



UFBA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**



FIOCRUZ

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA EXPERIMENTAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

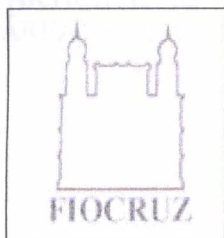
**PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES
SEROTONINÉRGICOS DO SUBTIPO 5-HT, LOCALIZADOS
NA ÁREA SEPTAL MEDIAL SOBRE O CONTROLE DA
INGESTÃO DE ÁGUA E SAL EM RATOS SÓDIO-DEPLETADOS**

ANDERSON PEREIRA SOUZA

SALVADOR - BAHIA - BRASIL

2008





**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ**



CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA EXPERIMENTAL

**PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES
SEROTONINÉRGICOS DO SUBTIPO 5-HT₃ LOCALIZADOS
NA ÁREA SEPTAL MEDIAL SOBRE O CONTROLE DA
INGESTÃO DE ÁGUA E SAL EM RATOS SÓDIO-
DEPLETADOS**

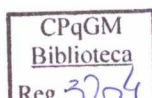
ANDERSON PEREIRA SOUZA

Dissertação apresentada ao Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Patologia Experimental.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Emílio José de Castro e Silva

SALVADOR – BAHIA – BRASIL

2008



Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

S726e Souza, Anderson Pereira
Participação dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ localizados na área septal medial (ASM) sobre o controle da ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados [manuscrito] / Anderson Pereira Souza. - 2008.
92 f. : il. ; 30 cm.

Datilografado (fotocópia).

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2008. Laboratório de Neurofisiologia.
Orientador: Prof. Dr. Emilio José Castro e Silva

1. Receptores de Serotonina. 2. Equilíbrio. 3. Ingestão. 4. Água. 5. Ratos.
I. Título.

CDU 616.8:599.323.4

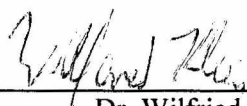
LILDB/

"PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS DO SUBTIPO 5-HT3 LOCALIZADOS NA
ÁREA SEPTAL MÉDIA (ASM) SOBRE O CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA E SAL EM RATOS
SÓDIO-DEPLETADOS"

ANDERSON PEREIRA DE SOUZA

FOLHA DE APROVAÇÃO

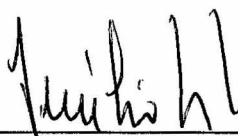
COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Wilfried Klein
Professor Adjunto
UFBA



Dr. Jamary Oliveira Filho
Professor Adjunto
UFBA



Dr. Emílio José de Castro e Silva
Professor Titular
UFBA

Dedico este trabalho aos meus pais,
minhas irmãs, minha esposa e minha filha.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por ter me dado força e saúde para vencer todos os obstáculos.

Ao Prof^o. Emílio Silva, pela orientação prestada para execução deste trabalho.

À prof^a. Josmara Fregoneze pela dedicação ao Laboratório de Neurociências.

À prof^a Carla Patrícia Luz pela colaboração e amizade de sempre.

Aos colegas professores e pós-graduandos do Laboratório de Neurociências pelo companheirismo e auxílio nos momentos mais difíceis.

Aos estudantes de iniciação científica pela colaboração e paciência.

Aos técnicos Vanilson Souza e José de Souza por toda ajuda prestada.

Aos professores e funcionários do Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz – FIOCRUZ.

A todos meus amigos pelo apoio prestado.

A toda minha família, em especial aos meus pais, irmãos e esposa por todo amor e carinho dedicado.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	p.12
2. OBJETIVO	p.24
3. JUSTIFICATIVA	p.25
4. METODOLOGIA	p.26
4.1 ANIMAIS	p.26
4.2 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA	p.26
4.3 PREPARAÇÃO PARA OS EXPERIMENTOS	p.27
4.4 CATETERIZAÇÃO DA ARTÉRIA CARÓTIDA E MEDIDA DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)	p.27
4.5 DEPLEÇÃO DE SÓDIO	p.28
4.6 EXPERIMENTOS	p.28
4.7 DROGAS	p.29
4.8 HISTOLOGIA	p.29
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	P.30
5. RESULTADOS	p.31
5.1 Efeitos da micro-injeção de m-CPBG na ASM sobre a ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados.	p.31
5.2 Pré-tratamento com ondansetrona em ratos sódio- depletados que receberam micro-injeção de m-CPBG.	p.33
5.3 Efeitos da micro-injeção de ondansetrona em ratos na ASM sobre a ingestão de água e sal em sódio-depletados.	p.35
5.4 Medida da pressão arterial média (PAM) em ratos sódio- depletados após micro-injeção de m-CPBG na ASM.	p.37

6. DISCUSSÃO	p.38
7. CONCLUSÕES	p.50
8. REFERÊNCIAS	p.51

RESUMO

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES SEROTONINÉRGICOS DO SUBTIPO 5-HT₃ LOCALIZADOS NA ÁREA SEPTAL MEDIAL (ASM) SOBRE O CONTROLE DA INGESTÃO DE ÁGUA E SAL EM RATOS SÓDIO-DEPLETADOS.

Anderson Pereira Souza

Orientador: Emílio José de Castro e Silva

A regulação do equilíbrio hidroeletrólítico é desempenhada por um conjunto de mecanismos viscerais e comportamentais, nos quais se incluem a ingestão de água e sal controlados por diversos neurotransmissores e áreas cerebrais. Estudos sugerem a participação de mecanismos serotoninérgicos na indução das respostas fisiológicas relacionadas com a regulação hidrossalina. Trabalhos anteriores demonstraram que a integridade da área septal é necessária para a regulação da ingestão de água e sal. No presente estudo analisamos o envolvimento dos receptores 5-HT₃ serotoninérgicos localizados na ASM sobre a ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados. Verificamos que a estimulação farmacológica específica dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ localizados na ASM, pelo agonista 5-HT₃ seletivo m-CPBG, aumenta a ingestão de sal em ratos sódio-depletados. A especificidade deste efeito parece assegurada pelo fato de que o pré-tratamento com ondansetrona, antagonista dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃, aboliu completamente a elevação na ingestão de sal produzida pela administração do m-CPBG na ASM. Esse efeito natriorexigênio parece não ser dependente de alterações na pressão arterial, visto que a micro-injeção na ASM do m-CPBG não foi capaz de modificar este parâmetro. Além disso, constatamos que a administração isolada do antagonista ondansetrona é incapaz de produzir efeito significativo sobre a ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados. Tomando em conjunto os achados acima mencionados sugere-se que os receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ localizados na ASM quando ativados farmacologicamente são capazes de ativar mecanismos centrais envolvidos com a procura e a ingestão de sódio.

PALAVRAS CHAVES: serotonina, área septal medial, ingestão de sal.

LISTA DE ABREVIATURAS

5-HT	serotonina; 5-hidroxitriptamina
AADC	Descarboxilase de aminoácido aromático
ADH	hormônio antidiurético
Ang II	angiotensina II
APOM	área pré-óptica medial
ASL	área septal lateral
ASM	área septal medial
AV3V	região anteroventral do terceiro ventrículo
AVP	arginina-vasopressina
BDB	banda diagonal de Broca
BHE	barreira hematoencefálica
CeA	amígdala central
FSH	hormônio folículo estimulante
ICV	intracerebroventricular
ISRS	inibidores seletivos da recaptação da serotonina
LH	hormônio luteinizante
LHRH	hormônio liberador de LH
LT	lâmina terminal
MAO	monoamina oxidase
MeA	amígdala medial
NDR	núcleo dorsal da rafe
NPBL	núcleo parabraquial lateral
NPV	núcleo paraventricular

OSF	órgão subfornical
PMA	pressão arterial média
PNA	peptídeo natriurético
SNC	sistema nervoso central

ABSTRACT

PARTICIPATION OF 5-HT₃ SEROTONERGIC RECEPTORS IN THE SEPTAL MEDIAL AREA IN THE CONTROL OF WATER AND SALT INTAKE IN SODIUM-DEPLETED RATS.

Anderson Pereira Souza

Orientation by Emilio José de Castro e Silva

In a complex interplay, several visceral and behavioral mechanisms participate in the control of hydrosaline balance. Water and salt intake, crucial behavioral mechanisms in this homeostatic system, are regulated by several brain areas and distinct neurotransmitters. Previous data have shown that brain serotonergic pathways play a significant role in these phenomena. It has been demonstrated that the functional integrity of the septal area is essential for the brain control of water and salt intake. In the present study, we investigated the role of 5-HT₃ receptors within the medial septal area in the control of water and salt intake in sodium depleted rats. The data obtained show that the administration of a selective 5-HT₃ receptor agonist, m-CPBG, into the septal medial area significantly increases salt intake in sodium depleted animals. This effect seems to be due to the specific activation of 5-HT₃ receptors located in this area since pretreatment with ondansetron, a selective 5-HT₃ receptor antagonist, blocks the effect induced by m-CPBG. The administration of the 5-HT₃ antagonist alone into the same area was devoid of effect. The natriorexigenic observed after the administration of m-CPBG into the septal medial area was not dependent on changes in blood pressure since the compound injected into the same area was unable to modify this parameter. The present data, as related above, suggest that 5-HT₃ receptors located in the septal medial area may have an important stimulatory role in the regulation of salt intake in sodium depleted rats.

KEYWORDS: serotonin, medial septal area, salt intake.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: efeitos da micro-injeção de m-CPBG na ASM sobre a ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados. p.32

FIGURA 2: pré-tratamento com ondansetrona em ratos sódio-depletados que receberam micro-injeção de m-CPBG na ASM. p.34

FIGURA 3: efeitos da micro-injeção de ondansetrona em ratos na ASM sobre a ingestão de água e sal em sódio-depletados. p.36

FIGURA 4: Medida da pressão arterial média (PAM) em ratos sódio-depletados após micro-injeção de m-CPBG na ASM. p.37

1. INTRODUÇÃO

A perda de água e eletrólitos pelo organismo ocorre por via fecal, salivar, cutânea, respiratória e por meio da sudorese, sendo que grande parte destas vias citadas estão envolvidas na regulação da temperatura corporal. Para uma termorregulação eficiente, os animais, necessitam, em muitos momentos, de eliminar água e, em consequência, eletrólitos nela dissolvidos. Dessa maneira, pode-se dissipar o excesso de calor. O sistema urinário, especificamente os rins, minimiza os efeitos dessa perda de água e eletrólitos a partir dos processos de reabsorção tubular, o que diminui o volume urinário. Este processo é fundamental para a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico. Porém, apesar de os rins diminuírem a perda de líquido durante os déficits de água através do sistema de feedback dos osmorreceptores-ADH, é necessário que ocorra a ingestão adequada de líquido para contrabalancear as perdas.

O controle hidroeletrólítico é de extrema importância fisiológica. Para tal controle, são utilizados diferentes mecanismos de reabsorção, excreção e ingestão de água e sais. Porém, se ocorre um desequilíbrio hidrossalino, respostas comportamentais, reflexas e endócrinas são essenciais para a correção e retorno da homeostase dos fluídos corporais. O apetite por sal e o mecanismo da sede são comportamentos essenciais para os animais, pois através da procura por água e alimentos contendo sódio eles podem repor a perda dessas substâncias. As respostas comportamentais estão intimamente ligadas à ativação do sistema nervoso autônomo. O hormônio antidiurético (ADH), o peptídeo natriurético (PNA) e o sistema renina-angiotensina-aldosterona, são mecanismos hormonais extremamente importantes para a manutenção do equilíbrio hidroeletrólítico nos animais. Sabe-se que para o início destas respostas, diversas áreas do sistema nervoso central (SNC) e diferentes tipos de neurotransmissores são recrutados, promovendo a ativação dos processos que fazem com que o equilíbrio hidrossalino seja mantido (Johnson, A. K. *et al.*, 1997).

O mecanismo de absorção de água no intestino envolve rotas transcelulares e paracelulares. A absorção intestinal de água e soluto ocorrem proporções iguais, semelhante à reabsorção no túbulo contorcido proximal do néfron. A absorção de água depende da absorção de íons, principalmente Na^+ e Cl^- . O líquido absorvido é sempre isosmótico em relação ao interstício. A permeabilidade das junções fechadas entre as células epiteliais determina se água e eletrólitos se moverão pela rota transcelular ou paracelular. No intestino delgado essas junções possuem baixa resistência, permitindo um movimento paracelular significativo. No cólon, essas junções são firmes, não permitindo o movimento paracelular.

A absorção de Na^+ é feita durante todo o trajeto do intestino. O transporte de Na^+ pelas células epiteliais do intestino também segue um padrão similar dos túbulos renais. Esse íon atravessa as membranas passivamente por canais iônicos, pelo co-transporte com aminoácidos e glicose e pelo transporte ativo com a bomba de Na^+/K^+ . Vale ressaltar que o gradiente de concentração existente para possibilitar os processos de transporte do íon sódio pelas células absorptivas do intestino, é dependente da atividade Na^+/K^+ ATPase na membrana plasmática basal e lateral das células epiteliais. Os conteúdos do intestino delgado são isotônicos em relação ao plasma. O conteúdo luminal possui aproximadamente a mesma concentração de Na^+ que a do plasma, de modo que a absorção de Na^+ normalmente acontece na ausência de um gradiente significativo de concentração. Entretanto, a absorção do Na^+ é ativa, e pode ocorrer contra uma pequena diferença de potencial eletroquímico para o Na^+ .

A ingestão de água, na dieta, pode ser consideravelmente modificada pelo impulso da sede. Muitos podem ser os estímulos para desencadear a sensação da sede e levar o indivíduo à procura de água. Dentre estes, inclui-se a variação da osmolaridade plasmática, a diminuição do volume sanguíneo (hipovolemia), a diminuição da pressão sanguínea, o aumento da concentração plasmática de angiotensina II e o ressecamento da boca e das membranas mucosas do esôfago. O aumento da osmolaridade do líquido extracelular provoca desidratação intracelular nos centros da sede. Essa área é conhecida

como centro hipotalâmico da sede, localizado mais precisamente no hipotálamo pré-óptico lateral, junto ao núcleo supra-óptico. Nesta região estão presentes osmorreceptores que detectam a variação da osmolaridade no líquido extracelular e estimulam os neurônios destes centros provocando a sensação da sede, levando o animal à procura de água. O mecanismo da sede, juntamente com o mecanismo de osmorreceptores-ADH, mantém o controle preciso da osmolaridade do líquido extracelular. A sensação de sede é minimizada pelo ato de beber, mesmo antes dessa água ingerida ser absorvida. Porém, essa sensação é finalizada completamente apenas quando a osmolaridade do plasma ou o volume sanguíneo são corrigidos (Fitzsimons, J. T. 1998; Stricker, E. M. *et al.*, 200).

A manutenção da osmolaridade sanguínea exige constância do volume extracelular, no entanto, se esta somente fosse relacionada ao ajuste hídrico, o volume vascular flutuaria largamente. Por esse motivo, o volume sanguíneo deve também ser precisamente regulado para manter a perfusão nos tecidos corporais e para que a volemia e a pressão arterial sejam mantidas. A constância do volume sanguíneo depende da manutenção do balanço de sódio, o íon mais importante do espaço extracelular. O apetite pelo sódio é um comportamento inerente ao animal, pois os mesmos independentemente da existência de natriopenia costumam ir à procura de alimentos contendo sódio devido ao fato dos animais exibirem preferência pela ingestão deste íon. Mecanismos renais que comandam retenção ou perda de sódio são regulados pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona e pelo peptídeo natriurético atrial. Desordens no equilíbrio entre a absorção e a excreção de sódio afetam a sua quantidade total no corpo. Modificações dessa quantidade estão intimamente ligadas às alterações no volume sanguíneo. Uma perda global do sódio no corpo não provoca necessariamente uma diminuição de sódio no sangue, mas pode causar diminuição de volume sanguíneo. Quando o volume sanguíneo diminui, a pressão arterial cai, a frequência cardíaca aumenta e o indivíduo pode apresentar tonturas e, a depender da intensidade com que isso ocorre, o choque (Choi-Kwon, S. *et al.*, 1990; 1991; Fitzsimons, J. T. 1998; Stricker, E. M. *et al.*, 2000).

Muitos são os protocolos experimentais que podem ser utilizados para estudar os mecanismos de respostas para um desequilíbrio hidroeletrolítico. Ações que provocam situações de hipovolemia, hiperosmolaridade, sódio-depleção etc, podem induzir a sensação de sede e/ou o apetite por sal nos organismos. Então, através da administração de fármacos centralmente por meio de micro-injeções, podem-se estimular receptores específicos em regiões do SNC que se presume participar da regulação da ingestão de água e sal. A utilização destas drogas farmacológicas agonistas e/ou antagonistas preferencialmente específicas dos receptores endógenos estudados, possibilita analisar e entender melhor como são as respostas nos organismos no processo de manutenção do controle hidroeletrolítico. Estas drogas possuem características semelhantes aos neurotransmissores endógenos conhecidos e ligam-se por afinidade bioquímica aos mesmos receptores.

Um importante neurotransmissor no controle do equilíbrio hidroeletrolítico é a serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT), que age sobre sete tipos diferentes de seus receptores (5HT₁ a 5HT₇), sendo estes subdivididos em 14 subtipos, que se localizam de maneira muito difusa por praticamente todo SNC. A grande maioria destes receptores é do tipo metabotrópico. Estes receptores transmitem a informação nervosa de uma forma mais lenta, pois os mesmos se encontram acoplados a proteína G e, para iniciar o processo de fosforilação de proteínas, abertura ou fechamento de canais iônicos ou mesmo a fosforilação e ativação de fatores de transcrição celular, faz-se necessário a formação de um segundo mensageiro. A exceção é o receptor 5HT₃, um receptor ionotrópico, que possui uma ação mais rápida, pois o mesmo é um canal iônico com permeabilidade seletiva a alguns íons como Na⁺, K⁺ e Ca²⁺. Este canal se abre quando acontece a ligação com a molécula de serotonina. (Barnes & Sharp, 1999; Raymond, R. J. *et al.*, 2001)

A localização dos neurônios serotoninérgicos está nos núcleos da rafe, constituindo uma grande variedade em números de neurônios e em tipos diferentes de neurônios do tronco cerebral. Estes se organizam em torno da linha mediana e projetam seus axônios em vias ascendentes e descendentes, alcançando praticamente todo o encéfalo, especialmente as áreas do cérebro

com funções equivalentes. A serotonina apresenta-se como um neurotransmissor de caráter regulatório e amplamente distribuído no sistema nervoso central (Azmitia, E. C. 1999). Aferências de diversas áreas do SNC, incluindo o hipotálamo, o córtex, o núcleo reticular, o tronco cerebral, a medula espinhal e a habênula estimulam os núcleos serotoninérgicos da rafe (Azmitia, E. C. 1999; Adell, A. *et al.*, 2002). No entanto, a serotonina não é o único neurotransmissor localizado e identificado nos núcleos da rafe. Outros neurotransmissores também foram observados nestes núcleos neuronais, incluindo norepinefrina, dopamina, acetilcolina, ácido gama-amino-butírico (GABA), substância P e neurotensina. (Azmitia, E. C. 1999).

No SNC, mais precisamente nos núcleos da rafe mesencéfálica, ocorre à síntese do neurotransmissor serotonina através da conversão do aminoácido triptofano em 5-hidroxitriptofano (5-HTP) pela ação da enzima triptofano hidroxilase. A serotonina, por ser hidrofílica, não possui a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). Sendo assim, os níveis plasmáticos de triptofano influenciam substancialmente a produção da serotonina, pois sua síntese ocorre quando carreadores de aminoácidos localizados na BHE são ativados, promovendo a captação do triptofano plasmático (Blundell, J. E. 1992). Após a captação do triptofano e de sua conversão pela enzima triptofano hidroxilase em 5-HTP, este último passará a ser descarboxilado através da ação de outra enzima denominada ácido amino-aromático descarboxilase (AADC), formando, enfim, a 5-hidroxitriptamina, ou serotonina (Eaton, M. J. *et al.*, 1993; Azimitia, E. C. 1999).

Ao final de sua síntese, a serotonina passa a ser armazenada em vesículas através de um mecanismo mediado por bomba de prótons. Quando o neurônio serotoninérgico é estimulado acontece a sua despolarização; então, canais de Ca^{2+} se abrem e o Ca^{2+} entra no neurônio. Na presença do Ca^{2+} ocorre a liberação vesicular deste neurotransmissor na fenda sináptica, esta liberação é controlada por auto-receptores pré-sinápticos. Os níveis de 5-hidroxitriptamina (5-HT) na fenda sináptica podem ser controlados pela ação do transportador SERT localizado nos neurônios serotoninérgicos. Este transportador é uma proteína transmembrana que pertence à família de

transportadores de neurotransmissores dependentes de Na^+/Cl^- . Ele promove a captação da serotonina da fenda sináptica para o neurônio serotoninérgico (Blakely, R. D. *et al.*, 1994; Borowsky, B. *et al.*, 1995). Algumas desordens psiquiátricas como depressão e transtorno da ansiedade são tratadas com a utilização de drogas psicoativas, como a fluoxetina, a paroxetina, a fluvoxamina, o citalopram, que são bloqueadores seletivos do transportador SERT. Ao se ligarem à proteína SERT essas drogas inibem a recaptação da serotonina, o que eleva o tempo de permanência do neurotransmissor na fenda sináptica (Lesch, K. P. 2005). Outro processo que regula os níveis de serotonina na fenda sináptica, finalizando a ação deste neurotransmissor é a degradação enzimática. A enzima monoamina oxidase (MAO) converte a serotonina em 5-hidroxiindolacetaldeído (5-HIAA), iniciando o processo de degradação da 5-hidroxitriptamina (5-HT) em produtos inativos. Esta enzima localiza-se na membrana do axônio pré-sináptico serotoninérgico e na membrana mitocondrial (Azmitia, E. C. 1999).

Tem-se observado heterogeneidade entre os receptores 5HT_3 , não somente entre espécies diferentes, mas também dentro de uma mesma espécie. Até o momento, foi identificada apenas uma subunidade dos receptores 5-HT_3 apresentando “splicing” diferenciado, o que determina dois tipos diferentes, os receptores $5\text{-HT}_3\text{R-A}$ e $5\text{-HT}_3\text{R-A}_S$ que diferem pela ausência consecutiva de seis aminoácidos somente na segunda alça intracelular das sete existentes. Diversos estudos têm demonstrado que o nível de condutância está ligado ao grau de fosforilação do receptor, apesar de sua afinidade com o antagonista não ser afetada. Diferenças marcantes de condutância levaram à sugestão de que receptores 5-HT_3 com diferentes composições de subunidades possam existir em uma mesma célula (Gaster & King, 1997).

Inúmeros trabalhos vêm demonstrando o possível envolvimento da serotonina no comportamento alimentar. Estudos farmacológicos têm contribuído para a idéia de que a 5-hidroxitriptamina (5-HT) possui um efeito inibitório sobre o apetite. Manipulações experimentais dos níveis serotoninérgicos causam alterações na freqüência alimentar ao modular

negativamente no hipotálamo a ação de mensageiros reguladores do apetite como as leptinas e neuropeptídeo Y (Blundell, J. E. 1992; Stubbs, R. J. 1999; Meguid, M. M. *et al.*, 2000). Outros estudos sugerem a participação de mecanismos serotoninérgicos na indução das respostas fisiológicas relacionadas a situações como a depressão e distúrbios de caráter emocional. Porém, ainda são poucos os trabalhos que exprimem as ações da serotonina no controle hidrossalino.

Os mecanismos estimulatórios e inibitórios da ingestão de água e sal dependem da ação integrada de diversas áreas centrais. As vias excitatórias ativadas pela angiotensina II, mineralocorticóides e elevação da osmolaridade são dependentes de áreas prosencefálicas, região anteroventral do terceiro ventrículo (AV3V), amígdala, órgão subfornical, área septal e outros núcleos hipotalâmicos. As vias inibitórias estão relacionadas especialmente com a ativação dos receptores α_2 -adrenérgicos e receptores serotoninérgicos localizados em áreas como hipotálamo lateral, área septal, área pré-óptica e núcleo parabraquial lateral (Menani, J. V. *et al.*, 2002).

A administração bilateral de metisergida, um antagonista serotoninérgico não seletivo, nos núcleos parabraquiais laterais (NPBL) elevou de forma significativa a ingestão de água e sal dos ratos em diferentes protocolos experimentais (Menani & Johnson, 1996). Estes autores sugerem, em outro estudo, que o mecanismo inibitório da 5-HT no NPBL é integrado ao mecanismo estimulatório dos receptores AT_1 angiotensinérgicos localizados no órgão subfornical (OSF). Assim, quando os níveis de angiotensina se elevam na região do OSF, e a mesma se liga aos receptores AT_1 nos neurônios dessa área, produzia a inativação dos mecanismos serotoninérgicos do NPBL (Menani & Johnson, 1998). Outros trabalhos realizados já haviam demonstrado a participação do OSF como um centro estimulatório da ingestão de sal em ratos sódio-depletados (Thunhorst, R. L. *et al.*, 1990; Weisinger, R. S. *et al.*, 1990).

Nosso laboratório vem elucidando com vários estudos a importância dos receptores serotoninérgicos no controle hidroeletrólítico. A injeção intracerebroventricular (I.C.V.) de m-CPBG, agonista específico dos receptores

5-HT₃, inibiu significativamente a ingestão de água em ratos hipovolêmicos, em ratos osmoticamente desidratados e em ratos privados deste líquido (Castro, L. *et al*, 2002). Estudo prévio já relatava a participação dos receptores 5-HT_{1D} na inibição da ingestão de água nos protocolos citados anteriormente. Este fato foi observado quando se injetou intracerebroventricularmente (I.C.V.) o L-694,247, um agonista seletivo dos receptores 5-HT_{1D} (De Castro e Silva, E. *et al*, 1997). Outros receptores serotoninérgicos também estudados por nós apresentaram resultados semelhantes quanto à ingestão de água. A injeção (I.C.V.) de m-CPP, um agonista específico dos receptores 5-HT_{2B/2C}, reduziu a ingestão de água nos três protocolos distintos já citados (Castro, L. *et al*, 2002). Enquanto que os receptores 5-HT₄ parecem apresentar um duplo papel na ingestão de água, a depender do protocolo adotado (Castro, L. *et al*, 2000).

A depleção de sódio promovida pela administração de furosemida, um potente antidiurético de alça, associada com uma dieta pobre em sal é um forte estímulo para estudar o apetite por sal em ratos. Injeções (I.C.V.) de m-CPP e m-CPBG, agonistas seletivos dos receptores serotoninérgicos 5-HT_{2B/2C} e 5-HT₃, respectivamente, produziram um efeito inibitório similar na ingestão de salina hipertônica (0,3M). Porém, no mesmo trabalho foi demonstrado que as injeções isoladas de antagonistas específicos dos mesmos receptores não produziram nenhum efeito significativo na ingestão de sal em ratos depletados de sódio, o que parece demonstrar a inexistência de um potencial inibitório endógeno (Castro, L. *et al*, 2003).

Observaram-se diferentes respostas relacionadas com a ingestão de salina hipertônica quando foram injetadas drogas agonistas seletivas de diferentes receptores serotoninérgicos na região do núcleo parabraquial lateral (NPBL). A injeção de 8-OH-DPAT, agonista dos receptores 5-HT_{1D}, produziu uma elevação na ingestão de salina de maneira dose-dependente em ratos sódio-depletados. Este resultado não foi verificado quando se injetou a serotonina (5-HT) isolada ou combinada com o 8-OH-DPAT. Pelo contrário, observou-se redução na ingestão de NaCl (0,3M) (De GOBBI, J. I. F. *et al*, 2005). A ativação dos receptores 5-HT_{2B/2C} pela injeção do agonista seletivo m-CPP no NPBL produziu uma redução da ingestão de sal em ratos depletados

do íon sódio. Já quando se injetou o agonista específico dos receptores 5-HT_{2B} (Bw723c86) não foi obtido nenhum resultado significativo na ingestão de sal, o que deixa os receptores 5-HT_{2C} como responsáveis pela resposta inibitória na ingestão de sal produzida pela injeção de m-CPP. Porém, no mesmo trabalho foi demonstrado que ao se injetar no NPBL o agonista seletivo m-CPBG e, assim, estimular os receptores serotoninérgicos 5-HT₃, teremos como resultado um aumento na ingestão de sódio (De GOBBI, J. I. F. *et al.*, 2007).

Na região do núcleo paraventricular (NPV) do hipotálamo foi injetado a serotonina (5-HT) e o 8-OH-DPAT, agonista seletivo dos receptores 5-HT_{1A}, e a injeção de ambos produziu efeito inibitório na ingestão de salina hipertônica por ratos sódio-depletados (Saad, W. A. *et al*, 2007). Micro-injeções na amígdala medial (MeA) de m-CPBG, agonista seletivo dos receptores 5-HT₃, reduziram de forma significativa a ingestão de solução de NaCl (1,5%), de maneira dose-dependente. No entanto, a injeção do m-CPP, agonista específico 5-HT_{2C}, não produziu nenhum efeito na ingestão (Luz, C. P. *et al*, 2006). Em outro estudo, a micro-injeção do agonista específico dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ localizados na amígdala central (CeA) promoveu um efeito inibitório na ingestão de salina hipertônica (Luz, C. P. *et al.*, 2007).

Dessa maneira, podemos perceber que a circuitária serotoninérgica poderá responder de forma diferenciada na regulação da ingestão de solução de NaCl e de água, a depender de qual subtipo de seus receptores está sendo estimulado e em qual região do sistema nervoso central (SNC) estão localizados. Já foram ressaltadas neste estudo que muitas são as áreas do SNC que estão envolvidas no controle hidroeletrólítico formando uma extensa rede neural que permite respostas corretivas, reflexas e comportamentais, de forma a manter a homeostasia hidrossalina. Entre estas está a área septal.

A área septal é uma região do prosencéfalo, situada abaixo do corpo caloso anteriormente à lâmina terminal e à comissura anterior. A área septal tem conexões extremamente amplas e complexas, destacando-se suas projeções para o hipotálamo, para a formação reticular e para o complexo amigdalóide. A área septal medial especificamente parece estar muito

relacionada e integrada com o hipocampo. Devido a suas conexões com importantes sítios centrais envolvidos no equilíbrio da ingestão de água e sal, a área septal tem sido motivo de grande interesse na pesquisa científica relacionada com o controle hidroeletrolítico (Avrith, D. B. & Fitzsimons, J.T., 1980).

Trabalhos anteriores mostraram que a área septal é necessária para a regulação da ingestão de água e sal. Lesões hidroeletrolíticas nesta área proporcionaram um aumento na ingestão de água induzida pela ANG II (Blass *et al.*, 1974). Dados da literatura sugerem que a estimulação de diferentes tipos de receptores adrenérgicos localizados na área septal pode estar envolvida na regulação da ingestão de água e sal em animais desidratados e sódio-depletados (Colombari, E. *et al.*, 1989; Yada, M. M. *et al.*, 1997). Outros achados sugerem o envolvimento da área septal medial (ASM) com o núcleo paraventricular (NPV) na modulação da homeostase da água, sódio e pressão arterial, a partir da ativação dos receptores para ANG II e dos receptores α -adrenérgicos. A injeção de ANG II na área septal medial promove a ingestão de água e sal, diurese, natriurese e resposta pressora. Quando estes mesmos indivíduos eram pré-tratados com antagonista α_2 -adrenérgico no NPV aumentavam as respostas induzidas pela injeção de ANG II na ASM. Entretanto, se o pré-tratamento for com antagonista α_1 -adrenérgico no NPV a resposta induzida pela injeção de ANG II na ASM é abolida. Dessa maneira parece que as vias α -adrenérgicas do NPV estabelecem um controle sobre as respostas farmacológicas induzidas pela injeção de ANG II no ASM (Camargo & Saad, 2001).

Tanaka, J. *et al.* em 2003, demonstrou que a estimulação elétrica da ASM elevava consideravelmente os níveis de acetilcolina no NPV, sugerindo mais uma vez a integração destas áreas, sendo que, desta vez, sugere que as fibras colinérgicas do NPV são originadas na área septal.

Alguns estudos têm mostrado também uma integração nas ações dos receptores vasopressinérgicos e angiotensinérgicos localizados na área septal no que se refere à regulação do comportamento de ingestão de sal e água. A

administração de arginina-vasopressina (AVP) na área septal lateral em ratos privados de líquidos por 24 horas diminui a ingestão de água e sal. Este efeito parece ser dependente das vias angiotensinérgicas locais (Mima *et al.*, 2004). Mais recentemente Saad *et al.* (2007), demonstraram que a injeção de AVP na área septal medial apresenta um efeito estimulatório na ingestão de água e sal em ratos privados e sódio-depletados. Além disso, o mesmo trabalho mostrou que o bloqueio dos receptores vasopressinérgicos V_1 diminuiu a resposta induzida pela injeção de AVP, enquanto que a injeção prévia do antagonista V_2 aumentou ainda mais as ingestões de água e sal. Entretanto, o pré-tratamento na ASM com antagonistas angiotensinérgicos AT_1 e AT_2 provocou a redução da resposta ingestiva produzida pela injeção de AVP na área septal medial.

Como a área septal, todas as outras áreas do SNC envolvidas na regulação do equilíbrio hidro-eletrolítico exercem suas funções através da ativação de diversas vias neurotransmissoras centrais. Atualmente já é conhecido que a ativação de algumas vias neurotransmissoras centrais como: serotoninérgica, colinérgica, angiotensinérgica, adrenérgica, opiatérgica, glutamatérgica e GABAérgica, leva a mudanças no comportamento de ingestão de água e sal (Johnson, A.K. *et al.*, 1997).

Rutz *et al.*, publicaram em 2007, um estudo em que mostram a regulação pré-sináptica da liberação de 5-HT na área septal, mais precisamente em núcleos específicos desta região como a área septal lateral (ASL), a área septal medial (ASM) e a banda diagonal da broca (BDB). Estes viram uma alta concentração de noradrenalina, serotonina e dopamina nessas regiões, sendo mais concentrados na BDB e menos na ASL. Por fim, concluíram neste estudo que a secreção de 5-hidroxitriptamina (5-HT) nestas áreas pode ser modulada por auto-receptores $5-HT_{1B}$, assim como por hetero-receptores do tipo α_2 -adrenérgicos, μ e κ -opióides.

Apesar de todos os dados apresentados mostrando a importância da serotonina como neurotransmissor modular da sede e do apetite por sal e da área septal como uma região fundamental para a regulação hidroeletrolítica, são poucos os trabalhos que mostram o papel da 5-HT na área septal.

Dessa forma, a proposta deste trabalho é investigar o papel dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ localizados na área septal medial na regulação da ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados.

2. OBJETIVO

Investigar o envolvimento dos receptores 5HT₃ serotoninérgicos localizados na área septal medial sobre o controle central da ingestão de sal em ratos sódio-depletados.

3. JUSTIFICATIVA

Serotonina é um dos reguladores da saciedade alimentar e, certamente, os efeitos que este neurotransmissor central exerce sobre a ingestão hídrica são parte do controle dos comportamentos ingestivos em geral.

Do ponto de vista fisiológico, farmacológico, toxicológico e clínico o esclarecimento da participação serotoninérgica central no controle da ingestão de água é de fundamental importância.

Do ponto de vista farmacológico, a circuitaria serotoninérgica central é alvo de uma série de fármacos destinados ao controle de diversas afecções psiquiátricas, como a depressão e a ansiedade. Além disto, drogas serotoninérgicas estão sendo usadas rotineiramente como anoréxicos.

No que se refere à toxicologia, uma série de drogas de uso ilegal como a cocaína, anfetaminas e neurotóxicos seletivos como o MDMA (ecstasy) afetam a neurotransmissão serotoninérgica central.

Portanto, do ponto de vista clínico, o esclarecimento das ações serotoninérgicas centrais sobre um parâmetro de vital importância para o equilíbrio hidroeletrólítico, como a ingestão hídrica, é justificado e oportuno.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS:

Para realização deste trabalho foram utilizados, ratos Wistar machos com peso de 300 ± 50 g nascidos e criados no Biotério do Laboratório de Neurociências da Universidade Federal da Bahia.

4.2 CIRURGIA ESTEREOTÁXICA:

Após anestesia com Tiopental Sódico (Thionembatal), os animais foram fixados ao aparelho estereotáxico. Foi realizada assepsia com álcool iodado e a incisão para exposição da calota craniana. Após aferição das medidas determinadas pelo atlas Watson e Paxinos (1998), foram introduzidas uma cânula guia na área septal medial. Estas cânulas foram confeccionadas com agulhas hipodérmicas de aço inoxidável com diâmetro de 0.7 mm e comprimento padronizado em 14 mm. No final da cirurgia, as cânulas eram ocluídas com mandris removíveis, feitos a partir de fios de aço inoxidável (Dentaurum) na prevenção de qualquer obstrução. Além disso, os animais recebiam injeção intramuscular com 0.2ml de pentabiótico para evitar infecções pós-cirúrgicas e dipirona sódica como antitérmico e analgésico. As coordenadas estereotáxicas usadas foram às seguintes:

ÁREA	VERTICAL	ANTEROPOSTERIOR
Septal Medial	5,0	0,5

4.3 PREPARAÇÃO PARA OS EXPERIMENTOS:

Os animais passaram por um período de cinco dias após a cirurgia em caixas plásticas individuais, com temperatura controlada em torno de 23°C, e mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas (luzes das 07:00 às 19:00 horas). Neste período, água e ração foram disponibilizados de forma livre. Esse intervalo de tempo foi utilizado para recuperação cirúrgica e também como uma fase de treinamento dos animais para o experimento. Diariamente, os animais eram manipulados e as caixas plásticas, a maravalha e o mandril eram trocados. Dessa forma, se reduz o estresse dos animais pela presença e/ou manipulação humana.

4.4 CATETERIZAÇÃO DA ARTÉRIA CARÓTIDA E MEDIDA DA PRESSÃO ARTERIAL MÉDIA (PAM)

Após a recuperação da cirurgia estereotáxica, os animais que foram utilizados nos experimentos para aferimento da pressão arterial, passaram por um novo procedimento cirúrgico. Para tal, eram novamente anestesiados com tiopental sódico e em sua artéria carótida direita era introduzido um cateter de polietileno (PE10). Esse procedimento acontecia 48h antes do experimento. Após a cateterização, os animais recebiam novamente a injeção de 0,2ml de pentabiótico e dipirona sódica. Para o experimento de análise da pressão arterial, estes animais ainda passaram pela depleção sódica 24h antes da realização do protocolo experimental, proporcionando, assim, as mesmas condições fisiológicas dos grupos experimentais que participaram do protocolo de medida da ingestão de água e da solução salina hipertônica. Para aquisição das informações referentes à pressão arterial, os animais eram conectados por meio de cateter na artéria carótida a um terminal que transforma os impulsos cardíacos em dados computacionais arquivados por programa adequado (AQDADOS) e posteriormente analisados.

4.5 DEPLEÇÃO DE SÓDIO:

Para realização dos experimentos, em que era necessária a depleção de sódio, os animais recebiam 24 horas antes injeção do diurético de alça furosemida na dose de 10mg/Kg (s.c.) 24 horas antes. Para que não houvesse hipovolemia os animais tinham acesso livre aos bebedouros com água destilada desde o instante da injeção da furosemida até o momento dos experimentos. Além disso, a ração padrão era retirada logo após a injeção da furosemida, sendo substituída por dieta hipossódica.

4.6 EXPERIMENTOS:

Eram realizados sempre pela manhã no período das 8:00 às 10:00 horas. Os animais recebiam as micro-injeções centrais na região da ASM, e após 30 minutos para estes eram oferecidos dois bebedouros graduados diferentes, um com água destilada e outro com salina hipertônica (1,5%). As medidas cumulativas do volume ingerido eram realizadas por um período de duas horas. Sendo estas realizadas inicialmente em intervalos de 15 minutos e posteriormente na segunda hora do experimento em intervalos de 30 minutos. Ressaltamos ainda que em todos os experimentos, os animais foram divididos em grupo controle e grupo experimental. Dessa maneira, minimizamos qualquer interferência externa que por ventura acontecesse no dia dos experimentos.

Para realização das injeções centrais foram utilizadas micro-seringas Hamilton (Hamilton Co. Inc.) ligadas através de um tubo de polietileno (PE 10) a uma agulha do tipo Mizzy Slide Pak 2.0mm maior que a cânula guia. O volume de injeção foi de 0,2µl. A injeção foi feita em um intervalo de 60 segundos. Para todos os procedimentos experimentais, o grupo que serviu

como controle recebeu injeção de solução salina isotônica no mesmo volume indicado.

4.7 DROGAS:

As seguintes drogas foram usadas:

- M-CPBG (m-clorofenilbiguanida; 1-3-clorofenilbiguanida), agonista dos receptores 5HT₃, foi adquirido da TOCRIS, Ballwin, MO.
- Ondansetrona, antagonista dos receptores 5HT₃, foi adquirido da TOCRIS, Ballwin, MO.
- Furosemida (Lasix) foi adquirido do laboratório Aventis SP - Brasil.

4.8 HISTOLOGIA:

Em seguida à realização dos experimentos, os ratos foram sacrificados. Para tanto, os mesmos eram anestesiados com éter sulfúrico e então submetidos à perfusão transcardíaca com salina 0,9% seguida por formol 10%. Seus cérebros foram retirados e mergulhados em uma solução de formol glicosado a 30%, onde ficaram estocados na geladeira por 48 horas. Após esse período eram cortados por técnica de congelamento no criostato, organizados em lâmina com gel, sendo então levados para secagem na estufa. Quando secos eram então corados com cresil violeta para confirmação microscópica do posicionamento das cânulas. Apenas os dados referentes aos ratos cujas cânulas estavam localizadas na área septal medial foram utilizados.

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Os dados foram analisados pelo “software” Sigma Stat para Windows versão 1.0 (Jandel Scientific, Erkrath, Germany), sendo submetidos à ANOVA para Medidas Repetidas “Two Way”. O pós-teste utilizado foi o Student-Newman-Keuls para os experimentos de ingestão e teste de Bonferroni para análise da PAM. Foram considerados valores de significância de $p < 0.05$.

5. RESULTADOS

5.1 Efeitos da micro-injeção de m-CPBG na ASM sobre a ingestão de água e sal em ratos sódio-depletados.

A figura 1A. condensa os efeitos da administração central de m-CPBG sobre a ingestão de sal em ratos depletados de sódio. Como esperado, os animais controles (que não receberam m-CPBG) submetidos à depleção de sódio apresentaram uma ingestão de sal significativamente maior do que os animais controles não submetidos à este procedimento. Na menor dose empregada (20 nmol) a administração de m-CPBG não provocou efeito significativo. Nas doses subseqüentes (40, 80 e 160 nmol) o m-CPBG causou estimulação significativa da ingestão de sal que perdura pela inteira duração do experimento.

A figura 1B. mostra a ingestão de água em ratos sódio-depletados após micro-injeção central de m-CPBG nas mesmas doses citadas acima. Neste caso, as injeções de m-CPBG em qualquer das doses, não apresentou qualquer efeito estatisticamente significante.

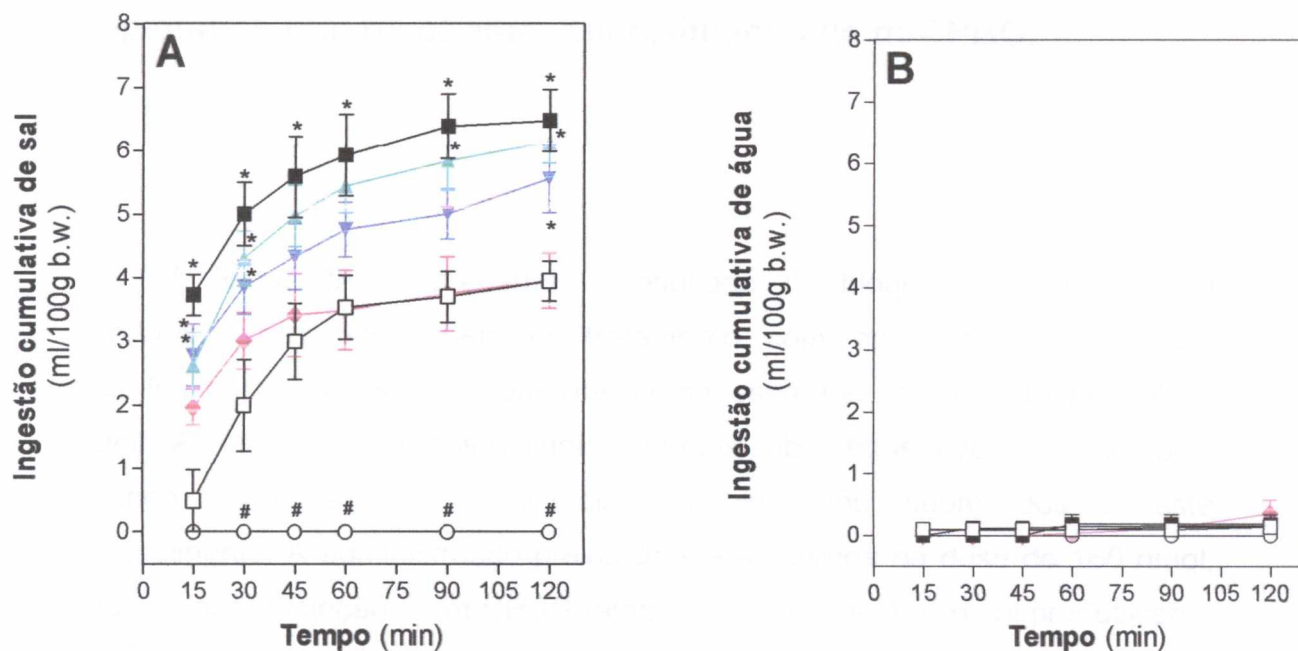


Fig. 1. Ingestão cumulativa (ml/100g de peso corporal) de sal (A) e água (B) dos animais sódio-depletados tratados com a microinjeção salina ou m-CPBG, nas diversas doses, na ASM. Os grupos apresentados são: salina (□; n= 10); m-CPBG 20nmol/rato (◆; n= 8); m-CPBG 40 nmol/rato (▼; n= 10); m-CPBG 80 nmol/rato (▲; n= 12); m-CPBG 160 nmol/rato (■; n= 11); animais não submetidos a depleção de sódio (○; n= 8). Os dados são apresentados em média±EPM. (*) asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes (two-way ANOVA seguida do teste de Newman-Keul's; $p < 0,05$) encontradas quando os diferentes grupos são comparados com o grupo controle sódio-depletado que recebeu salina na ASM. (#) indicam diferenças estatisticamente significantes encontradas quando se compara o grupo controle não submetido a sódio-depleção com o grupo controle submetido a depleção de sódio, sendo que ambos receberam micro-injeções de salina na ASM.

5.2 Pré-tratamento com ondansetrona em ratos sódio-depletados que receberam micro-injeção de m-CPBG.

A figura 2A. apresenta o resultado do bloqueio dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ pelo pré-tratamento com ondansetrona em ratos tratados com m-CPBG. Novamente, como esperado, a ingestão de sal foi significativamente maior nos animais controles submetidos à depleção de sódio quando comparados aos animais controles não submetidos a este procedimento. A administração prévia da ondansetrona na dose de 160 nmol, impediu que a injeção do m-CPBG também na dose de 160 nmol produzisse a estimulação na ingestão de sal observada quando esta droga foi injetada de maneira isolada na área septal medial. Dessa forma, ao se empregar o pré-tratamento com os animais que receberam m-CPBG a curva resposta observada nos animais sódio-depletados é semelhante aos animais controles submetido a este procedimento.

A figura 2B. mostra a ingestão de água em ratos sódio-depletados pré-tratados com ondansetrona que receberam m-CPBG. Assim como na resposta a injeção isolada de m-CPBG, a injeção conjunta de ondansetrona e m-CPBG também não apresentou qualquer efeito estatisticamente significativo.

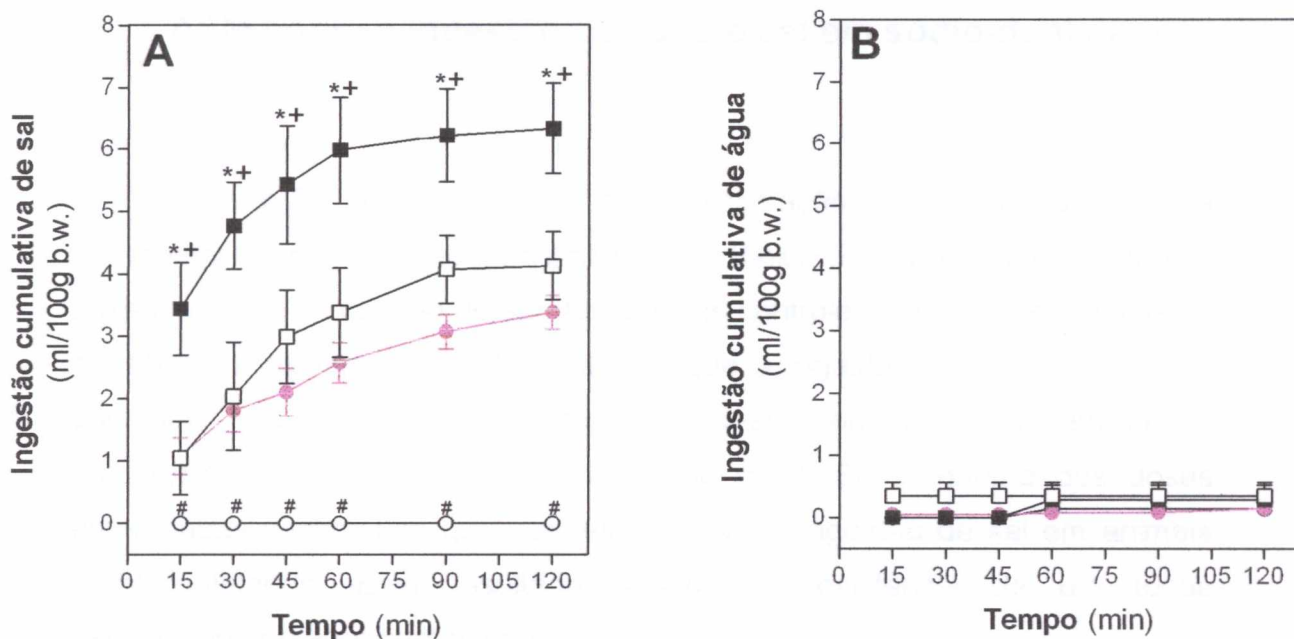


Fig. 2. Ingestão cumulativa (ml/100g de peso corporal) de sal (A) e água (B) dos animais sódio-depletados tratados com a microinjeção de salina ou m-CPBG na dose de 160 nmol/rato na ASM, mas pré-tratados com ondansetrona. Os grupos apresentados são: salina + salina (□; n= 11); salina + m-CPBG 160 nmol/rato (■; n= 11); ondansetrona + m-CPBG 160 nmol (●; n= 13); animais não submetidos a depleção de sódio (○; n= 8). Os dados são apresentados em média±EPM. (*) asteriscos indicam diferenças estatisticamente significantes (two-way ANOVA seguida do teste de Newman-Keul's; $p < 0,05$) encontradas quando os diferentes grupos são comparados como grupo controle sódio-depletado que recebeu salina na ASM. (#) indicam diferenças estatisticamente significantes encontradas quando se compara o grupo controle não submetido a sódio-depleção ao grupo controle submetido a depleção de sódio, sendo que ambos receberam micro-injeções de salina na ASM. (+) indicam diferenças estatisticamente significantes encontradas quando se compara os animais sódio-depletados que receberam micro-injeção de m-CPBG com o pré-tratamento com salina isotônica com os animais sódio-depletados que receberam a micro-injeção de m-CPBG com o pré-tratamento com a ondansetrona.

5.3 Efeitos da micro-injeção de ondansetrona em ratos na ASM sobre a ingestão de água e sal em sódio-depletados.

A figura 3A. reúne os efeitos da administração central da ondansetrona isoladamente sobre a ingestão de salina hipertônica em ratos sódio-depletados. Mais uma vez, a ingestão de sal dos animais controles submetidos à depleção de sódio foi significativamente maior do que a ingestão de sal nos animais controles não submetidos à depleção deste íon. A ondansetrona foi administrada nas doses de 40, 80 e 160 nmol. Em nenhuma das doses empregadas verificou-se qualquer efeito sobre a ingestão de sal em animais sódio-depletados. Este resultado sugere a inexistência de um tônus estimulatório na área septal medial.

A figura 3B. mostra a ingestão de água em ratos sódio-depletados após micro-injeção central de ondansetrona nas mesmas doses citadas acima. Como observado na ingestão de sal, a administração de ondansetrona na área septal não produziu qualquer efeito estatisticamente significativo sobre a ingestão de água em ratos sódio-depletados.

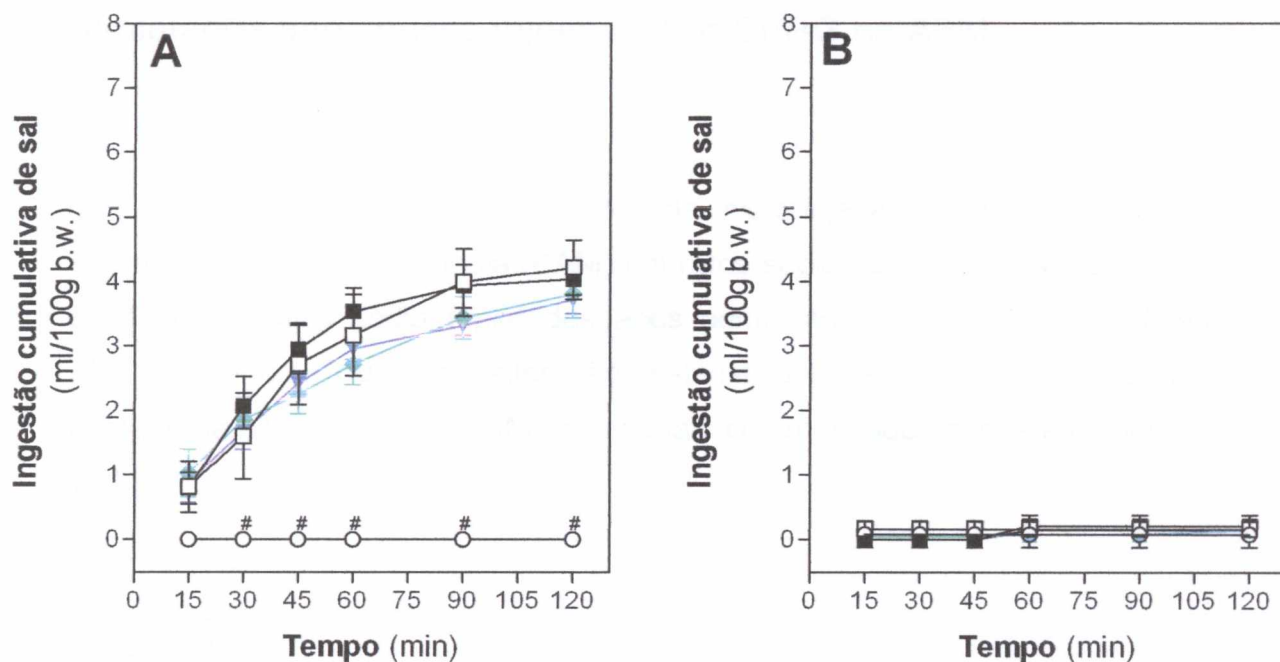


Fig. 3. Ingestão cumulativa (ml/100g de peso corporal) de sal (A) e água (B) dos animais sódio-depletados tratados com a microinjeção salina ou m-CPBG, nas diversas doses, na ASM. Os grupos apresentados são: salina (□; n= 9); Ondansetrona 40nmol/rato (◆; n= 8); Ondansetrona 80 nmol/rato (▼; n= 9); Ondansetrona 160 nmol/rato (■; n= 9); animais não submetidos a depleção de sódio (○; n= 7). Os dados são apresentados em média±EPM. (#) indicam diferenças estatisticamente significantes (two-way ANOVA seguida do teste de Newman-Keul's; $p < 0,05$) encontradas quando se compara o grupo controle não submetido a sódio-depleção com o grupo controle submetido a depleção de sódio, sendo que ambos receberam micro-injeções de salina na ASM.

5.4 Medida da pressão arterial média (PAM) em ratos sódio-depletados após micro-injeção de m-CPBG na ASM.

A figura 4. demonstra os efeitos da micro-injeção central de m-CPBG sobre a pressão arterial média (PAM) em ratos sódio-depletados. A medida da PAM nos animais sódio-depletados após administração central de m-CPBG não apresentou qualquer alteração estatisticamente significativa quando comparada aos valores da PAM dos animais controles submetidos à depleção-sódica.

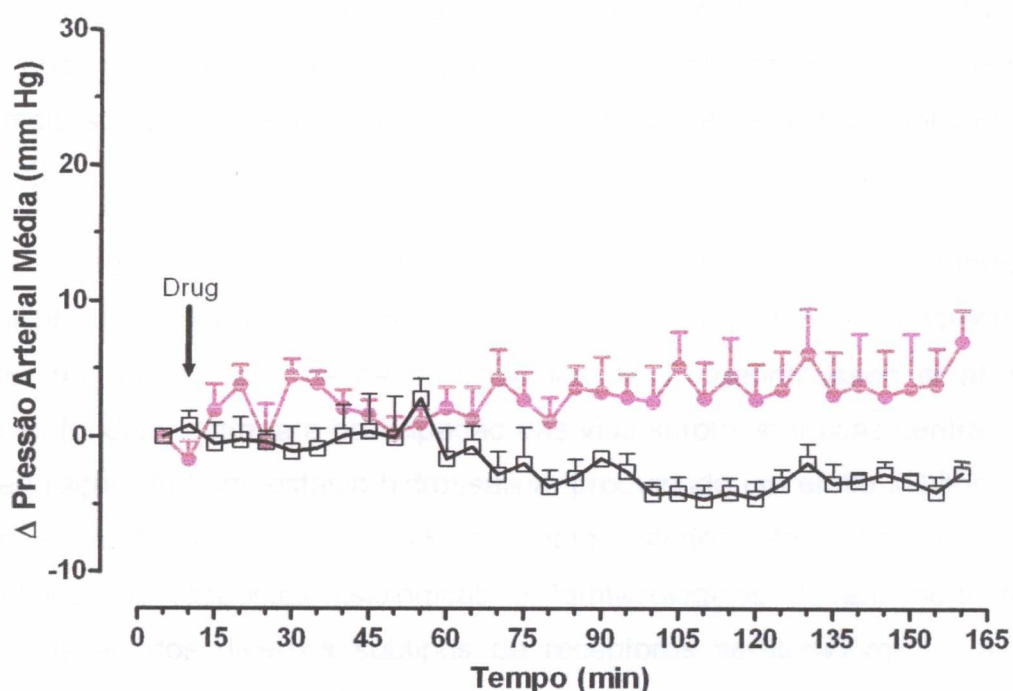


Fig. 4. Análise da pressão arterial média em ratos sódio-depletados após micro-injeção de m-CPBG na dose de 160nmol/rato (● ; n= 8) ou salina 0,9%(□ ; n= 6), na ASM. Os dados são apresentados em média±EPM. Diferenças estatisticamente significantes (two-way RM ANOVA seguida do teste de Bonferroni; $p < 0,05$) não foram encontradas.

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho demonstramos os efeitos da ativação farmacológica dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ localizados na área septal medial (ASM), pelo agonista seletivo m-CPBG. A estimulação dos receptores 5-HT₃, elevou significativamente a ingestão de sal em ratos sódio-depletados. Este efeito produzido pela injeção de m-CPBG foi abolido pelo pré-tratamento com ondansetona, antagonista seletivo dos receptores 5-HT₃. Além disso, os dados apresentados mostram ainda que a injeção isolada do antagonista 5-HT₃ (ondansetrona) na ASM não produziu nenhum efeito sobre a ingestão de sal nos animais sódio-depletados. Por último, em nosso trabalho não observamos quaisquer alterações na medida da pressão arterial média dos animais sódio-depletados que receberam centralmente a micro-injeção de m-CPBG.

A relação entre o sistema serotoninérgico central e o controle do equilíbrio hidroeletrolítico é amplamente conhecida e já tinha sido detectada há muito tempo. De fato, desde os trabalhos de Tangaprégasson *et al.* (1973; 1974), foi demonstrada a participação das vias serotoninérgicas centrais sobre a regulação da homeostasia hidrossalina, produzindo um efeito inibitório sobre a ingestão de água e de sal. Desde então, estudos são realizados a fim de identificar as respostas fisiológicas e farmacológicas desencadeadas pela estimulação dos diversos subtipos de receptores serotoninérgicos, além de analisar os sítios centrais de localização destes receptores.

Os diversos subtipos de receptores serotoninérgicos são alvo de diversas drogas agonistas e antagonistas. Estudos são realizados utilizando compostos farmacológicos que possibilitam entender como se dá a ação da serotonina central na regulação da ingestão de água e sal. Um destes estudos demonstrou que a injeção intracerebroventricular de quetanserina, antagonista dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₂, inibe o apetite por sal induzido pelo tratamento com deoxicorticosterona acetato (DOCA), bem como o apetite

por sódio induzido pela depleção deste íon (Gentili, L. *et al.*, 1991). Mais tarde, Rouah-Rosílio *et al.* (1994), demonstraram também a participação serotoninérgica na modulação do apetite por sal em ratos, através da administração de dexfenfluramina, droga anoréxica que aumenta a neurotransmissão serotoninérgica. Neste caso, houve a redução da ingestão de sal espontânea e induzida pela depleção sódica. Resultado oposto foi observado ao se administrar metergolina, antagonista serotoninérgico inespecífico, que produziu efeito estimulatório tanto na ingestão de sal espontânea, quanto em condições de sódio-depleção.

Além disso, já foi mostrado que a administração de serotonina (5-HT) ou de 2,5-dimetoxi-4-iodoamfetamina hidrobromida (DOI), agonista dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT_{2A/2C}, no NPBL reduziu a ingestão de água induzida pela injeção de intracerebroventricular de ANGII em ratos (Menani & Johnson, 1995). Contudo, a administração bilateral de metisergida, antagonista serotoninérgico não seletivo, nos núcleos parabraquiais laterais (NPBL) elevou de forma significativa a ingestão de água e sal em ratos nos diferentes protocolos experimentais utilizados (Menani & Johnson, 1996). Estes autores sugerem, em outro estudo, que o mecanismo inibitório da 5-HT no NPBL é integrado ao mecanismo estimulatório dos receptores angiotensinérgicos do tipo AT₁ localizados no órgão subfornical (OSF). Assim, quando os níveis de angiotensina (ANG) se elevam na região do OSF e a mesma se liga aos receptores AT₁ nos neurônios dessa área, se produz a inativação dos mecanismos serotoninérgicos do NPBL (Menani & Johnson, 1998).

Apesar dos diversos trabalhos já realizados demonstrando a interação do sistema serotoninérgico e dos distintos sítios que participam da regulação do equilíbrio hidroeletrólítico, mais recentemente foram produzidos diversos estudos importantes que possibilitam um melhor entendimento do papel central do neurotransmissor serotonina, na regulação da ingestão de água e de solução salina. De fato, Naumenko *et al.* (2001), mostrou que diferentes subtipos de receptores serotoninérgicos podem apresentar respostas distintas

quando estimulados. Neste estudo, os autores relatam que aparentemente os receptores do tipo 5-HT_{1B} e do tipo 5-HT_{2A} apresentam papel estimulatório para a ingestão de água, enquanto que os receptores serotoninérgicos dos tipos 5-HT_{1A}, 5-HT_{2C} e 5-HT₃ produzem efeito inibitório na ingestão de água quando estimulados.

Já é bem conhecido que a 5-hidroxitriptamina (5-HT) apresenta papel importante na regulação do equilíbrio hidroeletrólítico. Esta informação ficou ainda mais clara quando Lima *et al.* (2004), realizaram estudo com ratos relacionando a influência da depleção serotoninérgica no apetite por sódio induzido pela depleção deste íon ou pela estimulação β -adrenérgica. Neste trabalho, os animais receberam injeção sistêmica intraperitoneal (i.p.) de p-clorofenilalanina (PCPA), droga esta que promove depleção da serotonina. Os dados obtidos neste estudo demonstraram papel inibitório do neurotransmissor serotonina, ou seja, os animais depletados de 5-hidroxitriptamina (5-HT) apresentaram elevação na ingestão de sódio quando esta era induzida pela estimulação β -adrenérgica ou pela sódio-depleção.

Mais recentemente, foi observado que a injeção de 8-OH-DPAT, agonista dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{1D}, na região do núcleo parabraquial lateral (NPBL) promoveu efeito estimulatório sobre a ingestão de sal. Este aumento ocorreu de maneira dose-dependente em ratos sódio-depletados. Porém, quando a 5-hidroxitriptamina (5-HT) foi administrada isolada ou combinada com o 8-OH-DPAT no NPBL foi verificado um resultado inverso ao descrito acima, ou seja, a 5-HT isolada ou combinada com o 8-OH-DPAT produziu um efeito inibitório sobre a ingestão da solução de NaCl (De Gobbi, J. I. F. *et al.*, 2005). Estes autores demonstraram ainda, em outro estudo, que a administração de m-CPP, agonista seletivo dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{2B/2C}, no NPBL produziu redução na ingestão de sal em ratos sódio-depletados. Os mesmos mostraram também que o efeito inibitório produzido pelo m-CPP era devido à ativação específica dos receptores do subtipo 5-HT_{2C}, já que ao se injetar o Bw723c86, agonista específico dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{2B}, não se observou

nenhum resultado efetivo sobre a ingestão de sal (De Gobbi, J. I. F. *et al.*, 2007). A participação dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ localizados no NPBL na regulação da ingestão de água e sal foi observada neste estudo através da micro-injeção de m-CPBG, agonista seletivo dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃. A estimulação destes receptores localizados no NPBL provocou elevação significativa na ingestão de sal em ratos privados de fluídos por 24h (De Gobbi, J. I. F. *et al.*, 2007). Por último, na região do núcleo paraventricular (NPV) do hipotálamo foi administrado a 5-hidroxitriptamina (5-HT) e o 8-OH-DPAT, agonista seletivo dos receptores 5-HT_{1A}, e a injeção de ambos produziu efeito inibitório na ingestão de salina hipertônica por ratos sódio-depletados (Saad, W. A. *et al.*, 2007).

Como vimos anteriormente, o primeiro dado relevante do atual trabalho foi a demonstração de que a estimulação farmacológica dos receptores serotoninérgicos 5-HT₃ localizados na ASM leva ao aumento da ingestão de sódio em animais sódio-depletados.

A maioria dos outros achados mostra efeito inibitório da estimulação dos receptores serotoninérgicos centrais em geral, e dos receptores 5-HT₃ em particular, sobre a ingestão de água e de sal. Os nossos dados apontam, pela primeira vez, que um segmento específico de receptores serotoninérgicos, ou seja, os receptores 5-HT₃ localizados na ASM parecem exercer um efeito contrário ao que é mais prevalente nas outras áreas e com os outros subtipos de receptores.

Geralmente, parece que os componentes centrais que estimulam a ingestão de água e de sal também levam a aumento da pressão sangüínea. Contudo, no presente trabalho nossos dados demonstraram uma importante exceção. De fato, havia já sido demonstrado em nosso laboratório que a estimulação dos receptores 5-HT₃ centrais pela administração do mesmo agonista específico (m-CPBG) leva a redução da pressão sangüínea (Ferreira, H. S. *et al.*, 2004). Contudo, a via ali empregada foi a intracerebroventricular, enquanto que aqui usamos injeção específica na ASM. Daí podermos concluir

que este segmento específico de receptores 5-HT₃ localizados na ASM, quando farmacologicamente estimulados, induzem aumento da ingestão de sal.

Os dados que obtivemos, demonstrando estímulo da ingestão de sal após administração de m-CPBG na ASM parecem ser de fato devido a estimulação de receptores 5-HT₃ localizados nesta região. Isto porque o pré-tratamento com o antagonista 5-HT₃ específico ondansetrona, bloqueou a elevação na ingestão de sal produzida pela estimulação dos receptores 5-HT₃ pela administração do agonista específico (m-CPBG) na ASM em ratos sódio-depletados. Este dado demonstra a especificidade dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ localizados na ASM com relação à resposta observada sobre a ingestão de sal nos ratos sódio-depletados.

A despeito de termos obtido incremento da ingestão de sal após a estimulação farmacológica dos receptores 5-HT₃ localizados na ASM, o bloqueio deste subtipo de receptores serotoninérgicos nesta mesma área foi desprovido de efeito. Isto parece indicar que inexiste um tônus endógeno dependente de receptores do subtipo 5-HT₃ localizados na ASM como modulador da ingestão de sal.

Em mamíferos existe uma relação clara entre ingestão de água e sal e os níveis de pressão sanguínea. Em situações em que há uma hipotensão moderada na pressão arterial ocorrem o estímulo ao apetite por sódio, enquanto que em condições de hipertensão aguda esse comportamento pode ser inibido. A integração entre os mecanismos que controlam a ingestão de água e sal e os níveis de pressão sanguínea já está bem documentada. Já foi demonstrado em diferentes estudos que a infusão de adrenalina, droga utilizada para aumentar a pressão sanguínea em caso hipotensão, modifica o apetite por sódio em ratos depletados deste íon, ou seja, os animais têm a ingestão de sal reduzida (Bott, E. *et al.*, 1967; Thunhorst, R. L. *et al.*, 1994). Também foi mostrado papel integrativo entre as vias α -adrenérgicas localizadas no núcleo paraventricular (NPV) e as vias angiotensinérgicas localizadas na área septal medial aumentando a ingestão de água e sal,

excreção urinária e resposta pressora (Camargo & Saad, 2001). Este último dado mostra a íntima relação das vias centrais que modulam o controle do equilíbrio hidroeletrolítico e o controle pressórico.

Alguns estudos mostraram que o aumento da ingestão de cloreto de sódio produz aumento da pressão arterial em ratos normotensos. Teräväinen *et al.* (1997), examinaram alterações pressóricas em consequência ao aumento na dieta de sódio em ratos machos Wistar normotensos jovens e com idade avançada (sendo 3 e 18 semanas de idade respectivamente). O que em conclusão se observou foi que em ratos normotensos, a depender da idade do indivíduo, havendo um aumento na ingestão de sódio, este poderá apresentar diferentes níveis de alteração na função cardiovascular. Porém, em qualquer momento de vida destes indivíduos, ou seja, independentemente da idade, se verificou incremento na pressão arterial devido ao aumento na ingestão de sódio. Também já é conhecido que a angiotensina II possui um importante papel na regulação dos fluidos corporais e pressão sanguínea. É conhecido que essa substância é um potente vasoconstritor e indutor da sede. Em condições de desidratação e decréscimo do volume sanguíneo, o que proporciona queda na pressão arterial, tem-se como resposta a liberação de ANG II, o que elevará a pressão sanguínea e aumentará a ingestão de água e sal. Inversamente, se houver elevação no volume sanguíneo a liberação de ANG II é inibida e, então sua ação dipsogênica é removida além de ocorrer diminuição na ingestão de sal (Antunes-Rodrigues, J. *et al.*, 2004).

Tendo em vista as relações acima descritas entre pressão sanguínea e ingestão de água e de sal, fomos levados a investigar se o aumento da ingestão de sal observado após a estimulação de receptores 5-HT₃ localizados na ASM poderia ser devido a modificações das condições pressóricas do animal. Isto não parece ser verdade, no entanto, desde que não observamos modificações significantes da pressão sanguínea em animais que receberam tratamento com m-CPBG na ASM na mesma dose em que este composto foi capaz de estimular a ingestão de sal.

A ASM é uma região central envolvida em uma série de fenômenos regulatórios, tanto viscerais quanto comportamentais. Srividya *et al.* (2007), produziu um estudo em que demonstra a participação da ASM na regulação da temperatura corporal, nas alterações do estado de sono-vigília e da atividade locomotora de maneira integrada à área pré-óptica medial (APOM). Este estudo foi realizado com ratos machos Wistar que tiveram lesão neuronal nas áreas estudadas (ASM e APOM). Então, após as lesões, foi possível verificar alterações nas atividades termorregulatórias, no estado de sono-vigília e na atividade locomotora, sugerindo então a participação da ASM e da APOM no controle das atividades regulatórias vitais citadas anteriormente. Já foi demonstrado também que a ASM participa do controle da secreção salivar e da pressão arterial. Fato este verificado através da injeção de pilocarpina nessa região do SNC. Observou-se, então, a elevação da secreção salivar e hipertensão nos animais. Foi sugerido que o efeito da pilocarpina quando administrada na ASM, é dependente da liberação local de óxido nítrico. Também foi proposto que a ASM está envolvida com mecanismos excitatórios colinérgicos que induzem secreção salivar, aumento do PAM e aumento da excreção de sódio e de volume urinário (Saad, W. A. *et al.*, 2002). Outro estudo mostra que a área septal medial parece ter um importante papel na regulação da secreção de hormônios gonadais femininos (estradiol e progesterona) e também dos hormônios secretados pelo eixo hipotálamo-hipófise (hipofisários: hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH); hipotalâmicos: hormônio liberador de LH (LHRH)) relacionados ao longo do ciclo estral em ratos (Gomes, C. M. *et al.*, 2005). Com os dados do presente trabalho podemos incluir entre as várias funções da ASM aqui descritas um possível envolvimento com o controle do equilíbrio hidroeletrolítico, mais especificamente com a regulação do apetite específico por sódio.

O papel da serotonina parece depender do subtipo de receptor sobre a qual esta indolamina age. Assim, enquanto demonstramos papel inibitório dos receptores 5-HT₃ centrais sobre a pressão sanguínea (Ferreira, H. S. *et al.*, 2004), a estimulação farmacológica dos receptores 5-HT_{2C} parece gerar efeito oposto (Ferreira, H. S. *et al.*, 2005). Uma situação análoga ao encontrado nos

estudos anteriormente citados parece ter sido demonstrada no presente trabalho, uma vez que a ação natriorexigênica conseqüente à estimulação dos receptores 5-HT₃ localizados na ASM, que aqui demonstramos, está em contraste com a maioria das ações inibitórias sobre a ingestão de sal obtidas após a estimulação de outros subtipos de receptores serotoninérgicos localizados em outras áreas centrais.

As respostas serotoninérgicas parecem depender também da área em que esta amina atua. O impacto global e funcional do neurotransmissor parece depender mais do efeito relativo sobre os diferentes subtipos de receptores e menos da ação absoluta do neurotransmissor sobre a atividade dos neurônios 5-HT. Segundo Uphouse L. (1997), parece que as respostas diferenciadas dos múltiplos receptores 5-HT estão relacionadas a cinco características cruciais que fornecem ao sistema nervoso capacidade para transferir informações que jamais poderiam ser atingidos por um único tipo de receptor: (1) A 5-hidroxitriptamina tem variação na afinidade e na potenciação dos efeitos para os diferentes subtipos de receptores. (2) A transdução das respostas é realizada através de várias vias pelos diferentes subtipos de receptores, assim, qualitativamente difere a sinalização intracelular que ocorre em resposta aos diferentes perfis de ativação do subtipo de receptor da 5-HT. (3) Os subtipos de receptores diferem na sua susceptibilidade aos agonistas mediada pela dessensibilização / downregulation. (4) Os subtipos de receptores interagem na mediação celular as respostas para o neurotransmissor. (5) Os subtipos de receptores respondem de forma diferente para as alterações fisiológicas no meio ambiente. Assim, embora a evolução dos vários subtipos de receptores possa ter ocorrido por acaso, múltiplos receptores 5-HT, parecem ter sido mantidos, permitindo uma adaptação no repertório fisiológico e comportamental em resposta à evolução das necessidades do organismo.

Contudo, é necessário notar que a estimulação da ingestão de sal provocada pela estimulação dos receptores 5-HT₃ localizados na ASM é congruente com a potenciação da ingestão de água em ratos após a estimulação angiotensinérgica central já demonstrada anteriormente (Castro, L.

et al., 2000). Neste último, quando utilizamos o pré-tratamento com GR 113808, antagonista dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₄, em ratos normohidratados, foi verificada potencialização da ingestão de água induzida pela injeção central de ANG II e pela estimulação central colinérgica. Assim, de maneira análoga ao já observado em nosso laboratório, como citado no estudo anterior, demonstramos no presente trabalho também uma ação potencializadora na ingestão de sal induzida pela depleção de sódio. Essa ação natriorexigênica produzida pela estimulação dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃ localizados na ASM, demonstrada em nossos achados, foi pela primeira vez verificada, o que torna relevante nossos dados.

Usamos como metodologia de estudo para investigar a ingestão de sal a depleção de sódio induzida pela ação de um diurético de alça, a furosemida, seguida do registro da ingestão de uma solução hipertônica de cloreto de sódio (NaCl 1.5%) . Este método tem sido amplamente usado na literatura para a investigação do apetite específico por sódio por ter um impacto direto sobre estruturas centrais implicadas em apetite por sódio e na sinalização nos circuitos de recompensa (Na, E. S., 2007). Um dos estímulos melhor empregados para aumentar a ingestão de uma solução salina hipertônica normalmente considerada como aversiva aos animais é a depleção de sódio realizada através da furosemida. Assim como em nosso estudo, Camargo *et al.*, (2007), utilizaram esse mesmo protocolo para observar as alterações provocadas pela ação integrada da arginina-vasopressina (AVP) e ANG II na ASM sobre a ingestão de sal. Para demonstrar a ação da ativação dos receptores GABA_A sobre a ingestão de água e sal, também foi realizada a depleção sódica (De Oliveira, L. B. *et al.*, 2007). Thunhorst & Johnson (2001), também fizeram uso da depleção de fluidos provocada pela furosemida isolada ou associada com o captopril para avaliar a ação da administração intracerebroventricular de ANG II sobre a ingestão de água e sal. O estudo sobre o equilíbrio hidroeletrolítico é realizado a partir de diversos protocolos que proporcionam condições em que a ingestão de água e de sal é estimulada. Johnson & Thunhorst (1997), relatam que o uso de diuréticos para induzir a

ingestão de sal é bem estabelecido como parâmetro para medir o apetite por sal. A administração de diuréticos (furosemida) para induzir o apetite por sal já é utilizada há mais de três décadas (Jalowiec, J. E. 1974).

Através da utilização da depleção de sódio por meio da administração de furosemida foi sugerido que, durante a fase de saciedade do apetite por sódio, há uma rápida recuperação da osmolaridade plasmática, concentração de sódio e de volume extracelular. Para tal, essas alterações seriam detectadas e integradas pelos neurônios da lâmina terminal (LT). Estas informações então seriam projetadas para o núcleo dorsal da rafe (NDR) através de uma conexão monossináptica. O NDR, através da 5-HT, modula o apetite por sal, inibindo a maior ingestão de sódio (Badauê-Passos Jr., *et al.*, 2007). Assim, pudemos demonstrar como o protocolo utilizado neste nosso estudo é amplamente usado em estudos científicos recentes. De fato que, a depleção de sódio promovida pela administração da furosemida, um antidiurético de alça, é um dos métodos mais aplicados para analisar as alterações no apetite por sódio dos animais quando estes são estimulados a ingerir solução salina hipertônica.

A serotonina é um dos neurotransmissores mais difusos no sistema nervoso central e está envolvida em diversos mecanismos regulatórios. Este neurotransmissor é um dos principais reguladores da saciedade alimentar e, certamente, os efeitos que este exerce sobre a ingestão hidro-eletrolítica é peça importante para o controle dos comportamentos ingestivos em geral. Tecott, L. H. *et al.* (1995), mostraram, em um importante estudo, que ratos que sofreram mutação e não apresentavam os receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT_{2C} apresentavam peso elevado, como resultado do controle da alimentação apresentar um comportamento anormal, o que institui um papel para estes receptores serotoninérgicos no controle do apetite. Além disso, estes animais mutantes também são propensos a morte espontânea, o que sugere que estes receptores 5-HT_{2C} medeiam com tônus de inibitório a rede de excitabilidade neuronal. Foi também observado que a estimulação de receptores 5-HT_{1B}, 5-HT_{2C} e 5-HT_{2A} reduziu a ingestão de alimento por diferentes mecanismos comportamentais (Simansky, K. J., 1996). Também já

foi demonstrado que a administração periférica via subcutânea de ipsapirona, agonista dos receptores 5-HT_{1A}, promove efeitos depressores na ingestão alimentar aguda de forma dose-dependente em ratos em jejum (Arkle & Ebenezzer, 2000). Como já observado, a serotonina está intimamente relacionada com o controle do comportamento ingestivo. Dessa forma, podemos incluir nossos dados como parte demonstrativa da relação entre o sistema serotoninérgico e o comportamento ingestivo, especificamente sobre o controle na ingestão de sal.

Várias substâncias de natureza legal atingem o sistema serotoninérgico central e entre estas se incluem uma série de fármacos destinados ao controle de diversas afecções psiquiátricas, como a depressão e a ansiedade. Drogas serotoninérgicas estão sendo utilizadas rotineiramente como anoréxicos, especialmente pelo potencial inibitório sobre a fome já demonstrado anteriormente. Os inibidores seletivos da recaptção da serotonina (ISRS) surgiram como um grande avanço na terapêutica psicofarmacológica. Como resultado, a descoberta desses agentes farmacológicos, lançou uma nova era no desenvolvimento de drogas psicotrópicas. Na tentativa de desenvolver os ISRS, os pesquisadores descobriram um número de compostos aminados, agindo em ambos os neurônios noradrenérgicos e serotoninérgicos com diferenças consideráveis em potência. Neste caso, um determinado medicamento pode, portanto, afetar mais de um sítio podendo produzir vários e diferentes efeitos clínicos (Vaswani, M. *et al.*, 2003). Também drogas de natureza ilegal interagem com o componente serotoninérgico central, sobretudo o ecstasy e a cocaína, de amplo uso universal entre os mais jovens, promovendo efeitos tóxicos. Portanto, do ponto de vista clínico, o esclarecimento das ações serotoninérgicas centrais é de suma importância, especialmente quando este sistema está altamente envolvido com a regulação de um parâmetro vital para todos, como é o caso do equilíbrio hidroeletrolítico.

Tendo em vista o acima exposto, a investigação dos aspectos relativos à participação serotoninérgica central em fenômenos regulatórios é de suma importância desde que, como vimos, a 5-HT está envolvida numa enorme

variedade de ações regulatórias e é alvo de uma grande quantidade de substâncias de uso humano, tanto de natureza legal quanto ilegal.

Achamos que novos dados sobre este mesmo tema devem ser obtidos. Por isso, pretendemos como objeto do nosso futuro trabalho estudar a participação de outros subtipos de receptores serotoninérgicos na área septal medial no controle do equilíbrio hidroeletrolítico e, além disso, pensamos também em estender o nosso trabalho por outros sítios centrais que possuam importante participação na regulação hidrossalina através da ativação das vias serotoninérgicas. Desse modo, em breve poderemos entender a interação entre os diversos núcleos centrais e a ativação dos diversos subtipos de receptores serotoninérgicos sobre o controle do equilíbrio hidroeletrolítico.

7. CONCLUSÕES

Em resumo, os dados obtidos no presente trabalho nos permitem concluir que a ativação dos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₃ localizados na área septal medial promove aumento na ingestão de sal em ratos sódio-depletados.

Além disso, é possível afirmar que este efeito não é conseqüente a qualquer alteração pressórica dos animais que receberam a micro-injeção do agonista dos receptores serotoninérgicos do subtipo 5-HT₃.

Por último, podemos sugerir que o estímulo para elevação na ingestão de sal é um efeito farmacológico, pois mostramos a inexistência de um tônus estimulatório endógeno quando administramos isoladamente o antagonista dos receptores 5-HT₃ localizados na ASM.

8. REFERÊNCIAS

- ADELL, A. et al. Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. **Brain Research. Brain Research Reviews**, **39**: 154 - 180, 2002.
- ANTUNES-RODRIGUES, J. et al. Neuroendocrine control of body fluid metabolism. **Physiological Reviews**, **84**: 169 – 208, 2004.
- ARKLE, M.; EBENEZER, I. S. Ipsapirone suppresses food intake in food-deprived rats by an action at 5-HT_{1A} receptors. **European Journal of Pharmacology**, **408**: 273 – 276, 2000.
- AVRITH, D. B.; FITZSIMONS, J.T. Increased sodium appetite in the rat induced by intracranial administration of components of the renin-angiotensin system. **The Journal of Physiology**, **301**: 349 – 364, 1980.
- AZMITIA, E. C. Serotonin neurons, neuroplasticity and homeostasis of neural tissue. **Neuropsychopharmacology**, **21**: 33S – 45S, 1999.
- BADAUÊ-PASSOS Jr., D. et al. Dorsal raphe nuclei integrate allostatic information evoked by depletion-induced sodium ingestion. **Experimental Neurology**, **206**: 86 - 94, 2007.
- BARNES, N. M.; SHARP, T. A. review of central 5-HT receptors and their function. **Neuropharmacology**, **38**: 1083 - 1152, 1999.
- BLAKELY, R. D.; DE FELICE, L. J.; HARTZELL, H. C. Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. **Journal of Experimental Biology**, **196**: 263 – 281, 1994.
- BLASS, E. M.; NUSSBAUM, A. I.; HANSON, D. G. Septal hyperdipsia: Specific enhancement of drinking to angiotensin in rats. **Journal of Comparative and Physiological Psychology**, **18**: 422 - 439, 1974.

BLUNDELL, J. E. Serotonin and the biology of feeding. **The American Journal of Clinical Nutrition**, **55**: 155S – 159S, 1992.

BOROWSKY, B.; HOFFMAN, B. J. N. Neurotransmitter transporters: Molecular biology, function and regulation. **International Review of Neurobiology**, **38**: 139 – 199, 1995.

Bott, E.; DENTON, D. A.; WELLER, S. The effects of angiotensin II infusion, renal hypertension and nephrectomy on salt appetite of sodium-deficient sheep. **The Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, **45**: 595 - 612, 1967.

CAMARGO, G. M. P. A.; DE ARRUDA CAMARGO, L. A.; SAAD, W. A. Vasopressin and angiotensin receptors of the medial septal area of the brain in the control of thirst and salt appetite induced by vasopressin in water-deprived and sodium-depleted rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, **87**: 393 - 399, 2007.

CAMARGO, L. A. A.; SAAD, W. A. Role of the α_1 - and α_2 - adrenoceptors of the paraventricular nucleus on the water and salt intake, renal excretion, and arterial pressure induced by angiotensin II injection into the medial septal area. **Brain Research Bulletin**, **54**: 595 - 602, 2001.

CASTRO, L. et al. Central 5-HT_{2C} and 5-HT₃ receptors stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. **Brain Research**, **981**: 151 - 159, 2003.

CASTRO, L. et al. Central 5-HT₄ receptors and drinking behavior. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **66**: 443 - 448, 2000.

CASTRO, L. et al. Central administration of *m*CPP, a serotonin 5-HT_{2B/2C} agonist, decreases water intake in rats. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, **72**: 891 - 898, 2002.

CASTRO, L. et al. Central 5-HT₃ receptors and water intake in rats. **Physiology & Behavior**, **77**: 349 – 359, 2002.

CHOI-KWON, S.; BAERTSCHI, A. J. Splanchnic osmosensation and vasopressin: mechanisms and neural pathways. **The American Journal Physiology**, **261**: 18 – 25, 1991.

CHOI-KWON, S.; McCARTY, R.; BAERTSCHI, A. J. Splanchnic control of vasopressin secretion in conscious rats. **The American Journal Physiology**, **259**: 19 – 26, 1990.

COLOMBARI, E. et al. Role of central α_1 – and α_2 - adrenoceptors on the dipsogenic and cardiovascular effect of angiotensin II. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **36**: 893 - 896, 1989.

DE CASTRO E SILVA, E. et al. Effect of third ventricle administration of L-694,247, a selective 5-HT_{1D} receptor agonist, on water intake in rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **57**: 749 - 754, 1997.

DE GOBBI, J. I. F. et al. Activation of serotonergic 5-HT_{1A} receptors in the lateral parabrachial nucleus increases NaCl intake. **Brain Research**, **1066**: 1 - 9, 2005.

DE GOBBI, J. I. F. et al. 5-HT₂ and 5-HT₃ receptors in the lateral parabrachial nucleus mediate opposite effects on sodium intake. **Neuroscience**, **146**: 1453 - 1461, 2007.

DE OLIVEIRA, L. B. et al. GABAergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus on sodium appetite. **Brain Research Bulletin**, **73**: 238 - 247, 2007.

EATON, M. J. et al. Distribution of aromatic L-amino acid decarboxylase mRNA in mouse brain by in situ hybridization histology. **The Journal of Comparative Neurology**, **337**: 640 – 654, 1993.

FERREIRA, H. S. et al. Role of central 5-HT₃ receptors in the control of blood pressure in stressed and non-stressed rats. **Brain Research**, **1028**: 48 - 58, 2004.

FERREIRA, H. S. et al. Effect of the activation of central receptors 5-HT_{2C} by the 5-HT_{2C} agonist mCPP on blood pressure and heart rate in rats. **Brain Research**, **1044**: 64 - 72, 2005.

FITZSIMONS, J. T. Angiotensin, thirst and sodium appetite. **Physiological Reviews**, **78**: 583 – 686, 1998.

GASTER, L. M.; KING, F. D. Serotonin 5-HT₃ and 5-HT₄ receptor antagonists. **Medicinal Research Reviews**, **17**: 163 – 214, 1997.

GENTILI, L.; SAIJA, A.; LUCHETT, G.; MASSI, M. Effect of the 5-HT₂ antagonist ketanserin on salt appetite in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, **39**: 171 – 176, 1991.

GOMES, C.M. et al. Neonatal handling and reproductive function in female rats. **The Journal of Endocrinology**, **184**: 435 - 445, 2005.

JALOWIEC, J. E. Sodium appetite elicited by furosemide: effects of differential dietary maintenance. **Behavioral Biology**, **10**: 313–327, 1974.

JOHNSON A. K.; THUNHORST, R. L.; The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **18**: 292 - 353, 1997.

LESCH, K. P. Genetic alterations of the murine serotonergic gene pathway: the neurodevelopmental basis of anxiety. **Handbook of Experimental Pharmacology**, **169**: 71 – 112, 2005.

LIMA, H. R. et al. Brain serotonin depletion enhances the sodium appetite induced by sodium depletion or beta-adrenergic stimulation. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, **76**: 85 – 92, 2004.

LUZ, C. P. et al. Role of 5-HT₃ and 5-HT_{2C} receptors located within the medial amygdala in the control of salt intake in sodium-depleted rats. **Brain Research**, **1099**: 121 - 132, 2006.

LUZ, C. P. et al. The central amygdala regulates salt intake in sodium-depleted rats: Role of 5-HT₃ and 5-HT_{2C} receptors. **Brain Research**, **1139**: 179 - 184, 2007.

MARGATHO, L. O. et al. Central serotonergic and adrenergic/imidazoline inhibitory mechanisms on salt and water intake. **Brain Research**, **956**: 103 - 109, 2002.

MEGUID, M. M. et al. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. **Nutrition**, **16**: 843 – 857, 2000.

MENANI, J. V.; DE LUCA Jr, L. A.; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial nucleus serotonergic mechanisms and salt appetite induced by sodium depletion. **The American Journal of physiology**, **274**: R555 - R560, 1998.

MENANI, J. V.; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial serotonergic mechanisms: angiotensin-induced pressor and drinking responses. **The American Journal of Physiology**, **269**: R1044 - R1049, 1995.

MENANI, J. V.; THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K. Lateral parabrachial nucleus and serotonergic mechanisms in the control of salt appetite in rat. **The American Journal of Physiology**, **270**: R162 - R168, 1996.

MIMA, E. G. O. et al. Effects of angiotensin and vasopressin V₁ receptors on water and sodium intake induced by injection of vasopressin into lateral septal area. **Regulatory Peptides**, **118**: 159 - 164, 2004.

NA, E. S. et al. The neural substrates of enhanced salt appetite after repeated sodium depletions. **Brain Research.**, **1171**: 104 - 110, 2007.

NAUMENKO, K. S.; POPOVA, N. K.; IVANOVA, L. N. Role of various types of serotonin receptors in regulation of drinking behavior and salt appetite in vasopressin-deficient brattleboro rats. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, **131**: 424 – 426, 2001.

PAXINOS, G.; WATSON, C. The rat brain: In stereotaxic coordinates. **Academic Press. Fourth Edition**, 1998.

RAYMOND, R. J. et al. Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. **Pharmacology & Therapeutics**, **92**: 179 – 212, 2001.

ROUAH-ROSÍLIO, M. et al. Presynaptic modulation of 5-HT release in the rat septal region. **Neuroscience**, **146**: 643 - 658, 2007.

SAAD, W. A. et al. Novel evidence that nitric oxide of the medial septal area influences the salivary secretion induced by pilocarpine. **Life Sciences**, **70**: 2403 - 2412, 2002.

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

SRIVIDYA, R.; MALLICK, H. N.; KUMAR, V. M. The medial septum acts through the medial preoptic area for thermoregulation and works with it for sleep regulation. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**, **51**: 261 - 273, 2007.

STUBBS, R. J. Peripheral signals affecting food intake. **Nutrition**, **15**: 614 - 625, 1999.

STRICKER, E. M.; SVED, A. F. Thirst. **Nutrition**, **16**: 821 - 826, 2000.

TANAKA, J. Activation of cholinergic pathways from the septum to the subfornical organ area under hypovolemic condition in rats. **Brain Research Bulletin**, **61**: 497 - 504, 2003.

TANGAPRÉGASSON, M. J.; TANGAPRÉGASSON, A. M.; SOULAIRAC, A. Contrôle mesencephalique du comportement de soif. **Journal de Physiologie**, **67**: 314, 1973.

TANGAPRÉGASSOM, M. J.; TANGAPRÉGASSOM, A. M.; SOULAIRAC, A. Effects des lésions de la région du raphé mesencephalique sur le comportement de soif et de la neurosécrétion hypothalamique antérieure du rat. **Annales D'Endocrinologie**, **35**: 667 - 668, 1974.

TECOTT, L. H. et al. Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. **Nature**, **374**: 542 - 546, 1995.

TERÄVÄINEN, T. L. et al. Influence of age on cardiovascular effects of increased dietary sodium and angiotensin-converting enzyme inhibition in

normotensive Wistar rats. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**, **49**: 912 - 918, 1997.

THUNHORST, R. L.; EHRLICH K. J.; SIMPSON, J. B. Subfornical organ participates in salt appetite. **Behavioral Neuroscience**, **104**: 637 - 642, 1990.

THUNHORST, R. L.; JOHNSON, A. K. Renin-angiotensin, arterial blood pressure and salt appetite in rats. **The American Journal of Physiology**, **266**: R458 - R465, 1994.

THUNHORST, R. L.; JOHNSON A. K. Effects of hypotension and fluid depletion on central angiotensin-induced thirst and salt appetite. **The American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and comparative physiology**, **281**: R1726 – 1733, 2001.

THUNHORST, R. L.; JOHNSON A. K. The neuroendocrinology of thirst and salt appetite: visceral sensory signals and mechanisms of central integration. **Frontiers in Neuroendocrinology**, **18**: 292 – 353, 1997.

UPHOUSE, L. Multiple serotonin receptors: too many, not enough, or just the right number? **Neuroscience and Biobehavioral Reviews.**, **21**: 679 - 698, 1997.

VASWANI, M.; LINDA, F. K.; RAMESH, S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. **Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry**, **27**: 85 - 102, 2003.

VILLA, P. S. et al. Activation of paraventricular nucleus of hypothalamus 5-HT_{1A} receptor on sodium intake. **Regulatory Peptides**, **140**: 142 - 147, 2007.

WEISINGER, R. S. et al. Subfornical organ lesion decreases sodium appetite in the sodium-depleted rats. **Brain Research**, **526**: 23 – 30, 1990.

YADA, M. M. et al. Receptor-mediated effects of clonidine on need-induced 3% NaCl and water intake. **Brain Research Bulletin**, **42**: 205 – 209, 1997.