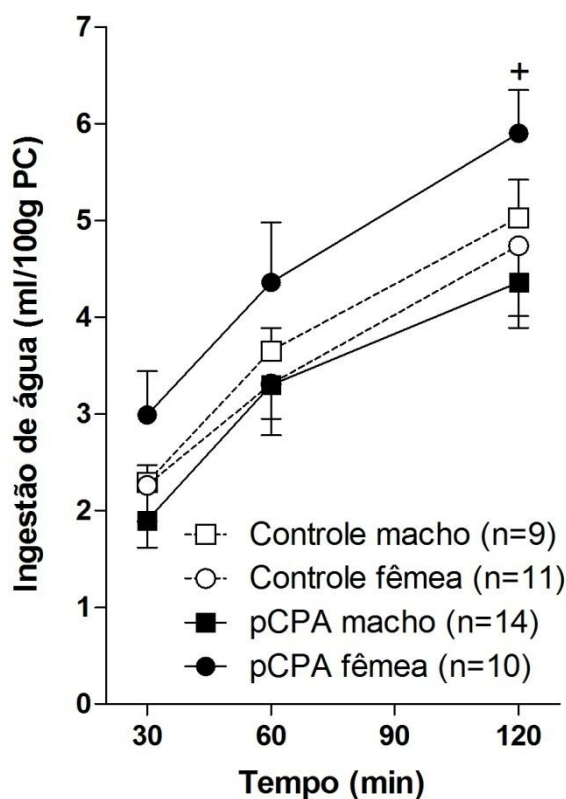


Figura 18. Ingestão cumulativa de água nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação hídrica. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA duas vias).

5.3.2 Avaliação da Ingestão de ração sob privação alimentar (ração e água) durante a vida adulta (60-75 DPN)

Houve um aumento significativo na ingestão cumulativa de ração nas fêmeas tratadas quando avaliadas aos 60 ($3,3 \pm 0,2$ versus $2,3 \pm 0,2$ g/100g $P < 0,05$) e 120 minutos ($4,3 \pm 0,3$ versus $3,0 \pm 0,3$ g/100g $P < 0,01$) em comparação as fêmeas do grupo controle, e aos 120 minutos em relação aos machos tratados ($4,3 \pm 0,3$ versus $2,2 \pm 0,2$ g/100g $P < 0,05$) (Fig. 19). Em contrapartida, houve uma diminuição significativa na ingestão cumulativa de ração nos machos tratados aos 120 minutos ($2,2 \pm 0,2$ versus $3,1 \pm 0,1$ g/100g $P < 0,05$) (Fig. 19).

Estes resultados analisados nos machos tratados com pCPA nos permitem especular que a depleção cerebral no período neonatal alterou o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais responsáveis pela homeostase metabólica energética. Recentemente, Medeiros *et al.* (2005) demonstraram que ratos machos, sob jejum alimentar, tratados com pCPA durante a vida adulta expressaram uma maior resposta ingestiva em relação aos machos do grupo controle, presumivelmente em função desta depleção de serotonina ter exacerbado a ativação de vias orexigênicas. A partir destes dados é possível concluir que de fato houve uma influência direta na depleção cerebral de serotonina no período neonatal sobre este comportamento ingestivo nos ratos machos durante a vida adulta. Em relação às fêmeas, os resultados obtidos contradizem com Gayle *et al.* (2006) que observaram uma maior ingestão de ração em fêmeas sob restrição alimentar de 12 horas em comparação aos machos sob mesmas condições. Em adição a esta maior ingestão alimentar em fêmeas, o jejum induziu um significativo incremento dos níveis plasmáticos orexigênicos de grelina associado a um decréscimo significativo dos níveis anorexigênicos de leptina. Entretanto, deve-se ressaltar que as fêmeas utilizadas em nosso estudo eram intactas e sem controle de ciclo estral. Em resumo, podemos concluir que o efeito anorexigênico exercido pela serotonina é modulado pelo sexo e fase do ciclo estral (ECKEL *et al.*, 2005; ASARIAN & GEARY, 2006).

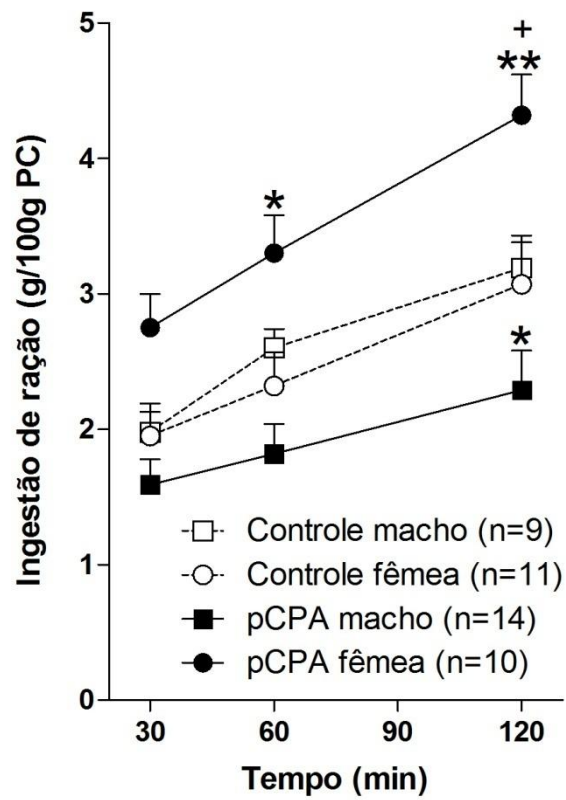


Figura 19. Ingestão cumulativa de ração nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar. (**) $P < 0,01$; (*) $P < 0,05$ comparado ao grupo controle e (+) $P < 0,05$ comparado ao grupo tratado (ANOVA duas vias).

5.3.3 Avaliação da Ingestão de sacarose 2% sob privação alimentar (ração e água) durante a vida adulta (60-75 DPN)

Não foi observada nenhuma diferença significativa nas ingestões de sacarose, água e nem na avaliação da preferência por sacarose em nenhum dos tempos mensurados (30, 60 e 120 minutos) (Fig. 21 e 22).

Com os resultados obtidos nesta avaliação é possível especular que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal possa ter influenciado a procura por sacarose em fêmeas adultas, pois, em condições basais, estas tiveram uma maior procura pela solução. Entretanto, deve-se ressaltar que este estudo foi realizado com animais intactos, machos e fêmeas, e sem controle de ciclo estral. Ademais, já foi descrito outrora (ATCHLEY *et al.*, 2005) que a percepção gustatória pela solução de sacarose é modulada de acordo com a fase do ciclo estral. Portanto, não se pode descartar a presença de animais em diferentes fases de ciclo estral, que possam estar influenciando diretamente na avaliação dos resultados.

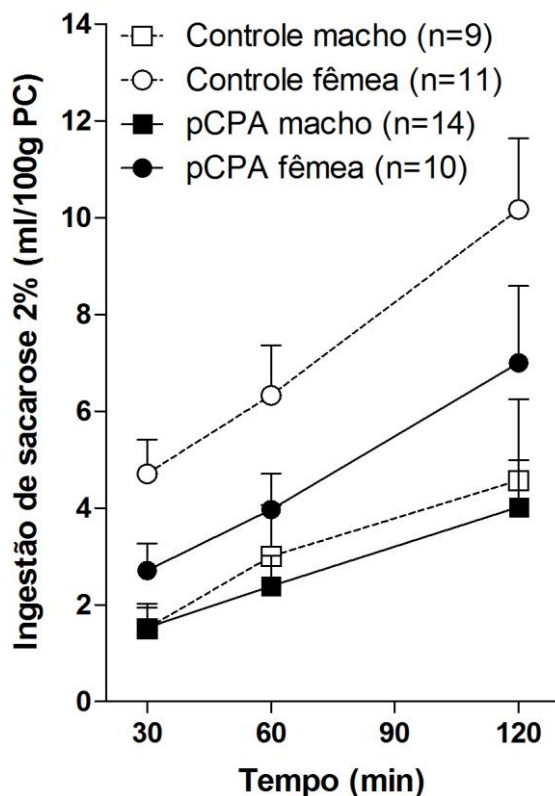


Figura 20. Ingestão cumulativa de sacarose 2% nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por sacarose. (***) $P < 0,001$ comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

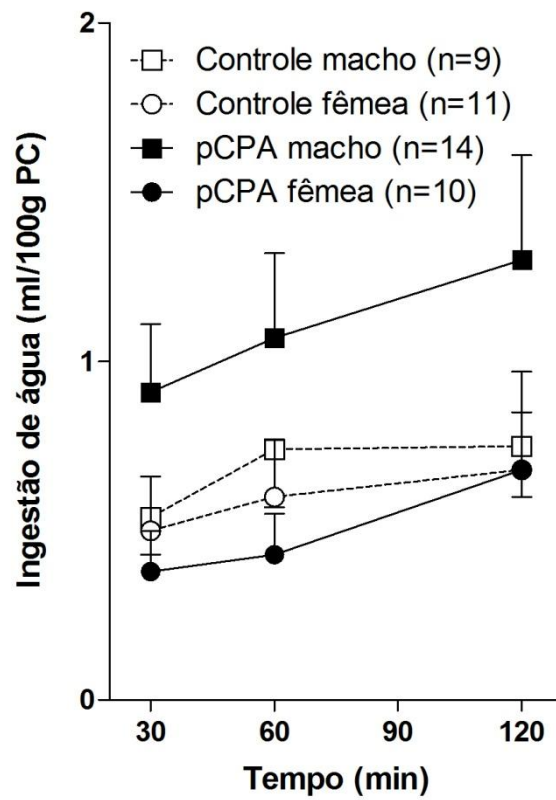


Figura 21. Ingestão cumulativa de água nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por sacarose. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA duas vias).

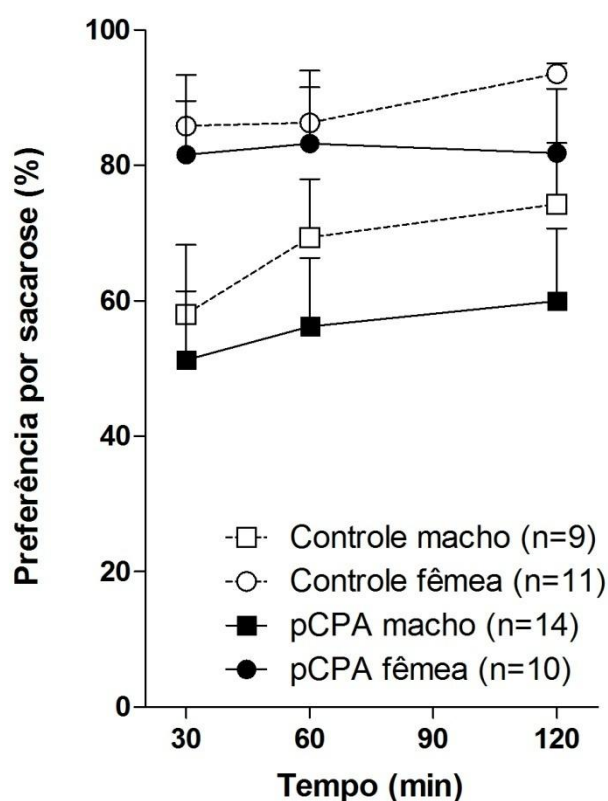


Figura 22. Preferência por sacarose 2% nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por sacarose. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA duas vias).

5.3.4 Avaliação da ingestão de NaCl 0,3 M sob privação alimentar (ração e água) durante a vida adulta (60-75 DPN)

Foi observada uma ingestão cumulativa de NaCl 0.3 M significativamente maior aos 120 minutos em fêmeas tratadas ($3,5 \pm 1,0$ versus $1,7 \pm 0,5$ ml/100g $P < 0,05$) em relação aos machos tratados (Fig. 23). Em relação à ingestão de água, houve uma ingestão cumulativa significativamente menor nos machos tratados ($2,8 \pm 0,5$ versus $5,5 \pm 1,0$ ml/100g $P < 0,05$) em comparação as fêmeas tratadas (Fig. 24). Ademais, não foi observada nenhuma diferença significativa nas ingestões de NaCl 0,3 M, água e nem na avaliação da preferência por NaCl 0.3 M em nenhum dos tempos mensurados (30, 60 e 120 minutos) (Fig. 23, 24 e 25).

Em relação à ingestão de salina avaliada neste protocolo, os resultados permitem especular que a depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal não influenciou a procura pela solução de NaCl em animais sob privação alimentar. Ademais, como já discutido no item 5.2.6, este estudo foi realizado com animais intactos, machos e fêmeas, e sem controle de ciclo estral. Portanto, deve-se especular a presença de animais em diferentes fases de ciclo estral que possam estar influenciando diretamente na avaliação dos resultados.

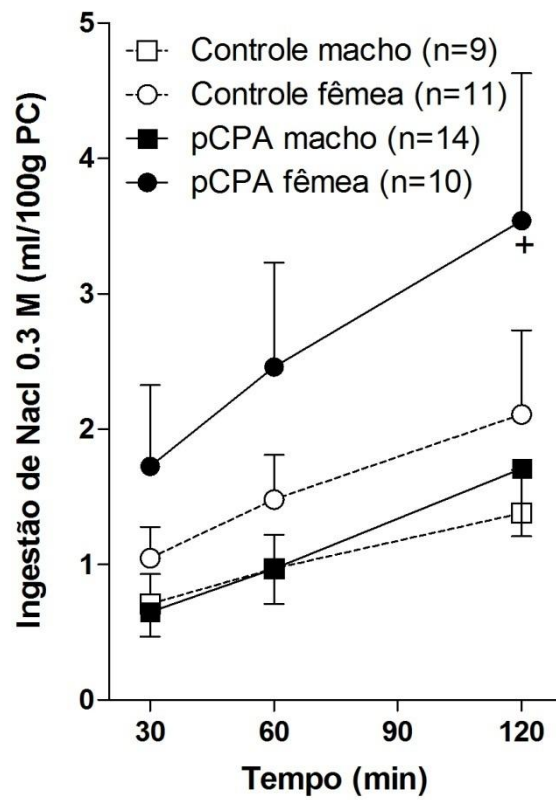


Figura 23. Ingestão cumulativa de NaCl 0.3 M nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por NaCl 0,3 M. (+)P<0,05 comparado ao grupo tratamento (ANOVA duas vias).

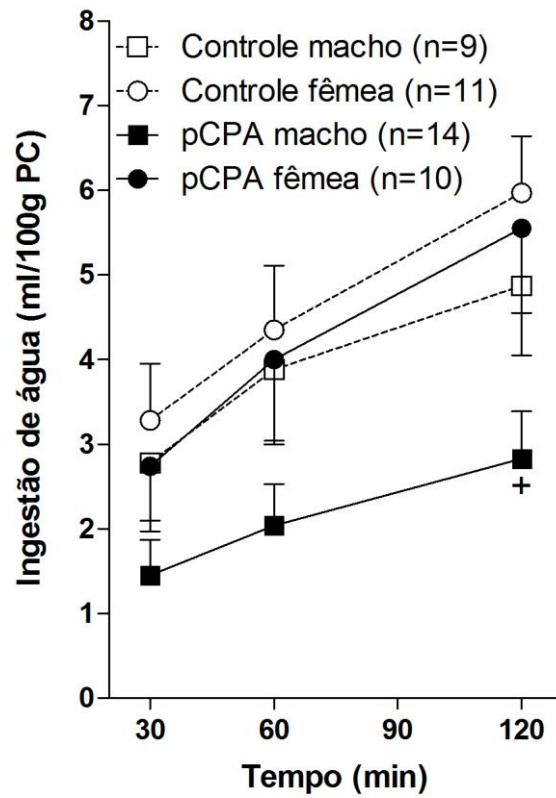


Figura 24. Ingestão cumulativa de água nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por NaCl 0,3 M. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA duas vias).

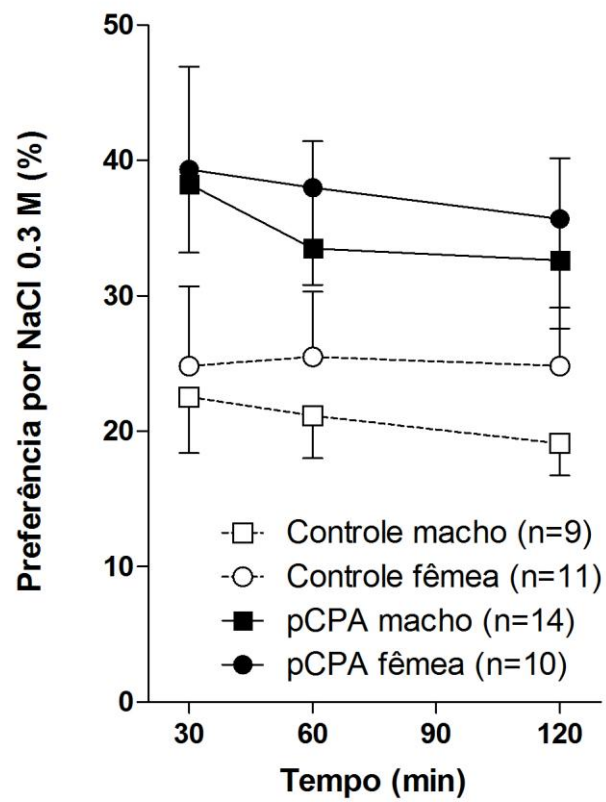


Figura 25. Preferência por NaCl 0.3 M nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN), durante a realização do protocolo de privação alimentar/preferência por NaCl 0,3 M. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA duas vias).

Experimentos envolvendo o comportamento ingestivo: Ingestões sob estímulos específicos sobre a indução do apetite por sódio e da sede

5.3.5 Avaliação da Ingestão de água após estímulo hipertônico (NaCl 1,0 M) durante a vida adulta (60-75 DPN)

Foi observada uma ingestão cumulativa de água significativamente maior nos machos tratados com pCPA aos 120 minutos ($3,6 \pm 0,5$ versus $2,4 \pm 0,5$ ml/100g $P < 0,001$) e aos 180 minutos ($4,3 \pm 0,8$ versus $3,0 \pm 0,5$ ml/100g $P < 0,001$) em comparação aos machos do grupo controle (Tab. 8).

A partir desses resultados, é postulada a hipótese que a depleção de serotonina cerebral no período neonatal, influenciou a sede osmótica em ratos machos evidenciado pela maior ingestão cumulativa de água após administração de NaCl 1,0 M por via subcutânea.

Tabela 8 Ingestão de água após estímulo hipertônico

Tempo	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
30 min	$1,5 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,3$	$1,8 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,6$
60 min	$2,1 \pm 0,5$	$1,5 \pm 0,4$	$2,7 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0,8$
120 min	$2,4 \pm 0,5$	$2,3 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,5^{***}$	$2,7 \pm 0,9$
180 min	$3,0 \pm 0,5$	$2,8 \pm 0,6$	$4,3 \pm 0,8^{***}$	$3,7 \pm 0,8$

Influência do tratamento neonatal de pCPA sobre a ingestão de água destilada em ratos adultos após injeção de NaCl 1 M. Dados são representados como média \pm SEM. (***) $P < 0,001$ comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

5.3.6 Avaliação da Ingestão de NaCl 0,3 M após depleção de sódio durante a vida adulta (60-75 DPN)

Foi observada uma maior ingestão cumulativa de NaCl 0,3 M em fêmeas do grupo controle aos 120 minutos ($7,6 \pm 0,7$ versus $6,6 \pm 0,5$ ml/100g $P < 0,05$) e aos 180 minutos ($8,4 \pm 0,6$ versus $7,2 \pm 0,7$ ml/100g $P < 0,01$) em relação aos machos do grupo controle. Ademais, não foi observada diferença estatisticamente significativa, na ingestão de NaCl 0,3 M nas demais comparações (Tab. 9).

Estes resultados postulam a hipótese que a depleção cerebral de serotonina no período neonatal não influenciou a resposta natriorexigênica em ratos adultos após depleção de sódio. Segundo Castro *et al.* (2003), o sistema serotoninérgico participa efetivamente da regulação do apetite por sódio, (I) após a depleção de sódio, inibindo a indução por necessidade de ingestão de sal, e (II) em condições basais, inibindo a indução livre de ingestão de sal. Ademais, segundo Lima *et al.* (2004), a redução dos níveis cerebrais de serotonina potencializa drasticamente a resposta natriorexigênica evocada pela depleção de sódio em ratos tratados com furosemida. Portanto, apesar da suposta supra-regulação do sistema serotoninérgico, proposta em nosso estudo, não foi observada alterações significativas na resposta natriorexigênica em ratos adultos após depleção de serotonina com pCPA durante o período neonatal.

Tabela 9 Ingestão de NaCl 0,3 M na depleção de sódio

Tempo	Controle ♂	Controle ♀	pCPA ♂	pCPA ♀
30 min	4,2 ± 0,7	4,7 ± 0,7	4,2 ± 0,3	4,7 ± 0,6
60 min	5,5 ± 0,7	6,2 ± 0,6	5,7 ± 0,4	5,7 ± 0,8
120 min	6,6 ± 0,5	7,6 ± 0,7+	6,5 ± 0,5	7,8 ± 1,2
180 min	7,2 ± 0,7	8,4 ± 0,6++	7,3 ± 0,5	9,1 ± 1,7

Influência do tratamento neonatal de pCPA sobre a ingestão de NaCl 0.3 M em ratos adultos sódio-depletados. Dados são representados como média ± SEM. (++) P<0,01; (+) P<0,05 comparado ao grupo controle (ANOVA duas vias).

Experimentos envolvendo a glicemia: Mensuração basal e sob jejum

5.3.7 Avaliação da glicemia basal em ratos durante a vida adulta (60-75 DPN)

Não foi observada diferença estatisticamente significativa na glicemia nos grupos experimentais (Fig. 26).

5.3.8 Avaliação da glicemia sob jejum em ratos durante a vida adulta (60-75 DPN)

A glicemia sob jejum foi significativamente menor nos machos tratados ($75,3 \pm 1,2$ versus $83,8 \pm 1,8$ mg. dl⁻¹; $P < 0,01$) em relação aos machos do grupo controle e nas fêmeas tratadas ($69,5 \pm 2,5$ versus $81,5 \pm 1,1$ mg. dl⁻¹; $P < 0,001$) em comparação às fêmeas do grupo controle (Fig. 26).

Através da análise destes resultados podemos especular que a depleção neonatal de serotonina afetou o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais envolvidos com a homeostase glicêmica. Provavelmente, os mecanismos compensatórios glicêmicos, como a glicogenólise, possam estar afetados. Estes dados corroboram com a hipótese que o tratamento com pCPA, durante este período crítico, acarretou alterações na programação metabólica e energética dos indivíduos (DE MOURA & PASSOS, 2005) em função da sua influência no desenvolvimento ontogênico dos sistemas cerebrais envolvidos

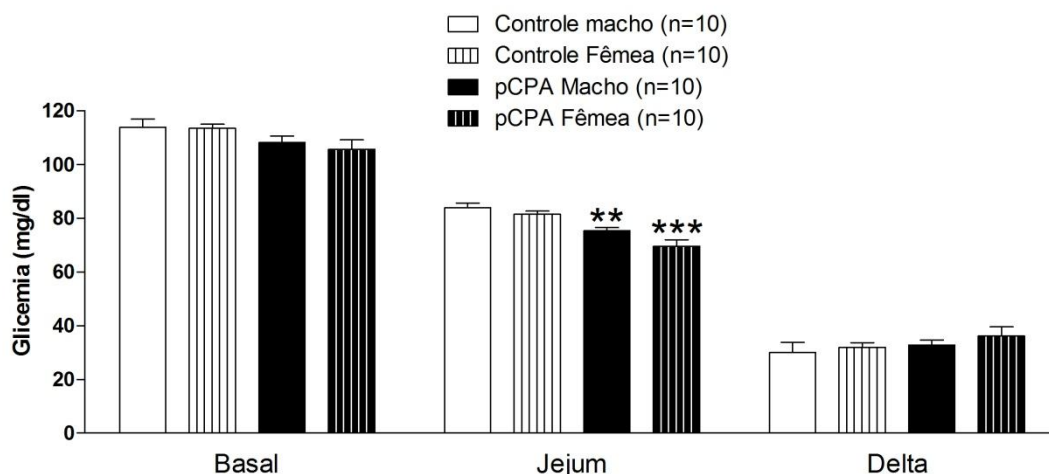


Figura 26. Avaliação da glicemia basal e sob jejum nos grupos tratamento e controle, na vida adulta (60-75 DPN) e expressão do delta glicemia (diferença entre os valores basais e sob jejum). (***) $P < 0,001$ e (**) $P < 0,01$ comparado ao grupo controle (ANOVA uma via).

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que a depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal afeta o desenvolvimento ontogênico de sistemas cerebrais acarretando alterações:

- 1- Na homeostase metabólica energética e na expressão comportamental em ratos na vida adulta.
- 2- Nos mecanismos compensatórios glicêmicos que norteiam a manutenção da glicemia durante jejum alimentar.
- 3- Na expressão de comportamentos motivados (ingestão de ração e fluidos) em condições basais, sob jejum e sob estímulos específicos (depleção de sódio e estímulo hipertônico) indicando a alteração do *set point* do apetite e da saciedade do rato adulto.
- 4- No apetite e na saciedade do neonato, refletido pela menor ingestão de leite, sugerindo a supra-regulação do sistema serotoninérgico com subsequente aumento da atividade anorexigênica da leptina.
- 5- No ganho de peso corporal do neonato, em virtude da menor ingestão de leite, à vida adulta, indicando modificações na programação metabólica energética do rato adulto.
- 6- Na expressão de comportamentos afetivos, refletido em uma atividade ansiolítica observada no modelo comportamento do labirinto em cruz elevado.

Ademais, a depleção cerebral de serotonina durante o período neonatal com para-clorofenilalanina, período crítico do desenvolvimento de diversos sistemas cerebrais, não ocasiona índice de letalidade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMS, J.K; JOHSON, P.L; HOLLIS, J.H; LOWRY, C.A. Anatomic and functional topography of the dorsal raphe nucleus. **Ann New York Acad Sci**, v. 1018, p. 46-57, 2004.

ADLARD, B.P; SMART, J.L. Some aspects of the behavior of young and adult rats treated with p-chlorophenylalanine in infancy. **Dev Psychobiol**, v. 7, n. 2, p. 135-44, 1974

ADVOKAT, C. Update on amphetamine neurotoxicity and its relevance to the treatment of ADHD. **J Atten Disord**, v. 11, n. 1, p. 8-16, 2007.

ALONSO, S.J; AREVALO, R; AFONSO, D; RODRIGUEZ, M. Effects of maternal stress during pregnancy on forced swimming test behaviour of the offspring. **Physiol Behav**, v. 50, n. 3, p. 511-17, 1991.

ALVAREZ, C; VITALIS, T; FON, E.A; HANOUN, N; HAMON, M; SEIF,L; EDWARDS, R; GASPAR, P; CASES, O. Effects of genetic depletion of monoamines on somatosensory cortical development. **Neuroscience**, v. 115, n. 3, p. 753-64, 2002.

ALVES, S.E; HOSKIN, E; LEE, S.J; BRAKE, W.G; FERGUSON, D; LUINE, V; ALLEN, P.B; GREENGARD, P; MCEWEND, S. Serotonin mediates CA1 spine density but is not crucial for ovarian steroid regulation of synaptic plasticity in the adult rat dorsal hippocampus. **Synapse**, v. 45, n. 2, p. 143-51, 2002.

AMAT, J; TAMBLYN, J.P; PAUL, E.D; BLAND, S.T; AMAT, P; FOSTER, A.C; WATKINS, L.R; MAIER, S.F. Microinjection of urocortin 2 into the dorsal raphe nucleus activates serotonergic neurons and increases extracellular serotonin in the basolateral amygdala. **Neuroscience**, v. 129, n. 3, p. 509-19, 2004.

ANTUNES-RODRIGUES, J; DE CASTRO, M; ELIAS, L.L; VALENÇA, M.M; McCANN, S.M. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiol Ver**, v. 84, n. 1, p. 169-208, 2004.

ARBISI, P.A; LEVINE, A.S; NERENBERG, J; WOLF, J. Seasonal alteration in taste detection and recognition threshold in seasonal affective disorder; the proximate source of carbohydrate craving. **Psych Res**, v. 59, v. 3, p. 171-82, 1996.

ARNSTEN, A.F. Stimulants: Therapeutic actions in ADHD. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, n. 11, 2376-83, 2006.

ASARIAN, L; GEARY, N. Modulation of appetite by gonadal steroid hormones. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, v. 361, n. 1471, p. 1251-63, 2006.

ATCHLEY, D.P; WEAVER, K.L; ECKEL, L.A. Taste responses to dilute sucrose solutions are modulated by stage of the estrous cycle and fenfluramine treatment in female rats. **Physiol Behav**, v. 86, n. 3, p. 265-71, 2005.

AZMITIA, E.C. Modern views on an ancient chemical: Serotonin effects on cells proliferation, maturation, and apoptosis. **Brain Res Bull**, v. 56, n. 5, p. 413-24, 2001.

AZMITIA, E.C. Serotonin neurons, neuroplasticity, and homeostasis of neural tissue. **Neuropsychopharmacology**, v. 21, n. 2, p. 33S-45S, 1999.

AZMITIA, E.C. A serotonin-hippocampal model indicates adult neurons survive transplantation and aged target may be deficient in a soluble serotonergic growth factor. **Ann N Y Acad Sci**, v. 495, p. 362-77, 1987.

AZMITIA, E.C; LIAO, B; CHEN, Y.S. Increase of tryptophan hydroxylase enzyme protein by dexamethasone in adrenalectomized rat midbrain. **J Neurochem**, v. 13, n. 12, p. 5041-55, 1993.

AZMITIA, E.C; GANNON, P.J. The primate serotonergic system: a review of human and animal studies and a report on *Macaca fascicularis*. **Adv Neurol**, v. 43, p. 407-68, 1968.

AZMITIA, E.C; SEGAL, M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. **J Comp Neurol**, v. 179, n. 3, p. 641-68, 1978.

BADAUÊ-PASSOS JR, D; VENTURA, R.R; SILVA, L.F.S; OLIVARES, E.L; REIS L,C. Effect of brain serotonergic stimulation on sodium appetite of euthyroid and hypothyroid rats. **Exp Physiol**, v. 88, n. 2, p. 251-60, 2003.

BADAUÊ-PASSOS JR, D; VENTURA, R.R; FAVARETTO, A.L; GUTKOWSKA, J; MCCANN, S.M; ANTUNES-RODRIGUES, J. Effect of losartan on sodium appetite of hypothyroid rats subjected to water and sodium depletion and water, sodium and food deprivation. **Exp Physiol**, v. 86, n. 5, p. 621-8, 2001.

BAHNER, U; GEIGER, H; PALKOVITS, M; HEIDLAND, A. Atrial natriuretic factor in specific brain areas of spontaneously hypertensive rats. **Hypertension**, v. 12, n. 5, p. 519-24, 1988.

BANES, N.M; SHARP, T. A review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, v. 38, n. 8, p. 1083-152, 1999.

BENNETT-CLARKE, C.A; LESLIE, M.J; LANE, R.D; RHOADES, R.W. Effect of serotonin depletion on vibrissa-related patterns of thalamic afferents in the rat's somatosensory cortex. **J Neurosci**, v. 14, n. 12, p. 7594-7607, 1994.

BENNETT-CLARKE, C.A; LESLIE, M.J; CHIAIA, N.L; RHOADES, R.W. Serotonin 1B receptors in the developing somatosensory and visual cortices are located on thalamocortical axons. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, n. 1, p. 153-57, 1993.

BENNETT-CLARKE, C.A; CHIAIA, N.L; CRISSMAN, R.S; RHOADES, R.W. The source of the transient serotonergic input to the developing visual and somatosensory cortices in rat. **Neuroscience**, v. 43, n. 1, p. 163-83, 1991.

BLACKBURN, R.E; SAMSOM, W.K; FULTON, R.J; STRICKER, E.M; VERBALIS, J.G. Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **Am J Physiol**, v. 269, n. 2, p. R245-R51, 1995.

BLIER, P; PIÑEYRO, G; EL MANSARI, M; BERGERON, R; DE MONTIGNY, C. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. **Ann NY Acad Sci**, v. 15, n. 861, p. 204-16, 1998.

BLIER, P; DE MONTIGNY, C. Electrophysiological investigation of the adaptive response of the 5-HT system to the administration of 5-HT_{1A} receptor agonists. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 15, n. 7, p. S42-S48, 1990.

BLUE, M.E; ERZURUMLU, R.S; JHAVERI, S. A comparison of pattern formation by thalamocortical and serotonergic afferents in the rat barrel field cortex. **Cereb Cortex**, v. 1, p. 380-89, 1991.

BLUNDELL, J.E; GOODSON, S; HALFORD, J.C. Regulation of appetite: role of leptin in signalling systems for drive and satiety. **Int J Obes Relat Metab Disord**, v. 25, n. 1, p. S29-S34, 2001.

BLUNDELL, J.E. Pharmacological approaches to appetite suppression. **Trends Pharmacol Sci**, v. 12, n. 4, p. 147-57, 1991.

BLUNDELL, J.E. Serotonin and appetite. **Neuropharmacology**, v. 23, n. 21B, p. 1537-51, 1984.

BOADLE-BIBER, M.C. Regulation of serotonin synthesis. **Prog Biophys Mol Biol**, v. 60, n. 1, p. 1-15, 1993.

BORSINI, F. Role of the serotonergic system in the forced swimming test. **Neurosci Biobehav Rev**, n. 19, v. 3, p. 377-95, 1995.

BOSLER, O; DESCARRIES, L. Monoamine innervations of the organum vasculosum laminae terminalis (OVLT): A high resolution radioautographic study in the rat. **J Comp Neurol**, v. 272, n. 4, p. 545-61, 1988.

BOWMAN, R.E; MacLUSKY, N.J; SARMIENTO, Y; FRANKFURT, M; GORDON, M., LUINE, V.N. Sexually dimorphic effects of prenatal stress on cognition, hormonal responses, and central neurotransmitters. **Endocrinology**, v. 145, n. 8, p. 3778-87, 2004.

BRASZKO, J.J; KARWOSKA-POLECKA, W; HALICKA, D; GARD, P.R. Captopril and enalapril improve cognition and depressed mood in hypertensive patients. **J Clin Physiol Pharmacol**, v. 14, n. 4, p. 323-43, 2003.

BROEKKAMP, C.L; BERENDSEN, H.H; JENCK, F; VAN DELFT, A.M. Animal models for anxiety and response to serotonergic drugs. **Psychopathology**, v. 22, n. 1, p. 2-12, 1989.

BROWN, R.E; SERGEEVA, O; ERIKSSON, K.S; E HALL, H.L. Orexin A excites neurons in dorsal raphe nucleus of the rat. **Neuropharmacology**, v. 40, n. 3, p. 457-59, 2001.

BRUS, R; NOWAK, P; SZKILNIK, R; MIKOLAJUN, U; KOSTRZEWA, R.M. Serotonergics attenuate hyperlocomotor activity in rats. Potential new therapeutic strategy for hyperactivity. **Neurotox**, v. 6, n. 4, p. 317-25, 2004.

BUHOT, M.C; WOLFF, M; BENHASSINE, N; COSTET, P; HEN, R; SEGU, L. Spatial learning in the 5-HT1B receptor knockout mouse: selective facilitation/impairment depending on the cognitive demand. **Learn Mem**, v. 10, n. 6, p. 466-77, 2003.

BUTKEVICH, I.P; MIKHAILENKO, V.A; VERSHININA, E.A; KHOZHAI, L.I; GRIGOREV, I.P; OTELLIN, V.A. Reduced serotonin synthesis during early embryogeny changes effect of subsequent prenatal stress on persistent pain in the formalin test in adult male and female rats. **Brain Res**, v. 1042, n. 2, p. 144-59, 2005.

CASES, O; VITALIS, T; STEIF, I; De MAEYER, E; SOTELO, C; GASPAR, P. Lack of barrels in the somatosensory cortex of monoamine oxidase A-deficient mice: role of a serotonin excess during the critical period. **Neuron**, v. 16, n. 2, p. 297-307, 1996.

CASTRO, L; ATHANAZIO, R; BARVETTA, M; RAMOS, A.C; ANGELO, A.L; CAMPOS, I; VARJAO, B; FREGONEZE, J; DE CASTRO-E-SILVA, E. Central 5-HT2B/2C and 5-HT3 receptor stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. **Brain Res**, v. 981, n. 1-2, p. 151-59, 2003.

CAVALCANTE-LIMA , H.R; LIMA, H.R; COSTA E SOUSA, R.H; OLIVARES, E.L; CEDRAZ-MERCEZ, C.L; REIS, R.O; BADAUÊ-PASSOS Jr, D; DE-LUCA, W, Jr; MEDEIROS, M.A; CORTÊS, W.S; REIS, L.C. Dipsogenic stimulation in ibotenic DRN-lesioned rats induces concomitant sodium appetite. **Neurosci Lett**, v. 374, n. 1, p. 5-10, 2005.

CAVALCANTE-LIMA, H.R; BADAUÊ-PASSOS Jr, D; DE-LUCA, W, Jr; LIMA, H.R; COSTA E SOUSA, R.H; OLIVARES, E.L; CEDRAZ-MERCEZ, C.L; REIS, R.O; MEDEIROS, M.A; CORTÊS, W.S; REIS, L.C. 2005a. Chronic excitotoxic lesion of dorsal raphe nucleus induces sodium appetite. **Braz J Med Biol Res**, v. 38, n. 11, p. 1669-75, 2005.

CELADA, P; CASANOVAS, J.M; PAEZ, X; ARTIGAS, F. Control of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus by the lateral hypothalamus. **Brain Res**, v. 932, n. 1-2, p. 79-90, 2002.

CHAOULOFF, F. Serotonin, stress and corticoids. **J Psychopharmacol**, v. 14, n. 4, p. 139-51, 2000.

CHEETA, S; KENNY, P; FILE, S.E. Hippocampal and septal injections of nicotine and 8-OH-DPAT distinguish among different animal tests of anxiety. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 24, n. 7, p. 1053, 67, 2000.

CHOW, S.I; SAKAI, R.R; WITCHER, J.A; ADLER, N.T; EPSTEIN, A.N. Sex and sodium intake in the rat. **Behav Neurosci**, v. 106, n. 1, p. 172-80, 1992.

CHUNG, K.K; MARTINEZ, M; HERBERT, J. Central serotonin depletion modulates the behavioural, endocrine and physiological responses to repeated social stress and subsequent c-fos expression in the brains of male rats. **Neuroscience**, v. 92, n. 2, p. 613-25, 1999.

CLARK, M.S; RUSSO, A.F. Tissue-specific glucocorticoid regulation of tryptophan hydroxylase mRNA levels. **Brain Res Mol Brain Res**, v. 48, n. 2, p. 346-54, 1997.

CLARKE, S.N; OSSENKOPP, K.P. Taste reactivity responses in rats: influence of sex and the estrous cycle. **Am J Physiol**, v. 274, n. 3, p. R718-24, 1998.

COLOMBARI, D.S; MENANIN, J.V; JOHNSON, A.K. Forebrain angiotensin type 1 receptors and parabrachial serotonin in the control of NaCl and water intake. **Am J Physiol**, v. 271, n. 6, p. R1470-R76, 1996.

COOLS, R; ROBERTS, A.C; ROBBINS, T.W. Serotonergic regulation of emotional and behavioural control processes. **Trend Cogn Sci**, v. 12, n. 1, p. 31-40, 2008.

COOPER, S.J. Cholecystokinin modulation of serotonergic control of feeding behavior. **Ann N Y Acad Sci**, v. 780, p. 213-22, 1996.

COOPER, S.J; CICCOCIOPPO, R. Effects of selective 5-HT₁ receptor agonists in water-deprived rats on salt intake in two-choice tests. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 45, n. 13, p. 513-8, 1993.

COOPER, S.J., FRYER, M.J., NEILL, J.C. Specific effect of putative 5-HT_{1A}, agonists, 8-OH-DPAT and gepirone, to increase hypertonic saline consumption in the rat. Evidence against a general hyperdipsic action. **Physiol Behav**, v. 43, n. 4, p. 533-37, 1988.

COURVOISIER, H; MOISAN, M.P; SARRIEAU, A; HENDLEY, E.D; MORMÈDE, P. Behavioral and neuroendocrine reactivity to stress in the WKHA/WKY inbred rat strains: a multifactorial and genetic analysis. **Brain Res**, v. 743, n. 1-2, p. 77-85, 1996.

CÔTÉ, F; FLIGNY, C; BAYARD, E; LAUNAY, J.M; GERSHON, M.D; MALLET, J; VODJDANI, G. Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development. **Proc Natl Acad Sci U. S. A**, v. 104, n. 1, p. 329-34, 2007.

CRUZ, A.P.M; FRÉI, F; GRAEFF, G. Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. **Pharmacology Biochemistry and Behaviour**, v. 49, n. 1, p. 171-76, 1994.

CURTIS, K.S; DAVIS, L.M; JOHNSON, A.L; THERRIEN, K.L; CONTRERAS, R.J. Sex differences in behavioral taste responses to and ingestion of sucrose and NaCl solutions by rats. **Physiol Behav**, v. 80, n. 5, p. 657-64, 2004.

- DEAKIN, J.F; GRAEFF, F.G. 5-HT and mechanisms of defence. **J Psychopharmacol**, v. 5, p. 305-15, 1991.
- DE GOBBI, J.I; DE LUCA JR, L.A; MENANI, J.V. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on DOCA-induced sodium appetite intake. **Brain Res**, v. 880, n. 1-2, p. 131-38, 2000.
- DE LUCA, L.A. jr; XU, Z; SCHOORLEMMER, G.H; THUNHORST, R.L; BELTZ, T.G; MENANI, J.V; JOHNSON, A.K. Water deprivation-induced sodium appetite: humoral and cardiovascular mediators and immediate early genes. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 282, n. 2, p. R552-9, 2002.
- DE MOURA, E.G. & PASSOS, M.C. Neonatal programming of body weight regulation and energetic metabolism. **Biosci Rep**, v. 25, n. 3-4, p. 251-69, 2005.
- DURIG, J; HORNUNG, J.P. Neonatal serotonin depletion affects developing and mature mouse cortical neurons. **Neuroreport**, v. 11, n. 4, p. 833-37, 2000.
- 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, n. 6, p. R1486-91, 2005.
- ELHWUEGI, AS. Central monoamines and their role in major depression. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry**, v. 28, n. 3, p. 435-51, 2004.
- ESAKI, T; COOK, M; SHIMOJI, K; MURPHY, D.L; SOKOLOFF, L; HOLMES, A. Developmental disruption of serotonin transporter function impairs cerebral responses to whisker stimulation in mice. **Proc Natl Acad Sci U. S. A**, v. 102, n. 15, p. 5582-87, 2005.
- EVENDEN, J.L. Varieties of impulsivity. , v. 146, n. 4, p. 348-61, 1999.
- FARABOLLINI, F; HOLE, D.R; WILSON, C.A. Behavioral effects in adulthood of serotonin depletion by p-chlorophenylalanine given neonatally to male rats. **Int J Neurosci**, v. 41, n. 3-4, p. 187-99, 1988.
- FERNÁNDEZ-GALAZ, M.C., DIANO, S; HORVATH, T.L; GARCIA-SEGURA, L.M. Leptin uptake by serotonergic neurones of the dorsal raphe. **J Neuroendocrinol**, v. 14, n. 6, p. 429-34, 2002.
- FILE, S.E; SETH, P. A review of 25 years of the social interaction test. **Eur J Pharmacol**, v. 463, p. 35-53, 2003.
- FINN, P.D; CUNNINGHAM, M.J; RICKARD, D.G; CLIFTON, D.K; STEINER, R.A. Serotonergic neurons are targets for leptin in the monkey. **J Clin Endocrinol Metabol**, v. 86, n. 1, p. 422-6, 2001.
- FITZSIMONS, J.T. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. **Physiol Rev**, v. 78, n. 3, p. 583-686, 1998.

FRANCHINI, L.F; JOHNSON, A.K; DE OLMOS, J; VIVAS, L. Sodium appetite and Fos activation in serotonergic neurons. **Am J Physiol**, v. 282, n. 1, p. R235-R243, 2002.

FRANCHINI, L.F; VIVAS, L. Distribution of Fos immunoreactivity in rat brain after sodium consumption induced by peritoneal dialysis. **Am J Physiol**, v. 276, n. 4, p. R1180-R87, 1995.

GAYLE, D; DESAI, M; CASILLAS, E; BELOOSESKY, R., ROSS, M.G. Gender-specific orexigenic and anorexigenic mechanisms in rats. **Life Sci**, v. 79, n. 16, p. 1531-6, 2006.

GRAEFF, F.G; VIANA, M.B; MORA, P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 21, n. 6, p. 791-99, 1997.

GRIEBEL, G. 5-Hydroxytryptamine-interacting drugs in animal models of anxiety disorders: more than 30 years of research. **Pharmacol Ther**, v. 65, n. 3, p. 319-95, 1995.

GRILL, H.J; KAPLAN, J.M. The neuroanatomical axis for control of energy balance. **Front Neuroendocrinol**, v. 23, n. 1, p. 2-40, 2002.

HADDJERI, N; ORTEMANN, C; DE MONTIGNY, C; BLIER, P. Effect of sustained administration of the 5-HT_{1A} receptor agonist flesinoxan on rat 5-HT neurotransmission. **Eur Neuropsychopharmacol**, v. 9, n. 5, p. 427-40, 1999.

HANSSON, S.R; MEZEY, E; HOFFMAN, B.J. Serotonin transporter messenger RNA in the developing rat brain early expression in serotonergic neurons and transient expression in non-serotonergic neurons. **Neuroscience**, v. 83, n. 4, p. 1185-1201, 1998.

HIYAMA, T.Y; WATANABE, E; ONO, H; INENAGA, K; TAMKUM, M.M; YOSHIDA, S; NODA, M. Na(x) channel involved in CNS sodium-level sensing. **Nat Neurosci**, v. 4, n. 6, p. 511-12, 2002.

HIYAMA, T.Y; WATANABE, E; OKADO, H; NODA, M. The subfornical organ is the primary locus of sodium-level sensing by Na_x sodium channels for the control of salt intake behavior. **J Neurosci**, v. 24, n. 42, p. 9276-81, 2004.

HOHMANN, C.F; WALKER, E.M; BOYLAN, C.B; BLUE, M.E. Neonatal serotonin depletion alters behavioral responses to spatial change and novelty. **Brain Res**, v. 30, n. 1139, p. 163-77, 2007.

HOLLANDER, E. Treatment of obsessive-compulsive spectrum disorders with SSRIs. **J Br Psychiatry Suppl**, v. 35, p. 7-12, 1998.

HOYER, D; HANNON, J.P; MARTIN, G.R. Molecular pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 71, n. 4, p. 533-54, 2002.

HUTSON, P.H; SARNA, G.S; O'CONNEL, M.T; CURZON, G. Hippocampal 5-HT synthesis and release in vivo is decreased by infusion of 8-OHDPAT into the nucleus raphe dorsalis. **Neurosci Lett**, v. 100, p. 276-80, 1989.

INVERNIZZI, R; CARLI, M; DICLEMENTE, A; SAMANIN, R. Administration of 8-hydroxy-2-(di-n-propilamino) tetralin in raphe nuclei dorsalis and medianus reduces serotonin synthesis in the rat brain: Differences in potency and regional sensitivity. **J Neurochem**, v. 56, n. 1, p. 243-47, 1991.

JACOBS, B.L; AZMITIA, E.C. Structure and function of the brain serotonin system. **Physiol Rev**, v. 72, n. 1, p. 165-231, 1992.

JOHNSON, A.K; THUNHORST, R.L. The neuroendocrinology of the thirst and salt appetite: Visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Front Neuroendocrinol**, v. 18, n. 3, p. 292-353, 1997.

JORGENSEN, H; RIIS, M., KNIGGE, U; KJAER, A., WARBERG, J. Serotonin receptors involved in vasopressin and oxytocin secretion. **J Neuroendocrinol**, v. 15, n. 3, p. 242-49, 2003.

KENSICKI, E; DUNPHY, G; ELY, D. Estradiol increases salt intake in female normotensive and hypertensive rats. **J Appl Physiol**, v. 93, n. 2, p. 479-83, 2002.

KHOZHAI, L.I; OTELLIN, V.A. Formation of the neocortex in mice developing in conditions of prenatal serotonin deficiency. **Neurosci Behav Physiol**, v. 36, n. 5, p. 513-17, 2006.

KIRBY, L.G; RICE, K.C; VALENTINO, R.J. Effects of corticotropin-releasing factor on neuronal activity in the serotonergic dorsal raphe nucleus. **Neuropsychopharmacol**, v. 22, n. 2, p. 148-62, 2000.

KOE, B.K. Tryptophan hydroxylase inhibitors. **Fed Proc**, v. 30, n. 3, p. 886-96, 1971.

KOE, B.K; WEISSMAN, A. p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 154, n. 3, p. 499-516, 1966.

KONKLE, A.T; BAKER, S.L; KENTNER, A.C; BARBAGALLO, L; BIELAJEW, Z.C. Evaluation of the effects of chronic mild stressors on hedonic and physiological responses: sex and strain compared. **Brain Res**, v. 992, n. 2, p. 227-38, 2003 Dec.

KUHN, D.M; WOLF, W.A; LOVENBERG, W. Review of the role of the central serotonergic neuronal system in blood pressure regulation. **Hypertension**, v. 2, n. 3, p. 243-55, 1980.

LAM, D.D; HEISLER, L.K. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes. **Expert Rev Mol Med**, v. 9, n. 5, p. 1-24, 2007.

LANFUMEY, L; HAMON, M. Central 5-HT(1A) receptors: regional distribution and functional characteristics. **Nucl Med Biol**, v. 25, n. 5, p. 429-35, 2000.

LAUDER, J.M. Ontogeny of the serotonergic system in the rat: serotonin as a developmental signal. **Ann N. Y. Acad Sci**, v. 600, p. 297-313, 1990.

LAUDER, J.M; KREBS, H. Effects of p-chlorophenylalanine on time of neuronal origin during embryogenesis in the rat. **Brain Res**, v. 107, n. 3, p. 638-44, 1976.

LAVDAS, A; BLUE, M.E; LINCOLN, J; PARNAVELAS, J.G. Serotonin promotes the differentiation of glutamate neurons in organotypic slice cultures of the developing cerebral cortex. **J Neurosci**, v. 17, n. 20, p. 7872-80, 1997.

LIGHTFOOT, J.T. Sex hormone's regulation of rodent physical activity: a review. **Int J Biol Sci**, v. 4, n. 3, p. 126-32, 2008.

LIMA, H.R; CAVALCANTE-LIMA, H.R; CEDRAZ-MERCERZ, P.L; COSTA E SOUSA, R.H; OLIVARES, E.L; BADAUÊ - PASSOS JR, D; MEDEIROS, M.A; CÔRTEZ, W.S; REIS, L.C. Brain serotonin depletion enhances the sodium appetite induced by sodium depletion or beta-adrenergic stimulation. **An Acad Bras Cienc**, v. 76, n. 1, p. 85-92, 2004.

LIND, R.W. Bi-directional, chemically specified neural connections between the subfornical organ and midbrain raphe system. **Brain Res**, v. 384, n. 2, p. 250-61, 1986.

LORDI, B., PROTAIS, P; MELLIER, D; CASTON, J. Acute stress in pregnant rats: effects on growth rate, learning, and memory capabilities of the offspring. **Physiol Behav**, v. 62, n. 5, p. 1087-92, 1997.

LOWRI, C.A. Functional subsets of serotonergic neurones: implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **J Neuroendocrinol**, v. 14, n. 11, p. 911-23, 2002.

MAIER, S.F; WATKINS, L.R. Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. **Psychol Rev**, v. 105, n. 1, p. 83-107, 1998.

MATTO, V; ALLIKMETS, L. Acute and chronic citalopram treatment differently modulates rat exploratory behavior in the exploration box test: no evidence for increased anxiety or changes in the [3H]raclopride binding. **Pharmacology**, v. 58, n. 2, p. 59-69, 1999.

MAZER, C; MUNEYYIRCI, J; TAHENY, K; RAIIO, N; BORELIA, A, WHITACKER-AZMITIA, P. serotonin depletion during synaptogenesis leads to decreased synaptic density and learning deficits in the adult rat. A possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits. **Brain Res**, v. 760, n. 1-2, p. 68-73, 1997.

McCANN, S.M; GUTKOWS, K.A, J; ANTUNES-RODRIGUE; J. Neuroendocrine control of body fluid homeostasis. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 2, p. 165-81, 2003.

McKINLEY, M.J; JOHNSO, A.K. The physiological regulation of thirst and fluid intake. **News Physiol Sci**, v. 19, p. 1-6, 2004.

McMINN, J.E; SINDELAR, D.K; HAVEL, P.J; SCHWARTZ, M.W. Leptin deficiency induced by fasting impairs the satiety response to cholecystokinin. **Endocrinology**, v. 141, n. 12, p. 4442-8, 2000.

MEDEIROS, M. M; COSTA-E-SOUSA, R. H; OLIVARES, E. L; CÔRTEZ, W. S; REIS, L.C. A reassessment of the role of serotonergic system in the control of feeding behavior. **An Acad Bras Cien**, v. 77, n. 1, p. 103-11, 2005.

MELTZER, H.Y; LOWY, M.T; KOENING, J.I. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in depression. **Adv Biochem Psychopharmacol**, v. 43, p. 165-82, 1987.

MENANI, J.V; THUNHORST, R.L; JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rats. **Am J Physiol**, v. 270, n. 1, p. R162-R68, 1996.

MENANI, J.V; COLOMBARI, D.S; BELTZ, T.G; THUNHORST, R.L; JOHNSON, A.K. Salt appetite: interaction of forebrain angiotensinergic and hindbrain serotonergic mechanisms. **Brain Res**, v. 801, n. 1-2, p. 29-35, 1998a.

MENANI, J.V; DE LUCA JR, L.A; JOHNSON, A.K. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. **Am J Physiol**, v. 274, n. 2, p. R555-60, 1998b.

MENANI, J.V; BARBOSA, S.P; DE LUCA JR, L.A; DE GOBBI, J.I; JOHNSON, A.K. Serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus and cholinergic-induced sodium appetite. **Am J Physiol**, v. 282, n. 3, p. R837-41, 2002.

MIKICS, E; BARSY, B; BARSVÁRI, B; HALLER, J. Behavioral specificity of non-genomic glucocorticoid effects in rats: effects on risk assessment in the elevated plus-maze and the open-field. **Horm Behav**, v. 48, n. 2, p. 152-62, 2005.

MOHAMMAD-ZADEH, L.F; MOSES, L; GWALTNEY-BRANT, S.M. Serotonin: a review. **J Vet Pharmacol Ther**, v. 31, n. 3, p. 187-99, 2008.

MORGAN, M.A; PFAFF, D.W. Estrogen's effects on activity, anxiety, and fear in two mouse strains. **Behav Brain Res**, v. 132, n. 1, p. 85-93, 2002.

MOULIK, S; SPETH, R.C; TURNER, B.B; ROWE, B.P. Angiotensin II receptor subtype distribution in the rabbit brain. **Exp Brain Res**, v. 142, n. 2, p. 275-83, 2002.

NAKAMURA, K; HASEGAWA, K. Developmental role of tryptophan hydroxylase in the nervous system. **Mol Neurobiol**, v. 35, n. 1, p. 45-54, 2007.

NEILL, J.C; COOPER, S.J. Selective reduction by serotonergic agents of hypertonic saline consumption in rats. Evidence for 5-HT_{1C} receptor mediation. **Psychopharmacol**, v. 99, n. 2, p. 196-201, 1989.

NEMEROFF, C.B. The role of corticotropin-releasing factor in the pathogenesis of major depression. **Pharmacopsychiatry**, v. 21, n. 2, p. 76-82, 1988.

NEUMEISTER, A. Tryptophan depletion, serotonin, and depression: where do we stand? **Psychopharmacol Bull**, v. 37, n. 4, p. 99-115, 2003.

O'REARDON, J.P; CHOPRA, M.P; BERGAN, A; GALLOP, R; DERUBEIS, R.J; CRITS-CHRISTOPH, P. Response to tryptophan depletion in major depression treated with either cognitive therapy or selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants. **Biol Psychiatry**, v. 55, n. 9, p. 957-59, 2004.

OHASHI, S; MATSUMOTO, M; TOGASHI, H; UENO, K; YOSHIOKA, M. The serotonergic modulation of synaptic plasticity in the rat hippocampo-medial prefrontal cortex pathway. **Neurosci Lett**, v. 342, n. 3, p. 179-82, 2003.

OLIVARES, E.L; COSTA-E-SOUSA, R.H; CAVALCANTE-LIMA, H.R; LIMA, H.R.C; CEDRAZ-MERCEZ, P.L; REIS, L.C. Effect of electrolytic lesion of the dorsal raphe nucleus on water intake and sodium appetite. **Braz J Med Biol Res**, v. 36, n. 12, p. 1709-16, 2003.

PALKOVITS, M; GEIGER, H; BAHNER, U; FODOR, M; PAMMER, C. Atrial natriuretic factor in central nervous system regulatory mechanisms: effect of experimental alterations in water and salt homeostasis and blood pressure. **Miner Electrolyte Metab**, v. 16, n. 1, p. 42-47, 1990.

PELLOW, S; CHOPIN, P; FILE, S.E; BRILEY, M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **J Neurosci Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-67, 1985.

PENNY, M.L; BRUNO, S.B; CORNELIUS, J; HIGGS, K.A; CUNNINGHAM, J.T. The effects of osmotic stimulation and water availability on c-Fos and FosB staining in the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus. **Exp Neurol**, v. 194, n. 1, p. 191-202, 2005.

PERILLAN, C; COSTALES, M; VIJANDE, M; ARGUELLES, J. Maternal RAS influence on the ontogeny of thirst. **Physiol Behav**, v. 92, n. 2007, p. 554-59, 2007.

PETERS, D.A. Prenatal stress increases the behavioral response to serotonin agonists and alters open field behaviour in the rat. **Pharmacol Biochem**, v. 25, n. 4, p. 873-77, 1986.

PETERS, D.A. Effects of maternal stress during different gestation periods on the serotonergic system in adult rat offspring. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 31, n. 4, p. 839-43, 1988.

PETIT-DEMOULIERE, B; CHENU, F; BOURIN, M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. **Psychopharmacol**, v. 177, n. 3, p. 245-55, 2005.

PETROV, T; JHAMANDAS, J.H; KRUKOFF, T.L. Characterization of peptidergic efferents from the lateral parabrachial nucleus to identified neurons in the rat dorsal raphe nucleus. **J Chem Neuroanat**, v. 5, n. 5, p. 367-73, 1992a.

PETROV, T; KRUKOFF, T.L; JHAMANDAS, J.H. The hypothalamic paraventricular and lateral parabrachial nuclei receive collaterals from raphe nucleus neurons: a combined double retrograde and immunocytochemical study. **J Comp Neurol**, v. 318, n. 1, p. 18-26, 1992b.

PORSOLT, R.D; LE PICHON, M; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-2, 1977.

PRUT, L; BELZUNG, C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviours: a review. **Eur J Pharmacol**, v. 463, n. 1-3, p. 3-33, 2003.

RAMOS, A; BERTON, O; MORMÈDE, P., CHAOULOFF, F. A multiple-test study of anxiety-related behaviours in six inbred rat strains. **Behav Brain Res**, v. 85, n. 1997, p. 57-69, 1997.

RATTRAY, M; BALDESSARI, S; GOBBI, M; MENNINI, T; SAMANIN, R; BENDOTTI, C. p-Chlorophenylalanine changes serotonin transporter mRNA levels and expression of the gene product. **J Neurochem**, v. 67, n. 2, p. 463-72, 1996.

RAYMOND, J.R; MUKHIN, Y.V; GELASCO, A; TURNER, J; COLLINSWORTH, G; GETTYS, T.W; GREWAL, J.S; GARNOSKAYA, M.N. Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. **Pharmacol Ther**, v. 92, n. 2-3, p. 179-212, 2001.

REIS, L.C; RAMALHO, M.J; ANTUNES-RODRIGUES, J. Central serotonergic modulation of drinking behavior induced by angiotensin II and carbachol in normally hydrated rats: effect of intracerebroventricular injection of MK-212. **Braz J Med Biol Res**, v. 23, n. 12, p. 1339-42, 1990.

REIS, L.C; RAMALHO, M.J; FAVARETTO, A.L; GUTKOWSKA, J; MCCANN, S.M; ANTUNES-RODRIGUES, J. Participation of the ascending serotonergic system in the stimulation of atrial natriuretic peptide release. **Proc Nat Acad Sci U.S.A**, v. 91, n. 25, p. 12022-26, 1994.

REIS, L.C. Role of the serotonergic system in the sodium appetite. **An Acad Bras Cienc**, v. 79, n. 2, p. 261-83, 2007.

RODGERS, R.J; COLE, J.C. Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behavior in mice. **Physiol Behav**, v. 54, n. 4, p. 729-36, 1993.

- RODGERS, R.J; JOHNSON, N.J.T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 52, n. 2, p. 297-303, 1995.
- RODGERS, R.J; JOHNSON, N.J; CHAMPION, A.J; MILLS, S. Modulation of plus-maze behaviour in mice by the preferential D3-receptor agonist 7-OH-DPAT. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 54, n. 1, p. 79-84, 1996.
- RODGERS, R.J; CAO, B.J; DALVI, A; HOLMES, A. Animal models of anxiety: an ethological perspective. **Braz J Med Biol Res**, v. 30, n. 3, p. 289-304, 1997.
- RODGERS, R.J; DALVI, A. Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 21, n. 6, p. 801-10, 1997.
- RODGERS, R.J; ISHII, Y; HALFORD, J.C; BLUNDELL, J.E. Orexins and appetite regulation. **Neuropeptides**, v. 36, n. 5, p. 303-25, 2002.
- ROUAH-ROSILIO, M; OROSCO, M; NICOLAIDIS, S. Serotonergic modulation of sodium appetite in the rat. **Physiol Behav**, v. 55, n. 5, p. 811-16, 1994.
- RUDDICK, J.P; EVANS, A.K; NUTT, D.J; LIGHTMAN, S.L; ROOK, G.A; LOWRY, C.A. Tryptophan metabolism in the central nervous system: medical implications. **Expert Rev Mol Med**, v. 8, n. 20, p. 1-27, 2006.
- SALLER, C.F; STRICKER, E.M. Hyperphagia and increased growth in rats after intraventricular injection of 5,7-dihydroxytryptamine. **Science**, v. 192, n. 4237, p. 385-7.
- SALICHON, N; GASPAR, P; UPTON, A.L; PICAUD, S; HANOUN, N; HAMON, M; DE MAEYER, E; MURPHY, D.L; MOSSNER, R; LESCH, K.P; HEN, R; SEIF, I. Excessive activation of serotonin (5-HT) 1B receptors disrupts the formation of sensory maps in monoamine oxidase a and 5-ht transporter knock-out mice. **J Neurosci**, v. 21, n. 3, p. 884-96, 2001.
- SARI, Y. Serotonin 1B receptors: from protein to physiological function and behavior. **Neurosci Biobehav Rev**, v. 28, n. 6, p. 565-82, 2004.
- SAYDOFF, J.A; RITTENHOUSE, P.A; VAND DE KAR, L.D; BROWNFIELD, M.S. Enhanced serotonergic transmission stimulates oxytocin secretion in conscious male rats. **J Pharmacol Exp Ther**, v. 257, n. 1, p. 95-99, 1991.
- SCROGIN, K.E; JOHNSON, A.K; SCHMID, H.A. Multiple receptor subtypes mediate the effects of serotonin on rat subfornical organ neurons. **Am J Physiol**, v. 275, n. 6, p. R2035-R42, 1998.
- SOARES, T.J. Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. **Proc Nat Acad Sci U.S.A**, v. 96, n. 1, p. 278-83, 1999.

- SOUBRIÉ, P. Serotonergic neurons and behavior. **J Pharmacol**, v. 17, n. 2, p. 107-12, 1986.
- SPRUIJT, B.M; VAN HOOFF, J.A; GISPEN, W.H. Ethology and neurobiology of grooming behavior. **Physiol Rev**, v. 72, n. 3, p. 825-52, 1992.
- STOCKER, S.D; MULDOON, M.F; SVED, A.F. Blunted fenfluramine-evoked prolactin secretion in hypertensive rats. **Hypertension**, v. 42, n. 4, p. 719-24, 2003.
- STRICKER, E.M; VERBALIS, J.G. Central inhibition of salt appetite by oxytocin in rats. **Regul Pept**, v. 66, n. 1-2, p. 83-5.
- TANAKA, J; USHIGOME, A; HORI, K; NOMURA, M. Responses of raphe nucleus projecting subfornical organ neurons to angiotensin II in rats. **Brain Res Bull**, v. 45, n. 3, p. 315-18, 1998.
- TANAKA, J; OKUMURA, T; SAKAMAKI, K; MIYAKUBO, H. Activation of serotonergic pathways from the midbrain raphe system to the subfornical organ by hemorrhage in the rat. **Exp Neurol**, v. 169, n. 1, p. 156-62, 2001.
- TANAKA, J; HAYASHI, Y; YAMATO, K; MIYAKUBO, H; NOMURA, M. Involvement of serotonergic systems in the lateral parabrachial nucleus in sodium and water intake: a microdialysis study in the rat. **Neurosci Lett**, v. 357, n. 1, p. 41-44, 2004.
- THAKORE, J.H; O'KEANE, V; DINAN, T.G. D-fenfluramine-induced prolactin responses in mania: evidence for serotonergic subsensitivity. **Am J Psychiatry**, v. 153, n. 11, p. 1460-3, 1996.
- UEDA, S; SAKAKIBARA, S; YOSHIMOTO, K. Effects of long-lasting serotonin depletion on environmental enrichment-induced neurogenesis in adult rat hippocampus and spatial learning. **Neuroscience**, v. 135, n. 2, p. 395-402, 2005.
- VALLÉE, M; MacCARI, S; DELLU, F; SIMON, H; Le MOAL, M; MAYO, W. Long-term effects of prenatal stress and postnatal handling on age-related glucocorticoid secretion and cognitive performance: a longitudinal study in the rat. **Eur J Neurosci**, v. 11, n. 8, p. 2906-16, 1999.
- VATAEVA, L.A; KOSTKIN, V.B; MAKUKHINA, G.V; KHOZHAI, L.I; OTELLIN, V.A. Effect of the time of prenatal hypoxia on the open-field behavior in male and female rats. **Dokl Biol**, v. 380, p. 410-11, 2001.
- VATAEVA, L.A; KUDRIN, V.S; VERSHININA, E.A; MOSIN, V.M; TIUL'KOVA, E.I., OTELLIN, V.A. Behavioral alteration in the adult rats prenatally exposed to parachlorophenylalanine. **Brain Res**, v. 1169, p. 9-16, 2007.
- VILTART, O; MAIRESSE, J; DAMAUDERY, M; LOUVART, H; VANBESIEN-MAILLIOT, C; CATALANI, A; MACCARI, S. Prenatal stress alters Fos protein expression in hippocampus and locus coeruleus stress-related brain structures. **Psychoneuroendocrinol**, v. 31, n. 6, p. 769-80, 2006.

VITALIS, T; CASES, O; CALLEBERT, J; LAUNAY, J; PRICE, M; SEIF, J., GASPAR, I. Effects of monoamine oxidase A inhibition on barrel formation in the mouse somatosensory cortex: determination of a sensitive developmental period. **J Comp Neurol**, v. 393, n. 2, p. 169-84, 1998.

VITALIS, T; PARNAVELAS, J.G. The role of serotonin in early cortical development. **Dev Neurosci**, v. 25, n. 2-4, p. 245-56, 2003.

VOLPE, B.T; HENDRIX, C.S; PARK, D.H; TOWLE, A.C; DAVIS, H.P. Early postnatal administration of 5,7-dihydroxytryptamine destroys 5-HT neurons but does not affect spatial memory. **Brain Res**, v. 589, n. 2, p. 262-67, 1992.

WALSH, R.N; CUMMINS R.A. The open field test: a critical review. **Psychol Bull**, v. 83, n. 3, p. 482-504, 1976.

WEINSTOCK, M. Can the behaviour abnormalities induced by gestational stress in rats be prevented or reversed? Can the behaviour abnormalities induced by gestational stress in rats be prevented or reversed? **Stress**, v. 5, n. 3, p. 167-76, 2002.

WILSON, C.A; GONZALES, I; FARABOLLINI, F. Behavioural effects in adulthood of neonatal manipulation of brain serotonin levels in normal and androgenized females. **Pharmacol Biochem Behav**, v. 41, n. 1, p. 91-8, 1992.

WIRTH, J.B; EPSTEIN, A.N. Ontogeny of thirst in infant rat. **Am J Physiol**, v. 230, n. 1, p. 188-98, 1976.

WHITAKER-AZMITIA, P.M; ZHANG, X; CLARKE, C. Effects of gestational exposure to monoamine oxidase inhibitors in rats: preliminary behavioral and neurochemical studies. **Neuropsychopharmacol**, v. 11, n. 2, p. 125-32, 1994.

WHITAKER-AZMITIA, P.M; DRUSE, M; WALKER, P; LAUDER, J.M. Serotonin as a developmental signal. **Behav Brain Res**, v. 73, n. 1-2, p. 19-29, 1996.

WURTMAN, R.J; WURTMAN, J.J. Carbohydrates and depression. **Sci Am**, v. 260, n. 1, p. 68-75, 1989.

YAMADA, J; SUGIMOTO, Y; HIROSE, H; KAJIWARA, Y. Role of serotonergic mechanisms in leptin induced suppression of milk intake in mice. **Neurosci Lett**, v. 348, n. 3, p. 195-7, 2003.

YAN, W; WILSON, C.C; HARING, J.H. Effects of neonatal serotonin on the development of rat dentate granule cells. **Dev Brain Res**, v. 98, n. 2, p. 177-84, 1997a.

YAN, W; WILSON, C.C; HARING, J.H. 5-HT_{1a} receptors mediate the neurotrophic effect of serotonin on developing dentate granule cells. **Dev Brain Res**, v. 98, n. 2, p. 185-90, 1997b.